

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

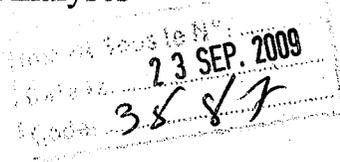


UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAID, TLEMCEM
Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses

- COSNA -



THESE DE DOCTORAT

Présentée par

M^{me} DRICI née MEDJAHED Wassila

En vue d'obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE TLEMCEM

Discipline : Chimie Organique Appliquée

SYNTHESE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES ISOSTERES DE PEPTIDES

Soutenue publiquement, le 06 juillet 2009 devant le jury composé de :

Mr le Pr. Tabti Boufeldja	Président	Université Aboubakr Belkaid Tlemcen
Mr le Pr. Rahmouni Mustapha	Examineur	Université de Tiaret
Mr le Pr. Ainad Tabet Driss	Examineur	Université Djilalli Liabès Sidi Bel-Abbès
Mr le Pr. Hacini Salih	Examineur	Université d'Oran Es-Sénia
Mr le Dr. Atmani Abdelkrim	Examineur	Université Aboubakr Belkaid Tlemcen
Mr le Pr. Joseph Kajima Mulengi	Promoteur	Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

REMERCIEMENTS

Ces années de recherche ont été réalisées sous la direction du Pr. Joseph Kajima Mulengi au sein du laboratoire de Synthèse Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA) à la Faculté des Sciences Département de Chimie de l'Université Aboubakr belkaid, Tlemcen.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon promoteur et directeur de laboratoire COSNA, Pr. Joseph Kajima Mulengi, pour m'avoir permis de réaliser ces travaux et pour la confiance qu'il m'a accordée. Je le remercie de m'avoir initié à un projet aussi prenant, dans un environnement où j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Ainsi, pour ses conseils, ses encouragements et son soutien.

J'exprime toute ma gratitude à Mr le Pr. Tabti Boufeldja de l'Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

J'exprime toute ma reconnaissance aux membres de jury, examinateurs, pour avoir accepté de juger ce travail malgré leurs nombreuses charges :

Mr le Pr. Rahmouni Mustapha de l'Université de Tiaret

Mr le Pr. Ainad Tabet Driss de l'Université Dillalli Liabès Sidi Bel-Abbès

Mr le Pr. Hacini Salih de l'Université d'Oran Es-Sénia

Mr le Dr. Atmani Abdelkrim de l'Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

J'adresse mes plus vifs remerciements à Mr le Pr. Jacques Royer, directeur de l'UMR 8638, Laboratoire de Synthèse et Structure de Molécules d'Intérêt Pharmacologique, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à l'université René Descartes-Paris V, pour m'avoir permis de réaliser une partie de ces travaux de thèse et pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant dans son laboratoire.

Je remercie très chaleureusement tous ceux qui sont dans le laboratoire de Mr le Pr. Jacques Royer : Dr. Joëlle Viret-Pérard de son aide et ses conseils, Serge Turcaud pour les analyses de la HPLC, Bennamer Mounira et Elise Prost, pour leur disponibilité en RMN, sans oublier Delphine Halie avec qui j'ai travaillé sur les mimes RGD.

Merci également à l'équipe du Pr. Hafida Merzouk pour les tests de l'activité biologiques effectués sur les aziridines, et à Mr Bendiabdellah pour sa disponibilité en IR.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près où de loin à ce travail : mes collègues enseignants pour leur conseils et les étudiants : qui sont en doctorat, en magister et en master, dans le laboratoire COSNA, pour leur aides, et à qui je souhaite courage et réussite pour les années à venir

Enfin, mes plus affectueuses pensées vont à mes parents et beaux parents qui m'ont transmis l'envie d'apprendre et m'ont toujours soutenu et encouragé dans mes études. Merci pour votre aide en toutes circonstances, j'ai toujours pu compter sur vous.

Ce n'est pas sans compter le soutien de mon mari, qui a partagé mes peines, mes inquiétudes mais surtout mes joies durant cette formation et qui m'a beaucoup épaulé dans les derniers moments.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I-INTERET DES ISOSTERES DE PEPTIDES.....	7
I.A. Introduction.....	7
<i>I.A.1. Matrice extracellulaire.....</i>	8
<i>I.A.2. Récepteurs membranaires.....</i>	8
I.B. Les cellules cancéreuses.....	10
<i>I.B.1. Agents conduisant au déclenchement d'un cancer.....</i>	11
I.B.1.a. Agents initiateurs.....	11
I.B.1.b. Agents promoteurs.....	11
<i>I.B.2. Progression tumorale.....</i>	11
<i>I.B.3. Angiogenèse et tumeurs.....</i>	12
I.C. Intégrines, cibles thérapeutiques.....	14
<i>I.C.1. Ligands des intégrines.....</i>	16
I.C.1.a. La séquence RGD.....	17
<i>I.C.1.b. Ligands naturels des différents types d'intégrines.....</i>	17
<i>I.C.1.c. Les coudes inverses.....</i>	20
<i>I.C.2. Processus de reconnaissance et interactions mises en jeu.....</i>	20
I.C.2.a. Interactions mises en jeu.....	20
I.C.2.b. Rôle des cations dans les interactions intégrine-ligand.....	21
I.D. Autres stratégies thérapeutiques.....	22
<i>I.D.1. Agents antiviraux interférant au niveau du cycle de réplication.....</i>	22
<i>I.D.2. Agents antiviraux stimulant le système immunitaire.....</i>	23
I.E. Antagonistes peptidomimétiques.....	24
<i>I.E.1. Antagonistes naturels non peptidiques.....</i>	24
I.E.2. Mimes du peptide RGD.....	27
I.E.2.a. Peptides cycliques.....	27
I.E.2.b. Mimes non peptidiques.....	30
<i>I.E.3. Autres peptidomimétiques.....</i>	31
I.F. Conclusion partielle.....	35

CHAPITRE II- REACTIVITE DE L'IMINOPHOSPHORANE.....	37
II.A. Introduction.....	37
II.B. Etude de la réactivité	37
<i>II.B.1. Détection et identification des intermédiaires réactionnels.....</i>	<i>38</i>
<i>II.B.2. Marquage isotopique.....</i>	<i>39</i>
<i>II.B.3. Effet cinétique isotopique.....</i>	<i>39</i>
II.C. Réactivité de l'imino-phosphorane précurseur de synthèse.....	40
<i>II.C.1. Préparation de l'imino-phosphorane.....</i>	<i>43</i>
II.C.1.a. Protection de la fonction amino des acides aminés	44
II.C.1.b. Synthèse de l'azide.....	47
II.C.1.c. Synthèse de l'imino-phosphorane.....	53
<i>II.C.2. Réactivité de l'imino-phosphorane avec des carboxylates.....</i>	<i>54</i>
II.C.2.a. Condensation avec l'acide 2,3-dibromopropanoïque	55
II.C.2.b. Condensation avec l'acide chloroacétique.....	59
II.D. Conclusion partielle.....	62
CHAPITRE III-SYNTHESE DES PEPTIDOMIMETIQUES A MOTIF AZIRIDINYLE.....	64
III.A. Introduction.....	64
III.B. Synthèse des aziridines à partir des aminoacides.....	66
<i>III. B. 1. Aziridine à partir de la fonction amine.....</i>	<i>67</i>
<i>III. B. 2. Aziridine à partir des deux fonctions amine et acide.....</i>	<i>68</i>
<i>III. B. 3. Aziridine à partir de la fonction acide : résultats obtenus.....</i>	<i>70</i>
<i>a- Synthèse en série racémique.....</i>	<i>72</i>
<i>b- Synthèse en série énantiopure.....</i>	<i>80</i>
III.C. Couplage peptidique	85
<i>III.C.1. Rappels bibliographiques.....</i>	<i>85</i>
III.C.1.a. Les halogénures d'acyle.....	86
III.C.1.b. Acylazides.....	88
III.C.1.c. Acylimidazole.....	89
III.C.1.d. Anhydrides.....	90
III.C.1.e. Autres méthodes de couplage.....	92
<i>III.C.2. Couplage effectué : résultats obtenus.....</i>	<i>93</i>
III. C.2.a. Chemin (a).....	95
III. C. 2. b. Chemin (b).....	98

III. D. Conclusion partielle.....	103
CHAPITRE IV-SYNTHESE D'UN PEPTIDOMIMETIQUE CYCLIQUE PRECURSEUR D'UN MIME RGD.....	105
IV. A. Introduction.....	105
IV. B. Synthèse de l'allylglycine précurseur de synthèse.....	107
<i>IV.B.1. Synthèse racémique de l'allylglycine.....</i>	<i>108</i>
<i>IV.B.2. Synthèse énantio pure de l'allylglycine.....</i>	<i>109</i>
<i>IV.B.3. Estérification de l'allylglycine.....</i>	<i>111</i>
IV.C. Obtention d'un γ-lactame α, β-insaturé.....	112
<i>IV.C.1. Rappels bibliographiques.....</i>	<i>112</i>
IV.C.1.a. Préparation d'un γ -lactame α , β -insaturé.....	112
IV.C.1.b. Proposition de mécanismes	113
IV.C.1.c. Rappels sur la réactivité des γ -lactames α , β -insaturés.....	115
IV.C.2. Synthèse du γ -lactame α , β -insaturé : résultats obtenus	117
IV.D. Cyclisation sur l'ion N-acyliminium.....	119
<i>IV.D.1. Rappels bibliographiques.....</i>	<i>119</i>
IV.D.1.a. Réactivité et stabilité des ions N-acyliminium.....	119
<i>IV.D.1.b. Le réarrangement d'aza-Cope.....</i>	<i>121</i>
IV.D.2. Cyclisation dans l'acide formique : résultats obtenus.....	123
IV.D.2.a. Cyclisation en série racémique.....	124
<i>IV. D. 2. b. Résultats obtenus en série énantio pure.....</i>	<i>127</i>
IV.E. Fonctionnalisation du bicyclic obtenu.....	130
<i>IV.E.1. Accès à la fonction alcool.....</i>	<i>130</i>
<i>IV.E.2. Groupement protecteur utilisé.....</i>	<i>132</i>
<i>IV. E. 3. Réduction de l'ester de méthyle en alcool.....</i>	<i>134</i>
<i>IV. E. 4. . Azidation en présence de l'alcool libre.....</i>	<i>136</i>
IV.F. Conclusion partielle.....	137
CHAPITRE V- EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE.....	138
V. A. Introduction.....	138
V. B. Tests biologiques.....	139
<i>V. B. 1. Préambule.....</i>	<i>139</i>
<i>V. B. 2. Principe des tests.....</i>	<i>139</i>

V. B. 2. a. Etude <i>in vitro</i>	139
V. B. 2. b. Etude <i>in vivo</i> : Essais de toxicité aiguë	141
V. B. 3. <i>Interprétation des résultats</i>	142
V. C. Conclusion partielle	147
CONCLUSION GENERALE	148
PARTIE EXPERIMENTALE	153
A. Généralités	153
B. Composés synthétisés	156
<i>B.1. protection de la fonction amino des acides aminés</i>	156
<i>B.2. N-acylazides</i>	166
<i>B.3. Condensation des iminophosphoranes avec les différents carboxylates</i>	177
<i>B.4. préparation des aziridines</i>	183
<i>B.5. Déprotection de la fonction amine des aziridines</i>	194
<i>B.6. protection de la fonction acide des acides aminés</i>	196
<i>B.7. Couplage peptidique</i>	197
<i>B.8. Hydrolyse de l'ester méthylique</i>	198
<i>B.9. préparation de l'acylazide du dipeptide</i>	199
<i>B.10. synthèse de la N-acylaziridine du dipeptide</i>	200
<i>B.11. Synthèse des précurseurs d'un mime RGD</i>	201
ANNEXES ET BIBLIOGRAPHIE	

LISTE DES ABREVIATIONS

A.A :	acide aminé
Ac :	acétyle
AcOEt :	acétate d'éthyle
ADN :	Acide désoxyribonucléique
A.L :	Acide de Lewis
APTS :	acide para-toluène sulfonique
APM :	Inhibiteur de la leucine aminopeptidase membranaire
Bn :	benzyle
Boc :	t-butoxycarbonyle
Bu :	butyle
Cbz :	benzyloxycarbonyle
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CHU :	Centre Hospitalo-Universitaire
Coll. (al.) :	collaborateurs
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse
Cys :	Cystéine
Δ :	chauffage à reflux
DCC :	dicyclohexylcarbodiimine
DCI :	carbonyle du diimidazole
DCM :	dichlorométhane
DCU :	dicyclohexylurée
DIC :	diisopropylcarbodiimide
DL :	Dose létale
DMF :	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO :	diméthylsulfoxyde
dr.	rapport diastéréomérique
DPPA :	azide de diphenylphosphonyl
EDC :	Ethyl- <i>N,N</i> -diméthylpropane amine carbodiimide
ee :	excès énantiomérique
éq. :	équivalent
Et :	éthyle
Fmoc :	9-fluorenylméthoxy-carbonyl
FN :	fibronectine
Ft :	Groupe phtalimido
GB :	globules blancs
Glu :	Acide γ -glutamique
Gly :	glycine

ABREVIATION

GR :	globules rouges
G-SH :	glutathion
HG :	hémoglobine
His :	histidine
HMPA :	hexaméthylphosphoramide
HPLC :	Chromatographie Liquide Haute Performance
HUVEC :	Human Umbilical Vein Endothelial Cells
Hz :	Hertz
IC ₅₀ :	concentration à laquelle la croissance bactérienne est inhibée à 50%
IP :	indice de prolifération
IR :	infrarouge
J :	constante de couplage
KHMDS :	hexaméthylidisilylamidure de potassium
KNI :	Kinase inhibiteurs de la norstatine
LAP :	Leucine aminopeptidase
LDA :	Diisopropylamidure de lithium
LM :	Laminine
LPS :	liposaccharide
Me :	méthyle
MEC :	matrice extracellulaire
MES :	Acide 2- <i>N</i> -morpholino-éthanesulfonique
MIDAS :	Metal Ion-Dependent Adhesion Site
MOM :	méthoxyméthyle
MTT :	bromure de 3-(4,5-diméthyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
NAC :	<i>N</i> -acétyl-cystéine
NCAM :	molécule d'adhérence des cellules nerveuses
Nu :	nucléophile
OP :	ostéopontine
OPA :	<i>o</i> -phthaldialdéhyde
Ph :	phényle
Phe :	phénylalanine
Pr :	propyle
Pro :	proline
Pyr :	pyridine
Rdt	rendement
Rf :	rapport frontal
RGD :	L-arginine-glycine-L-acide aspartique
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RX :	Rayons X
t.a. :	température ambiante
TBAB :	bromure de tétrabutylammonium

ABREVIATION

TEA :	triéthylamine
Téb	Température d'ébullition
TFA :	acide trifluoroacétique
Tf	Température de fusion
THF :	tétrahydrofurane
TTL :	transformation lymphoblastique
UV :	Ultra violet
VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine
VN :	vitronectine

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Depuis plusieurs années, les recherches spécialisées en synthèse peptidique sont toujours d'actualité, dans la mesure où la mise au point de structures biomimétiques qui permettent d'avoir une vue plus approfondie sur les processus biologiques, ainsi que sur leur modulation demeure fondamentale pour traiter de nombreuses affections. Par ailleurs, les protéines constituent une cible privilégiée de nombreuses études, car elles sont souvent l'outil qu'utilisent les pathogènes non seulement pour affaiblir les organismes cibles, mais également pour se défendre contre de nombreux médicaments qui visent leur destruction et/ou leur inhibition.

En effet, les chaînes peptidiques sont les produits de la polymérisation covalente des aminoacides par une liaison peptidique. Elles diffèrent par le nombre, la nature et l'ordre des aminoacides impliqués dans leur synthèse. L'obtention chimique d'un peptide n'est possible qu'en milieu anhydre et avec une forme activée de l'acide. Par contre, la biosynthèse cellulaire, en milieu aqueux, est dépendante d'une "activation énergétique" qui a lieu par un couplage avec l'hydrolyse d'un "donneur d'énergie". Cette liaison, une fois formée, est très stable et son hydrolyse spontanée est quasiment inexistante (**Figure 1**).

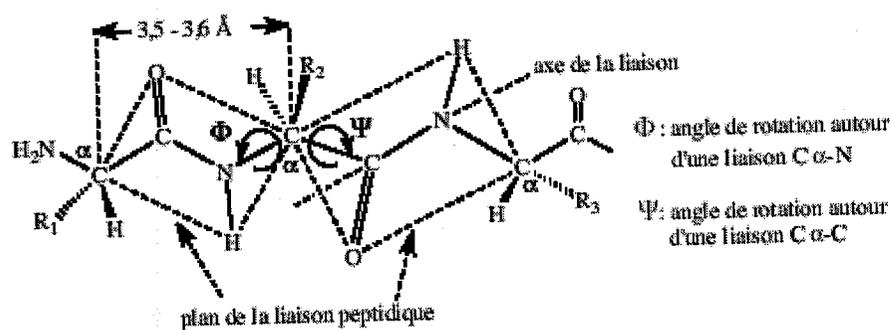


Figure 1 : liaison peptidique

Les peptides participent à la structure de membranes comme éléments de construction ; ils jouent également un rôle important dans les activités biologiques de divers systèmes vivants. Par définition, un peptide est un enchaînement d'un nombre d'acides aminés inférieur à 50. Pour différencier les différentes structures, on parle de polypeptide pour un nombre d'acides aminés supérieur à 10, d'oligopeptide pour un nombre inférieur à 10 et de dipeptides lorsque le squelette peptidique comporte seulement deux acides aminés. Ces

derniers sont évidemment la séquence la plus courte de peptides qui représente les deux familles connues, linéaires et cycliques.

Dans la nature, les dipeptides linéaires représentent un nombre important des hormones pituitaires tel que le glutathion (tripeptide Glu-Cys-Gly) qui joue un rôle central dans la défense cellulaire contre le dioxygène et ses dérivés actifs. C'est un couple Red-Ox très efficace contre les peroxydes (Figure 2).

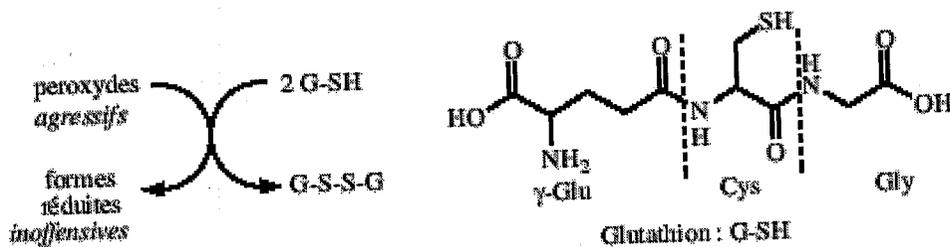


Figure 2 : peptide linéaire

Par ailleurs, les dipeptides cycliques sont très répandus dans la nature, d'où ils sont d'ailleurs isolés à partir de produits naturels provenant du monde animal, végétal ainsi que des microorganismes. Généralement, ces substances sont obtenues à partir des peptides et protéines par thermolyse et hydrolyse acide ou enzymatique. Comme exemple illustratif, le *cyclo-L-His-L-Pro* a été identifié et isolé du sang humain (Figure 3).

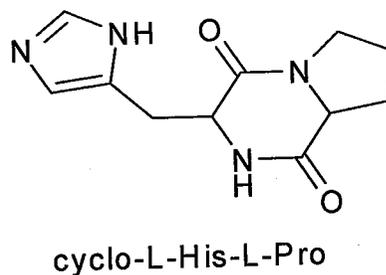


Figure 3 : peptide cyclique

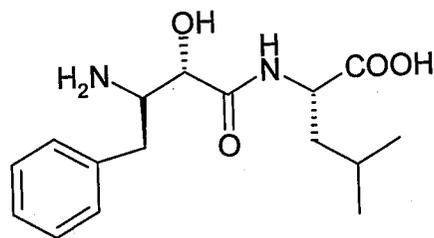
Les peptides interviennent dans plusieurs processus biologiques où ils jouent des rôles essentiels comme hormones, neuromédiateurs et inhibiteurs d'enzymes. Ils sont impliqués dans plusieurs processus métaboliques et se retrouvent dans diverses applications thérapeutiques importantes. Cependant, leur utilisation en tant qu'agents thérapeutiques reste gênée et restreinte par des facteurs limitatifs qui relèvent de leurs propriétés intrinsèques. Ces facteurs sont, entre autres :

- une faible stabilité métabolique à cause de leur protéolyse dans le tractus gastro-intestinal et dans le sérum.
- la difficulté qu'ils rencontrent pour traverser les barrières biologiques.
- la flexibilité de leurs conformations qui conduit à des interactions non spécifiques avec différents récepteurs, débouchant ainsi sur des effets secondaires indésirables.
- la diversité de leurs actions biologiques, car les peptides bioactifs peuvent produire des effets dans plusieurs types de cellules et organismes, parce que leurs récepteurs ou isorécepteurs peuvent être disséminés un peu partout dans l'organisme.

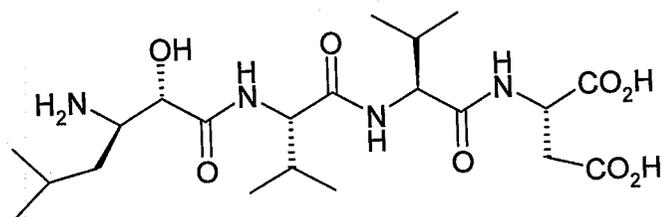
C'est pour cela que de nombreuses modifications de structures peptidiques (**Figure 4**) ont été réalisées dans un double objectif : limiter le plus possible l'effet désiré au seul récepteur du peptide, et aussi bloquer ce dernier en cas de nécessité. Néanmoins, les structures peptidiques sont extrêmement variées et souvent, il est difficile de décrire avec précision la structure d'un récepteur biologique.

Il existe plusieurs stratégies de synthèse qui permettent d'obtenir des substances peptidomimétiques avec une très bonne stéréosélectivité. Parmi ces dernières, on peut citer :

- la modification du squelette des amino acides.
- l'introduction d'une fonction amino alcool.
- l'introduction d'un groupement cétone.
- la synthèse d'analogue de dipeptides.
- une restriction globale de la conformation.



Betastatine: inhibiteur de la leucine aminopeptidase membranaire (APM)



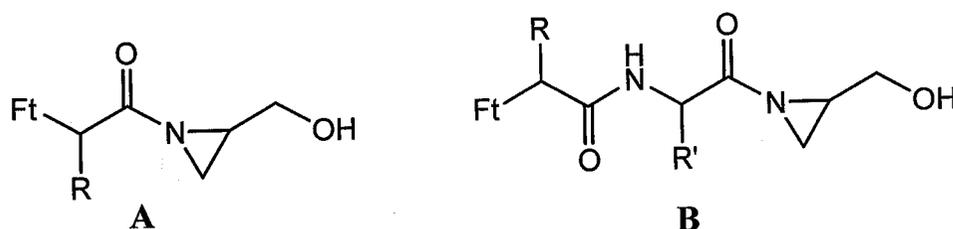
Amastatine: inhibitrice de la LAP (leucine aminopeptidase)

Figure 4 : substances peptidomimétiques

En nous appuyant sur ces données bibliographiques, nous avons cherché à réaliser au laboratoire la synthèse de nouvelles structures peptidomimétiques à partir des aminoacides, dans le but d'élaborer des antagonistes capables d'être utilisés en thérapie anticancéreuse.

En effet, l'inhibition de certains processus métaboliques (réplication de l'ADN, angiogénèse, ...), et des enzymes (protéases,...), ainsi que le renforcement du système immunitaire permettent la régression tumorale et pallient aux limites des traitements cytotoxiques. Dans le domaine de la thérapie anticancéreuse, cela s'exprime en termes d'effets secondaires, de résistance virale aux médicaments, d'efficacité sur les tumeurs solides (difficiles à atteindre par les molécules cytotoxiques).

Compte-tenu de l'intérêt biologique des substances comportant un squelette aziridine et sur la base de leurs propriétés comme agents alkylants de l'ADN, des aziridinylpeptides ont été envisagés comme cibles de nos synthèses afin d'engendrer d'autres types de peptidomimétiques avec une chaîne peptidique plus courte, composés **A** et **B** (Figure 5).



Ft : groupe protecteur "phtalimido"

Figure 5 : Aziridinylpeptides envisagés

Pour atteindre cet objectif, deux approches synthétiques ont été mises en oeuvre. Une aziridination directe en deux étapes de la fonction acide d'un acide aminé, en passant au préalable par un acylazide, et ensuite par un iminophosphorane. Ce dernier réagit facilement avec l'alcoolate du glycidol pour donner une *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridine **A**. Dans la deuxième approche, l'aziridine est fixée sur un dipeptide préalablement formé par un couplage peptidique entre deux aminoacides pour engendrer l'aziridinylpeptide **B** (Schéma 1).

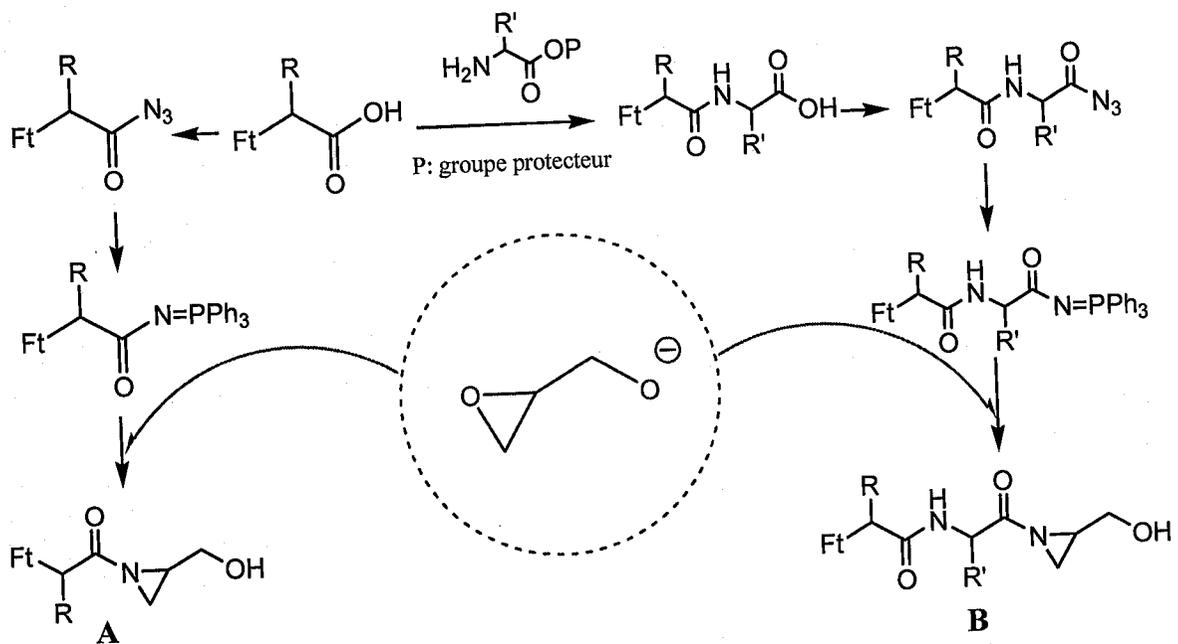


Schéma 1

En ce qui concerne le peptide cyclique, nous nous sommes basés sur la structure du tripeptide RGD 1 (enchaînement des trois acides aminés : arginine, glycine et acide aspartique), qui est reconnu par des récepteurs transmembranaires, les intégrines. Celles-ci sont impliquées dans le phénomène d'adhésion cellulaire (cohésion cellules/cellules ou cellules/matrice extracellulaire), et jouent aussi un rôle important dans de nombreux processus cellulaires comme la métastase des tumeurs. La structure bicyclique 1-aza-2-oxobicycloalcanes **C** (Figure 6) a été retenue comme précurseur afin d'introduire la rigidité dans le mème.

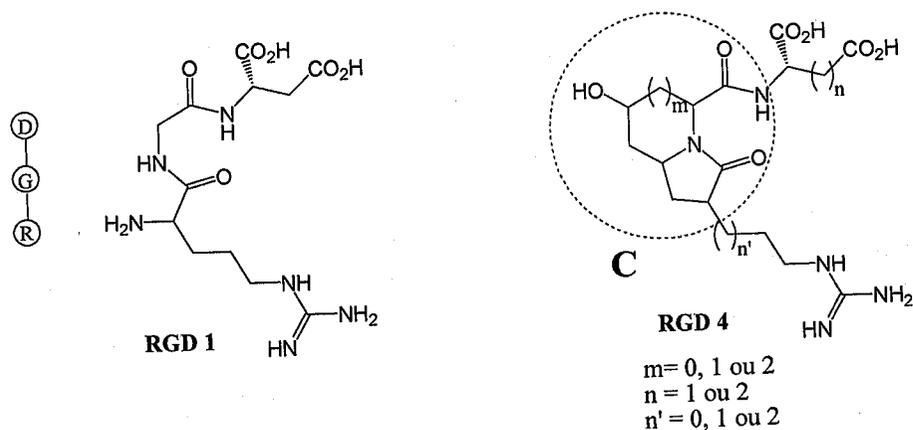


Figure 6 : Tripeptide RGD 1 et le mème RGD 4

L'obtention de cette structure bicyclique est basée sur un savoir-faire du laboratoire concernant la synthèse de γ -lactames. Le γ -lactame insaturé **E** est facilement accessible à partir d'une amine, par condensation avec le diméthoxydihydrofurane (Schéma 2). Par traitement acide, le lactame **E** peut s'isomériser en iminium **D** et subir l'attaque d'un nucléophile, ici une double liaison, pour engendrer le composé bicyclique **C**.

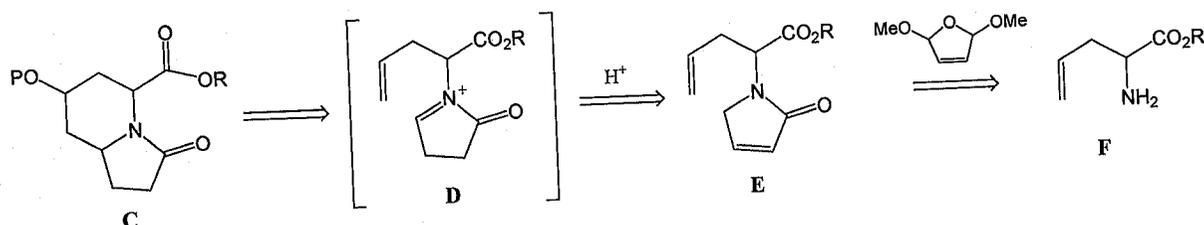


Schéma 2

Dans une première étape, la synthèse est effectuée en série racémique pour maîtriser le processus, afin de l'étendre ultérieurement à une synthèse énantiopure. L'ensemble de nos travaux se présente de la manière suivante :

Une première partie est destinée à présenter les molécules d'adhérence qui sont à l'origine d'une tumeur et qui sont les cibles visées en thérapie anticancéreuse, puis à mettre en évidence quelques peptidomimétiques et isostères rencontrés dans la littérature et dont les structures nous ont servi pour l'élaboration de nos propres structures non-peptidiques.

Le second chapitre concerne une étude de la réactivité des iminophosphoranes, intermédiaires clés dans la synthèse de nos aziridinylpeptides.

Un troisième chapitre expose les différentes voies envisagées ainsi que les précautions prises afin de réaliser la synthèse des aziridinylpeptides en séries racémique et énantiopure.

Dans le quatrième chapitre, nous présentons le travail effectué pour l'élaboration du squelette bicyclique rigide 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane, précurseur du mime RGD 4, qui a été réalisé dans le laboratoire de Chimie et physicochimie des composés d'intérêt biologique et thérapeutique. (UMR 8638) à l'Université René Descartes Paris V.

Enfin, une cinquième partie est consacrée à l'évaluation de l'activité biologique des composés synthétisés ; cette dernière a été effectuée par l'équipe de biologie du laboratoire de valorisation des activités de l'homme et de la protection de l'environnement (VAHPEASAP) de l'université de Tlemcen.

CHAPITRE I

CHAPITRE I

INTERET DES ISOSTERES DE PEPTIDES

I.A. Introduction

Depuis plusieurs années, de nombreuses structures rigides non peptidiques ont été synthétisées afin d'une part, fournir des composés stables en milieu biologique, et d'autre part de mimer les peptides ; cela a donné naissance aux substances peptidomimétiques. Ces derniers sont des composés qui miment la structure et par conséquent, reproduisent les fonctions des peptides bioactifs : ils peuvent imiter (agonisme) ou bloquer (antagonisme) l'effet biologique d'un peptide au niveau de ses récepteurs. La majorité des peptidomimétiques sont des isostères de peptides qui se comportent comme des inhibiteurs de protéases. Ils présentent de nombreux avantages par rapport aux produits naturels ou synthétiques non modifiés. Ces avantages sont notamment :

- une stabilité métabolique et une affinité accrue.
- une forte absorption au niveau des membranes intestinales.
- une faible digestion par les enzymes protéolytiques, ainsi qu'une distribution homogène dans le système immunitaire.
- de bonnes affinités, spécificités et sélectivités avec les récepteurs biologiques.
- peu ou pas d'effets secondaires.

Les recherches qui ont été réalisées et continuent d'être effectuées dans ce domaine font suite aux études entreprises sur la structure des cellules, sur la connaissance de ses mécanismes intimes, ainsi que sur les phénomènes de communications inter et intra cellulaires. Tout ceci était fait dans l'objectif d'élaborer des médicaments plus efficaces et plus ciblés.

Dans les tissus, les cellules interagissent de façon très spécifique avec d'autres cellules et avec les composants extracellulaires situés entre elles. Ces interactions jouent un rôle très important dans leur vie et règlent l'organisation tridimensionnelle complexe des tissus et des

organes, sans oublier de nombreuses autres activités. Les différentes interactions mentionnées ci-dessus ont pour siège plusieurs structures essentielles à la vie cellulaire.

1.A.1. Matrice extracellulaire

De nombreux types de cellules baignent dans une matrice extracellulaire (MEC) : il s'agit d'un réseau organisé de matériaux extracellulaires qui jouent un rôle déterminant sur la forme, les activités et la survie de la cellule ⁽¹⁾. La MEC, sécrétée par une certaine proportion de cellules, est composée essentiellement de protéines et de polysaccharides :

- Les molécules de collagène, glycoprotéines fibreuses, procurent à la matrice, selon leur type et leur organisation tridimensionnelle, une charpente résistante et insoluble.
- Les protéoglycanes sont des complexes protéines-polysaccharides, capables de fixer divers ions ou molécules d'eau. Ils forment un gel hydraté poreux, qui est un matériau d'enrobage permettant de résister à l'écrasement.
- De nombreuses protéines sont également présentes (fibronectine, laminine...) et interagissent entre elles, avec le collagène, mais aussi avec les cellules : elles comprennent divers sites de liaisons spécifiques pouvant engendrer différentes activités cellulaires. Certaines protéines peuvent posséder des sites de fixation de ligands pour exprimer des activités antagonistes ; dans ce cas, l'organisation spatiale de ces éléments est déterminante.

La composition de la MEC varie selon les tissus : c'est elle qui leur procure les propriétés qui les caractérisent (solidité pour les os, résistance et flexibilité pour le cartilage, transparence pour la cornée...). Elle est à l'origine des activités cellulaires particulières : en effet, ses composants peuvent se lier à des récepteurs de la surface des cellules.

