

ETUDE D'UN SCHEMA DE SYNTHESE PEPTIDIQUE INTRAMOLECULAIRE A L'AIDE DE DERIVES DU PHOSPHORE TETRAEDRIQUE†

M. MULLIEZ

Equipe de Recherche n° 15 du C.N.R.S., Institut de Biochimie, Université de Paris-Sud, 91405 Orsay, France

(Received in France 7 May 1979)

Résumé—Un nouveau schéma de synthèse peptidique répétitive et contrôlée est exposé. Il présente le double avantage, par rapport aux méthodes usuelles de synthèse, de nécessiter seulement deux étapes, pour assurer la prolongation d'une chaîne peptidique par un résidu d'acide aminé, et de minimiser le risque de racémisation de celui-ci. Les deux étapes sont vérifiées en particulier par la transposition, en milieu alcoolique alcalin, des dérivés phosphordiamides **1** incorporant un résidu d'acide aminé, conduisant à la formation des dérivés peptidiques **6** et **8**. Les importantes limitations actuelles de cette méthode sont discutées.

Abstract—A new scheme of repetitive and controlled peptide synthesis offers two advantages compared to the usual methods of synthesis: two steps only are used for the prolongation of a peptide chain with an amino-acid residue and the risk of racemisation is minimized. The two postulated steps are verified particularly by the rearrangement, in an alkaline alcoholic medium, of phosphordiamides **1** incorporating one amino-acid residue, leading to the formation of the peptide derivatives **6** and **8**. The severe limitations of this method are discussed.

Dans les méthodes usuelles de synthèse chimique de peptides, l'établissement de la liaison entre deux acides aminés est assuré par activation du carboxyle de l'un qui peut, alors, réagir *intermoléculairement* avec la fonction amine de l'autre.² Deux inconvénients principaux en résultent: (a) la complication de la synthèse, qui, pour être contrôlée, nécessite la réalisation de deux étapes supplémentaires d'introduction et d'élimination de groupes annexes de protection temporaire des fonctions autres que l'amine et le carboxyle considérés; (b) la racémisation, résultant de la formation *intramoléculaire* d'une oxazolone,³ dérivée de l'acide aminé dont le carboxyle est activé, lorsque la fonction amine de cet acide aminé est acylée par un groupe fortement électroattracteur. La combinaison de ces deux inconvénients fait que, pour assurer, de façon contrôlée et sans racémisation, la prolongation d'une chaîne peptidique par un résidu d'acide aminé, on doit réaliser une synthèse récurrente et en au moins trois étapes.

Pour éviter ceci, on est conduit à examiner l'alternative, suivant Brenner,⁴ de synthèse peptidique *intramoléculaire*. Celle-ci peut être réalisée à l'aide d'une molécule auxiliaire **X** plaçant à 5 ou 6 atomes de distance (situation de cyclisation) les fonctions carboxyle et amine des deux acides aminés considérés. *A priori*, la fixation sur cette molécule **X** peut être réalisée de deux façons: soit par activation des acides aminés, *i.e.* de leur fonction carboxyle (Cette

possibilité a été bien étudiée.⁵⁻¹² Dans tous les cas où des acides aminés optiquement actifs ont été utilisés, la racémisation de ceux-ci n'a pas été observée. Mais ceci rend nécessaire, comme précédemment, la protection de leur fonction amine, et ne simplifie pas la synthèse); soit par activation de la molécule **X** elle-même qui, si elle possède deux sites *a* et *b* de charge partielle positive, peut réagir avec la fonction amine de chaque acide aminé, non protégé, dans un "couplage sur les sels."¹³ On peut alors éviter les deux étapes de protection et de régénération de la fonction carboxyle.

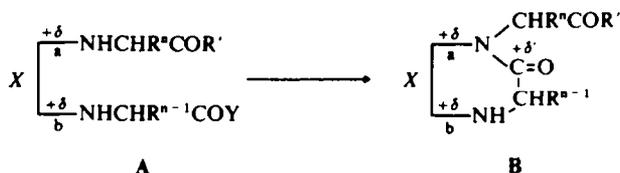
Après réaction de cyclisation conduisant à **B** (Fig. 1), la liaison peptidique formée doit être libérée du site (ici *a*) qu'elle occupe: il convient donc que la liaison entre le site et l'azote soit plus labile que celle entre l'azote et le carbonyle, et que la charge $+ \delta$ du site *a* soit plus importante que celle, $+ \delta'$, du carbonyle de l'acide aminé impliqué dans le cycle. Ceci étant, un nouvel acide aminé peut alors être fixé sur le site *a* libéré, conduisant à **A'**: la situation primitive (**A**) ou un site (*a*) est occupé par le peptide en croissance et l'autre (*b*) par l'acide aminé est retrouvée, avec interversion de la position des sites: l'insertion précédente peut donc être répétée. Pour peu que l'ouverture du cycle soit effectuée directement par la fonction amine de chaque acide aminé dans un "couplage sur les sels"¹³ la synthèse nécessite alors seulement deux étapes (Fig. 1).

Ceci peut être considéré comme une application du principe immémorial du tricot à la synthèse peptidique... Cette stratégie paraît *a priori* la plus valable puisqu'elle permet à la fois le réduire le risque de racémisation et de requérir moins d'étapes (2) que dans les méthodes usuelles (3).

Parmi les différentes molécules auxiliaires envisageables remplissant les conditions précédentes, les dérivés du phosphore tétraédrique ($X = \text{RP}(\text{Z})$);

† Communication préliminaire, réf. 1. Ce travail fait partie de la thèse de Doctorat d'Etat de M. Mulliez, soutenue à Orsay, le 23/2/78, (n° d'enregistrement 1958); adresse actuelle: E.R. 82, laboratoire des hétérocycles du Phosphore et de l'Azote, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse Cédex, France.

1) Formation de la liaison peptidique par cyclisation:



Déplacement de la liaison peptidique et fixation de l'acide aminé suivant:

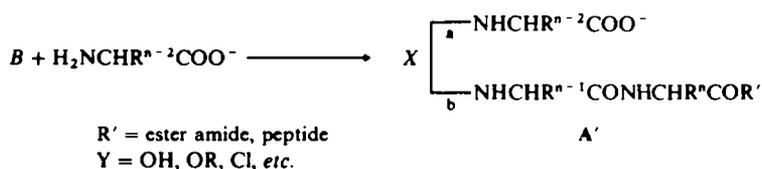
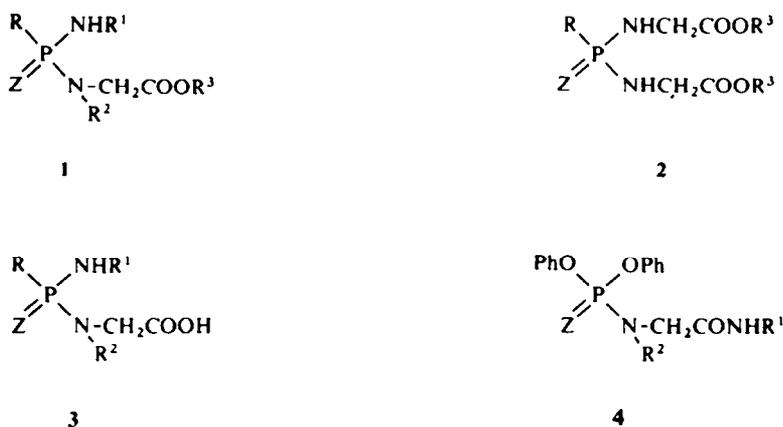


Fig. 1. Schéma de synthèse peptidique intramoléculeire



n° dérivé	Z	R	R ¹	R ²	R ³
1a	O	Ph	C ₆ H ₄ Me(p)	H	Bzl
b	O	Ph	C ₆ H ₄ Me(p)	H	Me
c	O	Ph	C ₆ H ₄ Me(p)	H	t-Bu
d	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	Bzl
e	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	Me
f	S	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	Bzl
g	S	(p)O ₂ NC ₆ H ₄ O	Bzl	H	Et
h	S	(p)O ₂ NC ₆ H ₄ O	Bzl	H	t-Bu
i	O	Ph	C ₆ H ₄ Me(p)	Ph	Me
j	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Ph	Me
k	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Me	Me
l	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Me	Et
2a	S	Ph	—	—	Et
b	S	PhO	—	—	Bzl
c	O	Me	—	—	Bzl
d	S	Me	—	—	Bzl
e	O	CHF ₂	—	—	Bzl
f	O	CHCl ₂	—	—	Bzl
g	O	(p)O ₂ NC ₆ H ₄	—	—	Bzl
3a	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Me	—
b	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Ph	—
c	S	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	—
4a	O	—	C ₆ H ₄ Me(p)	H	—
b	S	—	C ₆ H ₄ Me(p)	H	—
c	O	—	Bzl	H	—

Fig. 2. Phosphoramides modèles incorporant un ou deux résidus d'acide-amino.

R = Alk, Ar etc.; Z = O,S) apparaissent particulièrement appropriés*: la première étape peut être plus facile que dans le cas analogue ($X = (S)O = C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$) de

formation des hydantoïnes,^{14,15} les phosphoramides étant notablement basiques²⁵ (d'ailleurs, une cyclisation comparable, à partir de phosphordiamides et du chlorure d'oxalyle est décrite),^{23,26} la deuxième étape doit bien s'effectuer avec rupture de la liaison

$\begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix} P(Z)-N-CO-$: les N acylphosphoramides sont des agents de phosphorylation et non d'acylation,²⁷ et surtout, la réactivité du phosphore vis à vis des nucléophiles est considérablement augmentée lorsque celui-ci est inclus dans un cycle pentagonal.²⁸ Enfin, il reste possible de moduler la réactivité au niveau des sites *a* et *b*, soit directement par les effets électroniques des substituants R et Z, soit indirectement en introduisant dans R un groupe catalytique adéquat.