1.A.2. Récepteurs membranaires

De nombreux types de cellules ont besoin d'adhérer à un support pour survivre et proliférer. Elles nécessitent donc des interactions spécifiques avec d'autres cellules de même type (interactions homotypiques), de type différent (interactions hétérotypiques), ou avec la matrice extracellulaire.

Cela se fait par l'intermédiaire de molécules d'adhérence, qui sont des protéines membranaires présentes à la surface des cellules. Elles permettent la cohésion et la communication entre les divers supports (cellules ou MEC), et sont à l'origine de divers comportements cellulaires (adhérence à une autre cellule identifiée, circulation des cellules du système immunitaire, multiplication, migration, différenciation, apoptose, etc...).

(1) Petruzzelli, L.; Petruzzelli, L.; Petruzzelli, L.; Takami, M.; Humes, H. D. *Am. J. Med.* 1999, 106, 467-476.

A ce jour, quatre familles principales des molécules d'adhérence sont connues : les sélectines, les immunoglobulines, les cadhérines, et les intégrines (**Figure I-1**)⁽²⁾.

- **Les sélectines** : elles reconnaissent et se lient à des groupements glucidiques de la surface d'autres cellules en présence de calcium. On en distingue trois types : les sélectines E, P et L. Elles interviennent surtout lors d'interactions transitoires faibles (relayées par les intégrines) entre les leucocytes circulants et les cellules endothéliales, préparant leur migration vers la MEC.
- **La superfamille des immunoglobulines (Ig)** : le nom de ces protéines membranaires provient de nombreuses homologies de séquences qu'elles présentent avec les immunoglobulines, anticorps du sang. Elles se lient, indépendamment du calcium, à d'autres immunoglobulines (de même type ou différent), entre cellules homotypiques ou hétérotypiques, mais peuvent également s'associer à certaines intégrines. Elles interviennent surtout dans le système immunitaire, mais participent aussi à l'adhérence de cellules nerveuses et musculaires (NCAM⁽ⁱ⁾, VCAM⁽ⁱⁱ⁾...).
- **Les cadhérines** : famille de glycoprotéines membranaires, elles unissent des cellules homotypiques en se liant de préférence à la même cadhérine. Ce processus dépend de la présence de Ca²⁺. Une douzaine de familles de cadhérines sont connues, parmi lesquelles les cadhérines E (épithéliale), N (neurale), P (placentaire), et V (vasculaire)...
- **Les intégrines** : il s'agit d'une superfamille de glycoprotéines membranaires jouant un rôle d'adhésion et de communication entre la cellule et la MEC. Leurs ligands sont des protéines de la MEC telles que le collagène, la fibronectine, la laminine... Elles peuvent également jouer un rôle dans l'adhésion intercellulaire. Par conséquent, les intégrines sont impliquées dans la régulation de nombreux comportements cellulaires (adhérence, multiplication, différenciation, motilité, survie de la cellule⁽³⁾...) et de processus physiologiques (embryogenèse, hémostase, angiogenèse, coagulation du sang...).

(i) NCAM : molécule d'adhérence des cellules nerveuses.

(ii) VCAM : molécule d'adhérence des cellules vasculaires.

(2) Pierres, A.; Benoliel, A. M.; Bongrand, P. *Rev. Med. Intern.* **1999**, *20*, 1099-1113.

(3) Stupack, D.G.; Cheresch, D.A. *J. Cell Science* **2002**, *115*, 3729-3738.

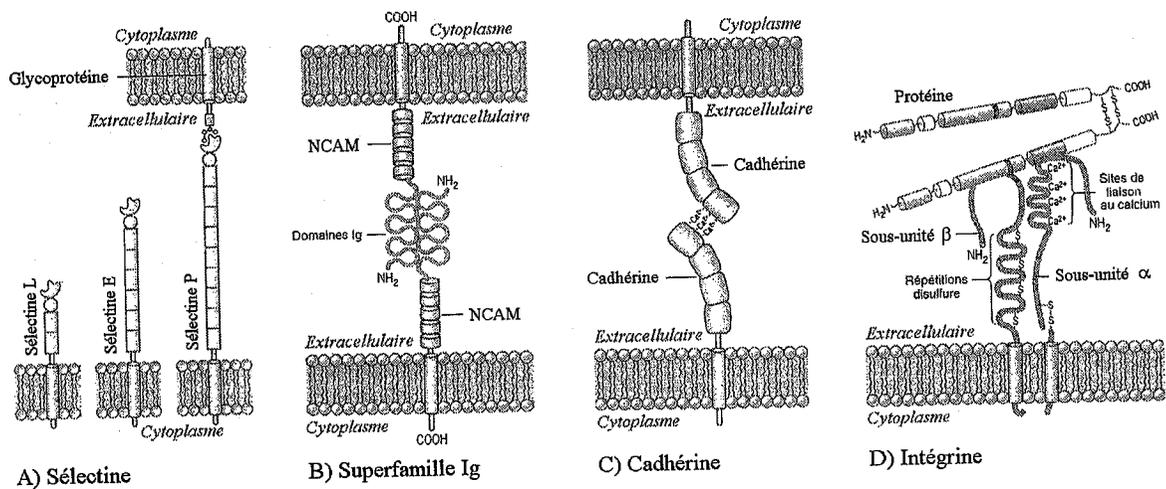


Figure I-1 : Les quatre principales familles de molécules d'adhérence ⁽⁴⁾

Elles peuvent modifier le comportement cellulaire et sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques ou pathologiques (inflammations, cancérogenèse ⁽⁵⁾, maladies cardiovasculaires ⁽⁶⁾...). Voilà pourquoi, elles constituent des cibles potentielles pour le traitement de diverses maladies par le biais du développement d'agents inhibiteurs ou stimulants ⁽⁷⁾.

I.B. Les cellules cancéreuses

Le cancer se caractérise par l'invasion progressive de l'organe d'origine, puis de l'organisme entier, par des cellules devenues peu sensibles ou insensibles aux mécanismes d'homéostasie tissulaire, et ayant acquis une capacité de prolifération infinie (immortalisation). Les particularités des cellules tumorales sont liées à l'accumulation d'anomalies dans leur génome (génotype). Ces anomalies sont le plus souvent acquises au cours de la genèse tumorale, mais certaines peuvent être d'origine héréditaire ⁽⁸⁾.

Dans la cellule cancéreuse, il y a rupture permanente de l'équilibre entre les signaux intracellulaires (activation de voies stimulatrices, suppression de voies inhibitrices), tout comme de celui entre les signaux intercellulaires, qui contrôlent la viabilité d'une cellule ⁽⁹⁾.

(4) Karp, G. *Biologie Cellulaire et Moléculaire* – édition 1998, DeBoeck Université.

(5) Thiery, J. P. C. R. *Physique*, 2003, 4, 289-304.

(6) Krieglstein, C. F.; Granger, D. N. *Am. J. Hypertension*, 2001, 14, 44S-54S.

(7) Simmons, D. L. *Curr. Opinion Pharmacol.*, 2005, 5, 398-404.

(8) Costes, V.; Chatelet, F.P. Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie Pathologiques (AFECAP), 2005

(9) Manahan, D.; Weinberg, R. A. *Cell*, 2000, 100, 57-70.

I.B.1. Agents conduisant au déclenchement d'un cancer

I.B.1.a. Agents initiateurs : comme ils sont souvent activés par des réactions métaboliques, les agents initiateurs induisent une lésion définitive de l'ADN. Parmi les plus connus, on distingue trois types :

- carcinogènes chimiques : hydrocarbures aromatiques polycycliques (benzopyrènes), amines aromatiques (2-naphtylamine), agents alkylants (moutarde d'azote, aziridines....)
- virus (hépatite B, d'Epstein Barr,....).
- radiations (UV, RX,)

I.B.1.b. Agents promoteurs : ils n'induisent pas de lésions de l'ADN, mais favorisent l'expression d'une lésion génétique, préalablement induite par un agent initiateur. Comme exemples d'agents promoteurs, on peut citer entre autres :

- des esters de phorbol (TPA) (huile de croton).
- des hormones : œstrogènes, cancer du sein, testostérone, cancer de la prostate.
- la nutrition : alcool (tumeurs ORL), graisse alimentaire (cancers coliques).

Cependant, il existe trois familles de gènes impliquées dans la cancérogenèse : les proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeur ainsi que les gènes de maintien de l'intégrité cellulaire. Ces derniers sont activés par plusieurs facteurs qui peuvent être génétiques, viraux, physiques (radiations ionisantes, les ultraviolets) et chimiques (cancers professionnels dus aux dérivés du benzopyrène, au tabac, à l'aflatoxine)⁽¹⁰⁾.

I.B.2. Progression tumorale

On reconnaît les cellules cancéreuses par leurs propriétés communes qui les différencient des cellules normales⁽¹¹⁾ :

- indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération provenant de l'environnement.
- insensibilité aux signaux anti-prolifératifs.
- résistance à l'apoptose.
- prolifération illimitée

(10) Arkin, M. *Cur. Opinion Chem. Biol.*, 2005, 9, 317.

(11) Lacave, R.; Larsen, C. J. ; Robert, J. *Cancérologie fondamentale*, 2005, 62.

- capacité à induire l'angiogenèse
- capacité d'invasion tissulaire et diffusion métastatique.
- anomalies de récepteurs membranaires (augmentation du nombre, perte de régulation).
- modifications des enzymes membranaires (augmentation des enzymes protéolytiques comme les protéases et les glycosidases) favorisant la dégradation de la substance inter cellulaire.
- modifications des antigènes de membrane.
- perturbation de la perméabilité et du transport des différents cations (Ca^{2+} , Mg^{2+}).
- destruction du système immunitaire ou inhibition de son action.

Par ailleurs, ces anomalies fonctionnelles sont à l'origine d'un processus multi étapes dans lequel l'environnement de la cellule tumorale n'est pas neutre. Elles s'accompagnent de modifications morphologiques de la cellule qui permettent le plus souvent de reconnaître son caractère cancéreux en l'observant au microscope optique ou électronique.

Il est admis qu'une tumeur ne peut croître au-delà de un à deux mm^3 de volume sans l'aide d'une riche vascularisation sanguine ⁽¹²⁾. Ces dernières années, un grand nombre de travaux morphologiques se sont attachés à décrire et à mieux comprendre l'état de la vascularisation des cancers, avec la perspective d'inhiber la croissance tumorale grâce au contrôle de sa vascularisation ⁽¹³⁾.

I.B.3. Angiogenèse et tumeurs

C'est le processus de formation de nouveaux vaisseaux par excroissance de vaisseaux préexistants. Il est étroitement régulé par des combinaisons de nombreux signaux et sa description peut se décomposer en trois phases (**Figure I-2**) ⁽¹⁴⁾.

- phase d'initiation : les cellules endothéliales sont activées par l'intermédiaire de signaux (facteurs de croissance, molécules pro-angiogéniques...) et libèrent d'autres facteurs. Ils produisent aussi des enzymes, ou modulent l'expression de certaines intégrines à leur surface ⁽¹⁵⁾.

(12) Qianbin Li, Wenfang Xu, *Cur. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, 2005, 5, 53.

(13) Ganong, W. ; Jopin, M. *Physiologie médicale de Boeck Université*, 2007, 547.

(14) Weber, A.J.; De Brandt, M. *Rev. Rhum.*, 2000, 67, 573-592.

(15) Brooks, P.C. *Eur. J. Cancer* 1996, 32A, 2423-2429.

- phase d'invasion : les cellules endothéliales migrent vers le stimulus angiogénique et prolifèrent : ceci se fait par l'intermédiaire de certaines intégrines, notamment, $\alpha_V\beta_3$ mais aussi $\alpha_V\beta^{(16)}$ et $\alpha_5\beta_1^{(17)}$.
- phase de maturation : les cellules se différencient et la MEC se remodèle.

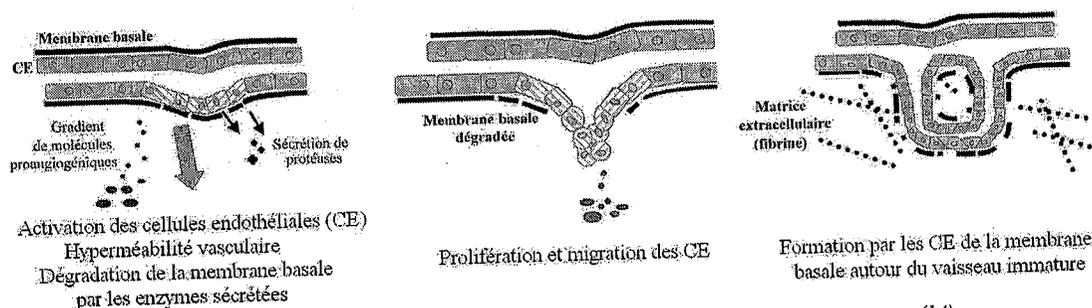


Figure I-2 : Différentes étapes du processus angiogénique ⁽¹⁴⁾

L'angiogénèse joue un rôle important dans de nombreux événements physiologiques (développement embryonnaire, ischémie cardiaque, renouvellement de l'endomètre, la cicatrisation...). Cependant, une néovascularisation non contrôlée peut induire divers processus pathologiques tels que la polyarthrite rhumatoïde, la rétinopathie diabétique, ainsi que l'accroissement des tumeurs et la métastase⁽¹⁸⁾. En effet, la prolifération des tissus cancéreux nécessite des apports sanguins importants, riches en oxygène et en nutriments, ce qui induit la néovascularisation. De plus, les cellules de tumeurs malignes (moins adhérentes que la cellule normale), peuvent migrer dans le sang et initier des tumeurs secondaires dans d'autres parties de l'organisme. Cette propagation est appelée métastase. Ainsi, la croissance, l'invasion des tissus et la formation de métastases dépendent-elles de la capacité des cellules tumorales à développer un réseau vasculaire⁽¹³⁾.

L'angiogénèse tumorale peut être induite par différents facteurs qui pourraient d'ailleurs agir en synergie. Parmi ces facteurs, on trouve les polypeptides, le facteur de croissance des fibroblastes-2 (FGF-2) et le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF). Ces derniers sont apparus comme étant des régulateurs clés de l'angiogénèse, auxquels il faut ajouter le facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes (PDGF) **(Figure I-3)** ^(11, 19, 20).

(16) Friedlander, M.; Brooks, P. C.; Shaffer, R. W.; Kincaid, C. M.; Varner, J. A.; Cheresh, D. A. *Science* **1995**, *270*, 1500-1502.

(17) Alghisi, G.C. *Endothelium* **2006**, *13*, 113-135.

(18) Folkman, J.; Shing, Y. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 10931-10934.

(19) Boiron, M.; Marty, M. *Abstract Eurocancer 95 John Libbey Eurotext*, **1996**, 343.

(20) Maill, M.; Lemullois, M. *Biologie Cellulaire 10^{ème} Edition Masson*, **2006**, 308.

Généralement, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ n'est pas ou peu exprimée par les cellules endothéliales normales, mais est surexprimée sur les cellules endothéliales activées⁽²¹⁾ et sur les cellules métastatiques. $\alpha_v\beta_3$ est donc une cible de choix pour le traitement de toutes les pathologies où une néovascularisation est nécessaire, et peut également être utilisée comme marqueur angiogénique.

L'inhibition de la liaison de $\alpha_v\beta_3$ avec ses ligands naturels par des antagonistes (peptides ou anticorps) permet de bloquer l'angiogenèse et d'induire la régression de tumeurs⁽²²⁾.

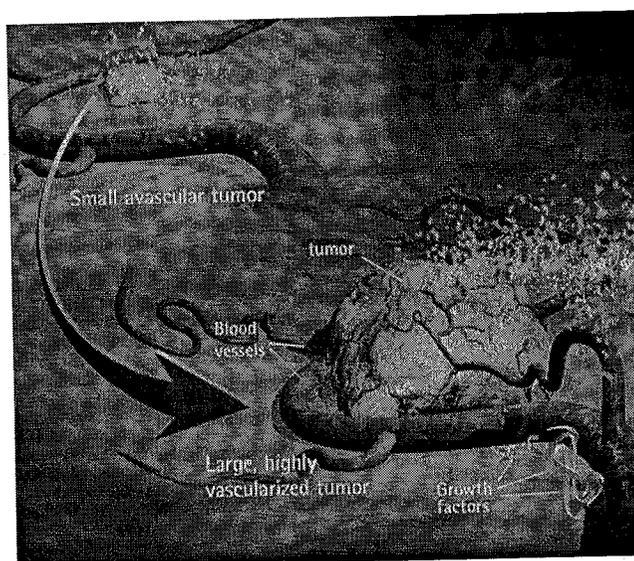


Figure I-3 : différentes étapes de l'angiogenèse tumorale ⁽¹⁹⁾

I.C. Intégrines, cibles thérapeutiques

Les intégrines sont des hétérodimères composés de deux chaînes polypeptidiques liées de façon non covalente : une chaîne α et une chaîne β (Figure I-1.D)⁽²³⁾. A ce jour, 18 sous-unités α et 8 sous-unités β différentes sont répertoriées⁽²⁴⁾, elles sont combinées en 24 associations $\alpha\beta$ différentes, chacune ayant des propriétés et des fonctions spécifiques.

(21) Brooks, P. C.; Clark, R. A. F.; Cheresch, D.A. *Science* **1994**, *264*, 569-571.

(22) Brooks, P.C.; Montgomery, A.M.P.; Rosenfeld, M.; Reisfeld, R.A.; Hu, T.; Klier, G.; Cherech, D.A. *Cell* **1994**, *79*, 1157-1164.

(23) Hynes, R. O. *Cell* **1992**, *69*, 11-25.

(24) Benneth, J. S. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 3363-3369.

La constitution de chacune des deux sous-unités est la suivante:

- un vaste domaine extracellulaire, composé d'environ 1100 amino acides (AA) pour α et 800 AA pour β , qui sont au contact des protéines matricielles.
- un domaine transmembranaire d'une vingtaine d'AA.
- un petit domaine intracellulaire (40-60 AA, excepté pour la sous-unité β_4 qui possède un domaine cytoplasmique de plus de 1000 AA), en relation avec les protéines du cytosquelette.

Domaine extracellulaire en contact avec la MEC

Le sommet de la sous-unité α est constitué d'un domaine hélicoïdal β (*propeller* β) comprenant 7 séquences répétées de 60 à 70 AA. 3 à 4 de ces séquences ont des sites capables de se lier à des cations bivalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) (domaine de type « EF-hand »). Certaines sous-unités α (9 sur les 18 connues ⁽ⁱ⁾) possèdent un domaine supplémentaire d'environ 180 AA : il s'agit d'une structure mobile insérée par une charnière sur la face supérieure de l'hélice ⁽²⁵⁾.

Ce domaine est appelé domaine αA (ou domaine I ⁽ⁱⁱ⁾). Lorsqu'il est présent (**Figure I-4.A**), c'est ce domaine qui participe principalement à la liaison avec le ligand par l'intermédiaire d'un cation divalent situé dans une crevasse appelée MIDAS (metal ion-dependent adhesion site).

Le sommet de la sous-unité β est constitué d'un domaine hybride et d'un domaine βA (de structure homologue au domaine I de α) de 240 AA impliqué dans la liaison au ligand et comprenant également une région MIDAS ⁽²⁶⁾. Toutes les sous-unités β connues possèdent ce domaine βA . Contrairement au domaine αA , le domaine βA comprend d'autres sites de liaison à un cation.

(i) Les sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 10$, $\alpha 11$, αD , αX , αM , αL et αE comprennent un domaine αA .
(ii) domaine I: inserted and interactive domain.

(25) Seow, K.-T.; Xiong, J.-P.; Arnaout, M.A.; Welge, J.; Rippmann, F.; Goodman, S.L. *Biochem. Pharmacol.*, 2002, 64, 805-812.
(26) Goodman, T.G.; Bajt, M.L. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 23729-23736.

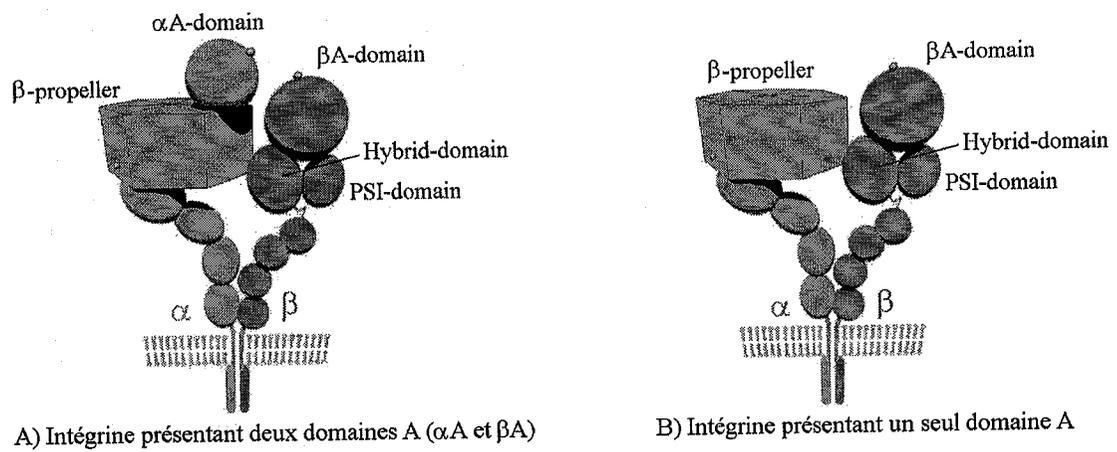


Figure I-4 : Structure des intégrines ⁽²⁷⁾.

I.C.1. Ligands des intégrines

Une intégrine peut se lier à diverses protéines de la MEC. Le signal induit est transmis à l'intérieur de la cellule par modification de la conformation du domaine cytoplasmique de l'intégrine, ce qui active d'autres signaux intracellulaires et engendre divers comportements de la cellule (**Figure I-5**).

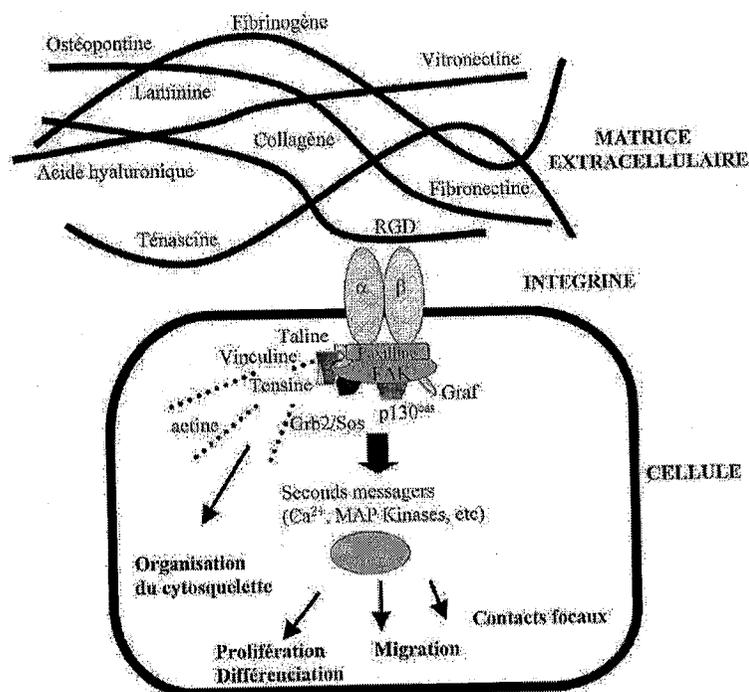


Figure I-5 : Interaction intégrine-ligand engendrant une signalisation intracellulaire

(27) Humphries, M.J. *Biochem. Soc. Trans.* 2000, 28, 311-339.

Cette interaction s'accompagne de la reconnaissance par l'intégrine de sites de liaison spécifiques des protéines.

I.C.1.a. La séquence RGD

La plupart des intégrines reconnaissent un motif commun à plusieurs protéines. Il s'agit du motif tripeptidique RGD, enchaînement des acides aminés Arginine - Glycine - Acide aspartique (Figure I-6). Cette séquence clé a d'abord été identifiée dans la fibronectine mais est également présente dans la vitronectine, le fibrinogène, la laminine, le collagène....

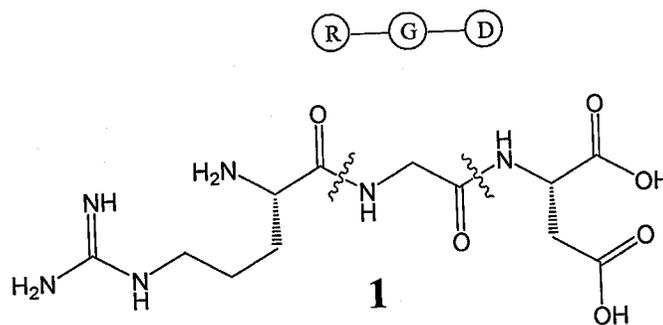


Figure I-6 : Séquence tripeptidique RGD

La reconnaissance fait principalement intervenir des interactions électrostatiques impliquant les fonctions carboxyliques et guanidinium. L'efficacité et la spécificité des interactions du motif avec l'intégrine dépendent de sa conformation tridimensionnelle, généralement coudée, et de la séquence encadrant ce motif⁽²⁸⁾.

I.C.1.b. Ligands naturels des différents types d'intégrines

Les cellules expriment une grande variété d'intégrines à leur surface, ce qui leur permet d'interagir avec une grande diversité de composants extracellulaires. Le tableau I-1 regroupe les ligands des différents types d'intégrines impliquant, pour certaines, la reconnaissance du RGD.

(28) Ruoslahti, E. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 1996, 12, 697-715.

Sous-unités		Ligands (type de reconnaissance)	Distribution cellulaire
β_1	α_1	LM, CO (<i>non-RGD</i>)	F, BM, EN, leucocytes, S
	α_2	LM (<i>non-RGD</i>), CO (<i>non-RGD</i>)	P, F, EN, EP, leucocytes, S
	α_3	FN (<i>RGD</i>), LM (<i>non-RGD</i>), CO (<i>non-RGD</i>)	EP, F, EN
	α_4	FN (<i>LVD</i>), VCAM-1 (<i>non-RGD</i>)	NC, F, leucocytes
	α_5	FN (<i>RGD</i>)	F, EP, EN, P, leucocytes
	α_6	LM (<i>non-RGD</i>)	P, leucocytes
	α_7	LM	myocytes, EP
	α_8	OP, VN, FN, cytotactine	EP, NC
	α_9	cytotactine	EP
	α_{10}	CO	cartilage
	α_{11}	CO	Utérus, cœur, tissus osseux, F
α_V	OP, VN (<i>RGD</i>), FN (<i>RGD</i>), CO, fibrinogène	F	
β_2	α_L	ICAM-1 (<i>non-RGD</i>), ICAM-2 (<i>non-RGD</i>), ICAM-3	leucocytes
	α_M	iC3b, fibrinogène (<i>non-RGD</i>), factor X, ICAM-1 (<i>non-RGD</i>)	leucocytes
	α_X	iC3b, fibrinogène (<i>non-RGD</i>)	leucocytes
	α_D		leucocytes

Tableau I-1 : Ligands des intégrines (1, 27, 29).

Ligands : CO=collagène ; LM=laminine ; FN=fibronectine ; VN=vitronectine ; OP=ostéopontine ; ICAM=molécule d'adhérence intracellulaire ; VCAM=molécule d'adhérence des cellules vasculaires ; vWF=von Willebrand factor

Distribution : F=fibroblastes ; EN=cellules endothéliales ; EP=cellules épithéliales ; BM=membrane basale ; P=plaquettes ; NC=cellules de la crête neurale ; C=cellules cancéreuses ; S=cellules de Schwann

β_3	α_{IIb}	FN (RGD), fibrinogène (RGD, KQAGDV), vWF, VN (RGD), thrombospondine	P
	α_V	FN (RGD), OP, VN (RGD), fibrinogène (RGD), CO, cytotactine, thrombospondine	EN, S, C
β_4	α_6	LM	C
β_5	α_V	FN, VN (RGD)	C, F, EP
β_6	α_V	FN (RGD), cytotactine	C, EP
β_7	α_4	FN	leucocytes
	α_E	E-cadhérine	leucocytes
β_8	α_V	FN, VCAM-1, LM	S

Tableau I-1 (suite) : Ligands des intégrines ^(1, 27, 29).

Ligands : CO=collagène ; LM=laminine ; FN=fibronectine ; VN=vitronectine ; OP=ostéopontine ; ICAM=molécule d'adhérence intracellulaire ; VCAM=molécule d'adhérence des cellules vasculaires ; vWF=von Willebrand factor

Distribution : F=fibroblastes ; EN=cellules endothéliales ; EP=cellules épithéliales ; BM=membrane basale ; P=plaquettes ; NC=cellules de la crête neurale ; C=cellules cancéreuses ; S=cellules de Schwann

En général, lors des études d'affinité, la vitronectine est prise comme ligand de référence pour les intégrines $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$ et $\alpha_5\beta_1$, tandis que le ligand fibrinogène est celui de $\alpha_{IIb}\beta_3$. Pour chaque intégrine, la conformation du motif RGD dans le ligand est primordiale pour la reconnaissance. Des conformations coudées de type coude- β ou coude- γ sont évoquées, aussi, un rappel sur ces deux structures nous semble tout à fait indiqué ici.

(29) Ginsberg, M.H.; Flow, E.F.; D'Souza, S.E. *Trends in Biochem. Science* 1991, 16, 246-250.

I.C.1.c. Les coudes inverses

Le coude inverse (l'un des trois plus importants motifs des structures secondaires des protéines, avec l'hélice α et le feuillet β) induit un changement de direction de la chaîne peptidique. On en distingue deux types (**Figure I-7**) :

- les coudes- γ , enchaînement de 3 résidus acides aminés, produisent un cycle à 7 chaînons avec une liaison hydrogène (défini par les angles dièdres Ψ_{i+1} et Φ_{i+1}).
- les coudes- β , constitués de 4 résidus acides aminés, forment un cycle à 10 chaînons avec une liaison hydrogène (caractérisé par 4 angles : Ψ_{i+1} , Φ_{i+1} , Ψ_{i+2} et Φ_{i+2}).

Pour des raisons stériques, seules certaines combinaisons précises de ces angles dièdres Φ (C-N-C $_{\alpha}$ -C) et Ψ (N-C $_{\alpha}$ -C-N) sont possibles pour un résidu donné. Selon les valeurs de ces angles, les coudes- β sont regroupés en différents types structuraux (de I à VII).

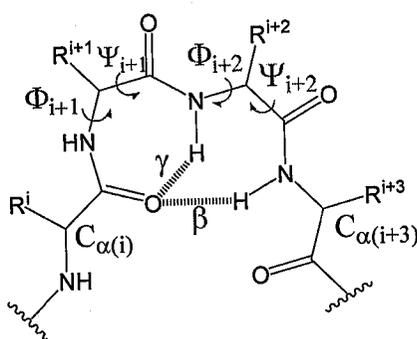


Figure I-7 : les coudes inverses

I.C.2. Processus de reconnaissance et interactions mises en jeu

La reconnaissance et la transmission des informations *via* les intégrines est un phénomène complexe dont les mécanismes ne sont pas encore totalement élucidés. En outre, l'affinité et la spécificité des interactions intégrine-ligand dépendent de différents facteurs comme l'état d'activation des cellules ou les concentrations en cations dans le milieu.

I.C.2.a. Interactions mises en jeu

Le tripeptide RGD se lie à l'intégrine dans une crevasse peu profonde entre les sous-unités α et β , formant des liaisons non covalentes relativement fortes.

La liaison intégrine-ligand est le résultat de la formation d'un complexe quaternaire entre le ligand et les extrémités des sous-unités α et β faisant intervenir des ions métalliques. Le processus de reconnaissance se fait par interactions électrostatiques entre les groupements carboxylate (chargé négativement) et guanidinium (chargé positivement) du motif RGD sous forme zwitterionique, avec les sous-unités β et α . Le résidu glycine participe à la stabilisation du complexe, formant généralement un coude.

I.C.2.b. Rôle des cations dans les interactions intégrine-ligand

La présence d'un cation divalent (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+}) est indispensable à l'interaction de l'intégrine et de son ligand ⁽³⁰⁾. La sous-unité α comprend plusieurs sites de fixation des cations localisés sur son domaine de type « EF-hand ». Cependant, ces cations ne sont pas toujours nécessaires pour la reconnaissance du ligand avec la sous-unité α (c'est le cas de α_{IIb}).

La sous-unité β possède un site de fixation du cation coordonné dans la région MIDAS. La présence du cation est ici indispensable pour la reconnaissance avec le ligand.

Il existe deux classes de sites de liaison de cations : la première permet la liaison au ligand lorsque le site est occupé (Ligand Competant Site) ; la seconde interfère avec le ligand lorsqu'elle est occupée par Ca^{2+} (Inhibitory Site) ⁽³¹⁾. Ainsi, la nature du cation est parfois importante pour cette reconnaissance. A titre d'exemple, le fibrinogène ne se lie pas à $\alpha_{\text{v}}\beta_3$ en présence de Ca^{2+} mais de Mn^{2+} ⁽³²⁾. Ceci dépend du rayon ionique qui impose une conformation particulière de l'intégrine. En outre, les cations peuvent être coordonnés par un nombre plus ou moins important de molécules d'eau.

Des dysfonctionnements dans l'adhérence cellulaire, et en particulier lorsqu'elle est liée aux intégrines, sont impliqués dans de nombreuses maladies telles que les scléroses, la néoplasie, les coagulopathies, les infections virales, les maladies coronariennes ou diverses maladies inflammatoires (arthrose rhumatoïde, asthme...). Aussi, les intégrines, et en particulier $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$, $\alpha_{\text{v}}\beta_3$, $\alpha_{\text{v}}\beta_5$ et $\alpha_5\beta_1$, sont devenues ces dernières années des cibles potentielles pour le développement d'agents thérapeutiques ⁽²²⁾.

(30) Gailit, J.; Ruoslahti, E. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 12927-12932.

(31) Lin, E.C.K.; Ratnikov, B.I.; Tsai, P.M.; Gonzalez, E.R.; McDonald, S.; Pelletier, A.J.; Smith, J.W. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14236-14243.

(32) Suehiro, K.; Smith, J.W.; Plow, E.F. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 10365-10371.

I.D. Autres stratégies thérapeutiques

I.D.1. Agents antiviraux interférant au niveau du cycle de réplication ^(33, 34)

Les médicaments que l'on trouve actuellement sur le marché bloquent généralement le fonctionnement des enzymes viraux. Ces derniers représentent une cible de choix dans le traitement de plusieurs épidémies (cancer, SIDA...), car l'inhibition de leur activité biologique contrecarre la réplication virale.

Les plus visées sont les enzymes protéolytiques, appelés peptidases ou protéases ; ils sont impliqués dans une multitude de processus physiologiques et pathologiques ; on peut dès lors les compter parmi les protéines les plus étudiées en biochimie ⁽³⁵⁾. Ils catalysent le clivage de certaines liaisons peptidiques au sein d'une séquence d'acides aminés.