Dans le but de vérifier la validité des deux étapes de ce schéma, nous avons synthétisé divers modèles de A sous forme d'esters (Y = OR), 1 et 2,²⁹ ou d'acide (Y = OH) 3 ainsi que des diesters phéniliques phosphoriques d'amino-amides 4²⁹ (Fig. 2). Les composés sont des dérivés de la glycine (R² = H), de la sarcosine (R² = Me), et de la N-phénylglycine (R² = Ph); en effet, l'utilisation d'acides aminés optiquement actifs conduirait à la formation de deux diastéréoisomères (le phosphore étant assymétrique), ce qui compliquerait cette étude initiale.

Dans ce mémoire, nous décrivons d'abord (1), les propriétés des dérivés 1 et 2, en particulier leur transposition en milieu alcalin établissant globalement la validité des deux étapes du schéma; puis (2), la synthèse et la cyclisation des acides 3, vérifiant la première étape; puis (3), une réaction de cyclisation et d'ouverture du dérivé 4 *a* permettant de vérifier également la deuxième étape. Enfin, au vu de l'ensemble des résultats obtenus, nous discutons des principales limitations de cette nouvelle méthode de synthèse peptidique.

1-Propriétés des dérivés 1 et 2

Les essais de cyclisation, en milieu acide, des dérivés 1 et 2 se sont révélés négatifs. Les esters sont stables

* Les dérivés de l'acide carbonique sont exclus, les cycles correspondants à B, les hydantoïnes, étant ouverts par attaque nucléophile au niveau du carbonyle de l'acide aminé.^{14,15} Il en est de même pour les composés du cobalt¹⁶ avec lesquels en outre l'acide aminé se racémise.¹⁷ Les dérivés de l'acide sulfurique apparaissent peu favorables, l'aminolyse du tosyl pyroglutamate¹⁸, des dérivés de la saccharine,¹⁹ et de la N-tosyl méthoxylamine²⁰ s'effectuant avec rupture de la liaison $-SO_2-N-CO-$. Les dérivés du phosphore trivalent sont moins favorables que ceux du phosphore tétraédrique, en raison de la plus grande fragilité des liaisons P-N en présence d'acides carboxyliques,^{21,22} présents dans A, et du risque d'oxydation du phosphore. Les dérivés de l'acide oxalique peuvent être considérés: l'aminolyse des N phosphoryloxalamides s'effectuant avec rupture de la liaison

$COCO-N-P(O) \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ (23), il doit en être de même, à plus forte raison, avec les dérivés contenant le motif $-COCO-N-CO-$. Signalons, d'autre part, que Zervas et al.,²⁴ ont déjà préconisé l'emploi de dérivés tels que A mais uniquement pour assurer la protection simultanée de la fonction amine de deux acides aminés différents.

dans l'acide acétique, comme les phosphordiamides comparables.³⁰ Dans l'acide trifluoroacétique, on observe généralement (1*a*, *d*, *f*, *i*; 2*b*, *c*, *d*, *e*), à l'exception des dérivés 1*g* et 2*f* qui sont stables, uniquement la coupure des deux liaisons phosphore-azote: il n'y a donc pas, dans ces deux cas, de catalyse acide de la cyclisation comme dans les cas comparables^{15,31,32} des dérivés pour lesquels

$X = S=C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$, $O=C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$. L'acide bromhydrique dans l'acide acétique conduit, avec tous les dérivés symétriques 2, à l'isolement du bromhydrate de l'amino-ester, en accord avec les données de la littérature.³³ Qualitativement, la résistance à l'acidolyse est plus importante lorsque le substituant R est électroattracteur, lorsque l'hétéroatome Z est le soufre, et lorsque le voisinage immédiat du phosphore est encombré (influence des substituants R et R²).

Lorsqu'on cherche à promouvoir thermiquement la cyclisation des dérivés, en milieu aprotique, on n'observe généralement pas de réaction, sauf avec les dérivés de la N-phénylglycine (R² = Ph), ou en utilisant comme catalyseur le diazabicycloundécène (DBU)³⁴: les esters dérivés de la glycine et de la sarcosine, sont reconnus inchangés après chauffage au reflux (de 4h à 3 jours) dans des solvants tels que le THF, le toluène, la pyridine, le DMF, en absence (1*a*) mais aussi en présence de NEt₃ ou de diazabicyclooctane (DABCO) (1*a*, *g*, *k*, *l*; 2*c*, *d*, *e*), d'imidazole (1*a*; 2*e*), de phénate de sodium (1*d*), de bistriméthylsilylacétamide (BSA) (1*g*; 2*b*); par contre, les dérivés de la N-phénylglycine 1*i*, *j* conduisent respectivement aux cycles 5*a*, *b* le premier par simple chauffage au-dessus de son point de fusion, le second après reflux prolongé dans la triéthylamine; avec le DBU, le dérivé de la N-phénylglycine 1*j*, mais aussi celui de la sarcosine 1*k*, conduisent à un mélange de cycle et d'ester phosphorique (respectivement 5*b* + 6*a* et 5*c* + 6*b*) (Fig. 3) et après hydrolyse acide on isole les sels d'amino-amides correspondants 7*a*, *b*.

Après dissolution des esters 1 dans les alcools, et en présence de base adéquate (*vide infra*), on observe (Fig. 4) la formation des esters de transposition 6 et 8 suivant que le groupe R est déplacé (si R = C₆H₅O, p-ON₂C₆H₄O) ou pas (R = Alk, Ar).

L'examen des spectres IR (bande CO amide à 1640-1680 cm⁻¹) et ¹H RMN (signal à δ ~ 10 ppm (hydrogène de l'amide carboxylique) et ~ 3,6 ppm (doublet; ³J_{Pt,Me} ~ 12 Hz, lorsque la réaction est effectuée dans le méthanol) établit sans ambiguïté qu'il ne s'agit pas des esters de transesterification 1'. Dans le cas de l'ester 8*c* l'isolement du glycylo-luidamide 7*c* après saponification et acidification apporte une preuve supplémentaire de la transposition.

La transposition est fonction de la nature du substituant R² et de la force de la base utilisée: avec les dérivés de la N-phénylglycine, elle s'effectue quelle que soit la base utilisée (en particulier en présence de benzylamine); avec les dérivés de la sarcosine et de la glycine elle est observée en présence de méthylate ou de DBU mais pas en présence de NEt₃ (formation des esters 1'), ni d'ammoniac (ammonolyse), ni de soude (saponification conduisant aux acides 3). Cependant le dérivé 1*g* conduit, avec un faible rendement, au sel 9*b*, en présence de bicarbonate et au reflux du dioxanne aqueux.

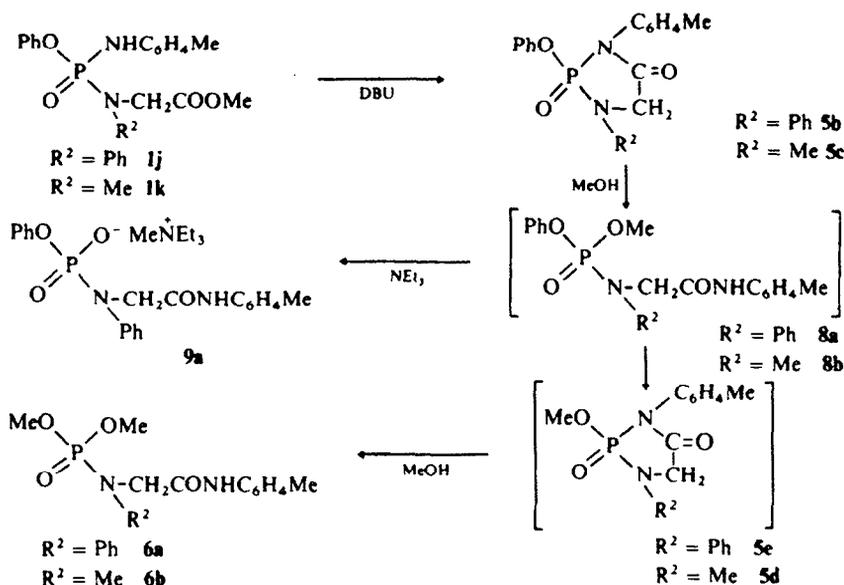


Fig. 3. Réactions des dérivés 1j, k

Avec les dérivés symétriques 2 il y a formation de dérivés dipeptidiques. Ainsi, avec les dérivés 2g (en présence de méthylate) et 2e (en présence de soude) il y a transposition, ce qui permet l'isolement final de diglycine 7d. Lorsqu'on opère avec le dérivé 2e en présence de benzylamine et de traces d'eau on isole le sel 9c (Fig. 5). En présence de DBU, avec le dérivé 2e mais aussi 2d, après plusieurs semaines, il y a formation de dioxopipérazine.

Les différents produits synthésés 6, 7, 8, 9 ainsi que leurs caractéristiques spectrales sont rassemblés dans les tableaux correspondants: 1,1'; 2,2'; 3,3'; 4,4'.

Plusieurs mécanismes rendant compte de la formation des esters 6 et 8 peuvent être envisagés.³⁵ Cependant, l'isolement ou la caractérisation des cycles 5 établit que la transposition observée résulte de la succession des deux étapes postulées dans le schéma, la seconde étant réalisée non pas avec une amine mais avec un alcool. La transestérification observée avec les dérivés 1 conduisant aux diesters 6 se produit certainement après les deux réactions précédentes comme le montre l'isolement du sel 9a résultant de l'alkylation de 8a (Fig. 3) et passe (*vide infra*: (3)) par la formation des cycles tels que 5d, e. De même la formation des différents produits 7d, 9c, dioxopipérazine, à partir de 2e (Fig. 5), est facilement expliquée par la double réaction initiale de cyclisation et d'ouverture avec rupture de la liaison $\text{P}(\text{O})-\text{N}-\text{HCH}_2-$

Les cycles dérivés du glycinamide sont extrêmement réactifs et ne peuvent être caractérisés intermédiairement, à la différence des cycles substitués ($\text{R}^2 = \text{Ph}, \text{Me}$). (Ceci a pu être vérifié ultérieurement avec les cycles isolés.³⁹) L'effet des substituants électroattracteurs, en particulier $\text{R} = \text{CHF}_2$ (Fig. 5), et la catalyse basique observée, montrent que la réaction passe par la formation préliminaire d'un phosphoramidure. La facile cyclisation des dérivés 1i, j peut être ainsi attribuée à leur plus grande acidité (diamide aromatique) plutôt qu'à la compression ou à l'inversion *trans* \rightarrow *cis*, non observée²⁹, de la liaison phosphoramidate, apportées par le groupe phényle (comparaison de la réactivité de 1j et 1k). L'absence de rupture de la liaison $\text{P}(\text{Z})-\text{N}-\text{HCH}_2-$, observée par ailleurs dans des conditions comparables³⁶⁻³⁸ peut être attribuée à la difficile protonation de l'azote de l'acide aminé inclus dans le cycle.³⁹

La formation du sel 9c (Fig. 5) et de l'ester 8e (Tableau 3) en présence de benzylamine montre que les cycles sont beaucoup plus facilement hydrolysés ou alcoolysés qu'aminolysés. (Ceci a pu être vérifié ultérieurement avec des cycles isolés³⁹). Dès lors le "couplage sur les sels"¹³ en milieu aqueux postulé dans l'étape 2) du schéma ne peut être effectué.