Les protéases regroupent deux familles enzymatiques : les exopeptidases, qui hydrolysent les liaisons peptidiques se trouvant aux extrémités C ou N terminales de certaines protéines, tandis que les endopeptidases, appelées également protéinases, visent plutôt les liaisons peptidiques localisées à l'intérieur de la séquence d'acides aminés ciblée ⁽³⁶⁾. Ils contiennent un certain nombre d'acides aminés hydrophobes mais aussi quelques résidus hydrophiles qui peuvent interagir par pont hydrogène avec un substrat ou un inhibiteur (Figure I-8) ⁽³⁷⁾.

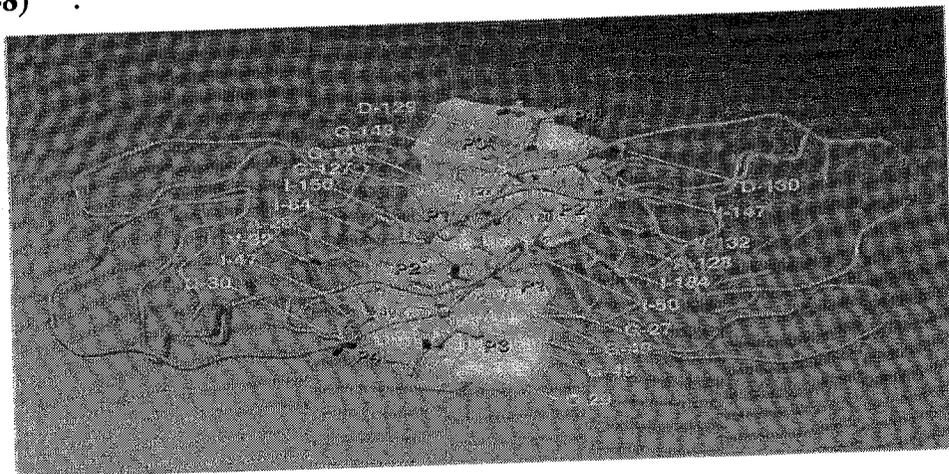


Figure I-8 : Interaction d'une chaîne peptidique avec le site actif de la protéase. Les chaînes latérales ⁽³⁷⁾ des principaux acides aminés délimitant les différents sous-sites sont reprises en rouge

I.D.2. Agents antiviraux stimulant le système immunitaire ^(38, 39)

Le développement de l'immunothérapie, appelée aussi thérapie biologique, a mis en évidence une nouvelle approche pour lutter contre les maladies infectieuses telles que les

tumeurs virales. Les lymphocytes occupent une place centrale dans cette thérapie dans la mesure où ils déterminent la spécificité de la réponse immunitaire ⁽⁸⁾. Ce sont les cellules produites par la moelle osseuse ; ils se répartissent en deux types, T et B.

- **Les cellules T** : ce sont celles qui ont subi une maturation dans le thymus. Elles sont constituées de deux sous populations, les lymphocytes T-helper et les lymphocytes T-suppresseurs/cytotoxiques. Ces lymphocytes se localisent dans les organes lymphoïdes périphériques, en particulier les ganglions lymphatiques. Un faible nombre d'entre eux circule dans le sang.
- **Les cellules B** : elles sont produites et maturées dans la moelle osseuse, leur vie est courte ; elles peuplent les organes lymphoïdes périphériques et circulent peu dans le sang. Sous stimulation antigénique, elles se transforment en plasmocytes sécréteurs d'anticorps spécifiques de l'antigène stimulant. Les cellules présentatrices d'antigènes capturent l'agent agresseur et présentent sa structure antigénique aux lymphocytes. On trouve dans ce groupe les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques, etc.
- **Les molécules du système HLA** (complexe majeur d'histocompatibilité) : elles permettent à l'organisme de reconnaître ses constituants et de ne pas les détruire. Elles s'expriment à la surface des cellules et interviennent dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes.
- **Les cytokines** : comme les interleukines (IL), et les interférons (IFN), les cytokines sont des molécules qui sont sécrétées par les cellules immunitaires activées. Elles agissent sur les cellules non encore activées et assurent ainsi la coordination des différentes phases de la réponse immunitaire. Elles interviennent également dans la régulation de certaines fonctions cellulaires (prolifération, différenciation, migration cellulaire).
- **Les marqueurs CD** : (cluster of differentiation) : ce sont des molécules que l'on retrouve à la surface de différentes cellules notamment les lymphocytes, et qui permettent de les identifier. **Le lymphocyte T-helper** porte le marqueur CD4 et le lymphocyte T-cytotoxique porte le marqueur CD8.

(38) Letvin, N. L.; Barouch, D. H. ;Montefiori, D. C. *Annu Rev Immunol.* **2002**, *20*, 73-99.
(39) Baltimore, D. ; Heilman, C. *Pour la Science.* **1998**, *251*, 44-50.

- **Les récepteurs pour l'antigène** : ils sont fixés sur la membrane du lymphocyte et lui permettent de reconnaître l'antigène. Le lymphocyte CD3+ possède un récepteur appelé TCR (T cell receptor) qui capte l'antigène. Pour le lymphocyte B, le récepteur est une immunoglobuline portée à sa surface.
- **Les antigènes** : dans les infections virales, ce sont essentiellement les protéines structurales du virus qui sont antigéniques. Leur présence déclenche la réaction immunitaire et la production d'anticorps spécifiques.
- **Les anticorps** : ce sont des immunoglobulines sécrétées par les plasmocytes (forme sécrétoire des lymphocytes B). Ils sont spécifiques de l'antigène qui a déclenché leur production.

La découverte d'antigènes tumoraux ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de l'immunothérapie du cancer ^(8, 40). Les stratégies élaborées dans ce cadre visent à stimuler une réponse immunitaire dirigée spécifiquement contre les antigènes tumoraux, conduisant à la destruction de cellules cancéreuses par des lymphocytes tueurs (lymphocytes TCD8 cytotoxiques et les cellules dendritiques).

I.E. Antagonistes peptidomimétiques

I.E.1. Antagonistes naturels non peptidiques

La découverte des composés naturels, isolés des plantes, comme agents anticancéreux, a beaucoup amélioré les procédés employés en traitement chimiothérapique. Ainsi, elle a conduit à d'autres approches synthétiques par modification de ces substances en composés analogues plus actifs et moins toxiques ⁽⁴¹⁾. Comme exemples illustratifs, citons la camptothécine (CTP) et le taxol isolés par Wall et Wani ⁽⁴²⁾.

(40) Dyken, S. J. V.; Locksley, R. M. *Immun. Cell Biol.*, **2007**, *85*, 572-574.

(41) Srivastava, V.; Negi, A. S.; Kumar, J. K.; Gupta, M. M.; Khanuja, S. P. S. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 5892-5908.

(42) Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325.

Le CTP **2** est un composé polycyclique connu comme agent cytotoxique puissant, il est utilisé comme inhibiteur de la topoisomérase I de l'ADN ^(43, 44), et est doué d'une activité anticancéreuse contre les cancers du colon et du pancréas. Par contre, ses analogues **3** et **4** sont actifs contre les cancers du sein, du foie et de la prostate ⁽⁴⁵⁾ (**Figure I-9**).

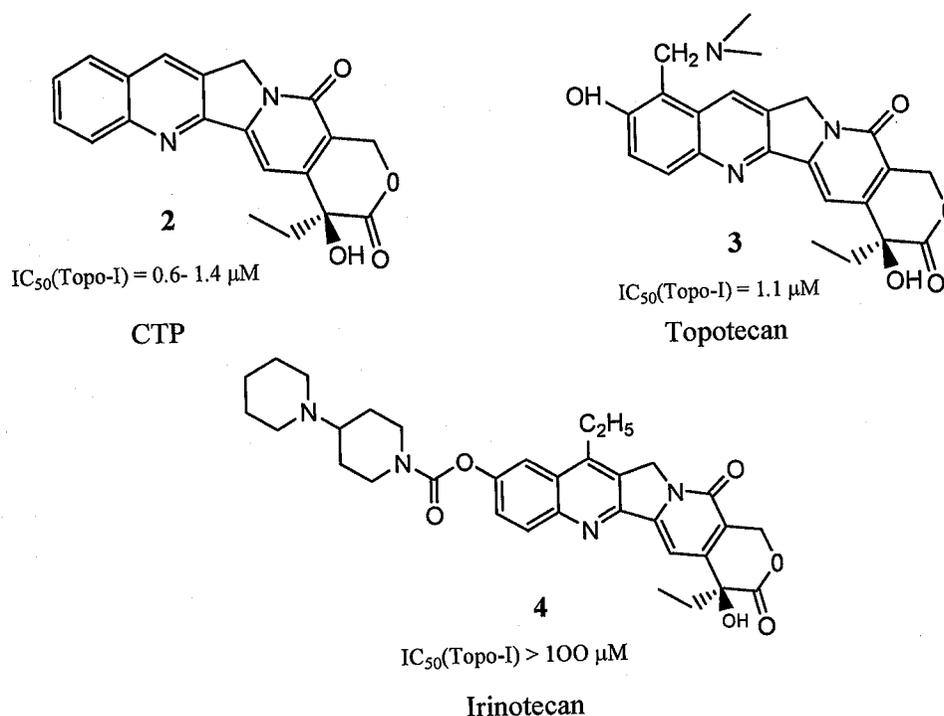


Figure I-9 : CTP et ses analogues.

Le taxol **5**, composé tétracyclique, est utilisé dans le traitement des cancers de l'ovaire, du poumon et même dans le stade métastatique du cancer du sein. Cependant, le taxotère **6**, un de ses dérivés semi synthétiques, est connu comme agent anticancéreux plus efficace que le taxol ⁽⁴⁶⁾ (**Figure I-10**).

(43) Redinbo, M. R. ; Stewart, L.; Kuhn, P.; Champoux, J. J.; Hol, W. G. *J. Science.* **1998**, 279, 1505.

(44) Staker, B. L. ; Hjerrild, K. ; Feese, M. D.; Behnke, C. A.; Burgin, A. B.; Jr.; Stewart, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 15387.

(45) Adams, D. J. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents.* **2005**, 5, 1-13.

(46) Eisenhauer, E. A.; Vermorken, J. B. *Drugs.* **1998**, 55, 5.

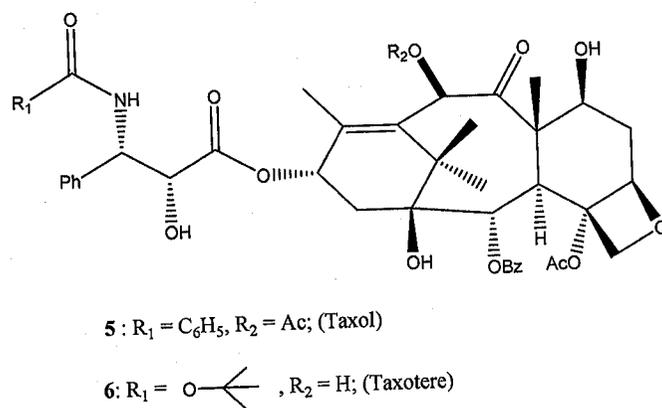


Figure I-10 : Paclitaxel (taxol) et Docetaxel (taxotère)

D'autres agents ont été isolés et identifiés comme antagonistes anticancéreux tels que la combretastatine 7 et la podophyllotoxine 8^(47, 48) (Figure I-11).

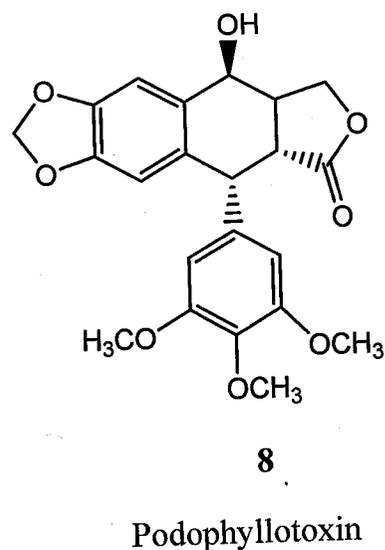
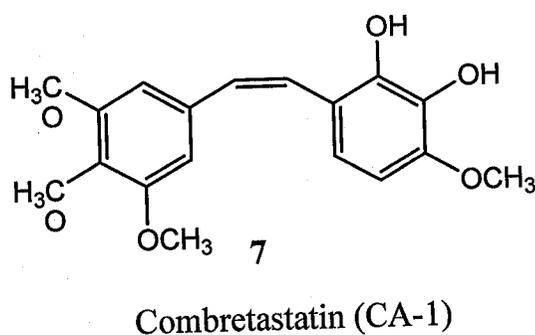


Figure I-11 : Autres antagonistes naturels

L'inconvénient majeur de toutes ces substances naturelles ainsi que de leurs analogues réside dans leur toxicité associée à une faible biodisponibilité. Pour d'autres cas, l'insolubilité dans l'eau provoque aussi une réduction de l'activité thérapeutique.

(47) El-Zayat, A. A. E.; Degen, D.; Drabek, S.; Clark, G. M.; Pettit, G. R.; Von Hoff, D. D.; *Anti-Cancer Drugs*. 1993, 4, 19.

(48) You, Y. J.; Kim, Y.; Nam, N. H.; Bang, S. C.; Ahn, B. Z. *Eur. J. Med. Chem.* 2004, 39, 189.

I.E.2. Mimes du Peptide RGD

L'importance de la séquence RGD pour l'activité des intégrines a engendré un fort intérêt pour le développement d'antagonistes des intégrines. Depuis, de nombreux mimes de peptides RGD ont été proposés, synthétisés et évalués, permettant une évolution parallèle dans la compréhension des interactions mises en jeu.

Des séquences peptidiques linéaires contenant le motif RGD ont d'abord été synthétisées, puis des composés de conformation réduite ont été préparés afin d'améliorer l'affinité et la sélectivité avec l'intégrine ⁽⁴⁹⁾. Le développement de composés non peptidiques permet en outre d'améliorer la biodisponibilité de ces composés.

I.E.2.a. Peptides cycliques

Le cyclopentapeptide **10**, l'un des premiers mimes antagonistes de $\alpha_v\beta_3$, comporte une faible distance entre les groupements carboxylate et guanidinium (**Figure I-12**). Il a été obtenu par Kessler *et al* ^(50, 51) par cyclisation du pentapeptide RGDfV **9**. Les résidus (*D*)-phénylalanine et valine participent également à la reconnaissance par formation d'au moins une liaison hydrogène et par la présence d'un résidu hydrophobe. Une structure en coude β de type II est évoquée dans la région (*D*)-Phe-Val tandis que le résidu glycine est en position *i*+1 d'un coude γ ^(52, 53). Ce coude γ est relativement flexible et le cyclopentapeptide présente une dynamique de conformation où une liaison hydrogène entre le NH-Asp et le CO-Arg peut être cassée ^(52, 54).

(49) Ojima, I.; Chakravarty, S.; Dong, Q. *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 337-360.

(50) Pfaff, M.; Tangemann, B.; Muller, B.; Gurrath, M.; Muller, G.; Kessler, H.; Timpl, R.; Engel, J. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 20233.

(51) Haubner, R.; Finsinger, D.; Kessler, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374-1389.

(52) Haubner, R.; Gratias, R.; Diefenbach, B.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461-7472.

(53) Vermuth, J.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328-1335.

(54) Koppitz, M.; Huenges, M.; Gratias, R.; Kessler, H.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1280-1300.

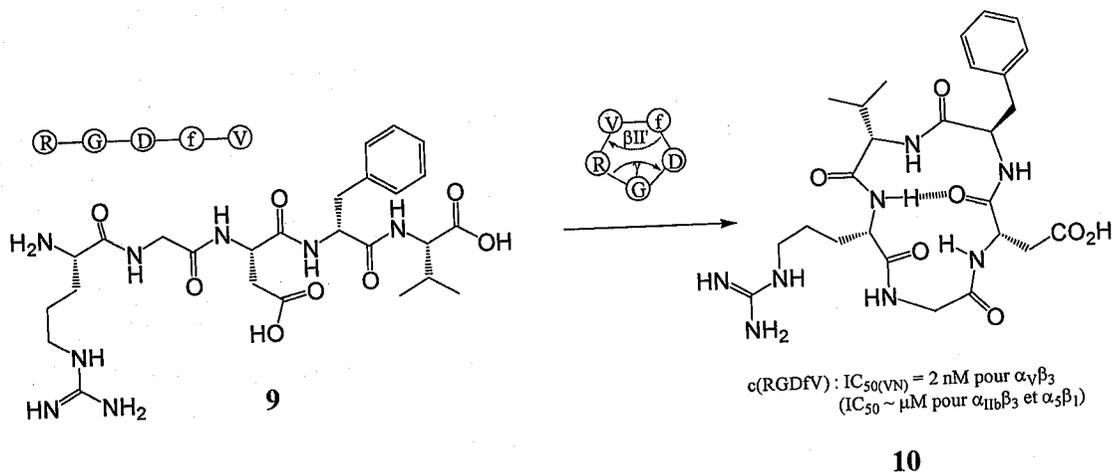


Figure I-12 : Pentapeptide cyclique *c(RGDfV)* antagoniste de $\alpha_V\beta_3$

L'isomère de séquence 11, dont les orientations des chaînes latérales carboxylate et guanidinium sont en *trans*, montre également une activité importante (**Figure I-13**)⁽⁵³⁾.

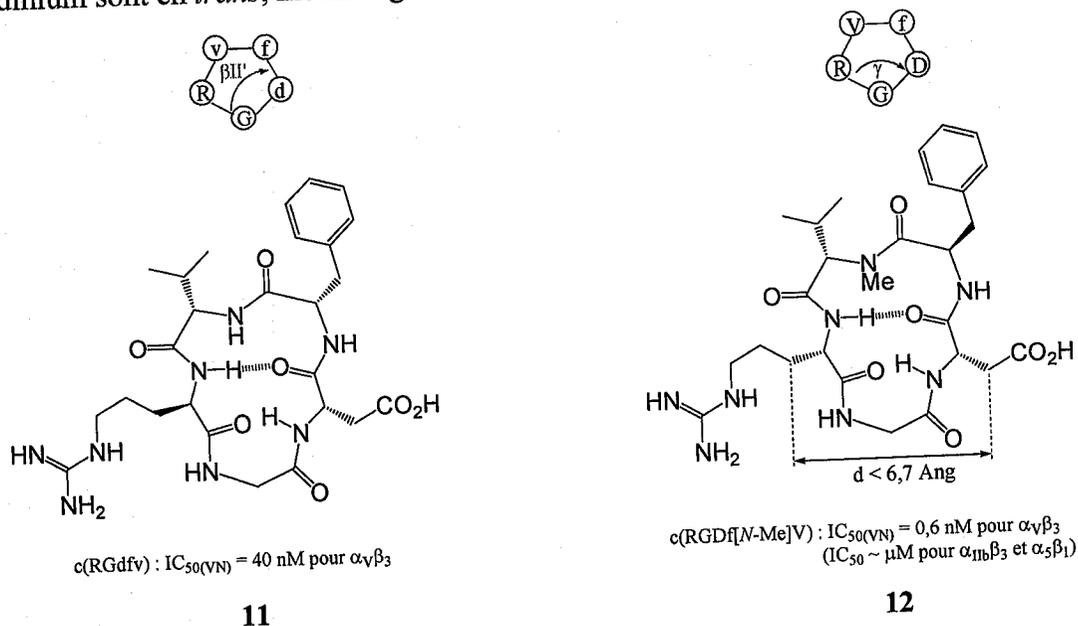


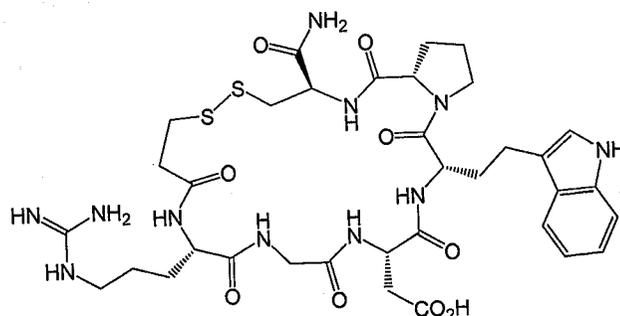
Figure I-13 : Pentapeptides cycliques *c(RGdfv)* et *c(RGDf[N-Me]V)*

La *N*-méthylation du résidu valine a permis d'améliorer l'affinité du composé 12 (**Figure I-13**)⁽⁵⁵⁾. La structure est caractérisée par trois coudes : deux coudes γ_i avec Arg et Asp en position *i*+1 et un coude γ avec Gly en position *i*+1. Ces pentapeptides, également actifs sur $\alpha_V\beta_3$, sont sélectifs par rapport à $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ et $\alpha_5\beta_1$.

(55) Dechantstreiter, M.A.; Planker, E.; Mathä, B.; Lohof, E.; Hölzemann, G.; Jonczyk, A.; Goodman, S.L.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033-3040.

Le cyclopentapeptide c(RGDf[N-Me]V) **12**, qui a passé la phase II des tests cliniques il y a dix ans comme inhibiteur de l'angiogenèse, est à ce jour utilisé comme référence dans de nombreux tests de binding ⁽⁵⁵⁾.

Découvert dans le venin de crotale, l'heptapeptide cyclique **13** (Eptifibatide), constitué de six acides aminés et d'un résidu mercaptopropionyle (**Figure I-14**) ⁽⁵⁶⁾, est l'un des composés commerciaux les plus actifs sur $\alpha_{IIb}\beta_3$ utilisé comme anticoagulant.

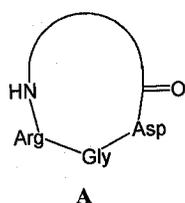


13

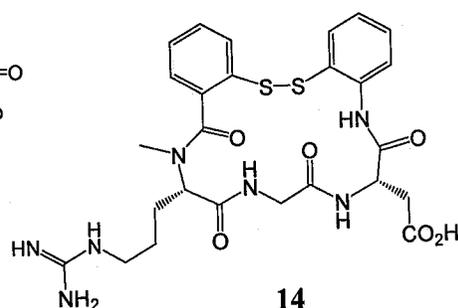
Eptifibatide

Figure I-14 : Eptifibatide

D'autres composés de type A (**Figure I-15**) comprennent le tripeptide RGD cyclisé sur divers résidus, comme le semi-peptide disulfure cyclique **14** ⁽⁵⁷⁾ (antagoniste de $\alpha_V\beta_3$ et $\alpha_{IIb}\beta_3$) et le pentapeptide c(PRGD-Mamb) **15** ⁽⁵⁸⁾ (antagoniste de $\alpha_V\beta_3$).

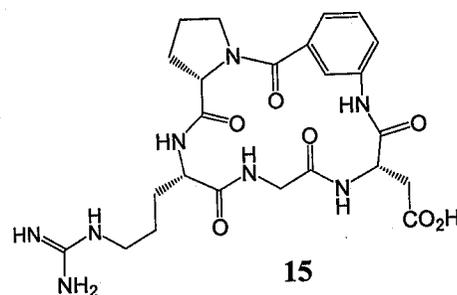


A



14

cRGDPhSSPh (SmithKline-Beecham)



15

cPRGD-Mamb (Dupont-Merck)

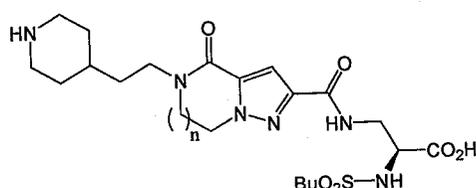
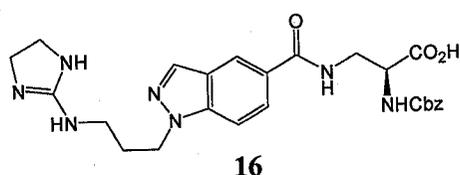
Figure I-15 : Peptides cycliques

- (56) Schumann, F.; Müller, A.; Koks, M.; Müller, G.; Sewald, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12009-12010.
 (57) Kopple, K.D.; Baures, P.W.; Bean, J.W.; D'Ambrosio, Hugues, J.L.; C.A.; Peishoff, C.E.; Eggleston, D.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9615-9623.
 (58) Peishoff, C.E.; Ali, F. E.; Bean, J.W.; Calvo, R.; D'Ambrosio, C.A.; Eggleston, D.S.; Kline, T.P.; Koster, P.; Nicols, A.; Powrs, D.; Romoff, T.; Samanen, J.M.; Stadel, J.; Vasco, J.; Wong, A.; Kopple, K.D. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3962-3969.

I.E.2.b. Mimes non peptidiques

Le point faible des peptides en tant qu'agents thérapeutiques est qu'ils peuvent être dégradés *in vivo* par le milieu biologique avant d'atteindre leur cible. Ainsi, plus récemment, d'autres structures non peptidiques ont été envisagées afin d'améliorer leur stabilité métabolique et leur biodisponibilité. Ces peptidomimétiques contiennent un squelette rigide et deux prolongements présentant les fonctions acides carboxyliques et basiques.

Des structures rigides bicycliques, comme le composé **16**⁽⁵⁹⁾ (antagoniste potentiel de $\alpha_V\beta_3$), ont été synthétisées et élaborées sur la base d'un squelette benzopyrazole (**Figure I-16**). Un squelette pyrazolopipérazinone a conduit aux composés sélectifs de $\alpha_{IIb}\beta_3$ de type **17** et **18**⁽⁶⁰⁾.



17 $n=1$ $IC_{50}(\text{fibrinogène}) = 9 \text{ nM}$ sur $\alpha_{IIb}\beta_3$

18 $n=2$ $IC_{50}(\text{fibrinogène}) = 10 \text{ nM}$ sur $\alpha_{IIb}\beta_3$

Figure I-16 : Peptidomimétiques *comportant un squelette bicyclique*

Pour résumer, les études montrent que les groupements acides carboxyliques et amino sont essentiels pour la reconnaissance par les intégrines. Une conformation en coude ouvert semble favoriser l'inhibition de $\alpha_{IIb}\beta_3$, tandis qu'un coude plus fermé, conduisant à une distance plus courte entre les deux fonctions favoriserait la reconnaissance par $\alpha_V\beta_3$ ⁽⁶¹⁾. D'une façon générale, pour les mimes de peptides RGD, la distance entre les deux fonctions est comprise entre 12 et 14 Å, tandis que la distance entre les centres α des résidus Arg et Asp doit être de 6 à 8 Å.

- (59) Batt, D.G.; Petraitis, J.J.; Houghton, G.C.; Modi, D.P.; Cain, G.A.; Corjay, M.H.; Mousa, S.A.; Bouchard, P.J.; Forsythe, M.S.; Harlow, P.P.; Barbera, F.A.; Spitz, S.M.; Wexler, R.R.; Jadhav, P.K. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 41-58.
- (60) Askew, B.C.; Bednar, R.A.; Bednar, B.; Claremon, D.A.; Cook, J.J.; McIntyre, C.J.; Hunt, C.A.; Gould, R.J.; Lynch, R.J.; Lynch, J.J.; Gaul, S.L.; Stranieri, M.T.; Sitko, G.R.; Holahan, M.A.; Glass, J.D.; Hamill, T.; Gorham, L.M.; Prueksaritanont, T.; Baldwin, J.J.; Hartman, G.D. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1779-1788.
- (61) Keenan, R.M.; Miller, W.H.; Kwon, C.; Ali, F.E.; Callahan, J.F.; Calvo, R.R.; Hwang, S.-M.; Kopple, K.D.; Peishoff, C.E.; Samanen, J.M.; Wong, A.S.; Yuan, C.K.; Huffman, W.F. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2289-2292.

L'activité de certains composés avec l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ a pu être améliorée en remplaçant le groupement guanidyle par divers motifs basiques lipophiles (Figure I-17) ^(62, 63): 4-pipéridine A, tétrahydronaphtyridine B, benzamidines, aminopyridine C et D, guanidines cycliques E et F, benzimidazole G...

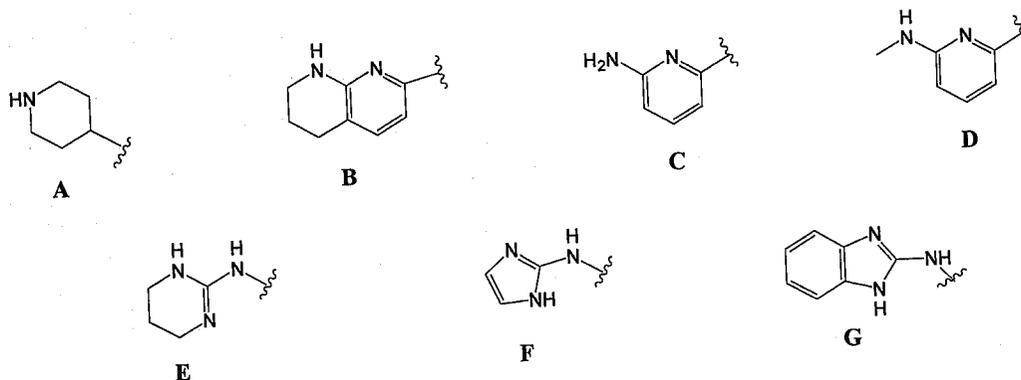


Figure I-17 : Différents groupements basiques lipophiles utilisés

Généralement, ces substitutions ne font qu'améliorer une activité déjà existante et ne sont pas toujours déterminantes pour son installation ⁽⁶⁴⁾.

I.E.3. Autres peptidomimétiques

A titre d'exemple, nous indiquerons dans cette partie bibliographique quelques inhibiteurs remarquables des protéases. Les inhibiteurs peptidiques sont rapidement métabolisés par les différents enzymes protéolytiques de l'organisme et n'atteignent donc pas leur cible en quantité suffisante. Pour en améliorer les propriétés physico-chimiques et la stabilité métabolique, des modifications successives peuvent être apportées à ces peptides, tant au niveau du squelette peptidique, qu'à celui des chaînes latérales. Pendant peu à peu leur caractère peptidique, ces inhibiteurs accroissent leur efficacité et leur spécificité, et limitent ainsi d'éventuels effets secondaires.

(62) Duggan, M.E.; Duong, L.T.; Fisher, J.E.; Hamill, T.G.; Hoffman, W.F.; Huff, J.R.; Ihle, N.C.; Leu, C.T.; Nagy, R.M.; Perkins, J.J.; Rodan, S.B.; Wesolowski, G.; Whitman, D.B.; Zartman, A.E.; Rodan, G.A.; Hartman, G.D. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3736-3745.

(63) Nicolaou, K.C.; Trujillo, J.I.; Jandeleit, B.; Chibale, K.; Rosenfeld, M.; Diefenbach, B.; Cheresch, D.A.; Goodman, S.L. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1185-1208.

(64) Goodman, S.L.; Hölzemann, G.; Sulyok, G.A.G.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1045-1051.

Le Nelfinavir **20** est l'un des premiers exemples résultant de l'optimisation du Saquinavir ^(65, 66) **19** (composé très puissant mais de faible biodisponibilité) (**Figure I-18**). Ces deux composés sont utilisés comme inhibiteurs de la protéase du VIH (Virus de l'immunodéficience humaine).

En effet, la conversion de la phénylalanine en S-phénylcystéine permet de meilleurs contacts hydrophobes au niveau des sous-sites de la protéase. Le Nelfinavir mésylate commercialisé en mars 1997 par la firme Agouron, possède une activité anti-virale comparable à celle du Saquinavir, mais de meilleures propriétés pharmacocinétiques ⁽⁶⁷⁾, à cause de la diminution de son caractère peptidique.

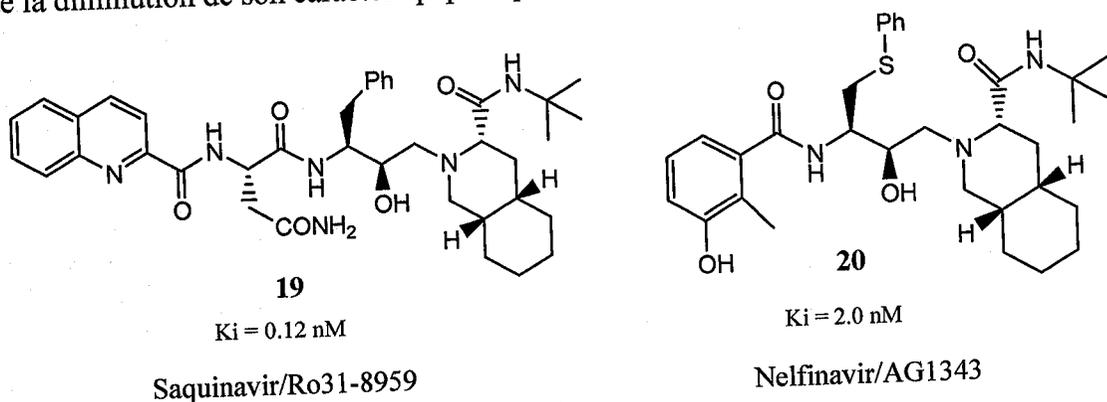
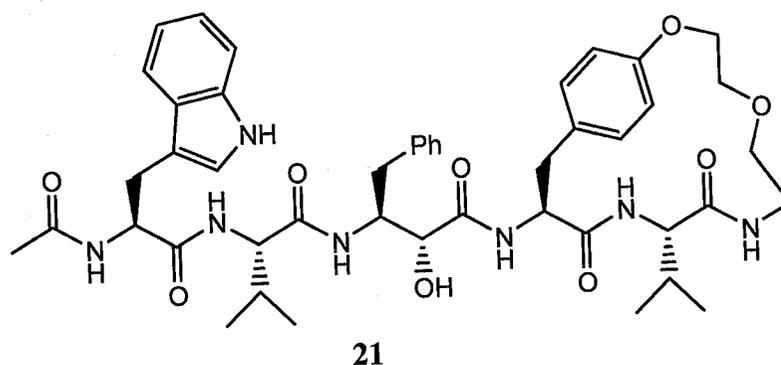


Figure I-18 : Nelfinavir dérivé du Saquinavir

Certains peptides cycliques présentent une conformation très privilégiée, étant donné que la rotation autour des liaisons est fortement gênée. Cependant, la plupart sont relativement flexibles ⁽⁶⁸⁾ et peuvent être le siège d'équilibres rapides entre plusieurs conformations de proche énergie ^(52, 69). Plusieurs équipes ont tenté de réduire cette flexibilité en introduisant des structures rigides, ces restrictions permettant de mieux étudier les relations structure-activité.

- (65) Kalish, V.; Kaldor, S.; Shetty, B.; Tatlock, J.; Davies, J.; Hammond, M.; Dressman, B.; Fritz, J.; Appelt, K.; Reich, S.; Musick, L.; Wu, B.W.; Su, K. *Eur J Med Chem.* **1995**, *30*, 201-214.
- (66) Melnick, M.; Reich, S.H.; Lewis, K.K.; Mitchell, L.J.; Nguyen, D.; Trippe, A.J.; Dawson, H.; Davies, J.F.; Appelt, K.; Wu, B.W.; Musick, L.; Gehlhaar, D.K.; Webber, S.; Shetty, B.; Kosa, M.; Kahil, D.; Andrada, D. *J Med Chem.* **1996**, *39*, 2795-2811.
- (67) Kaldor, S.W.; Kalish, V.J.; Davies, J.F.; Shetty, B.V.; Fritz, J.E.; Appelt, K.; Burgess, J.A.; Campanale, K.M.; Chirgadze, N.Y.; Clawson, D.K.; Dressman, B.A.; Hatch, S.D.; Khalil, D.A.; Kosa, M.B.; Lubbehusen, P.P.; Muesing, M.A.; Patick, A.K.; Reich, S.H.; Su, K.S.; Tatlock, J.H. *J Med Chem.* **1997**, *40*, 3979-3985.
- (68) Mierke, D. F.; Kurz, M.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1042-1049.
- (69) Müller, G.; Gurrath, M.; Kessler, H.; Timpl, R. *Angew. Chem. Int Ed. Engl.* **1992**, *31*, 326-328. (b) *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 341-343.