2-Préparation et cyclisation des acides 3

Au cours de la saponification ou, le cas échéant,

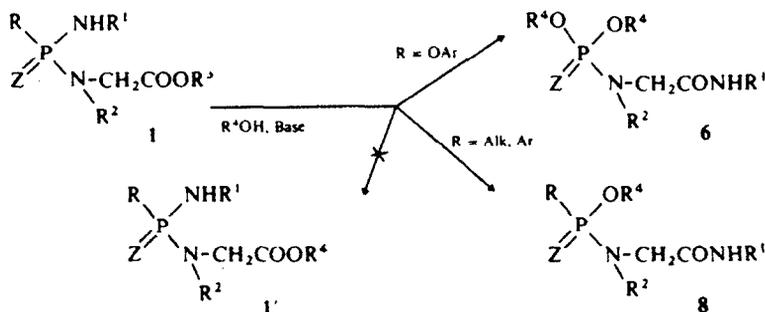
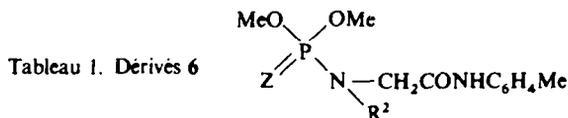


Fig. 4. Transposition des dérivés 1 en milieu alcoolique basique.



n°	Z	R ²	Conditions de la transposition	% Rdt	F °C (solvant de recrystallisation)	rf	Analyse
a	0	Ph	\underline{j} + DBU/MeOH	95	93-94 (MeOH-H ₂ O)	0,93	C ₁₇ H ₂₁ O ₄ N ₂ P
			\underline{j} + NaOH/MeOH-H ₂ O	21	"	"	"
b	0	Me	\underline{k} + DBU	30	huile	0,85	-
c	0	H	\underline{d} + MeONa/MeOH	54	127-128 (H ₂ O)	0,81	C ₁₁ H ₁₇ O ₄ N ₂ P
			\underline{e} + DBU/MeOH	70	"	"	"
d	S	H	\underline{f} + MeONa/MeOH	91	86-88 (MeOH-H ₂ O)	0,90	C ₁₁ H ₁₇ O ₃ N ₂ PS

l'hydrogénation des esters 1 et 2, la chromatographie sur couche mince de gel de silice, en milieu basique pour éviter la coupure des liaisons P-N acidolabiles, montre la formation intermédiaire des acides 3 (R_f ~ 0,5 pour les monoacides, et ~ 0,2 pour les diacides, dans le solvant utilisé). Ceux-ci sont beaucoup plus instables que les esters dont ils dérivent (par exemple, dans l'acide trifluoroacétique, l'acide formé à partir de 1h est dégradé alors que l'ester éthylique 1g est stable) et que les acides phosphoramidiques 10 correspondants, et ne peuvent généralement, pas être isolés en raison de leur décomposition rapide en acide aminé et en diacide phosphorique 11 (Fig. 6).

L'instabilité est moins prononcée lorsque les dérivés 3 sont sous forme anionique 3'. Les mêmes effets stabilisateurs, fonction des substituants R, Z et R², que dans le cas de l'acidolyse des esters (*vide supra*) sont observés. Les acides 3a, b, c, dérivés de 1i, j, f, peuvent être isolés, le dernier sous forme de sel de dicyclohexylammonium.

La saponification des esters 1i, j, 2e est en

compétition avec leur transposition, ce qui montre la facilité de celle-ci avec les dérivés de la N-phenylglycine et ceux pour lesquels R = CHF₂.

Les acides stables 3a, b conduisent facilement, en présence d'anhydride acétique dans la pyridine, aux cycles correspondants 5c, b vérifiant la première étape du schéma.

La fragilité des liaisons P-N en milieu acide est généralement interprétée par l'intervention d'un mécanisme en deux étapes: protonation de l'azote, puis déplacement de l'ammonium.⁴⁰ Les effets observés des substituants R et R² sur la stabilité des acides 3 et des esters 1 et 2 en milieu acide correspondent à un tel mécanisme: on observe bien une augmentation de la stabilité lorsque l'une et l'autre étape sont rendues plus difficiles: la première, par la diminution de la basicité des azotes (substituants R et R² électroattracteurs; cependant lorsque l'effet électronique est très important (R = CHF₂) l'accentuation de la polarité du phosphore, facilitant la deuxième étape, contrebalance la réduction de la

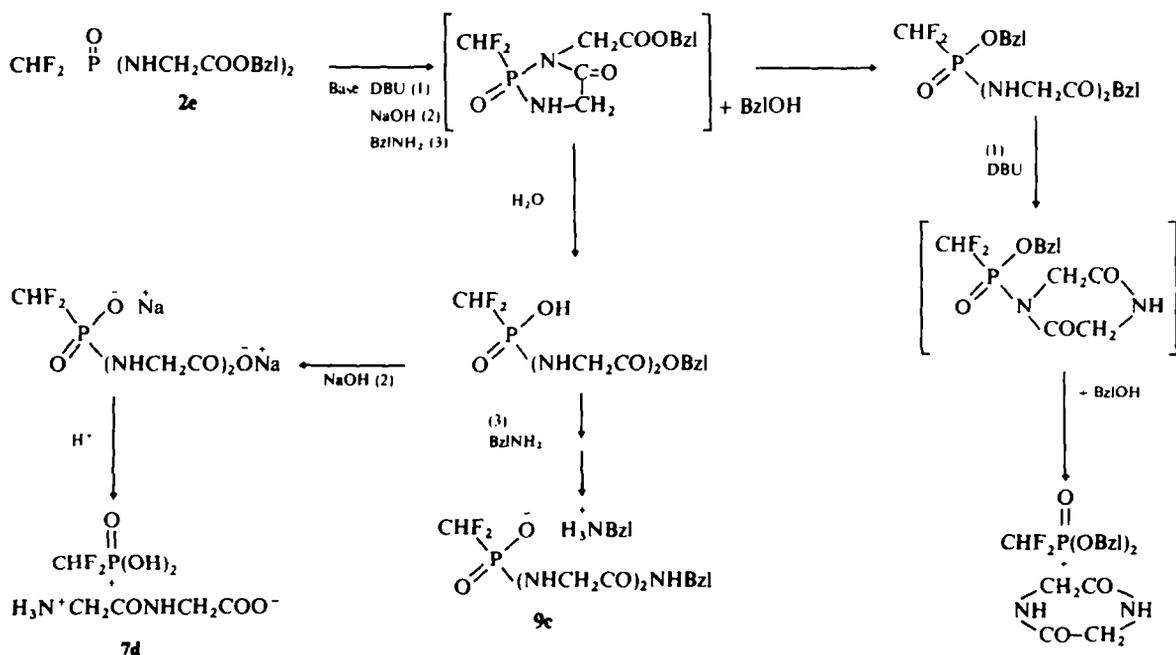


Fig. 5. Réactions du dérivé 2e.

Tableau I'. Dérivés 6: caractéristiques spectrales

n°	I.R.		¹ H RMN						Constantes de couplage en hertz		
	ν N-H en cm ⁻¹	ν C=O en cm ⁻¹	OMe	R ²	CH ₂	NH	C ₆ H ₄	OMe			
a	3260.	1680	CCl ₄	3,75(d)	7,4-7(mf)	4,25(d)	9,4(s)	7,3(qAB)	2,25(s)	2,25(s)	³ J _{AB} =8,5 ; ³ J _{PCH₂} =12 ; ³ J _{PCH₃} =12
b	3250	1645	CDCl ₃	3,75(d)	2,8(d)	3,5(d)	9,4(s)	7,25(qAB)	2,25(s)	2,25(s)	³ J _{AB} =8,5 ; ³ J _{PCH₂} =11 ; ³ J _{PCH₃} =11 ; ³ J _{PCH₃} =9
c	3380, 3260, 3100	1675	DMSOd ₆	3,6(d)	5,25(quin)	3,7(g)	9,8(s)	7,2(qAB)	2,25(s)	2,25(s)	³ J _{AB} =8,2 ; ³ J _{PCH₂} =11 ; ³ J _{PCH₃} =12 ; ² J _{PHCH₂} =12,3 ; ³ J _{PHCH₂} =7,3
d	3320	1675	DMSOd ₆	3,6(d)	5,7(quin)	3,6(q)	9,7(s)	7,3(qAB)	2,2(s)	2,2(s)	³ J _{AB} =8,5 ; ³ J _{PCH₂} =13 ; ³ J _{PCH₃} =13 ; ² J _{PHCH₂} =13 ; ³ J _{PHCH₂} =6,7

Tableau 2. Dérivés 7 R²NH₂CH₂CONHR¹X⁻

n°	R ²	R ¹	X Conditions de la synthèse	% Rdt	F °C (solvant de recristallisation)	rf	Analyse ou F °C (litt)
a	Ph	NHC ₆ H ₄ Me(p)	Cl acidolyse (HCl) de <u>5b</u>	84	185-188(EtOH-H ₂ O)	0,87	C ₁₅ H ₁₇ ON ₂ Cl
			acidolyse (HCl) de <u>5b</u> + <u>6a</u>	70	"	"	
b	Me	NHC ₆ H ₄ Me(p)	- acidolyse (HCl) de <u>5c</u> neutralisation et extraction (CHCl ₃) id <u>5b</u>	72	67-69(CHCl ₃ -hexane)	0,58	67-69 (52)
				85	"	"	
c	H	NHC ₆ H ₄ Me(p)	Cl saponification de <u>8c</u> puis acidolyse (ac. citrique)	87	202-205(MeOH-H ₂ O)	0,68	202-205 (52)
d ^a	H	NHCH ₂ COOH	Cl transposition (méthylate) de <u>3g</u> , saponification puis acidolyse (ac. citrique)	66	220 dec. sans fusion	0,27	220 dec. sans fusion (60)