Par conséquent, stabiliser la conformation d'un peptide ou d'un pseudopeptide sous sa forme bioactive constitue par ailleurs une des stratégies exploitée lors de la mise au point d'inhibiteurs peptidomimétiques. L'introduction des squelettes cycliques dans ces molécules rigidifie le peptide, tout en le contraignant à adopter la conformation souhaitée, comme le cas du composé **21** ^(70, 71) (Figure I-19).



$IC_{50}(\text{VIH-1 PR}) = 5 \text{ nM}$

Figure I-19 : Antagoniste rigide

Une autre stratégie a également été mise en jeu pour améliorer la biodisponibilité de certains inhibiteurs : celle des « *pro-drogue* », que nous illustrons par le cas du KNI-272, composé **22** et de ses dérivés. Il est en effet possible de générer une pro-drogue **23** en greffant un substituant acyle par exemple, sur le groupement hydroxyle central de KNI-272, ce qui augmente la solubilité de l'inhibiteur en milieu aqueux, et donc sa biodisponibilité (Figure I-20). Lors de leur incubation à 37°C et à pH 7,4, ces dérivés se convertissent spontanément sous leur forme active, le groupement acyle étant transféré par un réarrangement intramoléculaire du côté N-terminal de l'inhibiteur. ^(72, 73)

(70) Benatalah, Z.; Trigui, N.; Sicsic, S.; Tonnaire, T.; de Rosny, E.; Boggetto, N.; Reboud, M. *Eur J Med Chem.* **1995**, *30*, 891-900.

(71) Kahn, M.; Nakanish, H.; Chrusciel, R.A.; Fitzpatrick, D.; Johnson, M.E. *J Med Chem.* **1991**, *34*, 3395-3399.

(72) Hamada, Y.; Ohtake, J.; Sohma, Y.; Kimura, T.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2002**, *10*, 4155-4167.

(73) Hamada, Y.; Matsumoto, H.; Yamaguchi, S.; Kimura, T.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2004**, *12*, 159-170.

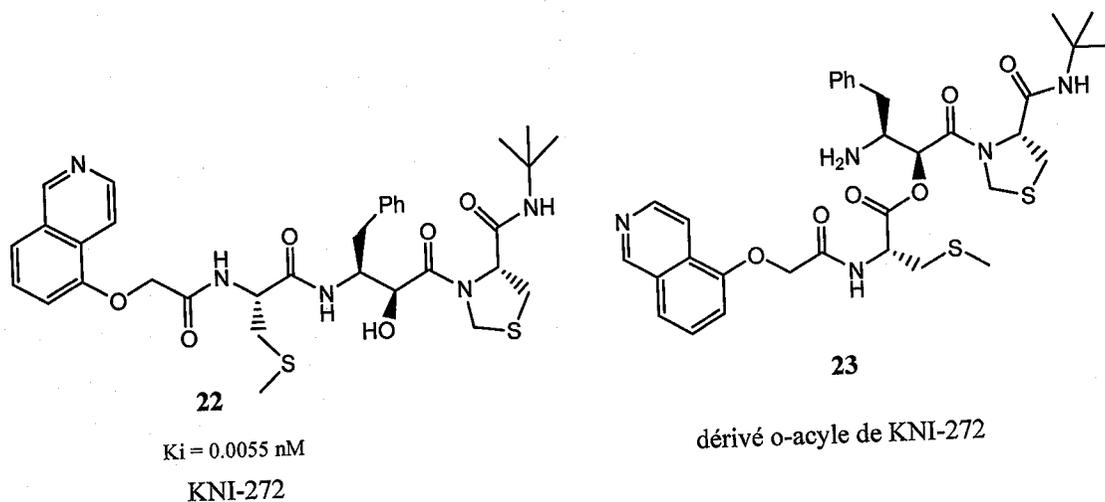


Figure I-20 : KNI-272 et son dérivé-acyle

Une étape encore plus élaborée utilise des « doubles-drogues »^(74, 75). Dans ce cas, c'est un inhibiteur de la transcriptase inverse, l'AZT, qui est associé à une anti-protéase. L'exemple le plus connu est le KNI-413, composé **24** : il possède une activité anti-enzymatique raisonnable, mais passe difficilement à travers la membrane cellulaire. Lorsque l'on greffe l'AZT pour former le KNI-684, composé **25**, on observe plus d'inhibition in vitro de la protéase seule. Par contre, l'activité cellulaire est meilleure que celle de l'AZT ou de KNI-413 pris séparément, ce qui indiquerait l'existence d'un clivage intracellulaire libérant les deux inhibiteurs^(76, 77).

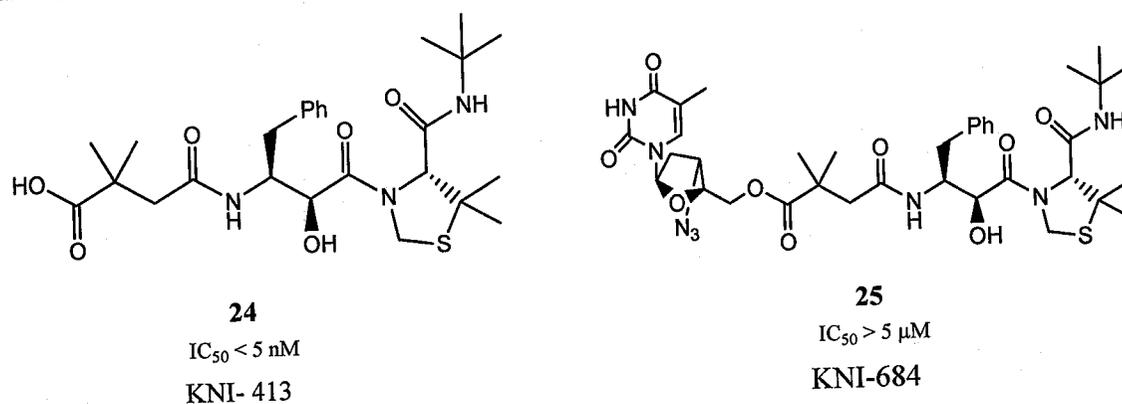


Figure I-21 : dérivés du KNI

- (74) Matsumoto, H.; Kimura, T.; Hamawaki, T.; Kumagai, A.; Goto, T.; Sano, K.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2001**, *9*, 1589-600.
- (75) Le, V.D.; Mak, C.C.; Lin, Y.C.; Elder, J.H.; Wong, C.H. *Bioorg Med Chem.* **2001**, *9*, 1185-1195.
- (76) Matsumoto, H.; Hamawaki, T.; Ota, H.; Kimura, T.; Goto, T.; Sano, K.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem Lett.* **2000**, *10*, 1227-1231.
- (77) Kimura, T.; Matsumoto, H.; Matsuda, T.; Hamawaki, T.; Akaji, K.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem Lett.* **1999**, *9*, 803-806.

Les produits naturels de type peptidomimétique représentent une grande source d'inhibiteurs de protéases⁽⁷⁸⁾, tels que le Miraziridine **26**, isolée de l'éponge marine *Theonella mirabilis*⁽⁷⁹⁾. C'est un térapeptide unique parce que c'est un composé qui regroupe trois substances inhibitrices à la fois : (i) (2R, 3S)-aziridine-2,3-acide dicarboxylique, (ii) (3S, 4S)-acide-4-amino-3-hydroxy-6-méthylheptanoïque (statine), et (iii) (E)-(S) acide-4-amino-7-guanidino-hept-2-énoïque (arginine vinylique). Le Miraziridine est un inhibiteur de trois classes de protéases : la trypsine, la cathepsine (L et B) et la pepsine. Cela a évidemment fait l'objet de plusieurs travaux de synthèse qui ont permis de le tester de nouveau pour en vérifier les propriétés inhibitrices⁽⁷⁸⁾.

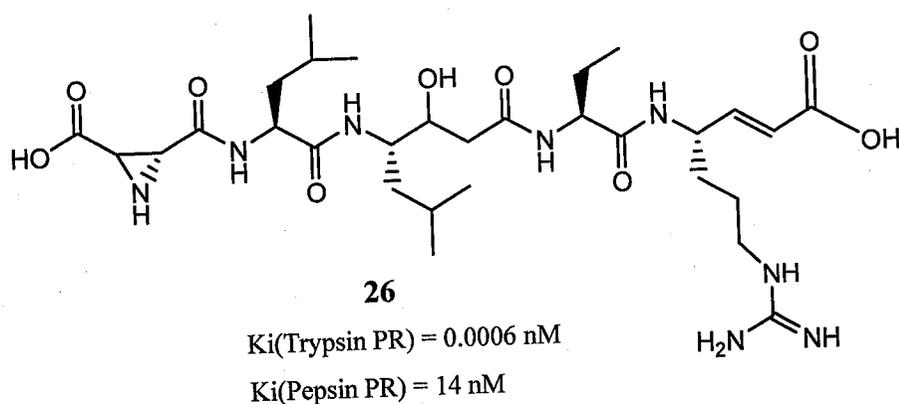


Figure I-22 : Miraziridine

I.F. Conclusion partielle

La recherche et la découverte d'antagonistes de certains agents antiviraux ont permis de mieux comprendre les mécanismes de reconnaissance cellulaire mis en jeu dans la thérapie anti cancéreuse humaine, et de bien cibler des perspectives plus efficaces.

Les peptidomimétiques présentent une plus grande stabilité aux enzymes métaboliques et sont plus aptes à atteindre leur cible que les peptides naturels. L'élaboration de peptidomimétiques de structure rigide permet en outre de bloquer la configuration des composés et d'améliorer l'affinité et la sélectivité des interactions.

(78) Schaschke, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 855-857.

(79) Nakao, Y.; Fujita, M.; Warabi, K.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10462.

Bien que la structure tridimensionnelle des récepteurs ne soit pas toujours connue, cette approche a permis d'identifier des composés bioactifs, et de contribuer à la compréhension de leurs interactions avec leurs récepteurs.

Les études structurales sont essentielles pour le développement d'agents sélectifs. Depuis de nombreuses années, l'accumulation des informations structurales permet de comprendre de mieux en mieux les mécanismes mis en jeu lors de la reconnaissance ligand récepteur, ce qui devrait guider les recherches vers la conception de molécules de plus en plus actives et faciliter la découverte de nouveaux agents thérapeutiques.

Les inhibiteurs peptidomimétiques découverts à ce jour présentent généralement un poids moléculaire élevé, ce qui diminue leur solubilité dans l'eau et par conséquent, réduit leur biodisponibilité. Ce problème peut être résolu par l'élaboration des dérivés de masse moléculaire plus petite en gardant les sites actifs de l'inhibiteur. Actuellement, deux stratégies sont adoptées pour découvrir d'autres antagonistes : la première consiste à cribler et procéder à une évaluation biologique de banques de données de produits chimiques synthétiques ou naturels (*screening*). La deuxième stratégie se base directement sur la topologie tridimensionnelle du site actif ciblé (*structure-based rational design*).

Dans le cadre de notre thèse, nous nous sommes intéressés d'une part à la synthèse de certains peptidomimétiques type isostères à motif aziridinyle, parce que ce dernier présente une activité biologique intéressante dans toute substance où il s'est incorporé. D'autre part, nous nous sommes également impliqués dans un autre projet de synthèse d'une structure rigide 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcanes pouvant potentiellement mimer un coude- β et être utilisé comme précurseur des mimes de peptides RGD. Les méthodes de synthèse mises en oeuvre dans chacun de ces travaux sont présentées dans les chapitres suivants.

CHAPITRE II

CHAPITRE II

REACTIVITE DE L'IMINOPHOSPHORANE

II.A. Introduction

La chimie organique constitue un domaine de la science qui maintient un rythme d'activité remarquable et qui ne ralentit pas, dans la mesure où elle s'inspire non seulement des connaissances propres à la chimie, mais aussi parce qu'elle reste attentive aux améliorations des autres sciences comme la biologie, la médecine ainsi que la pharmacie. Elle occupe d'ailleurs une position privilégiée dans la découverte de nouveaux principes actifs.

Comprendre la chimie organique comme une science vivante revêt parfois une grande difficulté étant donné que ses mécanismes réactionnels sont nombreux, variés et qu'il n'est pas toujours possible de les posséder tous. Pourtant, la plupart des réactions chimiques peuvent être comprises et expliquées à travers des mécanismes fondamentaux dans lesquels un grand nombre de réactions peuvent être regroupées et reconnues.

Par définition, un mécanisme réactionnel est une hypothèse de travail qui tend à expliquer les phénomènes microscopiques qui surviennent aux niveaux atomique et moléculaire lors du déroulement d'une réaction chimique. Cela contribue à fournir une justification cohérente entre les différentes caractéristiques des transformations chimiques. Cependant, l'aspect énergétique est un élément primordial du mécanisme. Si certains mécanismes ont été vérifiés et prouvés, beaucoup d'autres demeurent inconnus ou aléatoires. Ceux qui sont donnés dans la littérature ne sont, en majorité, que des approximations valables dans quelques cas limites. A cet effet, il est essentiel de tenir compte des données expérimentales, qui constituent la réalité de la réaction et de les confronter aux études théoriques.

II.B. Etude de la réactivité

Les mécanismes réactionnels ne sont pas toujours faciles à déterminer avec précision. Il y a plusieurs raisons à cela :

- tous les intermédiaires (neutres, ioniques, radicalaires etc...) ne sont pas toujours connus puisqu'on ne peut pas les isoler ou les identifier. Lorsque cela peut être fait, c'est au prix de nombreuses difficultés.

- dans une réaction donnée, il peut y avoir plusieurs voies mécanistiques compétitives possibles, et qui sont indiscernables les unes des autres.
- une réaction peut suivre plus d'un chemin mécanistique.

L'étude de la réactivité d'un substrat ou d'un réactif suppose également un effort de compréhension du mécanisme à proposer pour les différentes transformations. Cette étude constitue une bonne approche pour comprendre, à travers les produits obtenus, la manière dont se comporte un système réactionnel. Les résultats de recherches effectuées dans ce cadre et qui mettent en œuvre les diverses techniques de séparation et d'identification, donnent une première idée des liaisons qui ont été rompues et de celles qui se sont formées. Ces résultats permettent d'esquisser un schéma de la réaction.

Cependant, la localisation des ruptures de liaisons n'est pas toujours évidente, et au pire, elle peut même se révéler très différente de celle qu'on attendait. Parmi les outils à la disposition du chimiste pour étudier la réactivité de différents substrats et de là, les mécanismes réactionnels des processus dans lesquels ils sont engagés, on peut citer :

- l'identification et la caractérisation des intermédiaires réactionnels.
- L'utilisation des effets isotopiques.
- l'étude de la vitesse des réactions, qui est connue grâce à la cinétique chimique.

II.B.1. Détection et identification des intermédiaires réactionnels

Une vision cohérente d'un mécanisme réactionnel pourrait être obtenue si l'on réussissait à détecter, identifier et, éventuellement, isoler un intermédiaire réactionnel, tout en concevant la représentation la plus correcte possible de son état de transition.

Si l'intermédiaire est stable, il peut s'en retrouver une certaine quantité dans les produits de réaction. Il sera alors possible, après isolation et identification, de le soumettre aux conditions de la réaction afin de vérifier s'il conduit bien aux produits obtenus par ailleurs. De plus, on peut le reconnaître dans la structure des produits isolés.

Si l'intermédiaire de la réaction est fugace, il est parfois possible de le capturer par l'introduction dans le milieu réactionnel d'une substance susceptible de le soustraire à la réaction principale, et de former avec lui un composé que l'on pourra retrouver dans les sous-produits de la réaction (**Schéma II-1**).

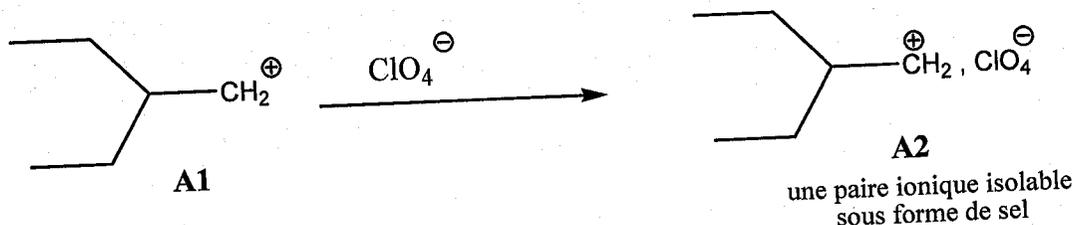


Schéma II-1

II.B.2. Marquage isotopique

Le marquage isotopique est un moyen ingénieux de différencier deux mécanismes possibles. Il peut se faire avec n'importe quel atome, pour autant que l'isotope soit détectable et que les réactifs marqués, susceptibles d'être engagés dans une synthèse soient disponibles. Les sources les plus communes de molécules marquées sont le CO_2 (carbone 13 ou 14 ou oxygène 18), et l'eau (deutérium, oxygène 18 et tritium).

II.B.3. Effet cinétique isotopique

Les réactions chimiques impliquent des ruptures et des formations de liaisons chimiques. La vitesse de rupture d'une liaison dépend de l'énergie vibrationnelle de cette dernière, et donc de la masse des atomes qui y sont impliqués. Ainsi par exemple, le deutérium étant plus lourd que l'hydrogène, il est logique que la liaison C-D se brise plus lentement que la liaison C-H.

Comment utiliser ce phénomène pour étudier la réactivité d'un processus réactionnel? Si la vitesse d'une réaction dépend de son étape lente, qu'on appelle *étape déterminante*, substituer un hydrogène par un deutérium devrait ralentir la réaction. Il s'agit bien sûr d'un effet assez réduit, la réaction étant 1 à 7 fois plus lente. Si par contre, l'étape en question n'est pas déterminante, la substitution ne modifiera pas sensiblement la vitesse de réaction en cours. Cependant, les résultats observés peuvent permettre d'évaluer la réactivité du processus en fonction d'un changement dans la constitution de l'un de ses réactifs.

Enfin, diverses méthodes physiques, et notamment spectroscopiques, sont susceptibles de permettre la mise en évidence d'entités intermédiaires, sans perturber chimiquement le système en évolution.

II.C. Réactivité de l'iminophosphorane précurseur de synthèse

Cette partie du travail est consacrée à l'étude de la réactivité des iminophosphoranes **B1** utilisés dans une étude antérieure dans la réaction d'aziridination (Schéma II- 2). Cette dernière a été mise au point et développée dans notre laboratoire au cours des travaux de magister que nous avons effectués auparavant. Ces travaux constituent pour nous une référence fondamentale lors de la synthèse des isostères de peptides⁽⁸⁰⁾.

Le mécanisme que nous avons proposé pour expliquer la formation des aziridines **B4** se base sur le fait qu'à la fin de la réaction, on observait un dépôt d'oxyde de triphénylphosphine.

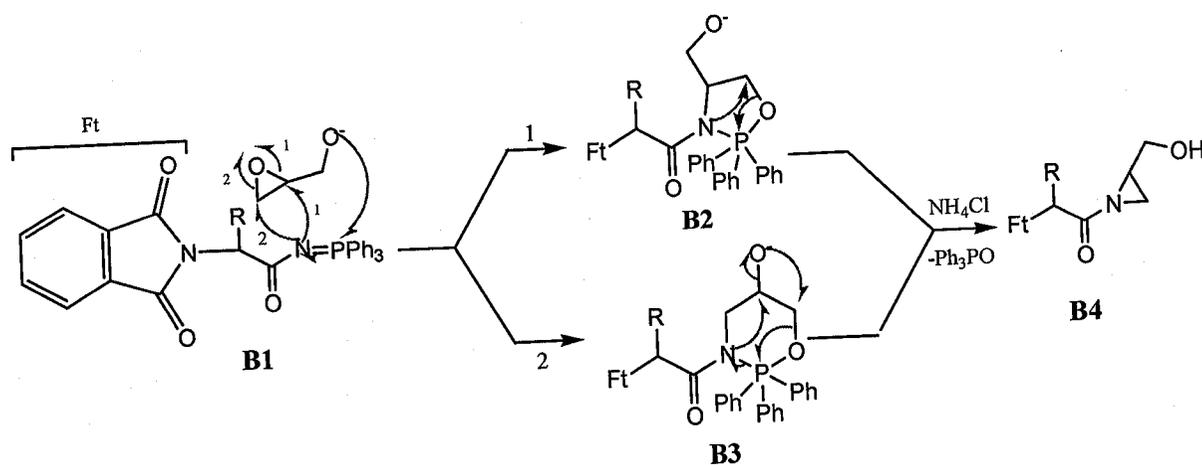


Schéma II-2

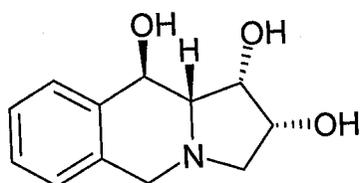
Toutes les réactions que nous avons menées utilisent le pouvoir nucléophile des iminophosphoranes pour ouvrir des époxydes. Nous les avons effectuées dans la perspective d'obtenir un nouveau type d'amino alcools. Les amino alcools cibles les plus courants peuvent être classés en α , β et γ amino alcools. En effet, la majorité des structures connues se retrouvent dans plusieurs composés possédant d'intéressantes propriétés biologiques⁽⁸¹⁾ (Figure II-1), tout comme ils interviennent souvent en synthèse asymétrique comme auxiliaires chiraux⁽⁸²⁾.

(80) Medjahed, W.; Tabet Zatla, A.; Kajima Mulengi, J.; Baba Ahmed, F. Z.; Merzouk, H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1211

(81) Safar, P.; Zuziova, J.; Bobosikova, M.; Marchalin, S.; Pronayova, N.; Dalla, V.; Daich A. *Tetrahedron Asymmetry.* **2008**, *19*, 467

(82) a) Segat-Dioury, F.; Lingibé, O.; Graffe, B.; Sacquet, M. C.; Lhomme, G. *Tetrahedron.* **2000**, *56*, 233

b) Garcia Ruano, J. L.; Garcia Paredes, C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5357



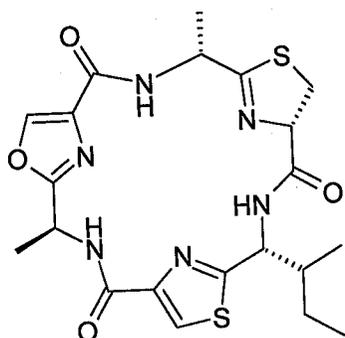
Swainsonine⁽⁸¹⁾

27

Figure II-1

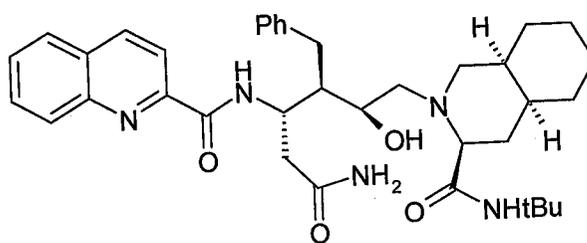
En eux-mêmes, certains de ces composés ainsi quelques uns de leurs dérivés sont dotés de propriétés biologiques intéressantes⁽⁸³⁾. Ce sont en général des petites unités organiques que l'on retrouve dans le squelette des pseudopeptides naturels comme celui de la Dolostatine⁽⁸⁴⁾ 28 (Figure II-2).

Ils sont aussi utilisés comme synthons dans l'élaboration des inhibiteurs du HIV tels que le Saquinavir⁽⁸⁵⁾ (Figure II-2); et on les retrouve également dans la synthèse des β -glycoaspargines⁽⁸⁶⁻⁸⁸⁾ ou simplement comme synthons chiraux en synthèse organique⁽⁸⁴⁾.



Dolostatine E

28



Saquinavir

29

Figure II-2

Au vu de toute la littérature que nous avons passée en revue, il nous a semblé que les amino alcools constituent d'excellentes molécules cibles qui permettent d'atteindre plusieurs objectifs sur le plan de la synthèse et celui de l'activité biologique.

- (83) Pearl, L.H.; Taylor, W.R. *Nature*. 1987, 328, 482.
 (84) Sanchez- Pescador, T.; Power, M.D.; Barr, P.J.; Steimer, K.S.; Stempien, M.M.; Brown- Shimer, S.L.; Gee, W.W.; Renard, A.; Randolph, A.; Levy, J.A. ; Dina, D.; Luciw P. *Science*. 1985, 227, 484.
 (85) Haberhauer, G. ; Somogyi, L.; Rebek J. Jr *Tetrahedron Lett.*, 2000, 41.
 (86) Dondoni, A.; Perrone D. *Aldrichimica Acta.*. 1997, 30, 35.
 (87) Wolfenden, R. *Nature*. 1969, 223, 704.
 (88) Rich D.H. *J. Med. Chem.* 1985, 28, 263.

Comme oxirane de départ, nous avons choisi le glycidol, une petite molécule qui est connue depuis bien des années en chimie organique. Sa réactivité a été étudiée en l'opposant aussi bien aux électrophiles qu'aux nucléophiles ⁽⁸⁹⁻⁹⁵⁾. Dans toutes ces réactions, l'intérêt de l'utilisation du glycidol résidait dans le fait que la stéréochimie des produits de réaction pouvait être prévue avant même d'entamer la synthèse (Schéma II-3).

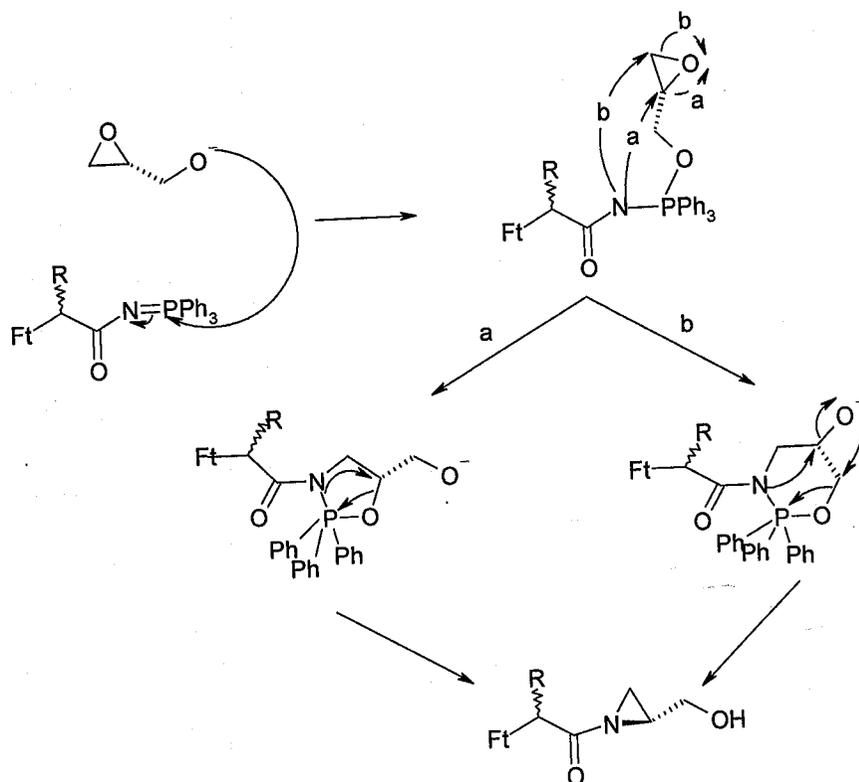


Schéma II-3

Pour notre part, considérant le rôle essentiel des amino acides tant dans la synthèse peptidique et protéique, que dans la structure des enzymes, nous avons au départ envisagé de les utiliser comme nucléophiles pour ouvrir le glycidol de manière à obtenir des glyco-aminoalcools, acides, cétones et aldéhydes.

(89) Nelson, W. L.; Wennestrom, J. E.; Sankar S. R. *J. Org. Chem.*, **1977**, *42*, 1006.

(90) Emziane, M.; Lhoste, P.; Sinou D. *Synthesis*. **1988**, 541.

(91) Fotadar, U.; Beau, C.; Borremans, F. A. M.; Antsunia M. J. O. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *34*, 3537.

(92) Farrissey, W.J.; Nashu, A. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1970**, *7*, 331.

(93) Caron, M.; Carlier, P.R.; Sharpless K. B. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5185.

(94) Takano, M.; Yanase, M.; Ogasawa K. *Heterocycles*. **1989**, *29*, 249.

(95) Takano, S.; Goto, E.; Hiram, M.; Ogasawa K. *Heterocycles*. **1981**, *16*, 381.

L'ensemble des composés précédents constituerait un groupe d'isostères de peptides dont l'activité biologique semble prometteuse en thérapie virale⁽⁹⁶⁻¹⁰⁰⁾. Cependant, leurs iminophosphoranes (**B1**) ont conduit à un tout autre résultat, à savoir, la formation d'une nouvelle classe d'aziridines (**B4**).

Il est bon de souligner que le mécanisme proposé plus haut aurait pu être vérifié de manière irréfutable si nous disposions du glycidol marqué à l'isotope 18 de l'oxygène. Selon sa localisation sur l'alcoolate du glycidol, on pouvait obtenir de l'oxyde de triphénylphosphine marqué ou non à cet isotope.

Ainsi, l'isolation d'un oxyde marqué signifierait que l'imino-phosphorane se comporte au départ comme électrophile vis-à-vis du glycidol. Si par contre, cet oxyde n'est pas marqué, ce serait le pouvoir nucléophile de l'azote de l'imino-phosphorane qui est privilégié au cours de la réaction. Comme nous ne disposions pas de glycidol marqué, il était intéressant d'utiliser des réactifs comportant des sites à la fois nucléophiles et électrophiles, avec la nuance que le nucléophile ne devait pas être aussi fort qu'un alcoolate. Cela nous permettait de vérifier les pouvoirs électrophile et nucléophile des iminophosphoranes vis-à-vis de quelques nucléophiles doux.

II.C.1. Préparation de l'imino-phosphorane

Pour réaliser cette partie de travail, nous avons choisi l'imino-phosphorane **33** provenant de l'azide de la glycine **30**, comme réactif de départ. Cet imino-phosphorane **33** a été obtenu par la méthode de Staudinger à partir de l'azide **31** correspondant. Ce dernier est synthétisé par la méthode de Palomo⁽¹⁰¹⁾ (**Schéma II-4**).

(96) Benedetti, F.; Maman, P.; Norbedo S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 10075.

(97) Leung, D.; Abbernante, G.; Fairlie, D.P. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 305.

(98) De Gasparo, M.; Cumin, F.; Nussberger, J.; Guyenne, T.T.; Wood, J. N.; Menard J. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1989**, *7*, 2735.

(99) Kunieda, T.; Ishizuka T. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1997**, *55*, 1018.

(100) Jurczak, J.; Golebiewski A. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149.

(101) Palomo, C. A.; Arrieta, A.; Aizpurua, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *26*, 3365.

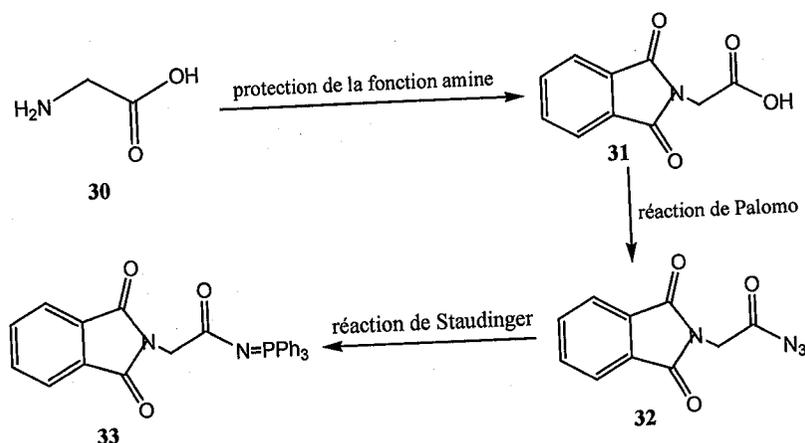


Schéma II-4

Cet imino-phosphorane est obtenu selon le schéma II-4 en trois étapes, à travers des réactions simples et qui sont décrites dans la littérature.

II.C.1.a. Protection de la fonction amino des acides aminés

Les acides aminés sont des composés qui possèdent une fonction amino et une autre acide carboxylique ; il est donc nécessaire de protéger l'une des deux fonctions pour pouvoir travailler sur la fonction restante qui, dans notre cas, est la fonction acide. Plusieurs groupements protecteurs existent et ils sont spécifiques pour chaque type de fonction ; de plus, chacun présente des atouts et des inconvénients relatifs aux conditions opératoires et aux réactions parasites qu'ils peuvent subir.

◆ Protection par le t-butoxycarbone (Boc) :

La stratégie Boc, la plus ancienne, utilise le groupement tertibutoxycarbone pour protéger la fonction amine (**Schéma II-5**).

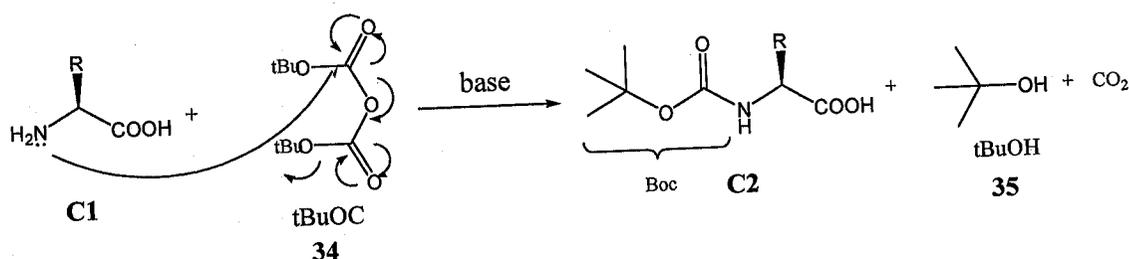


Schéma II-5

Le groupe Boc est stable vis-à-vis d'une hydrogénation catalytique, du sodium dans l'ammoniac liquide, des bases et de l'hydrazine ⁽¹⁰²⁾. Cependant, son clivage s'effectue facilement dans des conditions acides douces et à ce titre, l'acide trifluoroacétique convient parfaitement.

Deux autres réactifs peuvent être utilisés pour introduire le groupe Boc sur une fonction amino, il s'agit du t-butylazidoformiate (Boc-azide)^(103,104) **36** et du t-(butoxycarbonyloxyimino)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON)^(105, 106) **37** (Figure II-3). Il est nécessaire de prendre des précautions lors de l'utilisation du Boc-azide à cause de sa forte tendance à exploser lors de la distillation qui suit le processus de protection ⁽¹⁰⁷⁾.