^a : forme hydratée

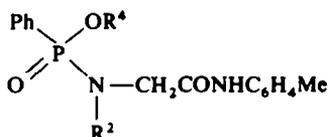
Tableau 2'. Dérivés 7: caractéristiques spectrales

n°	Solvant	¹ H RMN					
		R ²	H ₂ N ⁺	CH ₂	NH	C ₆ H ₄	Me
a ^a	DMSOd ₆	7,35(<u>s</u>)	9,85(<u>s</u>)	4,25(<u>s</u>)	10,8(<u>s</u>)	7,35(qAB) ^b	2,25(<u>s</u>)
b	CDCl ₃	2,45(<u>s</u>)	1,8(<u>s</u>)	3,3(<u>s</u>)	9(<u>s</u>)	7,3(gAB) ^b	2,3(<u>s</u>)
c	DMSOd ₆		8,2(<u>s</u>)	3,85(<u>s</u>)	9,2(<u>s</u>)	7,4(qAB) ^b	2,3(<u>s</u>)

a - IR : 3200, 3160 (NH), 2680, 2540 (H₂+), 1670 (C=O) cm⁻¹

b - ³J_{AB}=8,5.

Tableau 3. Dérivés 8



n°	R ²	R ⁴	Conditions de la transposition	% Rdt	F °C (solvant de recristallisation)	rf	Analyse
c	H	Me	<u>1 a, b, c</u> /MeOH + 1 eq. MeONa	95	160-161(MeOH-Et ₂ O)	0,82	C ₁₆ H ₁₉ O ₃ N ₂ P ^a
			<u>1 a</u> /MeOH + 1 eq. PhONa	85	"	"	
			<u>1 a</u> /MeOH + DBU cat.	95	"	"	
d	H	Et	<u>1 a</u> /EtOH + 1 eq. EtONa	85	130-131 ^a (MeOH-H ₂ O)	0,82	C ₁₇ H ₂₁ O ₃ N ₂ P ^a
e	Ph	Me	<u>1 i</u> /MeOH + 2,2 eq. BzI-NH ₂	92	115-118(AcOEt-cyclohexane)	0,90	C ₂₂ H ₂₃ O ₃ N ₂ P
			<u>1 i</u> /MeOH + 1,1 eq. NaOH aqueux	70	"	"	
			<u>1 i</u> /MeOH + DBU cat.	85	"	"	

a - une autre forme cristalline fond à 138-141°C (CHCl₃-hexane)

Tableau 3. Dérivés 8: caractéristiques spectrales

n°	[R δ N-H en cm ⁻¹ ; δ C=O en cm ⁻¹	¹ H RMN						Constantes de couplage en Hertz		
		δ signaux en p.p.m. (multiplicité)								
		solvant	CH ₂	OR ⁴	CMe	NH	C ₆ H ₄ + Ph	R ²		
c	3260, 3200, 3130, 3070	1680	CDCl ₃	3,8(g)	3,8(d)	2,35(s)	9,35(s)	7,88-7,4-7,1(mf)	6,55(sex)	² J _{PNHCH₂} = 10 ; ³ J _{PCH₂} = 12 ; ³ J _{POCH₃} = 12 ; ³ J _{NHCH₂} = 7
d	3320, 3280, 3210, 3180	1675	DMSO-d ₆	3,7(g)	4,1(hept, d+ irr 1,25):CH ₂ 1,25(t):CH ₃	2,25(s)	9,9(s)	7,95-7,6-7,15(mf)	5,25(sex)	² J _{PNCH₂} = 12 ; ³ J _{CH₂NH} = 6,8 ; ³ J _{PCH₂} = 12 ; ³ J _{POCH₂CH₃} = 8,5
e	3240, 3180, 3120, 3050	1685	DMSO-d ₆	4,5(d)	3,85(d)	2,2(s)	10,1(s)	7,9-7,45-7,15(mf)		³ J _{PCH₂} = 10 ; ³ J _{POCH₃} = 11
			CDCl ₃	4,3(oct)	3,7(d)	2,2(s)	9,4(s)	8,2-7,4-7,1(mf)		³ J _{POCH₃} = 12

basicité); la seconde, par diminution de la polarité du phosphore ($Z = S$), ou augmentation de la gêne stérique (substituants R^2 et R encombrants). (Ceci a également été noté dans un cas comparable par Ueki et Ikeda.⁴¹) La plus grande instabilité des acides **3**, comparée à celle des esters **1** et **2** ou des carboxylates $3'$ est sans doute due à une participation intramoléculaire du groupe carboxyle. On peut envisager deux hypothèses (Fig. 6): soit comme dans le cas de la créatinine,⁴² une protonation facilitée de l'azote de l'acide aminé (forme **12** conduisant à l'acide phosphoramidique **10**); soit, la formation intermédiaire d'un anhydride **13**, avec libération d'amine, puis d'un acide phosphoramidique dérivé de l'acide aminé **14**. En fait, la décomposition des acides **3** dérivés des esters non symétriques **1** montre une plus rapide libération d'acide aminé que de diacide phosphorique **11**, mais cette donnée qualitative ne permet pas d'exclure absolument la deuxième hypothèse, la sensibilité du réactif de révélation des amines étant plus importante que celle de celui du phosphore. Cependant, la stabilité de l'acide substitué **3a** ($R^2 = Me$), comparée à l'instabilité de celui dérivé de **1d** ($R^2 = H$), nous fait préférer la première hypothèse.

3-Réactions des diesters phosphoriques d' α amino amide **4**

Cosmatos *et al.*⁴³ puis Clark *et al.*⁴⁴ ont observé que l'hydrogénation ou la saponification du diester phénylique phosphorique du glycinate de benzyle conduit, avec libération de phénol, à la formation d'un cycle anhydride analogue aux cycles **5**. D'autre part, Merten et Weber⁴⁵ ont montré qu'une telle cyclisation pouvait être effectuée également avec un amide carboxylique. Nous avons donc synthétisé,²⁹ les dérivés **4** permettant d'accéder par cette voie aux cycles **5**.

En solution dans le THF et en présence de NEt_3 et de traces d'eau, le diester **4a** conduit, en quelques minutes, avec libération de phénol, au monoacide phosphorique isolé sous forme de son sel de dicyclohexylammonium **9d** (Fig. 7). Dans les mêmes conditions, les dérivés comparables, le diester phénylique du N-phosphorylbenzylamide⁴⁶ ainsi que **4b**, **c** sont stables. De même, en présence de benzylamine et de traces d'eau, le sel **9e** est formé. Le diester **4a** ne se cyclise pas en présence de BSA, alors

que les analogues silylés de **4** en série carbonylée sont cyclisés en hydantoïnes.⁴⁷

La formation des sels **9d**, **e** s'interprète au mieux par la cyclisation de **4a** en **5e** suivie de l'hydrolyse, plus facile que l'aminolyse comme vu précédemment, avec rupture de la liaison P(O)-NCO- . La formation

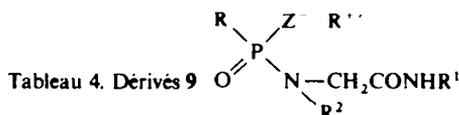
du cycle **5'** résultant de la O phosphorylation est moins probable, puisque dans des cas comparables c'est la N phosphorylation qui est décrite.⁴⁸⁻⁵¹ Ultérieurement, nous avons montré⁵² que les cycles **5** sont isolés lorsque le groupe partant est le chlorure et non le phénate.

DISCUSSION

Les résultats exposés ci-dessus établissent la validité des deux étapes du schéma proposé. Toutefois, son application pratique en synthèse peptidique se trouve actuellement limitée à la synthèse de dérivés dipeptidiques et d' α amino-amides, par la réaction, générale en présence de DBU, des dérivés **2** et **1** en milieu alcoolique, de préférence avec des substituants R du phosphore électroattracteurs.

La limitation principale du schéma provient de l'hydrolyse et de l'alcoolyse particulièrement aisées des cycles comparés à leur aminolyse (voir la synthèse de **9c**, **d**, **e** et **8e**). Dès lors, pour pouvoir réaliser celle-ci, on est conduit à préconiser l'utilisation d' α aminoesters, en milieu organique anhydre lors de la deuxième étape. Dans ce cas il est nécessaire d'éviter la réaction des cycles avec l'alcool libéré lors de l'étape suivante de cyclisation. Ceci peut être réalisé de deux façons: soit, comme pour la synthèse des cycles **5b**, **c** (Fig. 3) à partir de **1j**, **k**, en piégeant l'alcool par un réactif adéquat; soit en utilisant des esters libérant un alcool ne désactivant pas le cycle; tel est le cas en particulier des esters tertibutyliques,³⁹ avec lesquels la cyclisation reste possible, comme le montre la transposition de **1c** en **8c** (tableau 3).

Le schéma modifié avec l'emploi d' α amino-esters requiert une étape supplémentaire correspondant à la synthèse, il est vrai aisée, de ceux-ci; le nombre des étapes nécessaires pour assurer l'élongation d'une chaîne peptidique par un résidu d'acide est alors le même que celui des méthodes usuelles de synthèse peptidique, donc sans avantage particulier par rapport à celles-ci, d'autant que l'absence,



n°	Z	R	R ¹	R ²	R''	% Rdt	F °C (solvant de recristallisation)	rf	Analyse
a	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	Ph	MeNEt ₃	66	73-76 hydr. (AcOEt)	0,64	
b	S	(p)O ₂ NC ₆ H ₄ O	Bz1	H	H-DCHA	35	162-164 (MeOH-Et ₂ O)	0,79 (DCHA), 0,72	C ₂₇ H ₃₉ N ₄ O ₅ PS*
c	O	CHF ₂	CH ₂ CONHBz1	H	H ₃ NBz1	62	143-146 (CHCl ₃ -AcOEt)	0,77 (Bz1NH ₂), 0,53	C ₁₉ H ₂₃ O ₄ N ₄ PF ₂
d	O	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	H-DCHA	93	199-201 dec (MeOH-H ₂ O)	0,80 (DCHA), 0,65	C ₂₇ H ₄₀ O ₄ N ₃ P
e	U	PhO	C ₆ H ₄ Me(p)	H	H ₃ NBz1	88	165-168 (MeOH-THF)	0,85 (Bz1NH ₂), 0,63	C ₂₂ H ₂₆ O ₄ N ₃ P*

Tableau 4'. Dérivés 9: caractéristiques spectrales

n° solvant	¹ H RMN				Constantes de couplage en hertz	
	NHR	R	R ¹	R ²		CH ₂
δ signaux en p.p.m. (mul:iplicité)						
a ^a CDCl ₃	10,4(s)	7,45 - 7,2 - 7,05 (mf):H arom.	2,25(s):CH ₃	4,2(d)	3(g):CH ₂	³ J _{PCH₂CO} =11 ; ³ J _{CH₂CH₃} =7,3
					1(t):CH ₂ CH ₃	
					2,6(s):NCH ₃	
b ^b DMSOd ₆	masqué H arom. 8,2-8,05-6,8-6,6(mf)	7,3(s):C ₆ H ₅ 4,3(d):CH ₃	4,55(quin):	3,65(g)	7,85(mf):NH ₂ 2,9(mf):CH 1,9-1,65-1,2 (mf):CH ₂	² J _{PNHCH₂} =10,5 ; ³ J _{NHCH₂CO} =6,7 ; ³ J _{NHCH₂Ph} =6 ; ³ J _{PCH₂CO} =12
c ^c CDCl ₃	masqué H arom. 6,2-8-6,75-6,6(mf)	7,25(s) 4,4(d)		3,7(d)	7,55(mf) 2,9(mf) 1,9-1,7-1,3(mf)	³ J _{PCH₂CO} =13 ; ³ J _{NHCH₂Ph} =6
d ^c DMSOd ₆	8,9(t)	5,7(sex)	4,25(d,s+D ₂ O):CH ₂ Ph 7,25(mf):C ₆ H ₅ 3,75(d,s+D ₂ O):CH ₂ CO	4,8(mf)	3,5(g,d +D ₂ O) 4,05(s):CH ₂ 7,4(s):C ₆ H ₅	³ J _{NHCH₂CO} =6,3 ; ³ J _{NHCH₂Ph} =6,3 ; ³ J _{PCH₂CO} =12 ; ² J _{PCH₂Ph} =49
e ^d CDCl ₃	9,5(s)	7,75(s)	7,2(qAB):C ₆ H ₄ 2,2(s):CH ₃	3,3(mf)	8,6(mf):NH ₃ 2,9(mf):CH 2,1-1,6-1,25 (mf):CH ₂	³ J _{PCH₂CO} =12 ; ³ J _{NHCH₂} =6,7 ; ³ J _{AB} =8,5
f ^d DMSOd ₆	10,4(s)	7,2(s)	7,25(qAB):C ₆ H ₄ 2,2(s):CH ₃	3,5(d)	7,5(mf):NH ₃ 3,9(s):CH ₂ 7,35(s):C ₆ H ₅	³ J _{PCH₂CO} =12 ; ³ J _{AB} =8,5

a - IR 3340,3220 (N-H), 1675 (C=O) cm⁻¹ ; b - IR 3390, 3330 (N-H), 2340, 2260 (NH₂), 1640 (C=O) cm⁻¹c - IR 3310-3220 (N-H), 1670, 1640 (C=O), 1200 (P=O) cm⁻¹

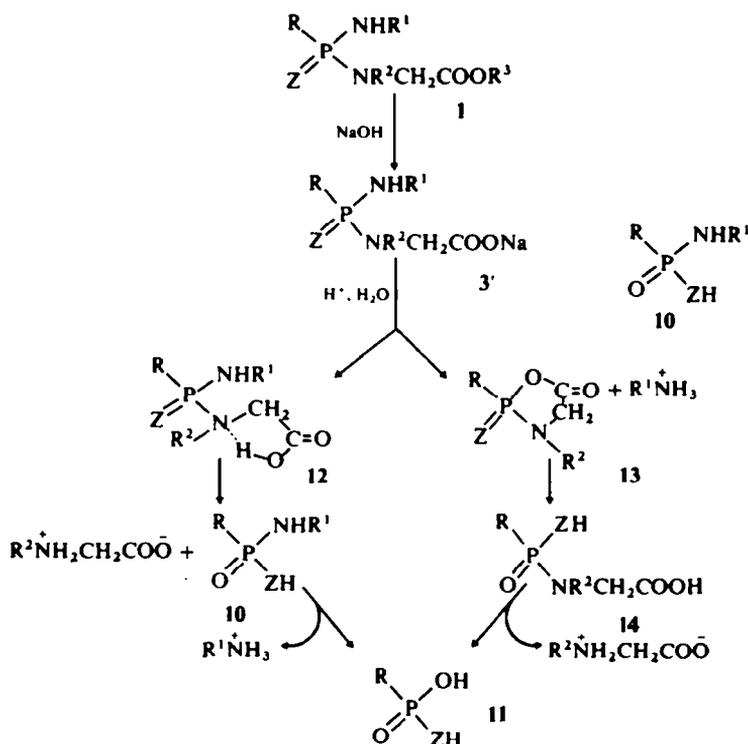


Fig. 6. Synthèse et voies de décomposition des acides 3.

raisonnable, de racémisation au cours de ces réactions reste à démontrer.

Est-il possible d'obtenir un rapport aminolyse/hydrolyse des cycles suffisamment important pour éviter d'avoir à appliquer le schéma avec des amino-esters? La trop facile hydrolyse ou alcoolyse des cycles est observée avec les différents substituants $\text{R} = \text{Ph}, \text{OPh}, \text{CHF}_2$ et l'étude de la réactivité des cycles isolés³⁹ confirme qu'il n'est pas possible de jouer sur les effets électroniques des substituants R et Z pour favoriser l'aminolyse: dans l'optique de la stratégie adoptée, il convient d'examiner les possibilités de catalyse intramoléculaire de l'aminolyse des cycles.

Les études que nous avons effectuées de la réactivité des cycles 5³⁹ et de cycles voisins,^{23, 53} montrent que l'absence d'aminolyse est un phénomène général dans les réactions de substitution nucléophile sur le phosphore s'effectuant par un mécanisme d'addition-élimination. D'autre part, celui-ci n'intervient probablement pas lorsque le phosphore est inclus dans un cycle hexagonal,⁵⁴ le mécanisme étant alors du type $\text{S}_{\text{N}}2$ comme pour les dérivés acycliques; en outre il a été montré récemment qu'avec les N acylphosphoramides acycliques,⁵⁵ le rapport aminolyse/alcoolyse est particulièrement élevé: dès lors, il est raisonnable de prévoir, les cycles hexagonaux étant intrinsèque-

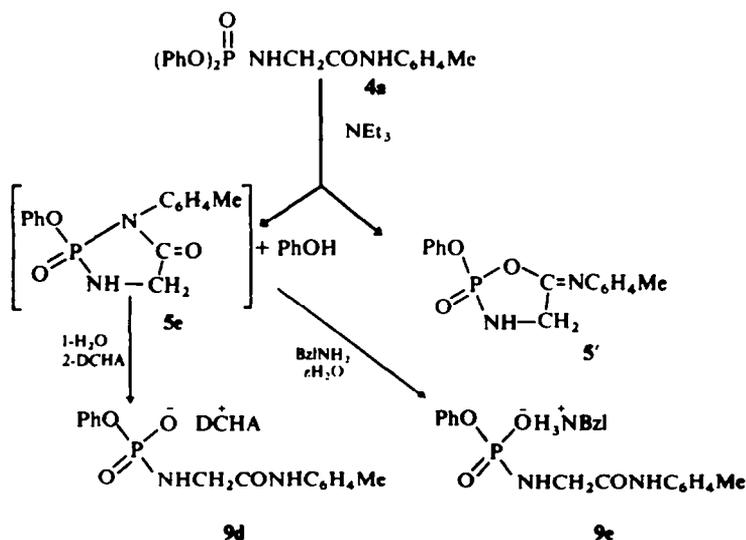


Fig. 7. Réactions du dérivé 4a.

ment plus stables que les pentagonaux, qu'un substituant tel que $R = MeNHCO(CH_2)_3$ permette l'aminolyse en milieu aqueux. D'autres possibilités de catalyse intramoléculaire, électrophile et nucléophile, peuvent être envisagées.⁵⁶

Une autre limitation importante à l'utilisation aisée du schéma résulte de l'instabilité des acides 3 dérivés de la glycine. Cette limitation apparaît cependant moins sévère que la précédente et peut être tournée (a) ou minimisée (b): (a) il est en effet possible d'utiliser les esters stables correspondants et de les cycliser en présence de DBU, en évitant comme vu plus haut la désactivation du cycle; (b) les effets observés des substituants R et Z du phosphore montrent qu'il est possible de stabiliser les acides lorsque le substituant R est fortement électro attracteur et lorsque l'hétéroatome Z est le soufre. En outre, pour être opératoire (suivant le mécanisme proposé; Fig. 6), la décomposition des acides, nécessite la présence d'eau dans le milieu; ceci peut être évité par exemple en utilisant lors de l'étape 2) des sels d'ammonium adéquats d'acides aminés, solubles en milieu organique.^{57,58} Enfin, parmi les nombreuses méthodes connues d'activation des carboxyles⁵⁹, on peut sélectionner pour effectuer la cyclisation celles qui à la fois préservent les liaisons phosphore-azote labiles (activation à partir des carboxylates 3'), et ne génèrent pas d'entités nucléophiles désactivant le cycle.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les points de fusion ne sont pas corrigés. La chromatographie analytique est effectuée sur couche mince de gel de silice 60 sans indicateur fluorescent (Merck), à l'aide du mélange éluant: *n* butanol/éthanol/ammoniaque concentrée (*d* = 0,90)/eau (4/4/1/1; *v/v*). La révélation est assurée par pulvérisation des trois réactifs suivants employés successivement: ninhydrine en solution acétonique à 0,1% (amines, phosphoramides basiques ou possédant en α une fonction carboxyle); chlore.⁶¹ tolidine,⁶² (amides); acide molybdique-H₂SO₃ (phosphore). Les spectres IR sont pris à l'aide des appareils Perkin-Elmer 257 ou Beckman Acculab 4, les produits étant en suspension dans le Nujol (solides) ou sous forme de film (liquides), en utilisant des fenêtres en NaCl ou CaF₂. Les spectres de ¹H RMN sont pris à des concentrations ~0,4 M à l'aide des appareils Jéol G 60 H, Perkin-Elmer 60 MHz ou 90 MHz (R 32) ou Bruker 90 MHz. En cas de massifs (*mf*) ou de multiplets (*m*) non symétriques, les valeurs indiquées des déplacements chimiques correspondent à celles des pics de plus grande intensité. Lorsqu'une formule moléculaire explicite est indiquée, les valeurs trouvées dans l'analyse élémentaire en C, H, N, P (et le cas échéant X ou S) correspondent à celles de la formule, à $\pm 0,2\%$, près lorsqu'elle est affectée en exposant d'un astérisque. Les valeurs détaillées des analyses centésimales étaient jointes au manuscrit et ont été contrôlées par un rapporteur.