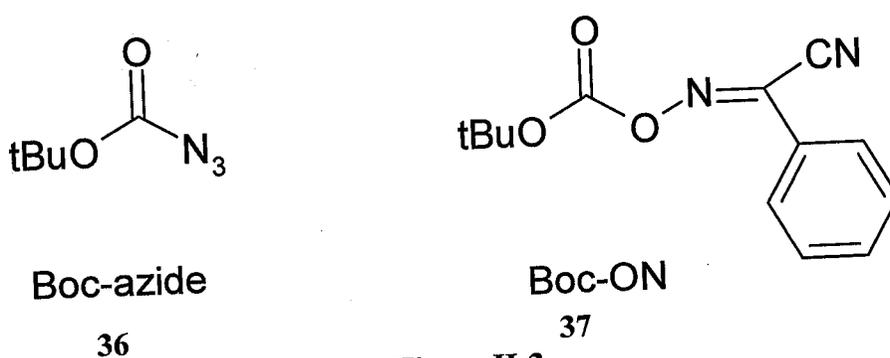


Figure II-3

◆ Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc)

La stratégie Fmoc utilise le fluorenylméthoxycarbonyle, labile en milieu nucléophile ; il est enlevé en quelques secondes par une solution de pipéridine dans le DMF dans des conditions douces ⁽¹⁰⁸⁾. Les amino acides protégés au Fmoc (Fmoc-AA) sont plus coûteux que ceux protégés au Boc (Boc-AA) ; mais l'ensemble des opérations de clivage est plus doux pour le peptide et l'utilisateur. Cette stratégie est la plus souvent employée et elle donne pleine satisfaction.

-
- (102) Bodanszky, M.; Klausner, Y. S.; Ondentti, A. M. *Peptide synthesis*. Wiley, New York, 1976, 26.
 (103) Schnabel, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 188, 702.
 (104) Ali, A.; Fahrenholz, F.; Weinstein, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, 11, 29.
 (105) Itoh, M.; Hgiwara, D.; Kamiya, T. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4393.
 (106) Itoh, M.; Hgiwara, D.; Kamiya, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 718.
 (107) Yajima, H.; Kawatani, H.; Kiso, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, 1, 50.
 (108) Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Anal. Biochem.*, **1970**, 34, 595.

◆ Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz)

Le groupe Cbz est le groupe protecteur le plus utilisé pour la fonction amino ; la protection est réalisée par l'addition à l'amine d'un équivalent de chloroformiate de benzyle **38** et d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N ⁽¹⁰⁹⁾. Le processus se déroule à reflux.

A la place de la soude caustique, d'autres bases comme le bicarbonate de sodium ⁽¹¹⁰⁾ ou de potassium ⁽¹¹¹⁾ peuvent être utilisées. Dans ce cas, le rendement en aminoacide protégé est sensiblement amélioré.

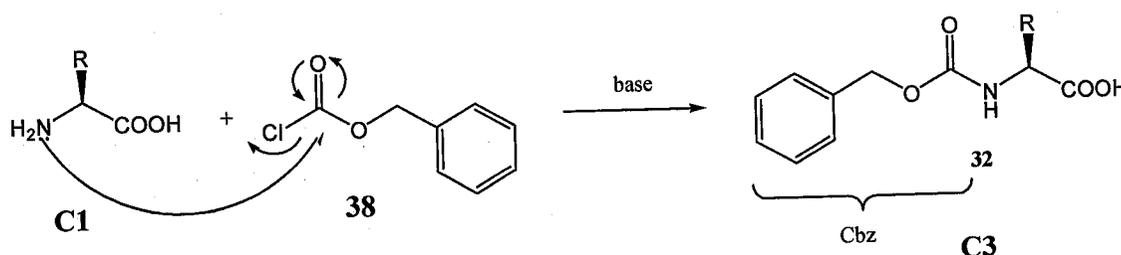


Schéma II-6

D'autre part, le groupe Cbz est relativement stable dans des conditions acides mais facilement enlevé par hydrogénation catalytique.

◆ Protection par l'anhydride phtalique

La protection de la fonction amino des aminoacides peut aussi être effectuée avec l'anhydride phtalique recristallisé ⁽¹¹²⁾ **39** (Schéma II-7). C'est la méthode que nous avons adoptée pour protéger la glycine **30** qui devait nous fournir l'iminophosphorane **33**.

Le choix de l'anhydride phtalique n'a pas été fait hasard, ce réactif est utilisé dans cette protection pour deux raisons, premièrement parce qu'il est disponible dans notre laboratoire et qui n'est pas onéreux, et deuxièmement, il présente une bonne stabilité dans les conditions opératoires utilisées dans ce travail.

(109) Carter, E. H.; Franc, L. R.; Johnston, W. H. *Organic Synthesis*. 1955, 3, 167.

(110) Hwang, R. D.; Helquist, P.; Shekhani, S. M. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 1264.

(111) Levenson, H. C.; Meyer, B. R., Jr. *J. Med. Chem.* 1984, 27, 228.

(112) Mathieu, J.; Panico, R. *Mécanismes réactionnels en Chimie Organique*. 1972, Hermann, Ed.n° 1357.

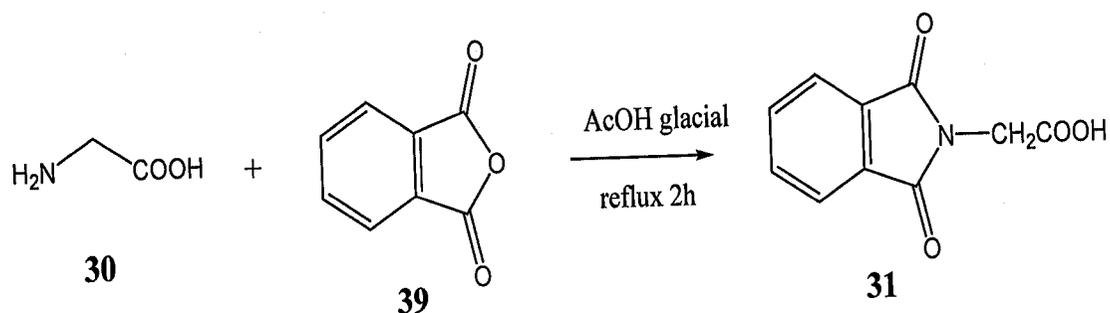


Schéma II-7

Cette réaction est une condensation entre la glycine et l'anhydride phtalique recristallisé qui s'effectue dans l'acide acétique glacial sous un reflux de deux heures. Le phtalimidoacide **31** obtenu est ensuite recristallisé dans un mélange éthanol-eau (1 : 1).

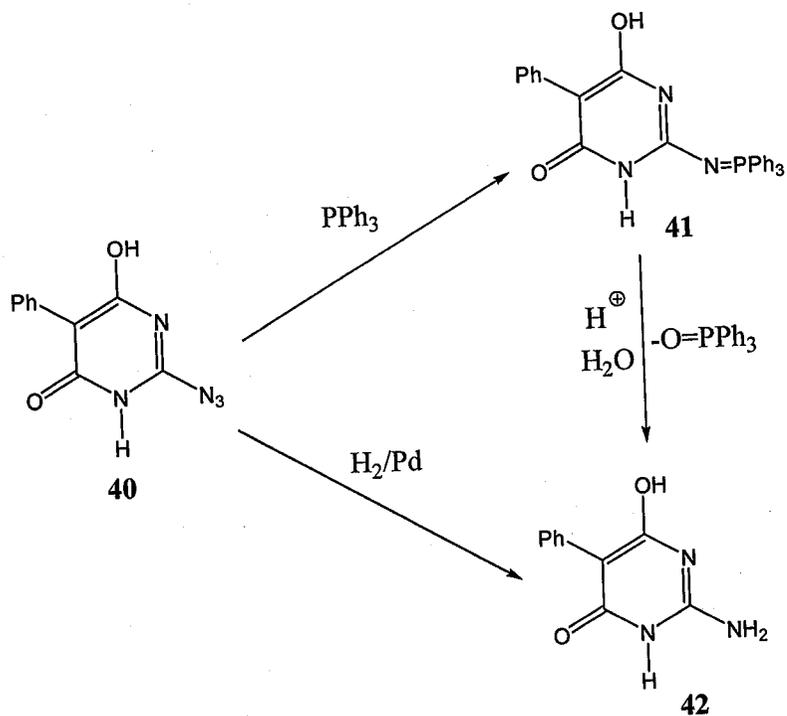
Le rendement de la réaction est bon (81%), et le produit est initialement identifié grâce à son point de fusion de 193-195°C. Le spectre IR confirme la présence du groupe phtaloyle ainsi que celle de l'acide carboxylique.

II.C.1.b. Synthèse de l'azide

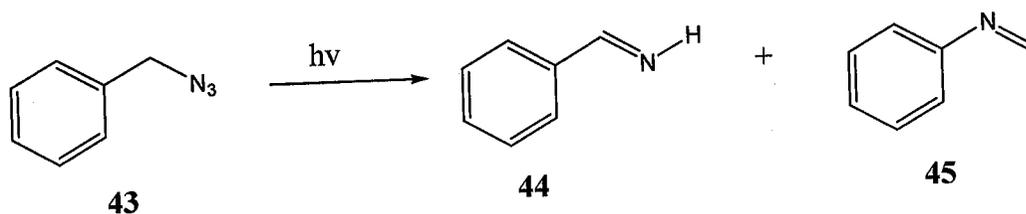
Les azides organiques sont des composés thermiquement et photochimiquement instables, spécialement lorsque leur masse moléculaire est faible. En revanche, ils sont d'une utilité considérable dans la génération d'une variété de fonctions ⁽¹¹³⁾ :

-
- (113) a) Scriven, E. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297.
 b) Smith, S. C.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6339.
 c) McDonald, F. E.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7001.

- les amines par réduction⁽¹¹⁴⁾.



- Les imines **44** et **45** par réarrangement⁽¹¹⁵⁾.



(114) Kappe, T.; Roschger, P. *J. Heterocyclic Chem.* **1993**, *30*, 1267.

(115) Klima, R. F.; Gudmundsdottir, A. D. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry.* **2004**, *162*, 239.

- Les triazoles **48** et d'autres hétérocycles par une réaction de cycloaddition ⁽¹¹⁶⁾.

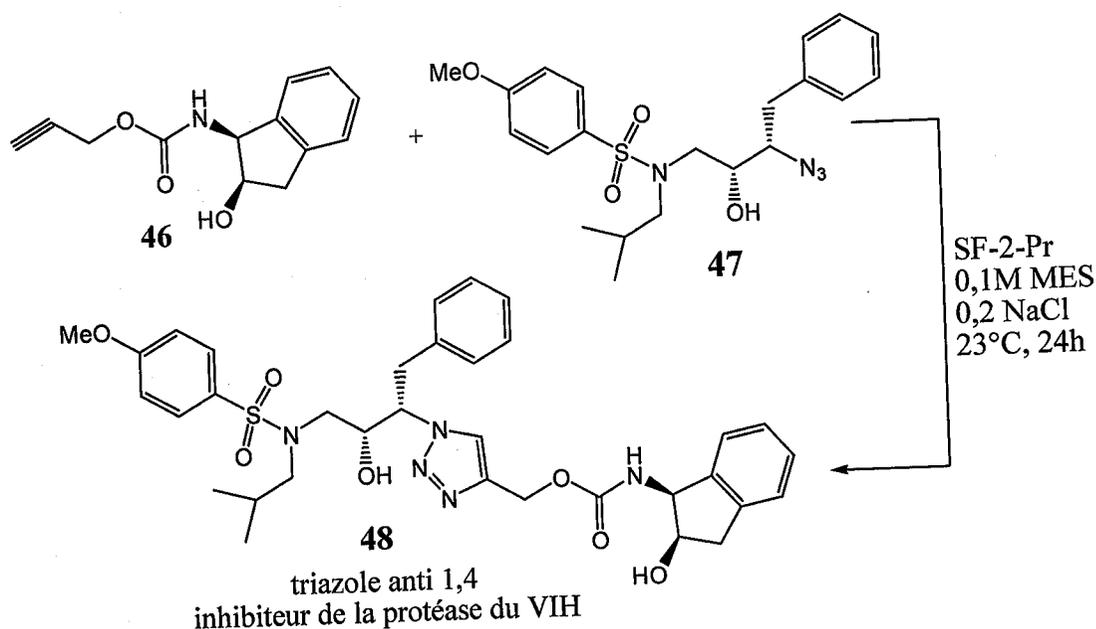
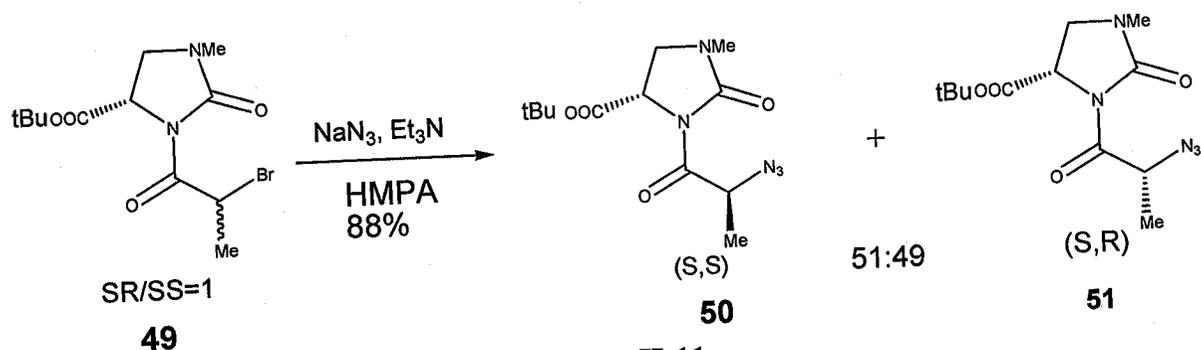


Schéma II-10

En général, les azides constituent de bons exemples de composés que l'on obtient par le biais de réactions de substitution. Leur synthèse s'effectue aisément en substituant un halogénure par un ion azoture. Dans la littérature, de nombreux exemples de substitution d'un halogène par l'ion azoture ont été présentés ^(117,118). Nous en citons quelques cas à titre indicatif :

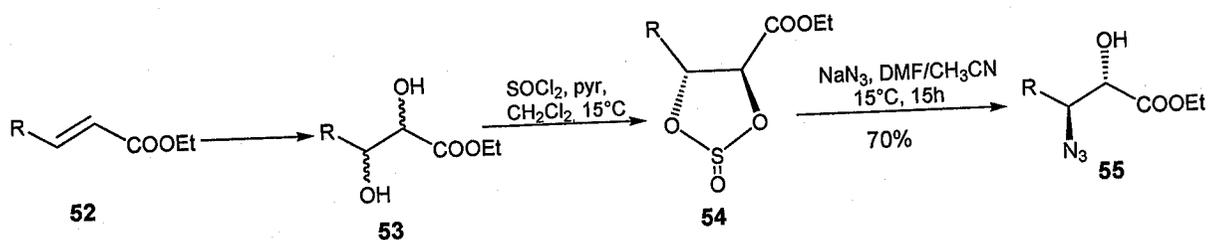
- La réaction d'un dérivé halogéné avec l'azoture de sodium dans l'hexaméthylphosphoramide (HMPA) en présence de la triéthylamine se déroule selon une réaction de substitution nucléophile avec de bons rendements, mais avec une mauvaise stéréosélectivité ⁽¹¹⁹⁾ (**Schéma II-11**).

(116) Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.C.; Silverman, S.M.; Lindstrom, W.; Olson, A.J.; Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B.; Elder, J.H.; Fokin, V.V. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1463.
 (117) a) Ranganathan, S.; Ranganathan, D.; Mehrotra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 2265.
 b) Moorthy, S. N.; Devaprabaka, D. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 357.
 (118) Quitt, P.; Hellerback, J.; Vogler, K. *Helv. Chim. Acta.* **1963**, *26*, 327.
 (119) Hassner, A.; Stern, M. *Angew. Chem. Int Ed. Engl.* **1980**, *25*, 478.



- Les azido alcools sont des précurseurs très importants dans la synthèse des β -amino-acides⁽¹²⁰⁾; ils sont également utilisés comme intermédiaires dans la synthèse des amino-sucres et des nucléosides carboxyliques⁽¹²¹⁾. L'exemple suivant illustre la synthèse d'un azido-alcool **55** à partir d'un alcène (**Schéma II-12**). En effet, le dérivé acrylique **52** est facilement transformé en diol **53** correspondant selon une dihydroxylation de Sharpless⁽¹²²⁾.

L'introduction dans le milieu réactionnel du chlorure de thionyle en présence d'une base donne l'intermédiaire cyclique **54** qui peut s'ouvrir pour engendrer l'azido alcool **55** correspondant avec un bon rendement, accompagné d'une régio et d'une stéréosélectivité totales⁽¹²³⁾ (**Schéma II-12**).



(120) Kubo, A.; Kuboto, H.; Takahashi, M.; Nunami, I. K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4960

(121) a) Scriven, E. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, 88, 297.
b) Patai, S. *The Chemistry of Azido Group*, Ed.; Wiley: New York, **1971**.

(122) a) Coe, D. M.; Myers, P. L.; Parry, D. M.; Roberts, S. M.; Storer, R. *J. Chem. Soc.; Chem. Commun.* **1990**, 151.
b) Jacobs, G. A.; Tino, J. A.; Zahler, R. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 6955.

(123) Kolb, H. C.; VanNienwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2483.

- En ce qui concerne les azides d'acyle, ceux provenant des acides carboxyliques sont synthétisés selon deux voies :

✓ à partir d'un chlorure d'acyle :

Cette réaction, qui se déroule en deux étapes, consiste à préparer le chlorure d'acyle correspondant par traitement d'un acide carboxylique **C4** avec du SOCl_2 ou du $(\text{COCl})_2$ dans le benzène pendant environ 4h à reflux. Ensuite, ce dernier subit une réaction de substitution de l'halogène par l'azoture de sodium dans le DMF ou l'acétone ^(117, 118) (**Schéma II-13**).

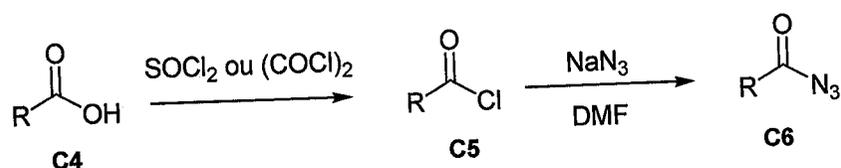


Schéma II-13

✓ Passage direct de l'acide vers l'azide :

On peut éviter tous les inconvénients dus à la manipulation des chlorures d'acyle en recourant à la conversion directe du carboxyle selon Palomo ⁽¹⁰¹⁾. La réaction met en jeu des conditions réactionnelles qui permettent une activation *in situ* de la fonction carboxylique, permettant de la transformer directement en acylazide ⁽¹²⁴⁾. Elle se déroule en deux étapes, dont la première consiste à préparer le chlorure de *N,N*-diméthylchlorosulfite de méthaniminium **56**. Ce réactif est formé à partir d'une réaction préalable entre le chlorure de thionyle et le diméthylformamide (**Schéma II-14**).

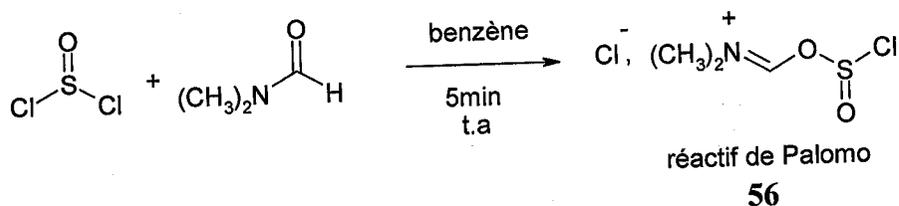


Schéma II-14

Dès la découverte de ce réactif **56**, beaucoup de travaux se sont développés afin d'étudier la réactivité et les applications synthétiques ⁽¹²⁵⁾.

(124) Bonini, C.; Chiummiento, L.; Debonis, M.; Funicello, M.; Lupatteli, P.; Suanno, G.; Berli, F.; Campner, P. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 6580

(125) a) Palomo, L. A.; Torrens, E. *Afinidad*. **1971**, *28*, 975.

b) Ballester, M.; Riera, J.; Castaner, J.; Rovira, C.; Vecianu, J.; Onrubia, C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3716.

Il a été mis en évidence que le réactif est principalement utilisé pour activer le groupe carboxylique permettant des attaques nucléophiles sur son carbonyle par différents nucléophiles⁽¹²⁶⁾.

Ainsi par exemple, il s'est avéré efficace dans la préparation des chlorures d'alkyle⁽¹²⁷⁾ et celle des dichlorures géminés à partir des alcools⁽¹²⁸⁾. A cause du fait que le réactif est obtenu *in situ* et qu'il n'est pas isolable, quelques auteurs se sont attelés à vérifier sa présence effective grâce à des réactions avec quelques réactifs spécifiques⁽¹²⁹⁻¹³¹⁾.

La seconde étape dans la formation de l'azide d'acyle consiste à faire réagir le réactif obtenu ci-dessus avec l'acide carboxylique. La réaction se déroule dans le dichlorométhane en présence de la triéthylamine ou la pyridine comme base et une quantité catalytique de bromure de tétrabutylammonium (TBAB). Le mécanisme est présenté dans le Schéma II-15.

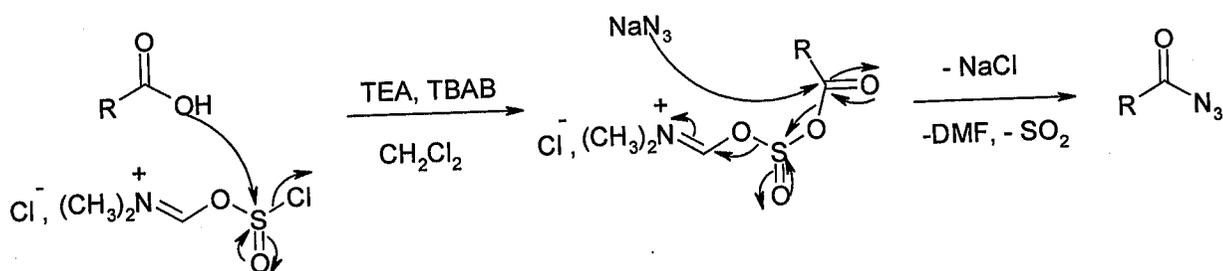


Schéma II-15

Nous avons adopté la méthode de Palomo pour la synthèse de l'acylazide à partir de la glycine dont nous avons déjà protégé la fonction amine sous forme de groupe phthalimido (Schéma II-16).

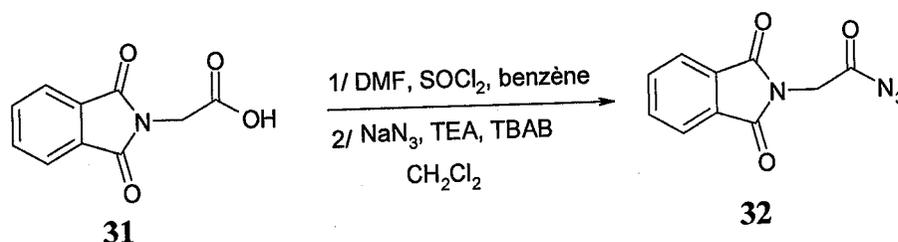


Schéma II-16

(126) Palomo, C. A.; Arrieta, A.; Aizpurua, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 26, 3365.

(127) Palomo, L. A. *An. R. Soc. Esp. Fis. Quim.* **1969**, 65, 1167.

(128) Palomo, L. A.; Ferrer, G. *An. R. Soc. Esp. Fis. Quim.* **1969**, 55, 163.

(129) Newman, S. M.; Sujeeth, K. P. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4367.

(130) Palomo, L. A.; Ferrer, G.; *Tetrahedron Lett.* **1969**, 26, 2161.

(131) Böhme, H. Viehe, G. H. "Iminium Salts in Organic Chemistry" John Wiley, New York, **1979**.

Après avoir extrait l'azide formé **32**, on évapore le solvant sous vide à une température maintenue entre 40 et 45°C pour éviter une possible explosion du produit. L'acylazide est obtenu avec un rendement de 93% et le spectre IR confirme la présence de la fonction azide grâce à une bande caractéristique entre 2100 et 2400 cm^{-1} ; en même temps, la bande caractéristique de la fonction acide carboxylique disparaît.

II.C.1.c. Synthèse de l'imino-phosphorane

Les iminophosphoranes **33a** et **33b**, intermédiaires clés dans notre synthèse, sont obtenus par action de l'acylazide formé sur un composé trisubstitué du phosphore selon la réaction de Staudinger (**Schéma II-17**).

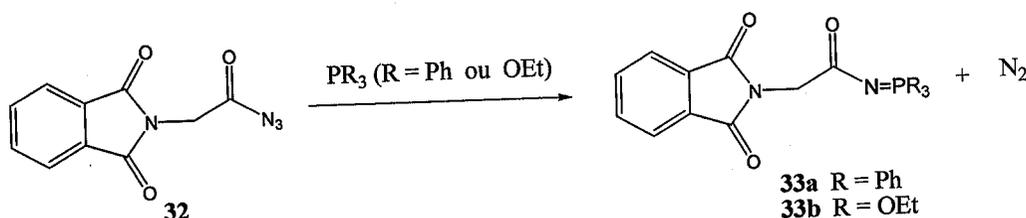


Schéma II-17

Outre la rapidité de la méthode, ce procédé présente l'avantage de ne pas obliger le manipulateur à isoler l'imino-phosphorane, composé souvent sensible aux traces d'humidité ou sensible à des réactions d'autocondensation ⁽¹³²⁾.

Comme la réaction de Staudinger est quantitative, nous avons réalisé toutes les condensations entre les différents carboxylates et l'imino-phosphorane provenant de l'acylazide *in situ* sans avoir isolé l'imino-phosphorane.

En effet, lorsqu'on se réfère à la littérature, on trouve qu'il y a des imino-phosphoranes isolables qui existent généralement sous forme de solides **58** (**Schéma II-18**) ⁽¹³³⁾. Ces derniers sont isolables, en particulier lorsque l'intermédiaire est fort encombré, ce qui gêne sa réaction avec des nucléophiles ou électrophiles présents, comme le montre l'exemple suivant.

(132) Zbiral, E.; Bauer, E.; Stroh, J. *Monatsh. Chem.* **1971**, *102*, 168.

(133) Jun-Feng, Z.; Chang, X.; Sheng-Zhen, X.; Ming-Wu, D.; Wen-Jing, X. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 130.

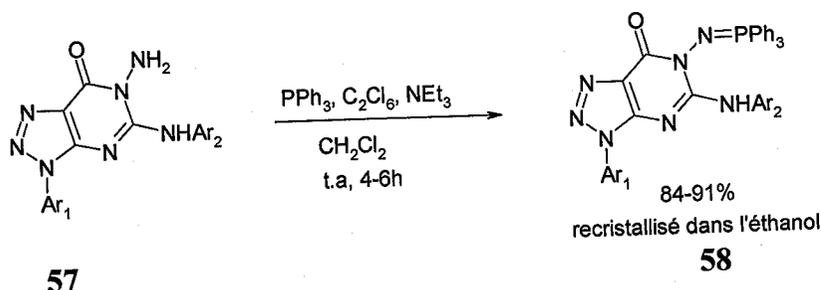


Schéma II-18

Par curiosité et afin de vérifier si notre iminophosphorane était isolable comme certains autres de la littérature, nous avons procédé à son isolation après avoir traité l'acylazide **32** avec la triphénylphosphine. Le produit de cette réaction est un solide sous forme d'une poudre blanche recristallisée dans le méthanol et caractérisée par un point de fusion de 201°C. Les analyses spectroscopiques (RMN-¹H et ¹³C, IR) nous ont bien confirmé la formation du composé **33a**.

II.C.2. Réactivité de l'imino-phosphorane avec des carboxylates

Les carboxylates sont préalablement formés sous l'action de l'hydrure de sodium sur quelques acides carboxyliques dans l'éther sec (**Schéma II-19**). Ensuite, le mélange réactionnel formé est ajouté à la solution de l'imino-phosphorane déjà préparé en maintenant la température à 0°C pendant toute l'addition ; l'ensemble est chauffé à reflux pendant 90 min. La réaction continue sous agitation à température ambiante pendant toute une nuit.

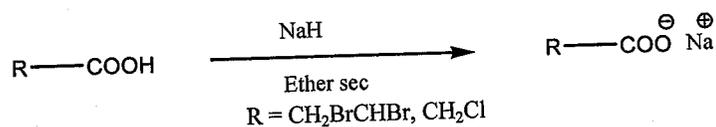


Schéma II-19

Après avoir isolé le produit de chaque réaction et évaporé le solvant, nous avons entamé l'étape de la purification, et procédé à l'identification, par voie spectroscopique, de la majorité des produits formés par voie spectroscopique. Les résultats de chaque condensation sont interprétés cas par cas.

II.C.2.a. Condensation avec l'acide 2,3-dibromopropanoïque

Avec l'acide 2,3-dibromopropanoïque, nous avons envisagé la possibilité de la formation de trois produits différents selon trois mécanismes distincts nécessitant le passage par trois intermédiaires cycliques différents tels qu'ils sont représentés sur le schéma suivant. Ce schéma théorique n'est qu'une hypothèse de travail nécessaire à l'ébauche du mécanisme de la réaction en fonction des produits isolés et identifiés.

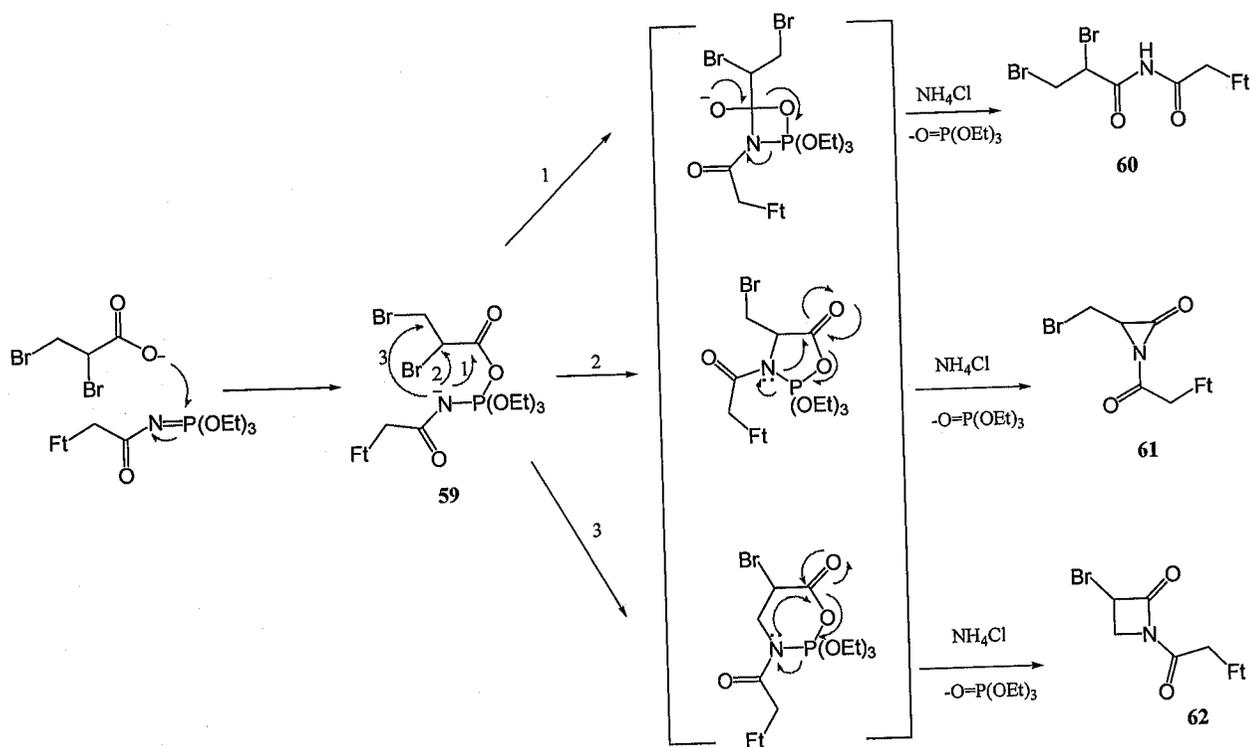


Schéma II-20

La première attaque qui peut avoir lieu est une attaque nucléophile de l'oxygène de l'alcoolate sur le phosphore, pour conduire à un premier intermédiaire **59**. Ce dernier, portant une charge négative sur l'atome d'azote, peut attaquer tout autre centre électrophile présent dans la molécule. Ainsi, cette même attaque peut cibler les centres (1), (2) ou (3), ce qui donne les intermédiaires cycliques à 4, 5 et 6 chaînons respectivement. Ainsi, l'imide **60**, l' α -lactame **61** et le β -lactame **62** résulteraient respectivement de la décomposition des intermédiaires correspondants.

L'utilisation de la triphénylphosphine dans ce genre de réaction présente une difficulté inhérente au processus. En effet, il se produit toujours un oxyde difficile à éliminer, dans la mesure où il est polaire et soluble dans plusieurs solvants organiques. Par conséquent, nous avons préféré engager le triéthylphosphite dans ces réactions, parce que son oxyde est plus facilement éliminé que celui de la triphénylphosphine.

Après extraction et évaporation du solvant, le résidu de la réaction a pu être isolé sous une forme visqueuse, de couleur verdâtre, insoluble dans l'éther et partiellement soluble dans l'acétate d'éthyle. En se basant sur des tests de solubilité dans différents solvants, nous avons pu séparer deux produits, lesquels ont ensuite été purifiés. Lors de la purification sur colonne de chromatographie du produit majoritaire, deux composés ont été séparés. Le produit minoritaire est purifié par recristallisation. En définitive, la réaction avec l'acide 2,3-dibromopropanoïque nous a fourni trois composés.

◆ Identification des produits

Composé (1) :

Le composé (1) est isolé après purification sur colonne chromatographique en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant. Le rendement est de 34,25%. L'interprétation de ses spectres RMN ^1H et IR et par une analogie avec des structures proches de la littérature^(134,135), tout en tenant compte du mécanisme proposé plus haut (Schéma II-20), nous a permis d'attribuer la structure suivante au composé 62 :

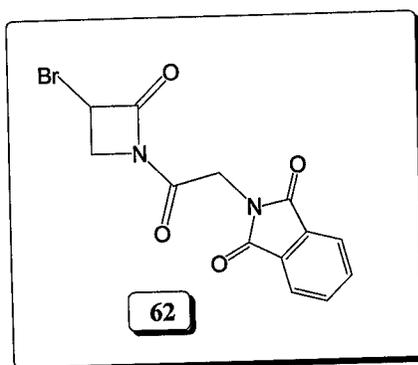


Figure II-4

(134) K. Clauss, D. Grimm, G. Prossel *Liebigs Ann. Chem.*, 1974, 539
(135) J.C. Arnaud, P. Boutron., MJ Pasquet *Eur. J. Med. Chem.*, 1992, 27, 131

Le spectre IR donne une absorption à 1770.84 cm^{-1} qui correspond aux C=O du groupe phthalimido, les C=O des amides absorbent vers les 1720.37 cm^{-1} , tandis que la liaison C-Br absorbe vers 713 cm^{-1} .

Le spectre RMN- ^1H confirme les résultats en donnant les déplacements qui correspondent à chaque proton de la structure proposée, notamment le proton du β -lactame sur le même atome de carbone que le brome qui résonne à 4.0-6.5 ppm, zone très proche de valeurs trouvées dans la littérature (3.1-3.9 ppm) ^(134,135).

Composé (2) :

Il a été obtenu sous forme d'une pâte, isolée sur la même colonne chromatographique et avec le même éluant que pour l'obtention du produit (1). Le rendement du composé (2) est de 40,5%. Cette valeur représente le pourcentage le plus élevé parmi les produits isolés de cette réaction. L'analyse des spectres IR et RMN permettent de suggérer la structure suivante, **61**, que l'on retrouve sur les produits possibles de notre hypothèse de travail (Schéma II-20).

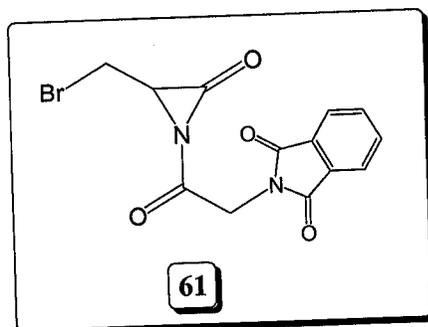


Figure II-5

Composé (3) :

Il a été isolé par solubilité différentielle sous forme d'une poudre blanche, recristallisée dans l'éthanol. Ce composé est obtenu avec un rendement de 9,14%, ce qui correspond au produit minoritaire. Les analyses (IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , analyse élémentaire) nous ont permis de proposer la structure suivante **63**, qui n'était pas prévue par notre hypothèse de travail.

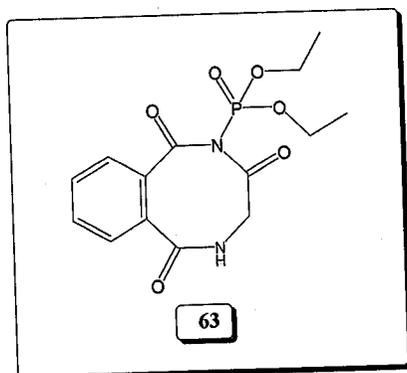


Figure II-6

L'obtention d'une telle structure 63 mérite qu'on s'arrête un instant sur le mécanisme possible de sa formation :

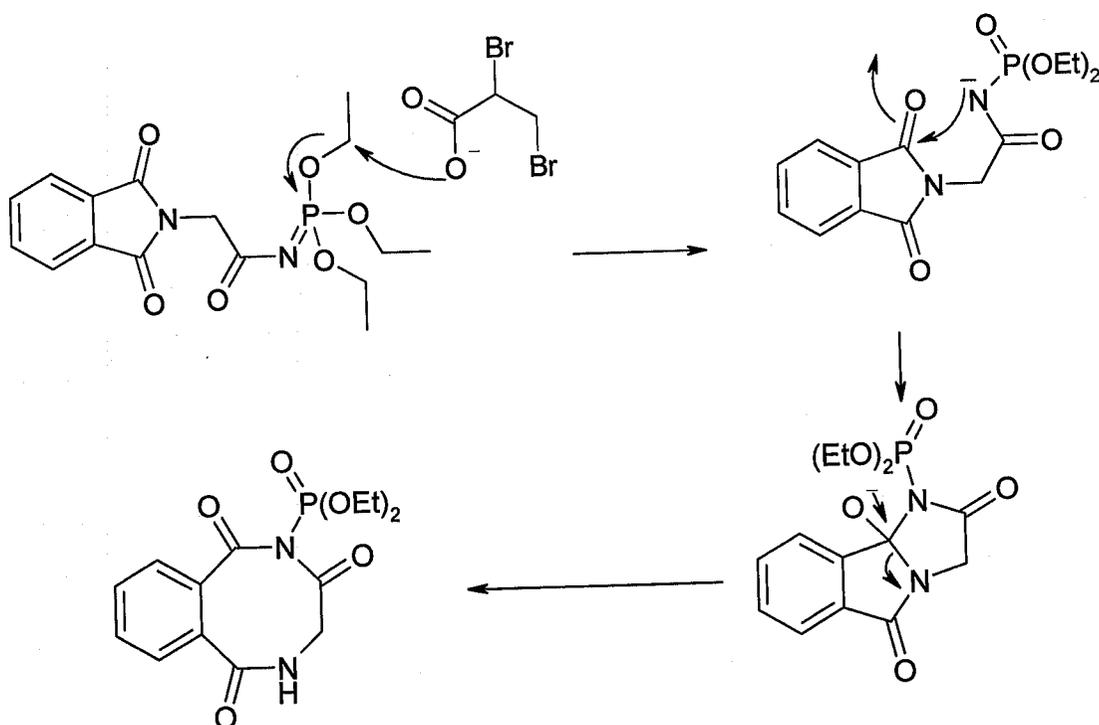


Schéma II-21

L'anion créé sur l'acide carboxylique peut aussi attaquer le méthylène du triéthylphosphite qui représente en fait le centre électrophile le plus dégagé par rapport au phosphore de l'imino-phosphorane. L'instauration de la réaction d'Arbusov à ce point n'est pas surprenante dans la mesure où cette structure tendue et encombrée privilégie des attaques intramoléculaires sur des sites proches.

La modélisation de l'intermédiaire, afin d'obtenir la structure spatiale optimisée montre clairement cette proximité entre sites électrophiles et nucléophiles.

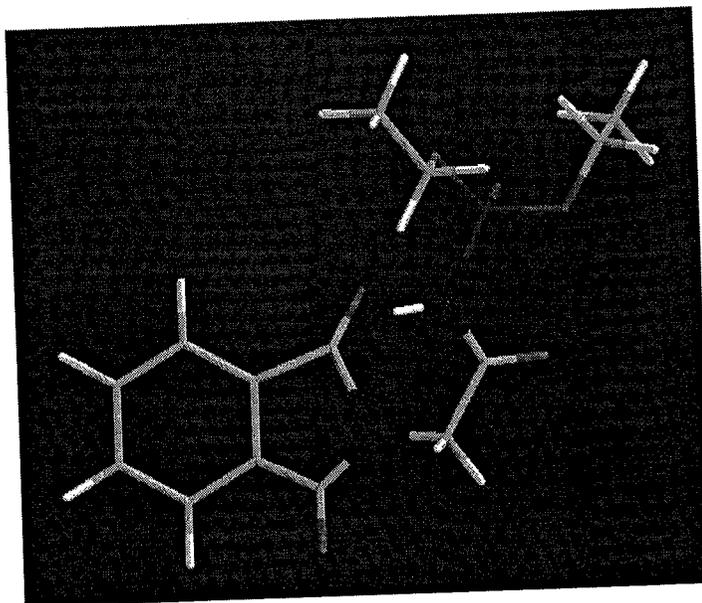


Figure II-7

On peut voir sur ce modèle (**Figure II-7**), la proximité entre la charge (en blanc) portée par l'atome d'azote (bleu) et le carbonyle du groupe phtaloyle (rouge), quelle que soit le sens de la rotation imprimée à la liaison simple entre l'azote du phtaloyle et le méthylène de la chaîne latérale.

De ce fait, la charge négative portée par l'atome d'azote attaque le C=O du groupe phtalimido, provoquant une expansion du cycle par un mécanisme d'addition substitution pour conduire au produit final **63**.

II.C.2.b. Condensation avec l'acide chloroacétique

Dans le cas de l'acide chloroacétique, nous avons envisagé la possibilité d'avoir deux produits différents qui se formeraient en passant par un intermédiaire cyclique à quatre ou à cinq chaînons (**Schéma II-22**).

De la même manière que précédemment, nous avons envisagé l'attaque du nucléophile sur le phosphore pour générer une charge négative sur l'atome d'azote. Ce dernier peut ensuite attaquer les deux centres électrophiles présents à savoir, le carbone du carbonyle ou bien le carbone portant l'halogénure. Cela mène évidemment aux intermédiaires cycliques à quatre et à cinq chaînons que nous avons signalés plus haut. La décomposition de ces derniers conduit aux composés correspondants avec le départ de l'oxyde du triéthylphosphite.

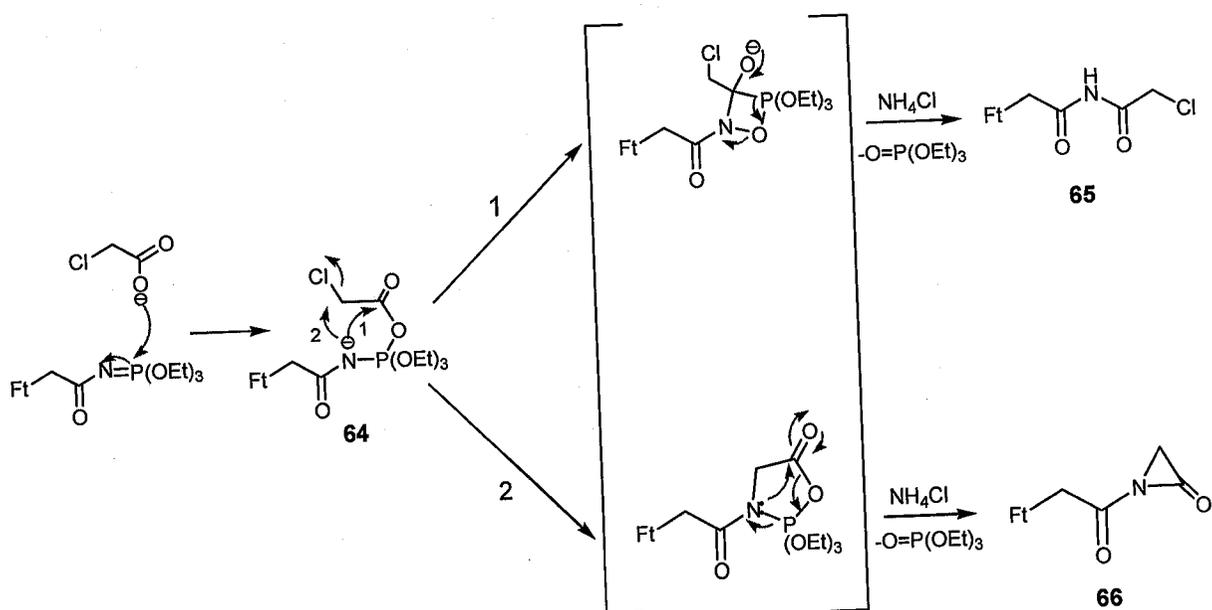


Schéma II-22

Le produit de la réaction a été isolé après extraction et évaporation sous forme d'une pâte de couleur jaune. Nous avons séparé deux produits par solubilités différentielles ; ils ont été purifiés soit par recristallisation, soit par chromatographie sur colonne.

♦ **Identification des produits**

Composé (4) :

Isolé après purification sur colonne chromatographique en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant, le produit correspond à un rendement de 40%. L'analyse des spectres IR et RMN permet de suggérer la structure d'un α-lactame **66**, que l'on retrouve parmi les deux produits possibles dans le mécanisme proposé (Schéma II-22).

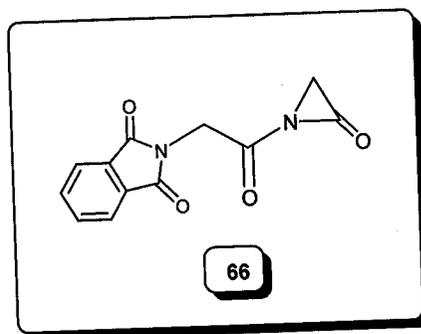


Figure II-8

Composé (5) :

Il a été isolé sous forme d'une poudre blanche purifiée par recristallisation dans l'éthanol, avec un rendement de 6,4%. Toutes les analyses effectuées (IR, RMN¹H, RMN¹³C, analyse élémentaire) donnent des résultats similaires à ceux obtenus avec le composé **63**, formé dans la réaction de l'imino-phosphorane avec le carboxylate de l'acide dibromoacétique.

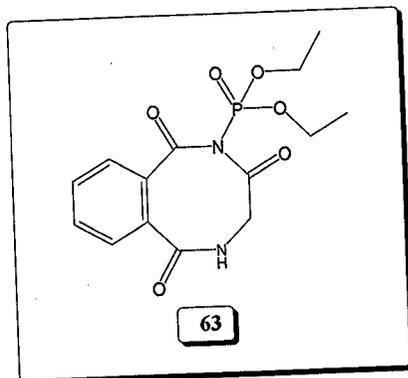


Figure II-9

Un mécanisme similaire est proposé pour expliquer la formation de ce composé avec le carboxylate de l'acide chloroacétique (Schéma II-23).

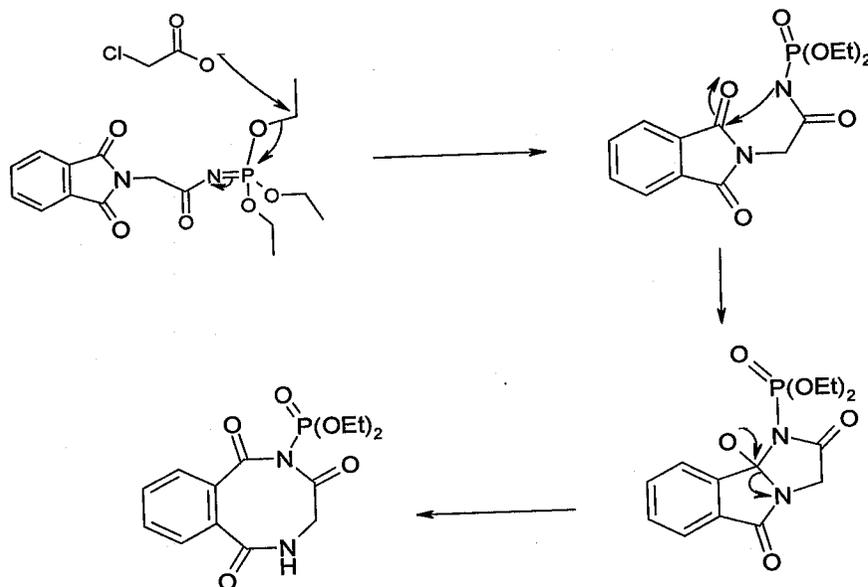


Schéma II-23

Nous pensons qu'il est extrêmement important de relever ce fait, notamment qu'à partir de substrats totalement différents, on obtienne un même produit de réaction. L'explication est à trouver dans notre hypothèse de travail : en effet, l'anion engendré suite à

l'action de l'hydrure de sodium sur l'acide chloroacétique attaque le CH_2 du triéthylphosphite. La charge négative portée par l'atome d'azote attaque le $\text{C}=\text{O}$ du groupe phtalimido, ce qui mène à un intermédiaire à cinq chaînons ; ce dernier subit une expansion qui le convertit en un cycle à huit chaînons. Le triéthylphosphite se comporte ici comme dans la réaction d'Arbusov Michaelis, ce qui permet de comprendre la formation de ce produit inattendu. En effet, au lieu que l'attaque du nucléophile se fasse sur le phosphore, elle se fait plutôt sur le CH_2 du triéthylphosphite, plus accessible.

II.D. Conclusion partielle

Dans cette partie de travail, notre objectif était d'étudier la réactivité de l'iminophosphorane vis-à-vis des nucléophiles plus doux qu'un alcoolate, mais avec des propriétés chimiques analogues à celles du glycidol. Cette étude nous permettait de généraliser le comportement des iminophosphoranes utilisés et de pouvoir l'étendre à d'autres systèmes réactionnels, avec comme perspective de retenir une seule voie mécanistique à la réaction d'aziridination, et de justifier ainsi notre hypothèse sur le mécanisme proposé.

En utilisant l'alcoolate du glycidol, la première réaction se produit entre le nucléophile fort et le sommet électrophile de l'iminophosphorane. On peut se demander si la situation reste la même ou change lorsque nous utilisons des réactifs portant des sommets nucléophiles moyens, comme les carboxylates ? De plus, le dérivé phosphoré engagé dans la préparation de l'iminophosphorane n'est plus la triphénylphosphine, mais le triéthylphosphite portant aussi d'autres centres électrophiles, moyennement activés par la charge positive partielle portée par le phosphore de l'iminophosphorane.

D'après les résultats obtenus, et à l'issue de toutes les réactions développées avec l'iminophosphorane, nous avons pu démontrer que ce dernier se comporte comme un électrophile même vis-à-vis des nucléophiles doux comme les carboxylates.

Avec les deux carboxylates utilisés, aussi bien le dibromoacétate que le chloroacétate de sodium, nous avons remarqué que le produit majoritaire est celui provenant de l'intermédiaire à cinq chaînons, ce qui confirme notre hypothèse sur la formation prépondérante de la phosphaoxazolidine. Ce cycle subit ensuite une décomposition qui résulte

du fait que le phosphore possède une plus grande affinité pour l'oxygène que pour l'atome de carbone.

Le résultat le plus remarquable que nous avons obtenu au cours de ce travail est la formation d'un même produit minoritaire dans les deux réactions effectuées avec l'imino-phosphorane issu du triéthylphosphite. En effet, les analyses effectuées ont donné les mêmes caractéristiques spectroscopiques, ainsi que le même point de fusion. Cela nous a conduits à proposer un mécanisme identique ou assez approché dans les deux cas. Dans ces deux réactions, l'intermédiaire clé est constitué par un système tricyclique contenant un motif bicyclo à cinq chaînons dont l'ouverture de la jonction angulaire engendre le cycle à huit atomes. Par ailleurs, l'obtention de ce produit minoritaire a renforcé notre conclusion, ce qui confirme que l'imino-phosphorane se comporte comme un électrophile dans le milieu réactionnel envisagé même avec des nucléophiles doux. Quoiqu'il en soit, cette étude nous a permis d'approfondir la réactivité des imino-phosphoranes et d'y apporter une contribution intéressante, susceptible d'aider à mieux comprendre le déroulement de la réaction utilisée dans ce travail.

CHAPITRE III

CHAPITRE III

SYNTHESE DES PEPTIDOMIMETIQUES A MOTIF AZIRIDINYLE

III.A. Introduction

Conformément à un programme que nous avons établi pour développer la synthèse des isostères des peptides, nous nous sommes fixés comme objectif de procéder à la synthèse des peptidomimétiques avec un motif aziridinyle, afin de vérifier si l'activité observée avec des monomères ^(80,136) pouvait être affectée par l'allongement de la chaîne peptidique. En effet, il est bien connu que toute substance, qu'elle soit naturelle ^(78,137) ou synthétique ^(138,139) (**Figure III-1**), et qui possède le motif aziridine dans son squelette, possède de multiples propriétés biologiques qui, à ce jour, sont largement exploitées dans la thérapie humaine, et principalement anti cancéreuse ⁽¹⁴⁰⁾.

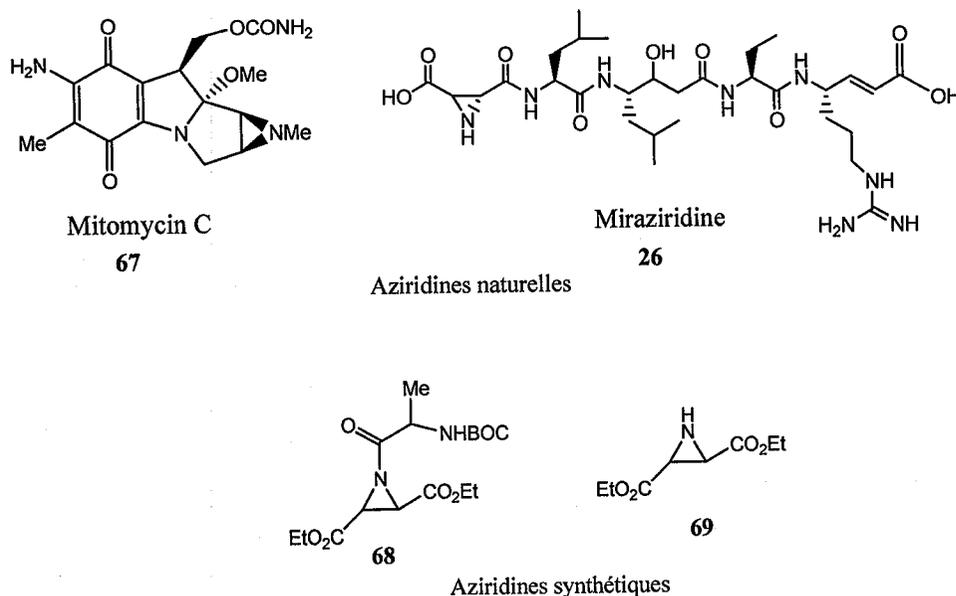


Figure III-1

- (136) Baba, A. F.; Medjahed, W. ; Merzouk, H. ; Kajima Mulengi, J. ; Belleville, J.; Prost, J. *Gen. Physiol. Biophys.* **2006**, *25*, 277-287.
- (137) a) Kinoshita, S.; Uzu, K.; Nakano, K.; Shimizu, M.; Takahashi, T. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 103.
b) Kuroda, T.; Hisamura, K.; Matsukuma, I.; Osawa, Y.; Sugaya, T.; Nishikawa, H.; Morimoto, M.; Ashizawa, T.; Nakamizo, N.; Otsuji, Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*, 113.
c) Papaioannou, N.; Evans, C. A.; Blank, J. T.; Miller, S. J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2879-2882.
- (138) Wiley, J.; Sons, I. *Biopolymers. Peptide Science.* **1999**, *51*, 87-97.
- (139) a) Gerhart, F.; Higgins, W.; Tardif, C.; Ducep, J. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2157.
b) Tanner, M.E.; Miao, S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4073.
- (140) Kasai, M.; Kono, M. *Synlett.*, **1992**, 778.

Cette synthèse constitue la suite logique d'un travail développé auparavant, dans lequel une nouvelle classe d'aziridines avait été synthétisée grâce à une réaction entre des iminophosphoranes provenant des aminoacides et le glycidol. En appliquant la même méthode décrite au chapitre II, il nous a été possible d'aboutir aux structures envisagées et de valider le mécanisme que nous avons proposé⁽⁸⁰⁾.

Diverses perspectives de développement avaient été envisagées à l'issue du premier travail, et elles sont concrétisées dans ce chapitre. Ces perspectives portaient notamment sur :

- La synthèse racémique à étendre en série énantiopure, en utilisant des réactifs chiraux.
- La vérification de la stéréosélectivité de la réaction d'aziridination.
- L'homologation de la chaîne carbonée par un couplage peptidique.

Par conséquent, deux types de peptidoaziridines ont été synthétisées (**Schéma III-1**), en laissant à chaque fois une fonction hydroxyle libre capable d'améliorer l'hydrosolubilité du peptidomimétique. Cette même fonction est susceptible d'être éventuellement fonctionnalisée par fixation à d'autres groupements, par substitution, ou par accrochage à des substances bioactives avérées. Le premier type, **D1**, comporte un squelette aziridine sur le C-terminal de l'acide aminé. Par contre, le second, **D2**, contient une aziridine sur le C-terminal d'un peptide, obtenu par un couplage peptidique des aminoacides.

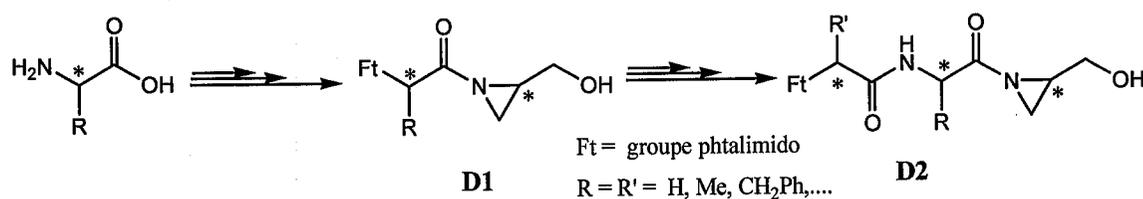


Schéma III-1

Deux stratégies ont été retenues pour effectuer le couplage peptidique, et réaliser la synthèse de l'aziridinylpeptide type **D2** (**Schéma III-1**) avec une chaîne plus longue :

- La première stratégie consiste à préparer la *N*-hydroxyméthylaziridine de départ ; ensuite on déprotège le groupe phtalimido pour libérer une fonction amino susceptible d'être couplée avec un autre aminoacide, voie (a) (**Schéma III-2**).

- La deuxième stratégie consiste tout d'abord à coupler deux aminoacides, et par la suite, à former le squelette aziridine sur le C-terminal du dipeptide **D3** obtenu. Cette dernière voie, plus pratique et plus directe, permet de simplifier la synthèse et d'accéder à l'aziridinylpeptide sans ouvrir le cycle de l'aziridine au cours des réactions envisagées (voie (b) (Schéma III-2)).

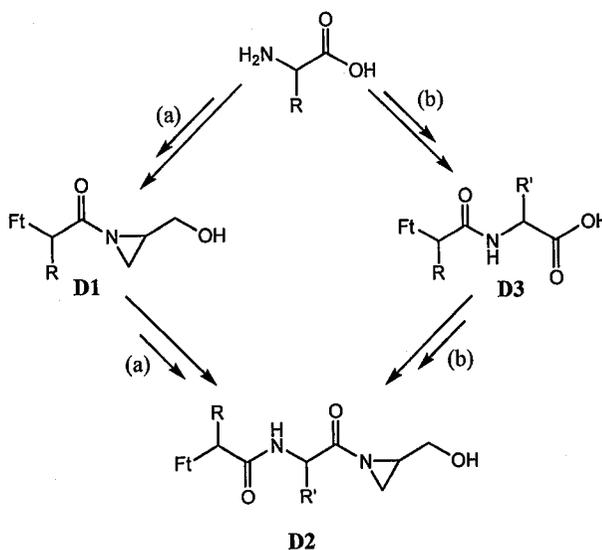


Schéma III-2

III.B. Synthèse des aziridines à partir des aminoacides

Les acides α -aminés sont des substances d'un grand intérêt synthétique et biologique ; ils sont en effet les principaux constituants des peptides et protéines, ils sont également d'intéressants intermédiaires chiraux utilisés en synthèse asymétrique ⁽¹⁴¹⁾. A ce jour, plusieurs recherches ont été initiées et développées en chimie organique et thérapeutique grâce à leur fort potentiel synthétique, ainsi qu'aux perspectives qu'ils ouvrent.



Figure III-2 : acides α -aminés.

(141) Maruoka, K.; Oai, T. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3013-3028.

L'accès aux aziridines à partir des acides α -aminés représente une méthode de choix par rapport aux autres procédures décrites dans la littérature. Trois approches sont possibles pour réaliser cette synthèse (**Schéma III-3**) :

- Aménagement de la fonction amine, sans toucher à la fonction acide ; dans ce cas l'atome d'azote du cycle formé provient de l'acide aminé (voie a).
- Utilisation des deux fonctions amine et acide de l'acide aminé : il s'agit là d'une substitution nucléophile intramoléculaire entre l'azote et le carbonyle activé (voie b).
- Attaque nucléophile de la fonction acide sans toucher à la fonction amine, par des réactions de substitution avec un dérivé azoté (voie c).

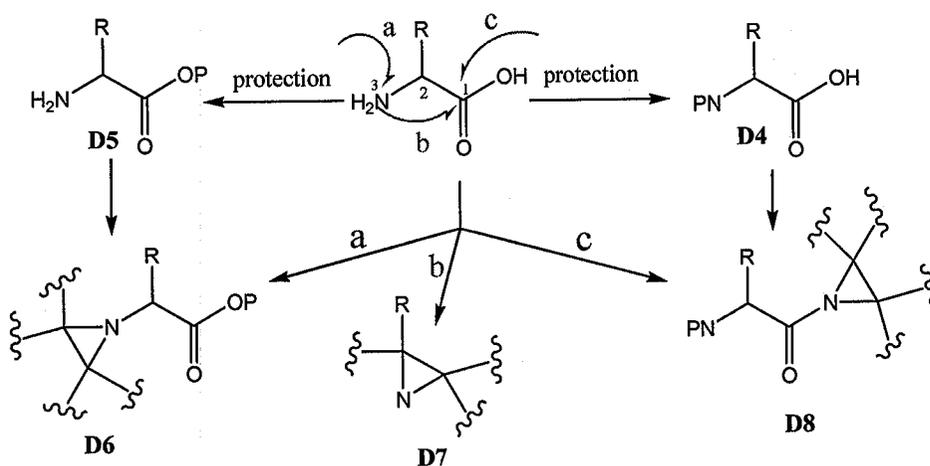


Schéma III-3

III. B. 1. Aziridine à partir de la fonction amine (D6)

Cette méthode consiste à utiliser la fonction amine des acides α -aminés comme un groupe nucléophile pour réaliser une réaction de substitution afin d'engendrer un squelette aziridine. Peu d'exemples sur cette stratégie sont décrits dans la littérature. La substitution nucléophile dans ce cas s'effectue selon un processus intramoléculaire en présence d'un groupe partant en position β de la fonction amine de l'acide aminé.

A titre d'exemple, la présence d'une fonction alcool en position β de la fonction amine de l'acide aminé peut conduire à une cyclisation intramoléculaire, suite à une substitution nucléophile de ce groupement hydroxyle par l'azote, après activation préalable.

Yeheškiely et coll. ⁽¹⁴²⁾ ont pu effectuer une réaction similaire, en traitant les acides α -aminés **70** et **71** par du SO_2Cl_2 et la triéthylamine à -50°C ; les aziridines **72** et **73** sont obtenues avec de très bons rendements (**Schéma III-4**). Dans ce cas, la position *syn* des deux groupements (amine et alcool) est indispensable à la réussite de la réaction.

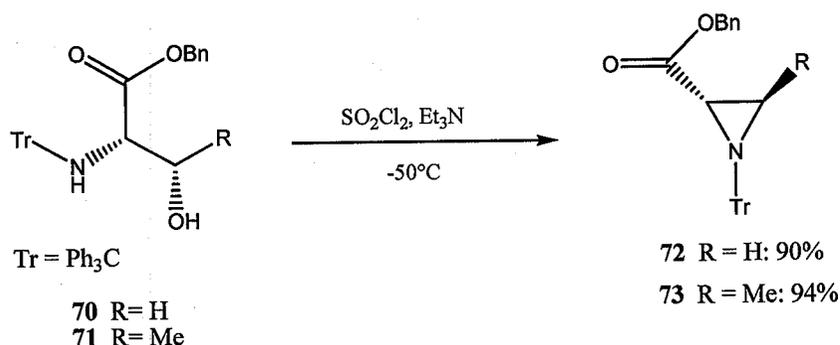


Schéma III-4

III. B. 2. Aziridine à partir des deux fonctions amine et acide (D7)

La majorité des exemples qui sont mentionnés dans la littérature sur la synthèse des aziridines sont basés sur l'utilisation des deux fonctions amine et acide de l'acide α aminé ⁽¹⁴³⁻¹⁴⁵⁾. Dans ces cas aussi, le processus repose essentiellement sur une réaction intramoléculaire, qui peut avoir lieu après l'activation de la fonction acide de l'acide α aminé.

Généralement, pour activer la fonction acide, il faut la convertir en un bon groupe partant (Tosylate ou mésylate), qui peut subir facilement une substitution nucléophile de la part de l'azote en α . La stratégie la plus simple consiste à réduire cette fonction en alcool correspondant, et ensuite à transformer ce dernier en un tosylate, un groupement facilement substituable. Ainsi, Berry et coll. ⁽¹⁴⁴⁾ ont obtenu des *N*-tosylaziridines énantiomériquement pures en suivant la même approche, qui comporte trois étapes : une *N*-tosylation du (*S*)-2-aminoacide (**74** R = PhCH_2), suivie d'une réduction pour avoir le *N*-tosyl-2-aminoalcool (**76** R = PhCH_2) correspondant. Ensuite, une *O*-tosylation provoque une cyclisation *in situ* qui fournit le produit recherché (**77** R = PhCH_2) (**Schéma III-5**) ^(144,145).

(142) Kuyil-Yeheškiely, E. ; Lodder, M. ; Van der Marel, G. A. ; Van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3013.

(143) Wessig, P. ; Schwartz, J. *Synlett.* **1997**, 893-894.

(144) Berry, M. B. ; Craig, D. *Synlett.* **1992**, 41-44.

(145) Bieber, L. W. ; De Araujo, M. C. F. *Molecules.* **2002**, 7, 902-906.

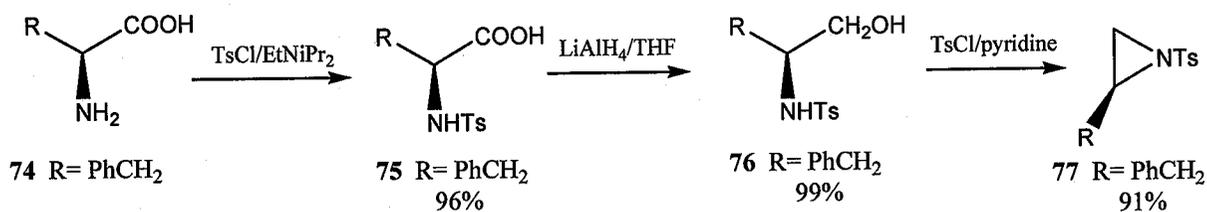


Schéma III-5

Plus récemment, Park et coll. ⁽¹⁴⁶⁾ ont mis au point la synthèse d'un β-aminoacide **85** (R = Bn) contenant un cycle aziridine à partir de l'acide aspartique en appliquant la même méthode décrite plus haut. Cependant, deux étapes clés ont été introduites dans cette synthèse, il s'agit d'une alkylation, suivie d'une déprotection sélective de la fonction acide en α de l'amine (Schéma III-6).

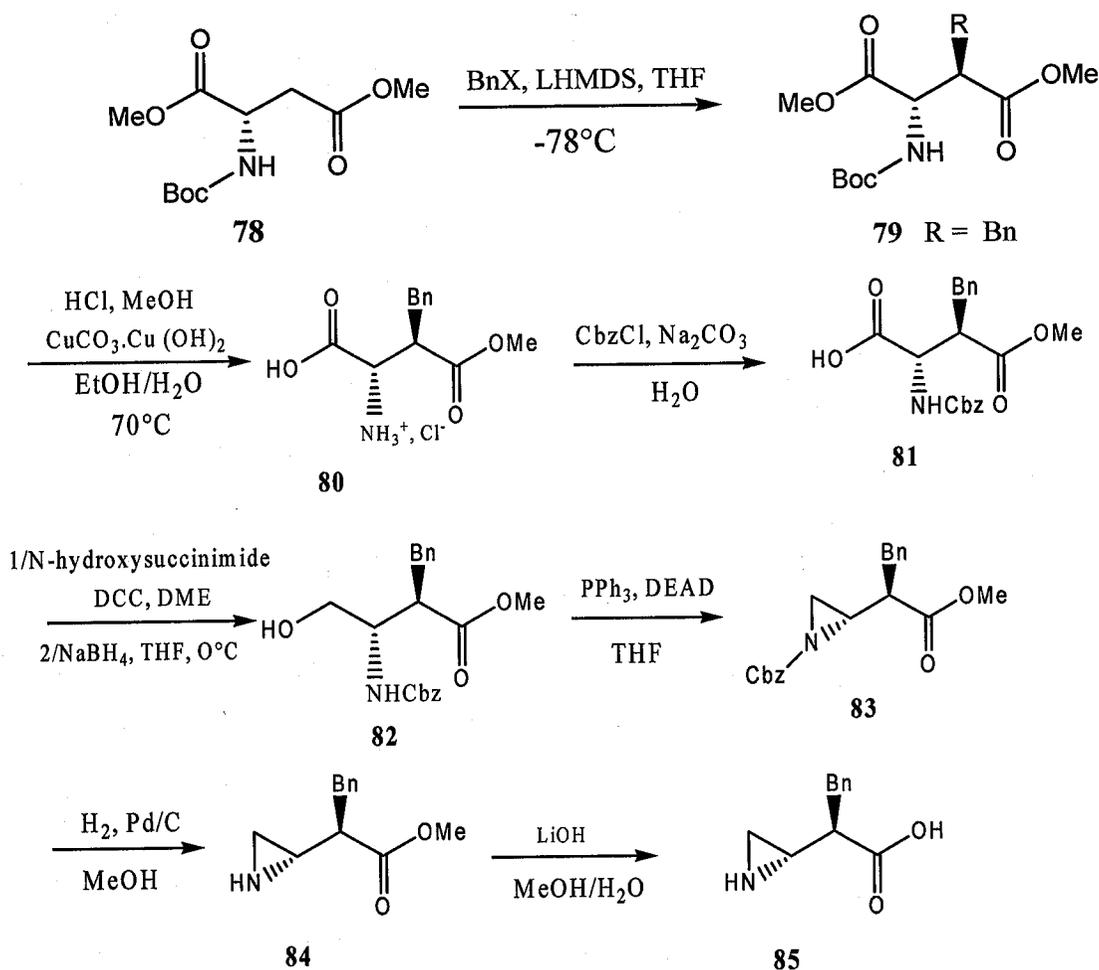


Schéma III-6

(146) Park, J. ; Rong Tian, G. ; Kim, D. H. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3696-3703.