1—Réactions des esters I et 2

(1) En milieu aprotique

(a) *Sans base*: 100 mg (0,25 mmol) de Ii sont chauffés à 140°C. Après 15 min 5a cristallise. Après 50 min, on récupère le masse sèche (90 mg; rdt quantitatif); F 230°C, 235–237°C après recristallisation dans le DMF; *R_f* = 0,75; IR: pas de bande N-H, 1720 (C=O)cm⁻¹; RMN (DMSO *d*₆) δ : 7,5–7,2–6,8 (*mf*, 2C₆H₅ + C₆H₄), 4,15 (*quint*. ABX^{3,2}); A:q, B:s, CH₂), 2,3 (s, CH₃); analyse *C₂₁H₁₉O₂N₂P.

(b) *En présence de NEt₃*. α -Après 8 min de chauffage d'une solution de Ii dans la NEt₃, 5a cristallise quantitativement. β -

Une solution de 670 mg (1,6 mmol) de Ij dans 10 cm³ d'un mélange 1/1 de CHCl₃ et de NEt₃ est chauffée au reflux. Les spectres IR et ¹H RMN du résidu obtenu par concentration à sec de la solution montrent la formation du cycle 5b (55% après 15 h, 100% après 30 h) ayant les mêmes caractéristiques que le produit obtenu par cyclisation de l'acide 3b (II, 2). Après hydrolyse acide on isole 7a (III, 2a.)

(c) *En présence de DBU*. α -Une solution dans 20 cm³ de toluène de 410 mg (1 mmol.) de Ij et 10 mg de DBU est chauffée 2 h 30 min au reflux et concentrée à sec. Le spectre IR du résidu montre la disparition de la bande carbonyle à 1750 cm⁻¹ (Ij) et la présence de deux autres bandes à 1730 (5b) et 1690 (6a) cm⁻¹. Après dissolution dans 40 cm³ de CHCl₃, extraction avec une solution d'acide citrique 10% (2 \times 20 cm³), lavages à l'eau distillée (3 \times 20 cm³), séchage (Na₂SO₄) et concentration à sec on obtient 330 mg d'un mélange 3/1 (RMN) de 5b et 6a. Après hydrolyse acide on isole 7a (III, 2b).

β -Une solution dans 20 cm³ de toluène de 260 mg (0,75 mmol.) de Ik est chauffée 20 h au reflux en présence de 10 mg puis de 50 mg de DBU. On concentre à sec; le spectre IR du résidu montre d'abord l'absence de réaction puis une réaction partielle (bandes carbonyles à 1750, 1730, 1650 cm⁻¹ correspondant respectivement à Ik, 5c et 6b). Le résidu est dissout dans 25 cm³ de CH₂Cl₂ et la phase organique est extraite avec une solution d'acide citrique 10% (5 \times 10 cm³) puis séchée (Na₂SO₄). Le spectre ¹H RMN du résidu obtenu par concentration à sec montre la présence des esters Ik et 6b (rapport 5/1). La réaction de Ik dans le DBU (22 h à 100°C) conduit uniquement à l'isolement de 6b, le spectre IR du résidu réactionnel montrant la formation de 5c et 6b (rapport 2/1). Après hydrolyse acide on isole 7b (III, 2).

γ -250 mg (0,62 mmol.) de 2d et 100 mg de DBU sont dissous dans 0,5 cm³ de DMSO. Après 2 semaines à 70°C, le surnageant noir est éliminé et le précipité de dioxopipérazine apparaît après 5 jours est rincé plusieurs fois à l'acétone: 55 mg (rdt 79%); F 320°C déc. (échantillon authentique: 315°C déc.); IR: 3310, 3195, 3020 (N-H), 1680–1690 (C=O)cm⁻¹, identique à un échantillon authentique; RMN (D₂O) δ : 4 (s, CH₂).

δ -De même, à partir de 100 mg de 2e et 10 mg de DBU, on isole après 3 semaines 74% de dioxopipérazine.

(2) *En milieu alcoolique ou(e)t aqueux*.

(a) En présence d'ammoniac, voir ref 29: (ammonolyse de 1d).

(b) En présence de benzylamine: α -à une solution dans 7 cm³ de MeOH, de 400 mg (1 mmol.) de Ii, on ajoute 0,24 cm³ (2,2 mmol) de benzylamine. Après 5 mn on note la cristallisation de 5a (IR). Après 1 h la solution obtenue est concentrée à sec. Le résidu est trituré dans une solution d'acide citrique 10%, le surnageant est éliminé et l'ester 8e est cristallisé.

β -213 mg (0,5 mmol) de 2e sont dissous dans un mélange de 0,2 cm³ (1,1 mmol) de benzylamine et de 0,5 cm³ d'éthanol. Le chromatogramme montre la formation du sel 9c dans le rapport 1/1 avec 2e après 1 h. Après 24 h, la solution est concentrée à sec et le sel 9c est cristallisé.

(c) En présence de triéthylamine: α -à une solution dans 5 cm³ de MeOH, de 410 mg (1 mmol) de If, on ajoute 1,2 cm³ de NEt₃. Le chromatogramme montre la formation après 5 min, de 2 produits de *R_f* 0,89 (diester mixte de transposition 8a) et 0,64 (9a, majoritaire). Après 4 jours, la solution est concentrée à sec, et le résidu est dissout dans 10 cm³ d'eau. La solution est filtrée du léger précipité, le filtrat est concentré à sec et le sel 9a est cristallisé.

β -Réaction de 1a: transesterification²⁹ conduisant à 1b.

γ -Réaction de 1d: transesterification²⁹ conduisant à 1e.

(d) En présence de DBU: α -à une solution dans 5 cm³ de MeOH de 410 mg (1 mmol) de Ij, on ajoute 40 mg de DBU. Après 4 jours, la solution est concentrée à sec, le résidu est trituré dans une solution d'acide citrique 10% et 6a est cristallisé.

β -De même, à partir de 400 mg de Ii et 10 mg de DBU on isole après 3 h, 8e.

γ -De même, à partir de 370 mg de **1e** et 100 mg de DBU, on isole après 1 mois 1/2 **6c** (après 5 jours, il reste 75% de l'ester **1e** ($C=O$ à 1750 cm^{-1}) n'ayant pas réagi).

(e) En présence de soude hydrométhanolique α -à une solution dans 5 cm^3 de MeOH de 200 mg (0,5 mmol) de **1i** on ajoute $0,55\text{ cm}^3$ de NaOH 1N: immédiatement **5a** (IR) cristallise. Après addition de 20 cm^3 de MeOH et léger chauffage quelques minutes, on obtient une solution. Celle-ci est concentrée à sec, le résidu est trituré dans l'eau, le surnageant est éliminé et l'ester **8e** est cristallisé.

β -A une solution dans 10 cm^3 de MeOH de 820 mg (2 mmol) de **1j** on ajoute, sous agitation, $2,2\text{ cm}^3$ de NaOH 1 N. Après 15 mn, la solution est concentrée à sec, et le résidu est repris par 25 cm^3 d'eau. Le chromatogramme montre la présence de **6a** et **3b**. La phase aqueuse alcaline est extraite au CHCl_3 ($3 \times 15\text{ cm}^3$). La phase organique est extraite avec une solution d'acide citrique 10% ($2 \times 15\text{ cm}^3$) séchée (Na_2SO_4) et concentrée à sec: on obtient 170 mg d'un mélange de **6a** et de phénol. La phase aqueuse alcaline est acidifiée jusque pH 2 avec la solution acide précédente et extraite au CHCl_3 , ($3 \times 15\text{ cm}^3$), puis à l'eau distillée ($3 \times 15\text{ cm}^3$). L'extract chloroformique est séché (Na_2SO_4) puis concentré à sec: on obtient 0,45 g d'acide **3b** de $R_f = 0,70$ (avec un léger contaminant de $R_f = 0,87$); IR: 3400 (COOH), 2940, 1740 ($C=O$) cm^{-1} ; RMN (CCl_4) δ : 9,8 (s, COOH), 7,2-7,05-6,85 (mf, 2 $\text{C}_6\text{H}_5 + \text{C}_6\text{H}_4$), 4,15 (d, $^3J_{\text{PCH}_2} = 10$, CH_2), 2,2 (s, CH_3). Lorsqu'on opère la saponification dans un mélange MeOH/NaOH 1 N 40/2 (v/v), on isole 0,36 g d'ester et 0,2 g d'acide.