III. B. 3. Aziridine à partir de la fonction acide (D8): résultats obtenus

La méthode que nous avons suivie au début de ce projet, et relative à la synthèse des aziridines, semble être la seule de ce genre à être répertoriée à ce jour dans la littérature. Elle utilise uniquement la fonction acide de l'acide α aminé⁽⁸⁰⁾ et consiste à synthétiser des *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridines, par le biais d'une réaction entre un iminophosphorane dérivé d'un aminoacide et le glycidol. Le processus se déroule en trois étapes (Schéma III-7) :

- une protection de la fonction amino par l'anhydride phtalique : ce groupement phthalimido (Ft) paraissait le mieux adapté car il est résistant aux conditions fortement basiques nécessaires à la suite de la synthèse, notamment lors de la préparation de l'aziridine. De plus, il peut conférer un pouvoir lipophile ainsi qu'une rigidité à la molécule cible. Par ailleurs, ce même groupement peut aussi être conservé intact sur la molécule finale, comme on en trouve des cas dans la littérature. Ainsi par exemple, le thalidomide et ses analogues, qui sont des inhibiteurs de l'angiogenèse et du cancer de la prostate⁽¹⁴⁷⁾, sont tous des substances qui portent encore le groupe phtaloyle (Figure III-3).

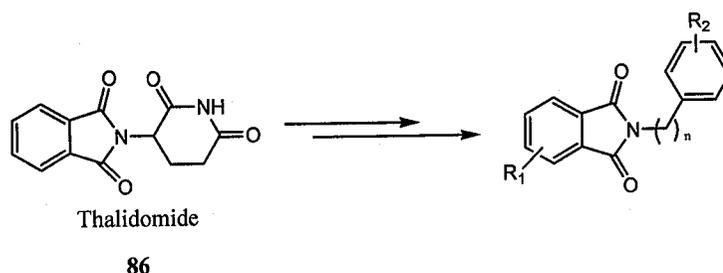


Figure III-3

- Préparation des acylazides D9 selon deux méthodes décrites dans la littérature^(117, 118, 101).
- Synthèse des iminophosphoranes et aziridines D1 en une seule étape selon une méthode que nous avons mise au point dans notre laboratoire⁽⁸⁰⁾.

En revanche, nous avons choisi pour cette synthèse un seul alcool, le glycidol, un époxyalcool, à cause de sa grande réactivité et de son implication dans la synthèse des composés avec une activité biologique à usage médical⁽¹⁴⁸⁻¹⁵⁰⁾.

(147) Capitosti, S. M. ; Hansen, T. P. ; Brown, M. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 327-336.

(148) Cadwel, J. *Chem. Industry*. **1995**, 176.

(149) Henson, P. D. ; Mislow, K.. *J. Chem. Soc.* **1969**, *D*, 413.

(150) March, J. *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* Wiley. **1985**, 107.

Cet époxy alcool se comporte à la fois comme nucléophile et comme électrophile, ce qui fait passer la réaction par un intermédiaire cyclique, suite à l'intervention de l'azote de l'imino-phosphorane. Ce dernier engendre une aziridine après sa décomposition par élimination d'un oxyde de phosphine, caractérisé par ses propriétés physiques et spectrales.

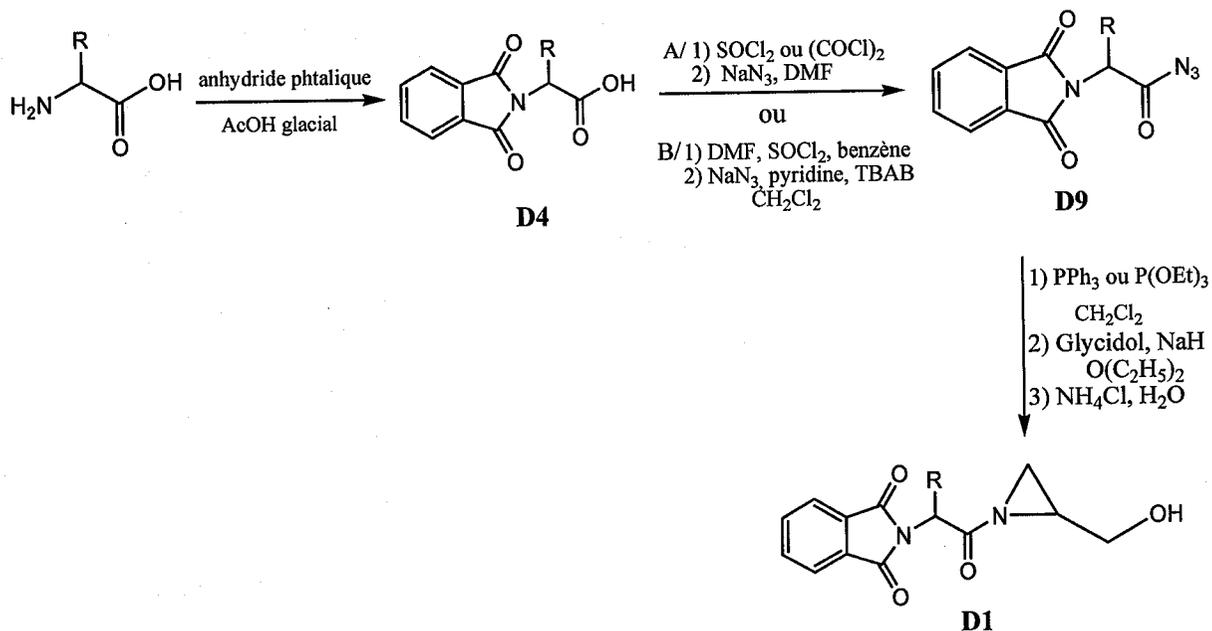


Schéma III-7

Les aziridines que nous avons synthétisées comportent deux centres asymétriques, lesquels sont apportés par les réactifs de départ (acides α aminés et le glycidol), ouvrant la perspective d'obtenir une série de diastéréoisomères. Par conséquent, une fois la synthèse mise au point en série racémique, nous avons étendu notre travail à la série énantiopure, afin de vérifier la stéréosélectivité de la réaction d'aziridination, en particulier dans l'étape clé lors de la décomposition de l'intermédiaire cyclique (**Schéma III-8**).

Il est en effet intéressant de chercher à vérifier si les réactifs chiraux de départ ne subissent aucune altération de leur stéréochimie lors de la formation et de la décomposition de l'intermédiaire cyclique. Cette question peut être discutée sur la base du mécanisme proposé ci-dessous.

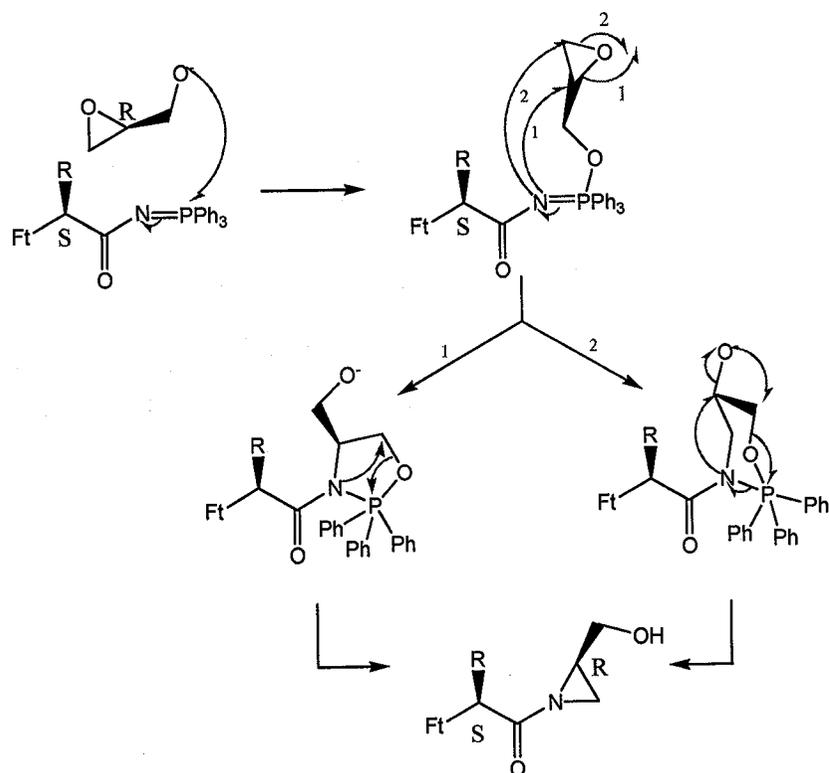


Schéma III-8

RESULTATS OBTENUS

a- Synthèse en série racémique

Nous avons initié ce travail avec des réactifs racémiques, capables d'engendrer deux centres asymétriques dans les aziridinylopeptides **D1**, et par conséquent, de mener à quatre diastéréoisomères. Ces produits n'ont pas pu être identifiés ni séparés par chromatographie sur CCM et sur colonne.

Afin de diminuer le nombre des diastéréoisomères, nous avons repris les mêmes procédures en utilisant uniquement les acides α aminés de la série « S », tout en gardant le glycidol racémique. Ce qui en résulte, ce sont deux diastéréoisomères (S, S) et (S, R). Par ailleurs, ces substances de type **D1** ont été synthétisées à partir d'autres aminoacides dépourvus de centre asymétrique tels que la glycine, l'acide aminohippurique, l'acide 6-aminocaproïque et la β -alanine, ce qui permet d'étendre la gamme de produits obtenus.

En résumé, le processus global de synthèse de ces aziridines comprend trois étapes :

Etape 1 : protection

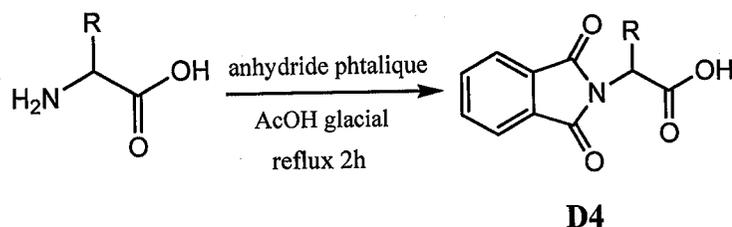


Schéma III-9

Il s'agit d'une condensation de l'acide alpha-amino avec l'anhydride phtalique ; cela s'effectue dans l'acide acétique glacial sous un reflux de 2h, fournissant un phthalimidoacide qui est ensuite purifié par recristallisation dans un mélange eau-éthanol ⁽¹¹²⁾.

Entrée	Phtalimidoacides	Eau-Ethanol	Résultats
1	L-alanine 87	4 : 1	94% de rendement, Tf = 162°C
2	L-phénylalanine 88	1 : 4	80% de rendement, Tf = 183°C [α] _D ²⁵ = - 30,4 (c : 0,5, CHCl ₃)
3	L-valine 89	3 : 1	82% de rendement, Tf = 116°C
4	L-leucine 90	1 : 1	75% de rendement, Tf = 124°C
5	L-tryptophane 91	4 : 1	43% de rendement, Tf = 179°C

Tableau III-1 : α-aminoacides utilisés.

La L-proline est aussi engagée dans cette synthèse mais, à la différence des autres aminoacides, elle est la seule à avoir été protégée avec l'anhydride acétique et non pas l'anhydride phtalique en appliquant les mêmes conditions opératoire. Cela se justifie par la présence d'un seul hydrogène sur la fonction amine de cet acide α-aminé (**Schéma III-10**). Le produit protégé ne demande pas de purification particulière.

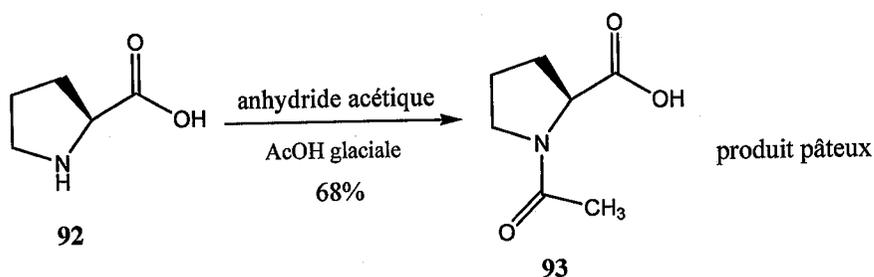


Schéma III-10

Entrée	Phtalimidoacides	Eau-Ethanol	Résultats
6	Glycine 31	1 : 1	89% de rendements, Tf = 196°C
7	Acide 6-aminocaproïque 94	2 : 1	74% de rendement, Tf = 108°C
8	Acide aminohippurique 95	0 : 1	85% de rendement, Tf = 261°C
9	β -alanine 96	1 : 0	84% de rendement, Tf = 130°C

Tableau III-2 : autres aminoacides

Etape 2 : acylazides

D'après les indications de synthèse décrites dans la littérature, les acylazides provenant des acides carboxyliques sont synthétisés selon deux voies. Les deux méthodes ont été utilisées dans cette partie de travail :

➤ **En passant par un chlorure d'acyle**

La réaction consiste à préparer un chlorure d'acyle **D11** par traitement d'un acide carboxylique avec le chlorure de thionyle ou le chlorure d'oxalyle dans le benzène pendant un reflux de 4h (**Schéma III-11**). Ensuite, ce dernier subit une réaction de substitution de l'halogénure par l'azoture de sodium dans le DMF (voie a) ^(117,118) (**Schéma III-12**).

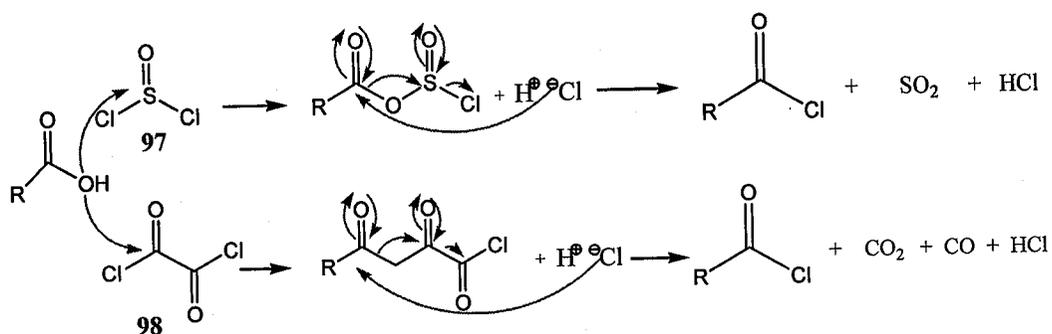


Schéma III-11

➤ Passage direct de l'acide vers l'azide

La procédure suivie est celle de Palomo⁽¹⁰¹⁾, elle est plus satisfaisante que la première, car elle met en jeu des conditions réactionnelles qui permettent une activation *in situ* de la fonction carboxylique ainsi que sa transformation ultérieure directement en acylazide **D9**. Elle consiste d'abord à préparer le chlorure de *N,N*-diméthylchlorosulfite de méthaniminium. Ce dernier est formé à partir d'une réaction préalable entre le chlorure de thionyle et le diméthylformamide dans le benzène à température ambiante. Une fois le réactif obtenu, il est engagé dans une réaction avec l'acide carboxylique afin de donner l'intermédiaire **D10**, capable de réagir avec l'azoture de sodium. Cela est réalisé par une substitution nucléophile par l'azoture, sur l'hydroxyle du carboxyle activé pour former l'acylazide **D9** correspondant (Schéma III-12).

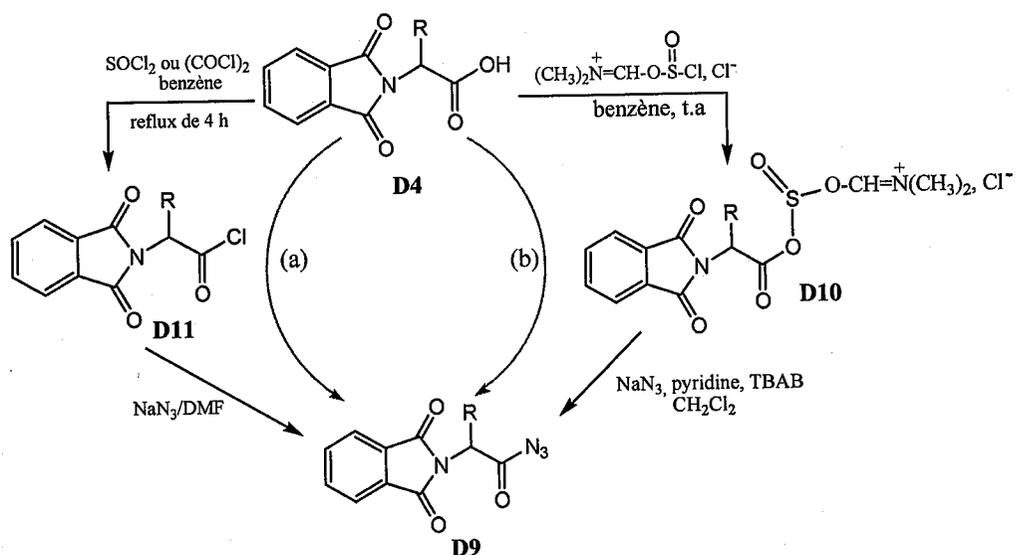


Schéma III-12

Les rendements obtenus avec la méthode de Palomo sont meilleurs que ceux obtenus à partir d'un chlorure d'acyle comme intermédiaire : le temps est en effet plus court (voie **b**) pour transformer tous les aminoacides protégés en leurs acylazides qui sont utilisés dans la suite de synthèses sans purification.

Entrée	N-acylazides	Résultats (% : rendement)
1	L-alanylacylazide 99	voie (a) : 60%, voie (b) : 93%, Tf = 92°C
2	L-phénylalanylacylazide 100	voie (a) : 45%, voie (b) : 95%, Tf = 70°C
3	L-valinylacylazide 101	voie (b) : 86%, produit pâteux
4	L-leucylacylazide 102	voie (b) : 82%, produit pâteux
5	L-tryptophanylacylazide 103	voie (b) : 45%, Tf = 90°C
6	L-prolinylacylazide 104	voie (b) : 40%, produit pâteux
7	Glycylacylazide 32	voie (a) : 50%, voie (b) : 82%, Tf = 92°C
8	6-aminocaproylacylazide 105	voie (b) : 85%, Tf = 60°C
9	Aminohippurylacylazide 106	voie (b) : 67%, Tf = 160°C
10	β -alanylacylazide 107	voie (a) : 43%, voie (b) : 85%, Tf = 87°C

Tableau III-3 : acylazides obtenus

Etape 3 : aziridinylpeptides

La voie que nous avons mise en œuvre consiste à faire réagir l'acylazide avec la triphénylphosphine ou le triéthylphosphite en nous basant sur les données de la réaction classique de Staudinger ⁽¹³²⁾. Afin d'obtenir l'iminophosphorane correspondant, qui est l'intermédiaire clé dans notre synthèse des *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridines **D1**, l'azide **D9** est mis en réaction avec la triphénylphosphine.

L'iminophosphorane **D12** est un produit assez stable, qui a pu être isolé et identifié par les analyses spectroscopiques (RMN¹H et ¹³C, IR) (**Figure III-3**). Dans le cas particulier de la glycine **33a** (R=H) (**Figure III-4**), nous avons pu obtenir un solide sous forme d'une poudre blanche recristallisée dans le méthanol et caractérisée par un point de fusion de 201°C (**Schéma III-13**).

Ces résultats confirment bien le passage par l'iminophosphorane, qui est ensuite mis en contact *in situ* avec un alcoolate, préalablement formé par l'action de l'hydrure de sodium sur le glycidol (**Schéma III-14**). Dans cette réaction, l'iminophosphorane **D12** se comporte en premier lieu comme un électrophile, comme nous l'avons signalé au chapitre II avec d'autres nucléophiles plus doux. Ainsi, l'anion qui se forme effectue une attaque nucléophile sur le phosphore, suivie d'une ouverture de l'époxyde à cause d'une autre attaque, produite par la charge localisée sur l'atome de l'azote (**Schéma III-8**).

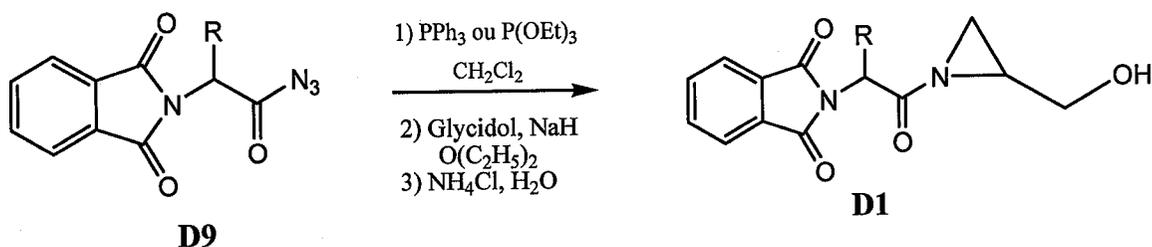


Schéma III-14

Ce processus donne lieu à la formation de deux intermédiaires cycliques, l'un à cinq et l'autre à six chaînons, dont le premier est prédominant, suite aux interprétations données au chapitre II. Les deux intermédiaires cycliques obtenus subissent ensuite une décomposition qui résulte du fait que le phosphore possède une plus grande affinité pour l'oxygène que pour l'atome de carbone. Le traitement du mélange résultant avec le chlorure d'ammonium engendre à partir des deux intermédiaires cycliques la *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridine souhaitée (**Schémas : III-7 et III-8**). Le seul produit secondaire obtenu dans cette réaction est soit l'oxyde de triphénylphosphine (OPPh₃) ou celui de triéthylphosphite (triéthylphosphate : OP(OEt)₃), qui confirment bien le passage par le mécanisme que nous avons proposé (**Schéma III-8**) (**Tableau III-4**).

Entrée	Oxydes	Observations
1	OPPh ₃	- solide blanc : Mw = 278,3 g/mol, Tf = 146°C. - éliminé par solubilité partielle dans l'éther diéthylique à froid.
2	OP(OEt) ₃	- liquide : Mw = 182,15 g/mol, Téb = 215°C. -éliminé par des lavages avec une solution aqueuse.

Tableau III-4 : Quelques propriétés des oxydes de phosphines

Les résultats de la CCM nous ont guidés pour déterminer les conditions de purification des *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridines par chromatographie sur colonne avec un mélange d'éther de pétrole (40-60°C)/dichlorométhane (1 : 4) comme éluant. Les rendements sont bons avec la triphénylphosphine, malgré le problème rencontré avec son oxyde, difficilement séparable de nos aziridines. Par contre, avec le triéthylphosphite, les rendements ne sont pas aussi satisfaisants, car il se forme d'autres produits compétitifs de l'aziridine.

La formation de ces derniers est à chercher dans la réactivité des groupements éthoxy portés par le phosphore et qui représentent aussi des sites électrophiles vis-à-vis de l'alcoolate du glycidol, comme cela est connu dans la réaction d'Arbusov. Seuls les acylazides provenant de la glycine, L-alanine, L-phénylalanine ont été traités aussi bien avec le triéthylphosphite qu'avec la triphénylphosphine.

Entrée	Aziridinylpeptides	structures	Résultats
1	N-Ft-alanylaziridine 108		PPh ₃ : 70%, P(OEt) ₃ : 40% Mélange de : (S, R), (S,S) Tf = 60°C
2	N-Ft-phénylalanylaziridine 109		PPh ₃ : 98%, P(OEt) ₃ : 56% Mélange de : (S, R), (S,S) Tf = 51°C
3	N-Ft-valinylaziridine 110		PPh ₃ : 52% Mélange de : (S, R), (S,S) Tf = 53°C
4	N-Ft-leucylaziridine 111		PPh ₃ : 50% Mélange de : (S, R), (S,S) Produit pâteux
5	N-Ft-tryptylaziridine 112		PPh ₃ : 96% Mélange de : (S, R), (S,S) Tf = 61°C
6	N-acétyl-prolylaziridine 113		PPh ₃ : 55% Mélange de : (S, R), (S,S) Produit pâteux

Tableau III-5 : Aziridinylpeptides synthétisés en série racémique.

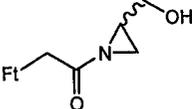
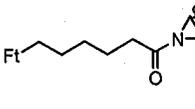
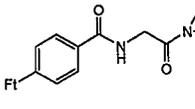
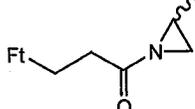
7	N-Ft-glycylaziridine 114		PPh ₃ : 51%, P(OEt) ₃ : 42% Mélange de : (S) et (R) Tf = 70°C
8	6-Ft-aminocaproylaziridine 115		PPh ₃ : 60% Mélange de : (S) et (R) Tf = 35°C
9	N-Ft-aminohippurylaziridine 116		PPh ₃ : 45% Mélange de : (S) et (R) Produit pâteux
10	N-Ft-β-alanylaziridine 117		PPh ₃ : 66% Mélange de : (S) et (R) Tf = 45°C

Tableau III-5 (suite) : Aziridinylpeptides synthétisés en série racémique.

b- Synthèse en série énantio pure

Comme signalé plus haut, nous avons également effectué la synthèse des aziridinylpeptides **D1** en série énantio pure, afin de vérifier la conservation ou non de la configuration des centres asymétriques apportés par les aminoacides et le glycidol. En même temps, cela servait aussi à contrôler la stéréosélectivité de la réaction d'aziridination que nous avons développée.

Pour réaliser cette étude, nous avons pris un seul amino acide, la L-phénylalanine à cause des résultats satisfaisants obtenus tout au long de ce travail. En effet, nous avons tenu compte des considérations suivantes :

- les rendements des réactions ont été meilleurs dans toutes les étapes de synthèse effectuées avec cet amino acide.
- le squelette **L** et ou **D** de la phénylalanine est souvent rencontré dans les peptidomimétiques synthétiques ou naturels doués d'une activité biologique intéressante ^(151, 152). On peut par conséquent estimer que ce motif participe à la reconnaissance moléculaire des récepteurs biologiques.

(151) Kondekar, N. B. ; Kandula, S. R. V.; Kumar, P. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 5477-5479.

(152) a) Kimura, T.; Shuto, D.; Kasai, S.; Liu, P. ; Hidaka, K. ; Hamada, T. ; Hayashi, Y. ; Hattori, C.; Asai, M.; Kitazume, S.; Saido, T. C.; Ishiura, S.; Kiso, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 152

b) Hidaka, K. ; Kimura, T. ; Hayashi, Y.; McDaniel, K. F.; Dekhtyar, T.; Colletti, L.; Kiso, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 93-96.

Nous avons eu recours à la méthode de Palomo⁽¹⁰¹⁾, vue précédemment, pour obtenir le L-pénylanylacylazide **99S** protégé sous forme phtalimido. Ce produit est ensuite engagé dans une réaction avec la triphénylphosphine et le (R)-glycidol, afin d'aboutir à un seul diastéreoisomère potentiel **109 (S, R)** de l'aziridinylpeptide correspondant. La configuration attendue ne peut être certaine que s'il ne se produit aucune racémisation au cours de la synthèse, ou si l'attaque qui conduit à l'ouverture du glycidol ne se déroule qu'à partir d'une direction préférentielle (**Schéma III-15**). Ce phénomène est discuté ci-dessous grâce à une analyse HPLC sur colonne chirale. Après purification, un produit solide est obtenu avec un rendement de 71%, $[\alpha]_D^{25} = -26,5$ (c : 0,5, CHCl₃)

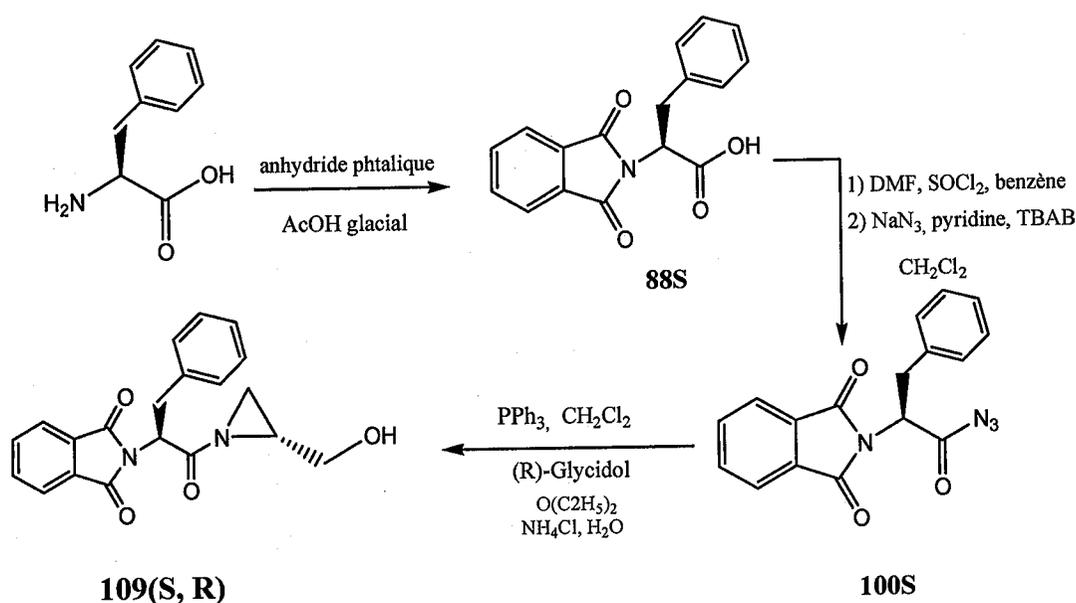


Schéma III-15

L'analyse par HPLC chirale (**Figure III-5**) montre la prédominance d'un composé (rétention 11.24mn, 96% de surface) par rapport à un autre mineur (rétention 10.45mn, 4% de surface de pic), avec un excès diastéréomérique de 92%.

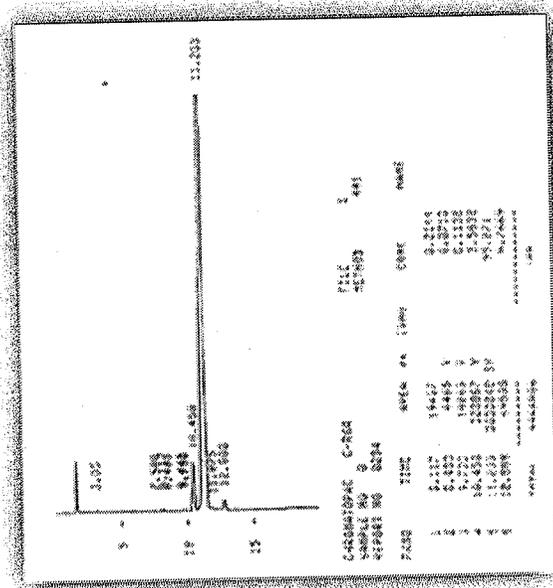


Figure III-5 : Aziridine de L-Phe avec R-glycidol 109(S, R)

Cette valeur montre qu'il y a certainement une induction asymétrique du groupe benzyle de la phénylalanine lors de la formation de l'aziridine, chose que nous n'avons pu vérifier auparavant, par manque d'analyse HPLC chirale. Ainsi, on peut mieux comprendre le schéma III-8 que nous rappelons ici. En effet, les surfaces des pics HPLC donnent respectivement 96 et 4 % pour les deux pics, ce qui signifie que le diastéréoisomère prépondérant serait le (S, R) alors que l'autre paire est représentée par les 4%. Ce dernier se formerait lors de la cyclisation qui conduit à l'aziridine.

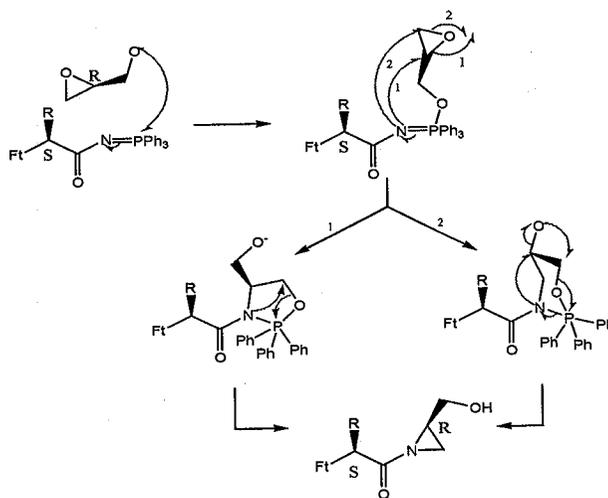


Schéma III-8

Nous pouvons d'ailleurs ajouter que pour réagir, les deux réactifs se placent dans deux plans parallèles, de telle manière à minimiser la gêne stérique entre les sites réactifs,

conformément aux règles de Cram sur l'addition stéréosélective sur un carbonyle. Dans notre cas, la double liaison de l'imino-phosphorane s'adapte bien à ce concept, si on tient compte de la forte gêne stérique provenant des motifs phényle portés par le phosphore. Après l'attaque de l'alcoolate sur le phosphore, on obtient un intermédiaire dont la structure spatiale optimisée montre bien la proximité entre l'atome d'azote chargé et le cycle oxirane ; cette charge est positionnée à l'arrière de l'époxyde, de telle manière que la nouvelle liaison carbone azote est située préférentiellement à l'arrière du plan (**Figure III-6**). Cette position préférentielle conforte notre hypothèse de la formation préférentielle d'un intermédiaire cyclique à cinq chaînons.