γ -A une solution dans 40 cm^3 d'EtOH de 2,34 g (6,45 mmol) de **1l**, on ajoute 7 cm^3 de NaOH 1 N. Après 5 min le mélange réactionnel est concentré à sec et le résidu est redissout dans 60 cm^3 d'eau. Après extractions au CHCl_3 ($2 \times 30\text{ cm}^3$), la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 2,5 avec de l'acide citrique 10% et extraite au CHCl_3 ($3 \times 30\text{ cm}^3$). L'extract obtenu est concentré à sec: après trituration du résidu dans quelques cm^3 d'eau, l'acide **3a** cristallise: 1,85 g (rdt 86%); F 110-113°C; IR: 3290 (N-H), 2600, 2520 (OH), 1730 (CO) cm^{-1} ; RMN (CDCl_3) δ : 10,05 (s, COOH), 7,2 + 7 (2s, $\text{C}_6\text{H}_5 + \text{C}_6\text{H}_4$), 6,45 (d, $^2J_{\text{PNH}} = 9$, NH), 3,8 (d, $^3J_{\text{PCH}_2} = 12,7$, CH_2), 2,75 (d, $^3J_{\text{PNCH}_3} = 10$, NCH_3), 2,2 (s, CCH_3); RMN (CDCl_3 c = 0,1 M) δ : 8,8 (s), 7,2 + 7 (2s), 6,2 (d), 3,8 (oct. ABX), 2,8 (d), 2,2 (s); l'irradiation à 2,8 ou 8,8 ppm de la solution dégazée est sans effet sur le reste du spectre; analyse: $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}_2\text{P}$. L'acidolyse de **3a** dans un mélange dioxanne-HCl 12 N est terminée en moins de 5 min et montre la libération de sarcosine (R_f 0,09), de monophénylphosphate **11** (R_f 0,107) et de paratoluidine (R_f 0,77).

δ -A une solution dans 3 cm^3 de MeOH de 213 mg (0,5 mmol) de **2e**, on ajoute $0,5\text{ cm}^3$ de NaOH 1 N puis, après 5 min, de nouveau $0,5\text{ cm}^3$ de NaOH. Le chromatogramme montre d'abord la formation d'un produit P^- de R_f 0,53 (**9**: $\text{F}_2\text{CHP}(\text{O})(\text{ONa})\text{Gly}_2\text{OBzl}$) avec une légère libération de glycine (R_f 0,16), puis d'un autre produit P^- de R_f = 0,22 (**9**: $\text{CHF}_2\text{P}(\text{O})(\text{ONa})\text{GlyONa}$). Après addition d'HCl 1 N il y a libération d'un produit P^+ de R_f 0,03 (**11**: $\text{CHF}_2(\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2)$ et de diglycine (R_f = 0,27) qui est isolée sous forme de chlorhydrate hydraté (voir 12)g θ).

ϵ -A une solution dans 5 cm^3 de dioxanne de 128 mg (0,3 mmol) de **1f**, on ajoute $0,33\text{ cm}^3$ de NaOH 1 N: **1f** précipite sous forme d'huile. Après 3 h d'agitation (dissolution) le chromatogramme montre la formation de l'acide **3c** ($r_f = 0,60$) à côté d'une faible quantité de **1f**. Après avoir concentré la solution, on ajoute $0,1\text{ cm}^3$ (0,5 mmol), de DCHA puis $0,85\text{ cm}^3$ (0,4 mmol) d'une solution d'acide citrique 10%: le sel de DCHA de l'acide **3c** cristallise, après trituration dans l'eau. On obtient ainsi 80 mg (rdt 58%) de produit de F 172 175°C déc. après deux recristallisations dans les mélanges MeOH-Et₂O et MeOH-H₂O. Analyse: $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{N}_3\text{PS}$. Les prises d'essais pour la chromatographie montrent la libération de glycine seulement lorsqu'elles ont été laissées sur les plaques de gel de silice plus de 30 mn avant le développement.

(f) En présence de bicarbonate: A 4,9 g (10 mmol) de **1g** et 3 g de NaHCO_3 , on ajoute 10 cm^3 d'eau et 20 cm^3 de dioxanne. La suspension est chauffée au reflux 2 h sous agitation magnétique. La solution orange obtenue est concentrée et on rajoute 2 cm^3 (10 mmol) de DCHA, 30 cm^3 d'eau et de l'acide citrique pour amener le pH à 2-3; on élimine le surnageant de l'huile grise qui a précipité; celle-ci est dissoute dans du MeOH et la solution est concentrée à sec (3 fois). Finalement le résidu est dissout dans quelques cm^3 de MeOH; après addition de 90 cm^3 d'Et₂O, on obtient 3,55 g de sel **9b**, brut, F 140 145°C, puis 2 g de F 157 161°C, après cristallisation dans un mélange MeOH-H₂O; pour l'analyse le produit fut recristallisé dans un mélange MeOH-Et₂O.

(g) En présence d'alcoolate.

α -A une solution de 318 mg (1 mmol) de **1b** dans 2 cm^3 de MeOH, on ajoute 1 cm^3 d'une solution de MeONa 1 N dans le MeOH. Le chromatogramme montre que **8c** est formé en moins de 10 min. Le produit est cristallisé, après neutralisation avec 1 cm^3 d'HCl 1 N, et concentration à sec de la solution.

β -De même **8c** est isolé à partir de **1a**.

γ -De même **8c** est isolé à partir de **1c**, après 15 h de réaction. Nous avons vérifié par chromatographie que dans les conditions de la réaction Gly-OBu' est stable.

δ -De même en opérant dans le MeOH en présence de **1e** eq. de PhONa, PhOH et Gly OBu' **8c** est isolé après 40 h à partir de **1a**.

ϵ -De même en opérant en présence d'éthylate de sodium à partir de **1a**, on isole l'ester éthylique **8d**.

ζ -De même à partir de **1d**, on isole après 15 h le diester méthylique **6c** qui est relativement soluble dans l'eau. Le chromatogramme montre ~80% de réaction après 1 h.

η -De même à partir de **1f**, on isole après 24 h le diester **6d**.

θ -A une solution dans 2 cm^3 de MeOH de 248 mg (0,5 mmol) de **2g**, on ajoute $0,5\text{ cm}^3$ d'une solution de MeONa 1 N dans le MeOH. Le chromatogramme montre la formation en moins de 5 min d'un seul produit P^+ de R_f 0,52 (**8**: $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{P}(\text{O})(\text{OMe})\text{Gly}_2\text{OMe}$). Après 2 h, on ajoute $0,6\text{ cm}^3$ de NaOH 1 N. Le chromatogramme montre la conversion (50% après 30 mn, 100% après 15 h) du produit précédent en un produit P^+ de R_f 0,33 (**9**: $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{P}(\text{O})(\text{ONa})\text{Gly}_2\text{ONa}$). La solution est concentrée et acidifiée avec une solution d'acide citrique à 10%. Les chromatogrammes dans le mélange usuel et dans le mélange nBuOH, AcOH, NH₄OH diluée (H₂O/NH₄OH concentrée: 4/1) (11/6/3/; v/v) montrent la formation de diglycine **7d** (R_f 0,27 et 0,37) et de $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, **11** (R_f = 0,15 et 0,71). Après concentration à sec et addition de 3 cm^3 d'HCl 12 N la diglycine est isolée suivant Fischer et Fourneau.⁶⁰

(3) En milieu acide anhydre.

(a) 100 mg (0,235 mM) de **2e** sont dissous dans 3 cm^3 de CF_3COOH . Après 2 h, on concentre à sec, reprend par 5 cm^3 d'Et₂O et reconcentre à sec (3 fois). Le résidu cristallisé de Gly-OBzl· CF_3COOH est essoré et rincé abondamment à l'Et₂O: 94 mg (Rdt 72%); F 110-112°C; R_f = 0,75 (Nin +, P-); RMN (CDCl_3) δ 8,5 (s, NH_3^+), 7,2 (s, C_6H_5), 5,1 (s, CH_2Ph), 3,8 (s, CH_2CO).

(b) A une solution dans 2 cm^3 d'AcOH de 460 mg (1 mmol) de **2f**, on ajoute 0,285 cm^3 (2,2 mmol) d'une solution à 45% d'HBr/AcOH. Après 20 mn le mélange réactionnel est pris en masse. On essore le précipité de Gly-OBzl-HBr et le rince avec de l'Et₂O: 301 mg (rdt 66%); F 152-153°C; R_f = 0,70; IR 2680, 2610 (NH_3^+), 1760 ($C=O$) cm^{-1} ; RMN (DMSO-d_6) δ 8,4 (s, 0 avec D_2O , NH_3^+), 7,4 (s, C_6H_5), 5,25 (s, CH_2Ph), 3,9 (s, CH_2CO).

II—Cyclisation des acides **3a**, **b**

(1) A une solution dans 3 cm^3 de pyridine de 167 mg (0,5 mM) de **3a**, on ajoute $0,2\text{ cm}^3$ de Ac_2O . Après 24 h la solution est concentrée à sec et le résidu est repris par 25 cm^3 de CHCl_3 . La solution est lavée très rapidement à l'eau froide ($2 \times 20\text{ cm}^3$) et séchée (Na_2SO_4) puis concentrée à sec. On isole 140 mg (Rdt 88%) de **5c**: F 118-120°C (Et₂O) (lit⁵², F 121-122°C); R_f 0,65; IR: 1730 ($C=O$) cm^{-1} ; RMN (CDCl_3)

δ 7,3 (mf, $C_6H_5 + C_6H_4$), 3,8 (d, ${}^3J_{\text{PCH}_2} = 10, \text{CH}_2$), 2,9 (d, ${}^3J_{\text{PNCH}_2} = 11, \text{NCH}_3$), 2,45 (s, CCH_3). Par contre, après 15 h de réaction de 3a avec 1,1 eq. de DCC dans le THF, le cycle 5c n'est pas formé (0,6 eq. de DCHU et IR: 3200 (N-H), 1820, 1760 (C=O anhydride) cm^{-1}).

(2) De même, à partir de 0,45 g (1,1 mmol) de 3b brut, on isole 0,22 g de 5b; F 158–160°C (toluène); $R_f = 0,80$; IR 1735 (C=O) cm^{-1} ; RMN (CDCl_3) δ 7,25–7,1–6,7 (mf, 2 $C_6H_5 + C_6H_4$), 4,5 (quint ABX: A = q, B = s, CH_2), 2,3 (s, CH_3); analyse $C_{21}H_{19}O_3N_2P$.

III—Synthèse des α amino-amides 7 à partir des esters de transposition 6 et 8

(1) *Acidolyse après saponification.* A une solution de 318 mg (1 mmol) de 8c dans 2 cm^3 de MeOH, on ajoute 1,5 cm^3 de NaOH 1 N. Le chromatogramme montre la formation, achevée après 15 h, d'un seul produit P' de R_f 0,60, 9, (PhP(O)(ONa)Gly-NHC $_6$ H $_4$ Me). La solution est filtrée et acidifiée jusque pH 2 avec une solution d'acide citrique à 10%. Le chromatogramme montre la formation, achevée en 10 min, de deux produits de R_f 0,68 (Nin+, P+ : 7c) et R_f 0 (P+, II: PhP(O)(OH) $_2$). La solution est alcalinisée jusque pH 10, diluée, et extraite à l'AcOEt. La phase organique est rincée à l'eau distillée, séchée (MgSO_4) et concentrée. Après addition d'HCl méthanolique et d'Et $_2$ O, 7c cristallise.

(2) *Acidolyse directe.*

(a) 0,6 g (1,6 mmol) de 5b sont dissous dans 8 cm^3 d'un mélange 3/1 de dioxanne et d'HCl 1 N. Après 4 h, la solution est concentrée à sec, diluée avec 20 cm^3 d'eau et alcalinisée jusque pH 13 et extraite au CHCl_3 (3 \times 20 cm^3); 7a est cristallisé comme ci dessus.

(b) De même, 7a est isolé à partir d'un mélange de 5b et de 6a.

(c) De même, 7b est isolé à partir de 6b, après concentration à sec de l'extrait chloroformique.

IV—Synthèse des sels 9d, e

Une suspension de 396 mg (1 mmol) de 4a dans 8 cm^3 de THF est laissée sous agitation pendant 15 mn en présence de 0,35 cm^3 de NEt_3 . On ajoute quelques gouttes d'eau: Immédiatement 4a se dissout; le chromatogramme montre la formation d'un seul produit de $R_f = 0,62$. La solution est concentrée (forte odeur de phénol). Après addition de 0,2 cm^3 de DCHA et de 10 cm^3 d'Et $_2$ O, 9d cristallise.

De même, après addition de 1,1 eq. de BzNH_2 , 9e est isolé. 9e qui précipite dans le mélange réactionnel de 1 mmol de 4a, de 1,1 mmol de BzNH_2 et de 5 mmol de NEt_3 dans 15 cm^3 de THF est isolé (Rdt 64%) par essorage après 2 h de réaction.

Remerciements—Nous remercions Monsieur J. Savrda pour de fructueuses discussions, pour les spectres de ${}^1\text{H}$ RMN pris sur l'appareil Perkin-Elmer 60 MHz et l'aide apportée dans leur interprétation, ainsi que Messieurs les Professeurs A. J. Kirby et B. Castro et Monsieur P. Milliet, pour de fructueuses discussions, Madame J. Sainton et Monsieur D. Rouselle pour les spectres de ${}^1\text{H}$ RMN pris sur les appareils Jéol G 60 et Bruker 90 MHz.

BIBLIOGRAPHIE

- M. Mulliez, *Tetrahedron Letters* 2351 (1974).
- Voir par exemple M. Bodansky et M. A. Ondetti, *Peptide Synthesis*, p. 3. Interscience, New York, 1969.
- Voir par exemple G. T. Young, *Peptides*, North Holland, Amsterdam, 1967 p. 55.
- M. Brenner, réf. 3, p. 1.
- M. Brenner et J. P. Zimmermann, *Helv. Chim. Acta* 41, 467 (1958).
- M. Brenner, dans *Proc. 5th European Peptide Symp.*, p. 123. Pergamon Press, Oxford, 1963.
- M. Brenner et W. Hofer, *Helv. Chim. Acta* 44, 1798 (1961).
- T. Wieland, H. U. Lang et D. Liebsch, *Annalen* 597, 227 (1955).
- T. Wieland et H. Urbach, *Ibid.* 613, 83 (1958).
- M. Rothe et I. Rothe, *Makromol. Chem.* 85, 307 (1965).
- J. S. Davies, C. H. Hassall et K. H. Hopkins, *J. Chem. Soc. Perkin I* 2614 (1973).
- D. S. Kemp et F. Vellacio, *J. Org. Chem.* 23, 3464 (1975).
- Voir par exemple E. Schröder et K. Lübke, *The Peptides*, p. 69. Academic Press, 1965.
- Voir par exemple F. Wessely, K. Schlögl et E. Wawersich, *Monatsh. Chem.* 83, 1426 (1952).
- Voir par exemple P. Edman, *Acta Chim. Scand.* 4, 283 (1950).
- D. A. Buckingham, D. M. Forster et A. M. Sargeson, *J. Am. Chem. Soc.* 92, 6151 (1970).
- D. A. Buckingham, L. G. Marzilli et A. M. Sargeson, *Ibid.* 89, 5133 (1967).
- J. Rudinger, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 19, 375 (1954).
- F. Micheel et M. Lorenz, *Ann. Chem.* 698, 242 (1966).
- L. Nakonieczna, Z. Makowski, I. Berezowska et E. Taschner, dans *Peptides*, p. 117. Ed. Univ. Bruxelles 1976.
- S. Goldschmidt et F. Obermeier, *Ann. Chem.* 588, 24 (1954).
- M. Willson, H. Gonçalves, H. Boudjebel et R. Burgada, *Bull. Soc. Chim. France*, 615 (1973).
- M. Mulliez, *Phosphorus and Sulfur*, 8, 27 (1980).
- L. Zervas et I. Photaki, *J. Am. Chem. Soc.* 84, 3887 (1962); I. Photaki, A. Federigos et L. Zervas, *Peptides*, p. 47. John Wiley, New York (1974).
- A. J. Kirby et S. G. Warren, *The Organic Chemistry of Phosphorus*, p. 275. Elsevier, Amsterdam, 1967.
- H. Zimmer et L. J. Trauth, *Arzn. Forsch.* 20, 790 (1970).
- Voir par exemple L. Zioudrou, *Tetrahedron* 18, 197 (1962); Voir également Réf. 39 et Réfs. citées.
- Voir par ex. F. H. Westheimer, *Acc. Chem. Res.* 1, 70 (1968).
- M. Mulliez, *Phosphorus and Sulfur* 9, 209 (1980).
- V. Gutman, D. E. Hagen et K. Utvary, *Monatsh. Chem.* 91, 836 (1960).
- D. T. Elmore, *J. Chem. Soc.* 3152 (1959).
- W. Koenigsberg et R. J. Hill, *J. Biol. Chem.* 237, 2547 (1962).
- Z. Skrowaczewska et P. Mastalerz, *Rocz. Chem.* 29, 415 (1955).
- H. Oediger, F. Müller et K. Eite, *Synthesis* 591 (1972).
- M. Mulliez, These de Doctorat d'Etat, p. 35.
- D. B. Cooper, J. M. Harrison et T. D. Inch, *J. Chem. Soc., Perkin II* 1969 (1977).
- C. B. Brown, J. A. Boudreau, B. Hewitson et R. F. Hudson, *Ibid.* 888 (1976).
- T. G. Rymareva, N. N. Mel'nikov et B. A. Khaskin, *J. Gen. Chem. USSR* 43, 671 (1973).
- M. Mulliez et M. Wakselman, *Phosphorus and Sulfur* 8, 41 (1980).
- Voir par exemple T. Koizumi et P. Haake, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 8073 (1973).
- M. Ueki et S. Ikeda, *Chem. Lett.* 877 (1976).
- A. Lapidot et D. Samuel, *Biochim. Biophys. Acta* 537 (1965).
- A. Cosmatos, I. Photaki et L. Zervas, *Chem. Ber.* 94, 2644 (1961).
- V. M. Clark, A. R. Macrae, J. F. P. Richter et Lord Todd, *Tetrahedron Suppl.* 7, 307 (1966).
- R. Merten et C. Weber, *Chem. Ber.* 102, 3143 (1969).
- C. F. Audrieth, H. Zimmer et M. Zimmer, *J. Prakt. Chem.* 84, 117 (1959).
- L. Birkofer, A. Ritter et D. Neuhausen, *Ann. Chem.* 659, 190 (1962).
- A. N. Pudovik, V. K. Kairullin et G. V. Dimitrieva, *J. Gen. Chem. USSR* 40, 2019 (1970).
- P. Petticola, A. P. Richard et R. Goupil, *Brevet Français*, 1952, 1,009,369; *Chem. Abstr.* 31, 18632 (1957).
- C. Laureço et R. Burgada, *C. R. Acad. Sci.* 278 (C), 291 (1974).
- D. L. Hill, M. C. Kirk et R. F. Struck, *J. Am. Chem. Soc.* 92, 3207 (1970).
- M. Mulliez et M. Wakselman, *Synthesis* 478 (1977).
- M. Mulliez, *Phosphorus and Sulfur* 8, 37 (1980).
- J. Emsley et D. Hall, *Chemistry of Phosphorus*, p. 334. Wiley, New York, 1976.

- ⁵⁵G. Sosnovsky et M. Konieczny, *Synthesis* 618 (1977).
- ⁵⁶M. Mulliez, Thèse de Doctorat d'Etat, p. 96.
- ⁵⁷M. Mulliez, D. Blanot, J. Savrda et E. Bricas, *Biochimie* **58**, 131 (1976).
- ⁵⁸T. Wieland et W. Kohle, *Ann. Chem.* **691**, 212 (1966).
- ⁵⁹E. Wünsch, *Synthese von Peptiden* tome II dans *Methoden der Organischen Chemie*, (Houben-Weyl) Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974).
- ⁶⁰E. Fischer et E. Fourneau, *Chem. Ber.* **34**, 2868 (1901).
- ⁶¹R. H. Mazur, B. W. Ellis et P. S. Camarata, *J. Biol. Chem.* **237**, 1619 (1962).
- ⁶²F. Reindel et W. Hoppe, *Chem. Ber.* **87**, 1103 (1954).
- ⁶³A. Lamotte, A. Francina et J. C. Merlin, *J. Chromatog* **44**, 75 (1969).