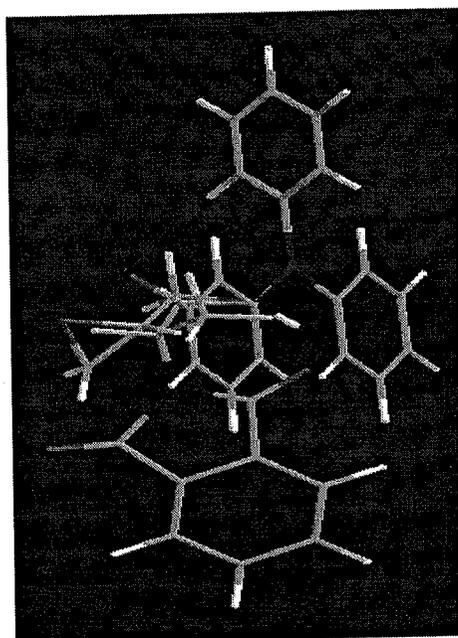
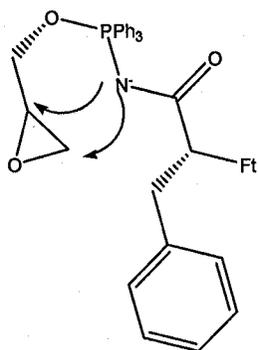


Figure III-6

Le modèle représenté ci-dessous (**Figure III-7**), permet d'obtenir une autre vision du même intermédiaire tout en confirmant que la réaction s'effectue au niveau de la liaison imino-phosphorane (azote en bleu et phosphore en rose). Le motif benzyle ainsi que l'un des groupes phényle attaché au phosphore indiquent que l'approche la plus favorable est celle qui viendrait par l'arrière, évitant ainsi le plus d'interaction stérique possible entre les deux réactifs.

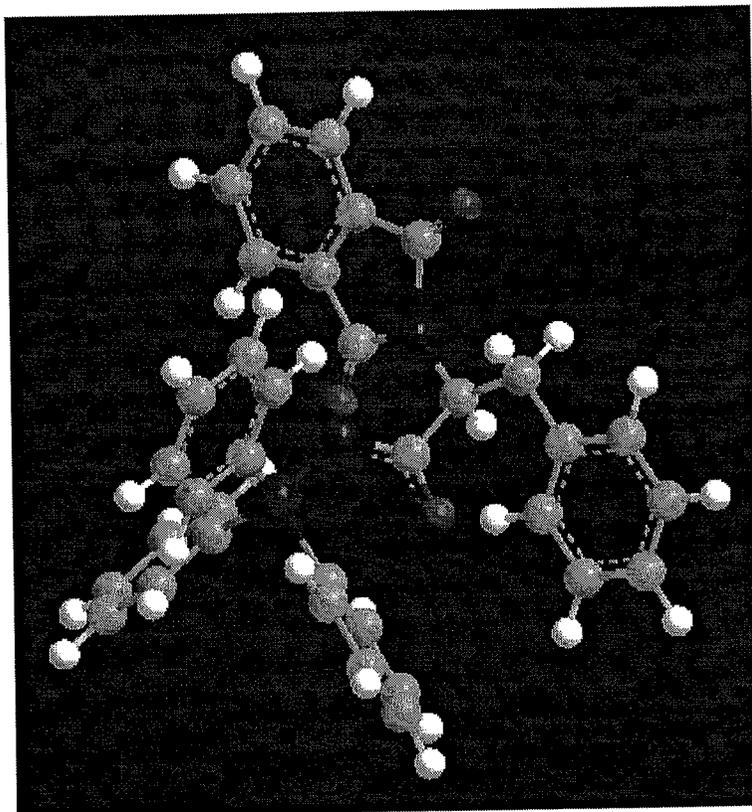


Figure III-7 : *iminophosphorane de la L-Phénylalanine*

Par contre, lorsque la L-phénylalanine est mise en réaction avec le glycidol racémique, on observe de nouveau la formation d'un produit majoritaire (temps de rétention 11,23 min) (**Figure III-8**), correspondant au même diastéréoisomère obtenu précédemment avec le R-glycidol. Ce dernier est accompagné, comme dans le cas précédent, de l'autre diastéréoisomère (10,45min). Au regard des résultats précédents, on peut dire que cet autre stéréoisomère provient principalement de l'inversion de la configuration lors de la formation de l'aziridine avec le R-glycidol. Il n'est pas exclu que le S-glycidol réagisse également, car l'intensité du pic chromatographique (10,45min) est plus importante dans ce dernier cas. D'ailleurs, cela est plausible dans la mesure où toutes les réactions avaient été conduites avec le même nombre d'équivalents molaires.

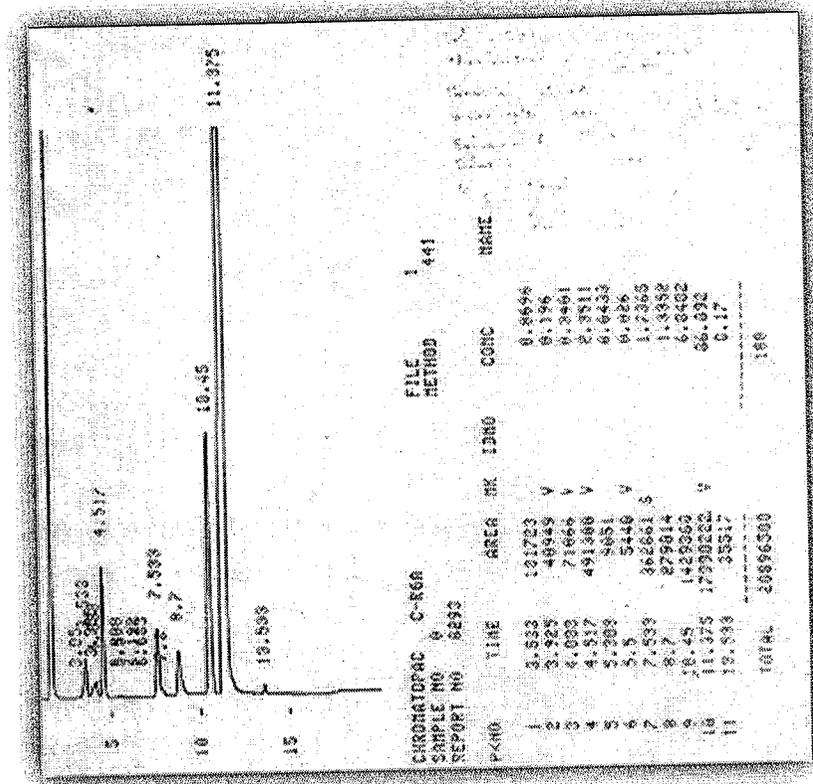


Figure III-8 : Aziridine de L-Phe 109 avec le glycidol racémique

III.C. Couplage peptidique

III.C.1. Rappels bibliographiques

Le couplage peptidique consiste à assembler des acides aminés entre eux en formant une liaison amide. Avant d'effectuer ce couplage, les autres groupements non impliqués dans la réaction envisagée doivent être protégés. Le choix des groupements protecteurs s'appuie sur leur résistance aux conditions de réaction utilisées et leur clivage relativement facile dans des conditions qui ne doivent pas détruire la liaison peptidique. L'ester de benzyle, facilement clivable par hydrogénolyse, et l'ester de *tert*-butyle, hydrolysé en milieu acide plus facilement qu'une liaison amide, peuvent être tous deux utilisés.

Le couplage peptidique nécessite souvent une activation préalable de la fonction acide carboxylique en un composé carbonylé portant un meilleur groupe partant X (Schéma III-16). L'étape de condensation avec l'amine est donc précédée d'une étape d'activation.

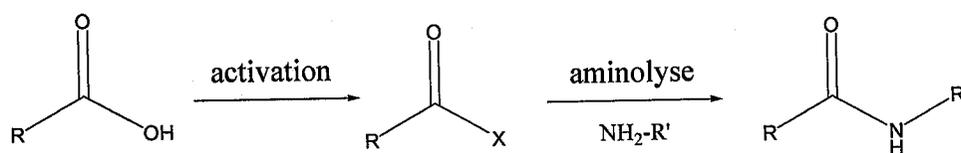


Schéma III-16

Diverses méthodes permettent l'activation de la fonction acide carboxylique lors du couplage en utilisant un halogène, un azide, un imidazole, un anhydride (symétrique ou mixte), ou un ester activé (où le groupe partant $\text{X}=\text{RO}^-$ est généralement stabilisé par mésomérie), ...

III.C.1.a. Les halogénures d'acyle

▪ Chlorures d'acyle ou chlorures d'acides

La synthèse de chlorures d'acyle constitue une méthode simple d'activation des acides carboxyliques. Lors de la synthèse d'un peptide en activant préalablement l'acide en chlorure d'acyle correspondant, on peut utiliser le SOCl_2 ⁽¹⁵³⁾, le $(\text{COCl})_2$ ^(154, 155) (en passant par E1), PCl_3 , POCl_3 ⁽¹⁵⁶⁾, ou le PCl_5 ⁽¹⁵⁶⁾ en présence du diméthylformamide comme catalyseur⁽¹⁵⁷⁾; ensuite on effectue un couplage peptidique.

L'un des inconvénients majeurs de cette méthode réside dans la production du HCl, qui favorise la déprotection de certains groupements protecteurs comme c'est le cas des substances protégées par le Boc. Afin de résoudre ce problème, d'autres stratégies ont été mises en oeuvre pour activer la fonction acide sous forme d'un chlorure d'acyle. Par exemple, le chlorure de cyanure (2, 4, 6-trichloro-1, 3,5-triazine) est utilisé avec la triéthylamine⁽¹⁵⁸⁾. La réaction se déroule en un milieu basique, et comporte une substitution nucléophile aromatique suivie d'une attaque nucléophile de la part de l'anion chlorure sur l'ester activé E2 qui lui a été généré de la première étape (Schéma III-17).

(153) Chu, W. ; Tu, Z. ; McElveen, E. ; Xu, J. ; Taylor, M. ; Luedtke, R. R. ; Mach, R. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 77-87.

(154) Kuwajima, I. ; Urabe, H. *Organic Syntheses* ; Wiley : New York. **1993**, *Collect. Vol. VIII*, 486-489.

(155) Knapp, S. ; Gibson, F. S. *Organic Syntheses* ; Wiley : New York. **1998**, *Collect. Vol. IX*, 516-521.

(156) Klosa, J. J. *Prakt. Chem.* **1962**, *19*, 45-55.

(157) Bruckner, R. *Advanced Organic Chemistry, Reaction Mechanisms* ; Harcourt/Academic : San Diego ; **2002**, 239.

(158) Venkataraman, K. ; Wagle, D. R. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *32*, 3037-3040.

La préparation du chlorure d'acyle est aussi effectuée dans des conditions neutres et douces avec la triphénylphosphine en présence d'une source de chlorure ⁽¹⁵⁹⁾ (en passant par E3). Le tetrachlorure de carbone a été utilisé dans ce processus, mais à cause de sa toxicité, la méthode a été moins exploitée. Par ailleurs, Villeneuve⁽¹⁶⁰⁾ a pu démontrer qu'un acide carboxylique pouvait être transformé en chlorure d'acyle par l'hexachloroacétone et la triphénylphosphine à basse température. Dans les mêmes conditions, Ghosez et coll. ⁽¹⁶¹⁾ ont décrit une autre méthode, utilisant le tétraméthyl- α -chloroénamine (passant par E4) (Schéma III-17).

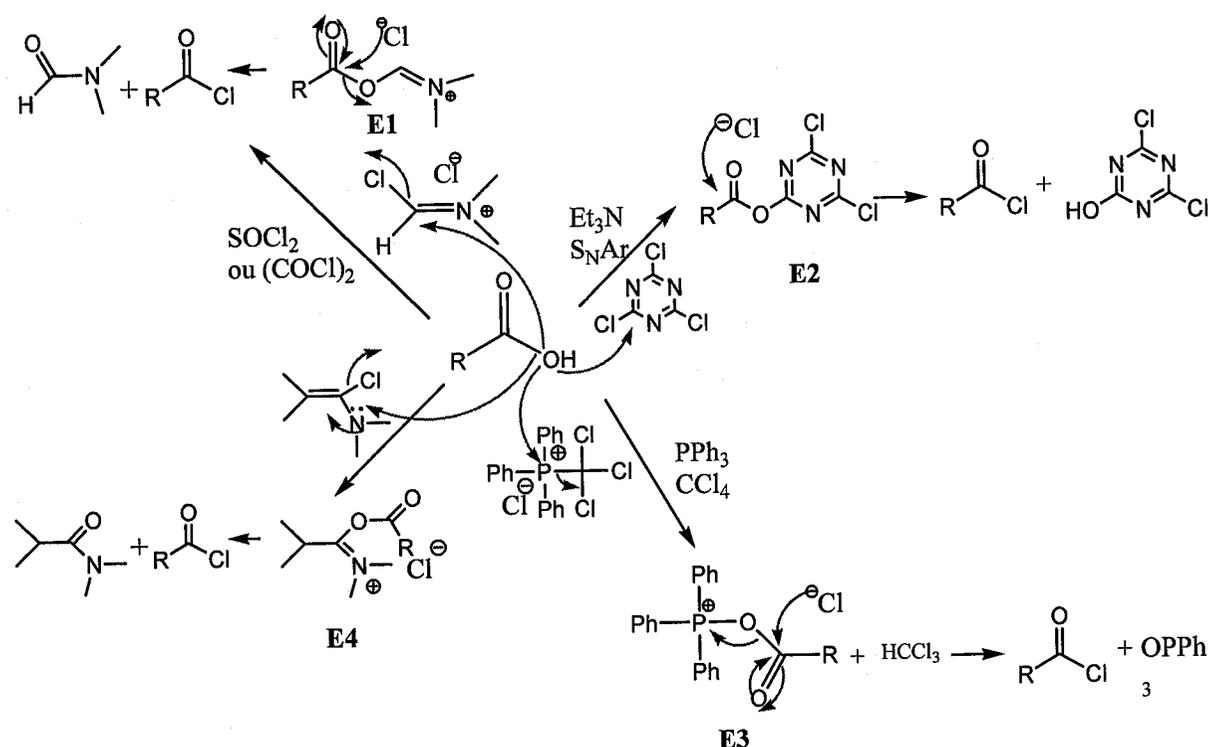


Schéma III-17

La formation de la liaison amide est ensuite réalisée par une réaction entre le chlorure d'acyle et l'amine désirée dans un milieu basique, pour capter le HCl formé. Des solvants anhydres avec des bases d'amines tertiaires (NEt₃, iPr₂NEt) ⁽¹⁶²⁾ non nucléophiles sont utilisés dans ce genre de réaction.

(159) Downie, I. M. ; Lee, J. B.; Matough, M. F. S. *Chem. Commun.* **1968**, 1350-1351.

(160) Jang, D. O.; Park, D. J.; Kim, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 5323-5326.

(161) Devos, A.; Remion, J.; Frisque-Hesbain, A. M. ; Colens, A. ; Ghosez, L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 1180-1181.

(162) Sanchez-Sancho, F. ; Mann, E. ; Herradon, B. *Synlett.* **2000**, 4, 509-513.

Le couplage peut aussi être réalisé dans l'eau (conditions de Schotten-Baumann), en présence de NaOH⁽¹⁶³⁾, et catalysé par la pyridine ou *N,N*-diméthylaminopyridine ⁽¹⁶⁴⁾ (Schéma III-18).

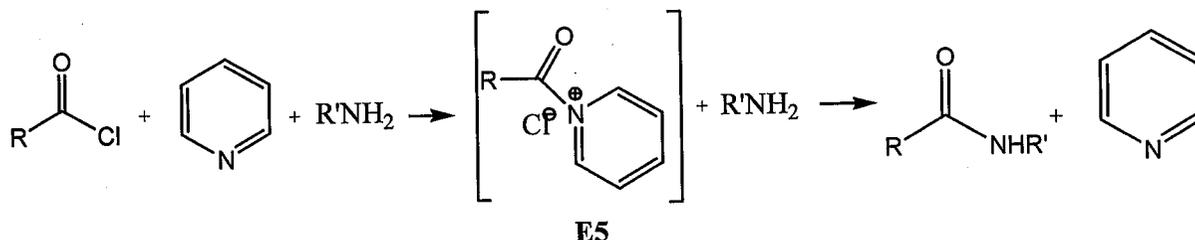


Schéma III-18

Néanmoins, les chlorures d'acyle sont moins utilisés dans les couplages peptidiques à cause des risques d'hydrolyse, des racémisation, des clivages des groupes protecteurs, ainsi que de la possibilité d'avoir des réactions secondaires.

▪ Autres halogénures d'acyle

Les dérivés fluorés sont également utilisés pour l'activation de la fonction acide ; ils réagissent de la même manière que les chlorures d'acyle. Par contre, ils sont très réactifs vis-à-vis des amines et constituent des intermédiaires très importants dans la chimie des peptides ⁽¹⁶⁵⁾. Pour leur part, les bromures d'acyle sont rarement utilisés dans ce type de réactions.

III.C.1.b. Acylazides

Les acylazides constituent l'un des premiers intermédiaires décrits dans la synthèse peptidique par Curtius ⁽¹⁶⁶⁾, mais à partir d'un ester méthylique. Ce processus comporte deux étapes : le groupe méthoxy est déplacé par l'hydrazine en premier lieu pour générer l'acylhydrazide E6, lequel subit une réaction de nitrosation fournissant l'acylazide.

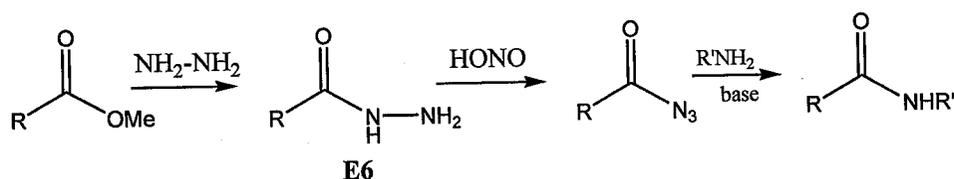
(163) Bouron, E. ; Goussard, G. ; Marchand, C. ; Bonin, M. ; Pannecoucke, X. ; Quirion, J. C. ; Husson, H. P. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7227-7230.

(164) Ragnarsson, U.; Grehn, L. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 494-501.

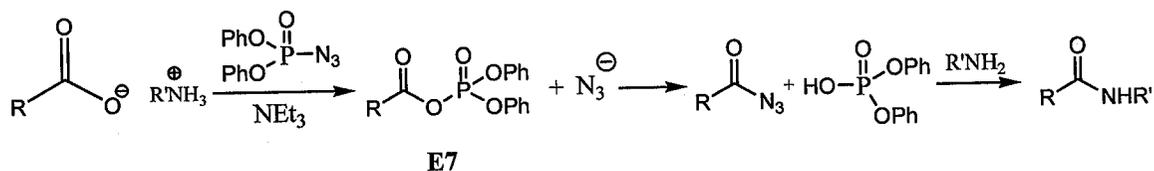
(165) Carpino, L. A. ; Sadar-Aalae, D. ; Chao, H. G.; DeSelms, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9651-9652.

(166) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 10827-10852. (Curtius, T. *Ber. Deutsch. Chem. Gesellschaft.* **1902**, *35*, 3226-3228)

Cependant, cet acylazide peut être obtenu en une seule étape en utilisant l'azide de diphenylphosphonique (DPPA)⁽¹⁶⁷⁾ à la place de l'hydrazine. L'inconvénient de l'utilisation des acylazides réside dans la possibilité de former l'isocyanate correspondant par un réarrangement de Curtius (**Schéma III-19**).



Approche de Curtius



Amidation en une seule étape

Schéma III-19

III.C.1.c. Acylimidazole

Le carbonyle du diimidazole (CDI)⁽¹⁶⁸⁾ est l'un des agents de couplage peptidique le plus utile et qui peut être employé à grande échelle : il permet la formation d'un amide en une seule étape. Dans cette réaction en particulier, l'imidazole est généré *in situ* sans l'addition d'une base (**Schéma III-20**).

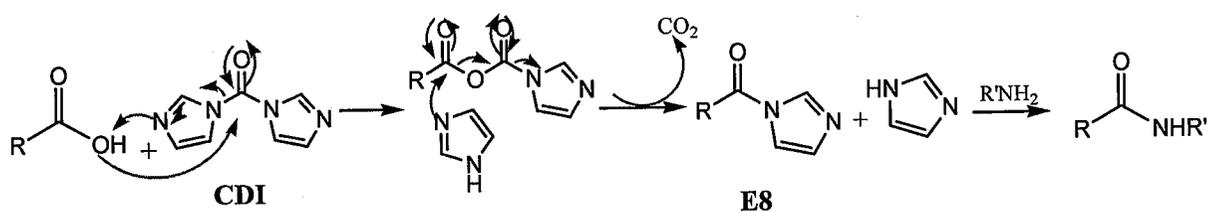


Schéma III-20

(167) Shioiri, T. ; Ninomiya, K. ; Yamada, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.

(168) Dale, D. J. ; Draper, J. ; Dunn, P. J. ; Hughes, M. L. ; Hussain, F. ; Levett, P. C. ; Ward, G. B. ; Wood, A. S. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 767-772.

III.C.1.d. Anhydrides

Utiliser des anhydrides comme intermédiaires réactionnels constitue la plus efficace et la plus propre des méthodes pour réaliser des couplages peptidiques. Il existe deux types d'agents employés dans cette procédure : les anhydrides symétriques et les anhydrides mixtes, qui sont très réactifs devant une grande famille de nucléophiles, illustrés par les alcools, les thiols, et les amines entre autres.

▪ Anhydrides symétriques

Les anhydrides symétriques sont formés dans des conditions douces par chauffage de deux molécules d'acides en présence d'un équivalent de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) ⁽¹⁶⁹⁾, selon le mécanisme décrit dans le schéma III-21. Ensuite, l'anhydride **E10** formé est engagé dans une réaction avec une amine au choix sans l'addition d'une base. En effet, lors de cette transformation, il y a génération d'un anion carboxylate qui peut jouer le rôle d'une base (**Schéma III-21**). Cette méthode est adaptée à la formation des peptides, mais son inconvénient majeur est le couplage unique de la moitié de l'acide, ce qui ne permet pas une économie d'atomes, et encore moins celle de réactifs.

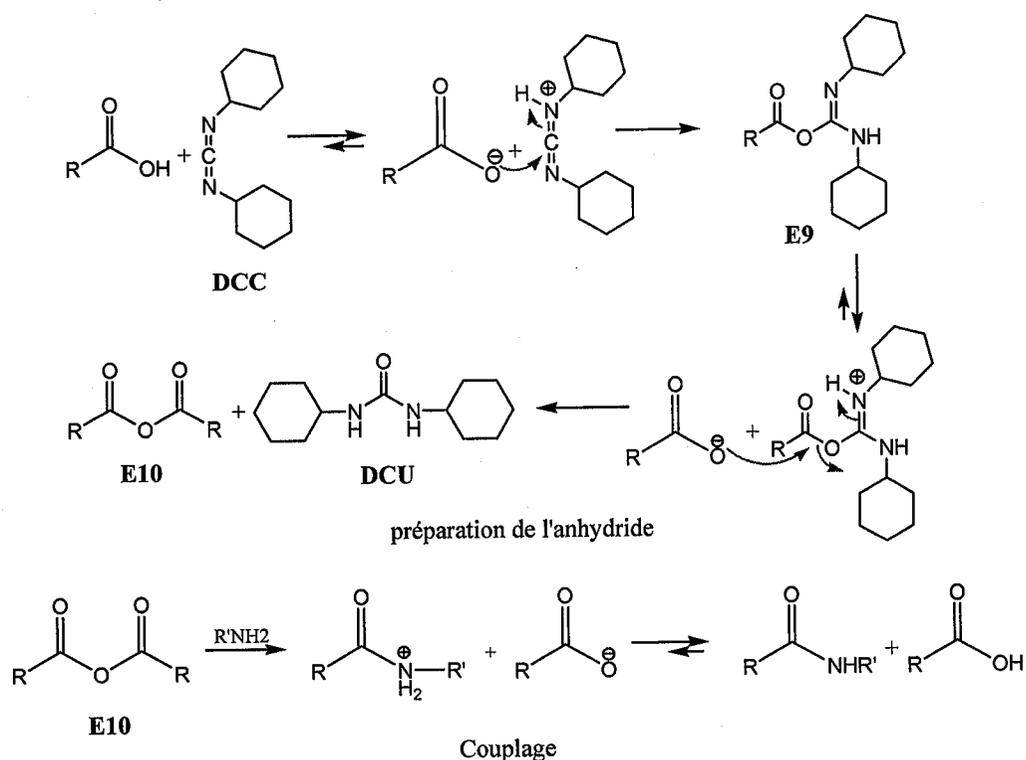


Schéma III-21

(169) Mikolajczyk, M. ; Kielbasinski, P. *Tetrahedron*. 1981, 37, 233-284.

▪ Anhydrides mixtes

Dans cette série, il existe deux types d'anhydrides mixtes : les anhydrides carboxyliques et carboniques. Ceux du premier cas sont moins utilisés à cause du problème de régiosélectivité dans l'étape de l'addition nucléophile en position **a** ou **b** de l'anhydride **E11**, comme illustré dans le seul exemple que nous avons trouvé, utilisant l'anhydride pivalique mixte ⁽¹⁷⁰⁾. Dans ce cas en effet, l'aminolyse est favorisée sur la position (a) à cause de l'encombrement stérique du groupe tertio-butyle (**Schéma III-22**).

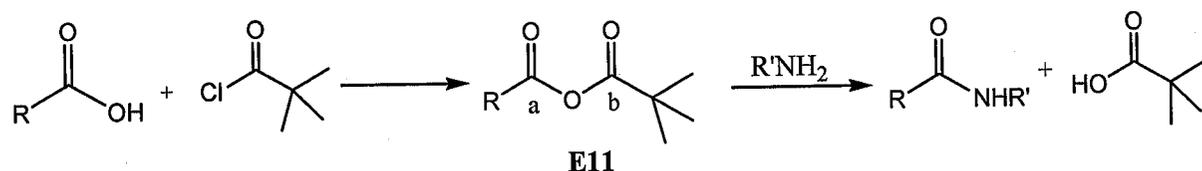


Schéma III-22

Une excellente sélectivité est obtenue avec les anhydrides carboniques mixtes **E12** : en effet, le carbonate (position **a**) est un centre électrophile plus réactif que le site carboxylique (position **b**). Par exemple, l'anhydride éthoxycarbonyle peut être généré en utilisant le chloroformiate d'éthyle ⁽¹⁷¹⁾ (**Schéma III-23**).

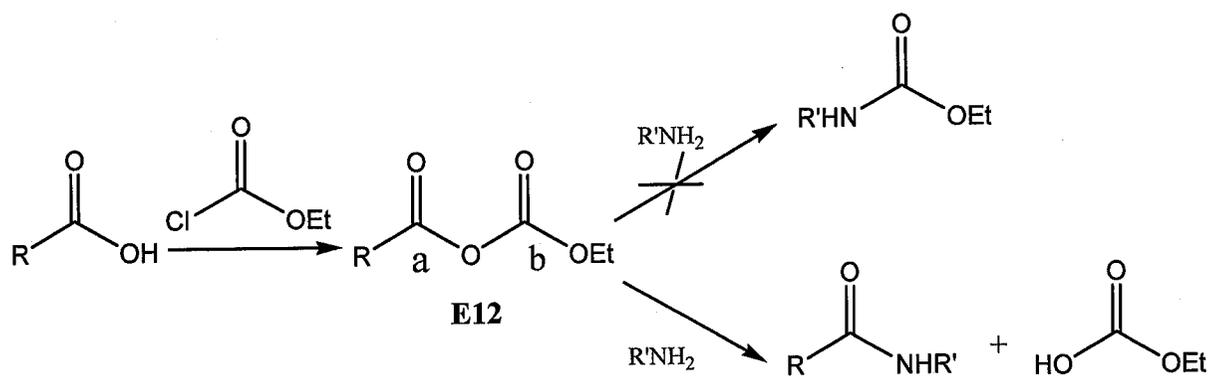


Schéma III-23

(170) Wittenberger, S. J. ; McLaughlin, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7175-7178.

(171) Chu, W.; Tu, Z.; McElveen, E.; Xu, J.; Taylor, M.; Luedtke, R. R.; Mach, R. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 77-78.

III.C.1.e. Autres méthodes de couplage

Les esters d'alkyle (méthyl, éthyl, benzyl esters) se comportent beaucoup plus comme des groupements protecteurs en synthèse peptidique que comme des groupements activants. Malgré cela, des exemples ont été décrits sur des esters d'alkyle remplacés par des amines sous des conditions dures telles que l'utilisation des températures élevées, ou l'addition d'un acide de Lewis (TiCl_4)⁽¹⁷²⁾. Généralement, ces réactions se déroulent selon un processus intramoléculaire. Cependant, les esters activés avec les carbodiimides sous forme d'une *O*-acylisourée sont très utilisés dans les couplages peptidiques⁽¹⁷³⁾.

Aussi, les couplages peptidiques peuvent-ils être réalisés par d'autres méthodes originales comme l'utilisation d'enzymes telles que les protéases et les amidases, avec un contrôle thermodynamique et cinétique⁽¹⁷⁴⁾.

En conclusion, les anhydrides mixtes représentent la méthode la plus efficace pour effectuer un couplage peptidique ; malgré cela, l'utilisation des carbodiimides comme agents de couplages prédomine, à cause de la facilité d'éliminer les urées formées⁽¹⁷³⁾ (**Figure III-9**).

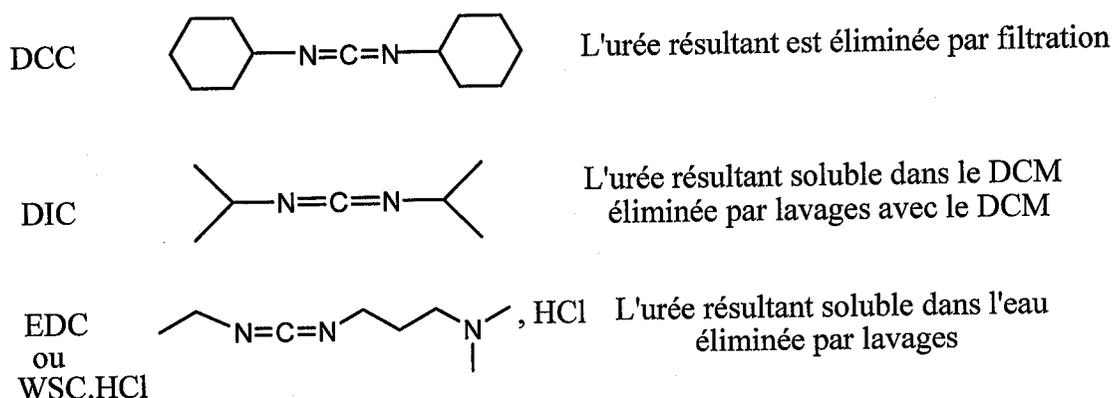


Figure III-9

(172) Chakrabarti, J. K. ; Hotten, T. M.; Pullar, I. A.; Tye, N. C. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 2573-2582.

(173) Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067-1068.

(174) Oyama, K. *Chirality in Industry*; Collins, A. N.; Sheldrake, G. N.; Crosby, J.; Eds.; Wiley : Chichester, **1992**, 237-247.

III.C.2. Couplage effectué : résultats obtenus

Notre objectif dans cette partie est d'allonger la chaîne peptidique des aziridinylpeptides de type **D1**, par un couplage peptidique. Afin de réaliser cette synthèse, nous avons tracé deux chemins réactionnels : le premier consiste à engager directement l'aziridine (**D1**) dans une réaction de couplage avec un aminoacide après déprotection de la fonction amino. Par contre, dans le deuxième chemin, la synthèse des aziridinylpeptides est reprise du point de départ, en commençant tout d'abord par un couplage peptidique entre deux aminoacides, suivie par la formation du squelette aziridine sur le C-terminal du dipeptide obtenu (**Schéma III-24**).

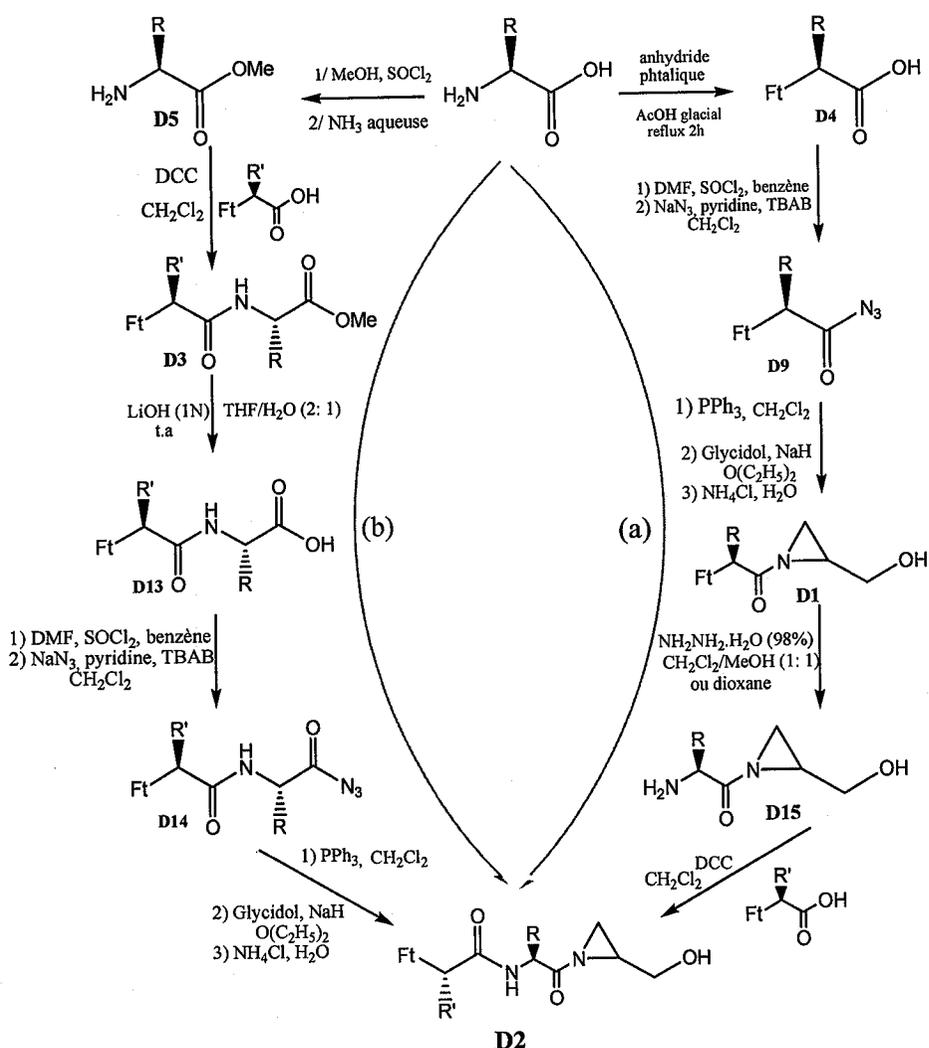


Schéma III-24

Nous avons adopté la même méthode décrite précédemment, pour former le cycle de l'aziridine ⁽⁸⁰⁾, en nous basant toujours sur la procédure de Palomo ⁽¹⁰¹⁾ et la réaction de l'imino-phosphorane avec le glycidol.

Cependant, le couplage peptidique est effectué selon la méthode de Staab et coll. ⁽¹⁷⁵⁾ qui utilise un carbodiimide comme agent d'activation de la fonction acide, sous forme d'une *O*-acylisourée. Ainsi, l'avantage de cette méthode est de préserver la stéréosélectivité, dans la mesure où les centres asymétriques des aminoacides utilisés ne sont pas affectés par la réaction. La réaction consiste à faire réagir le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sur la fonction acide de l'acide amino pour engendrer une *O*-acylisourée, un bon groupe partant vis-à-vis d'une substitution nucléophile par une fonction amino. La dicyclohexylurée (DCU), sous produit formé avec le peptide **D3**, est un solide insoluble et facilement éliminable par simple filtration (**Schéma III-25**).

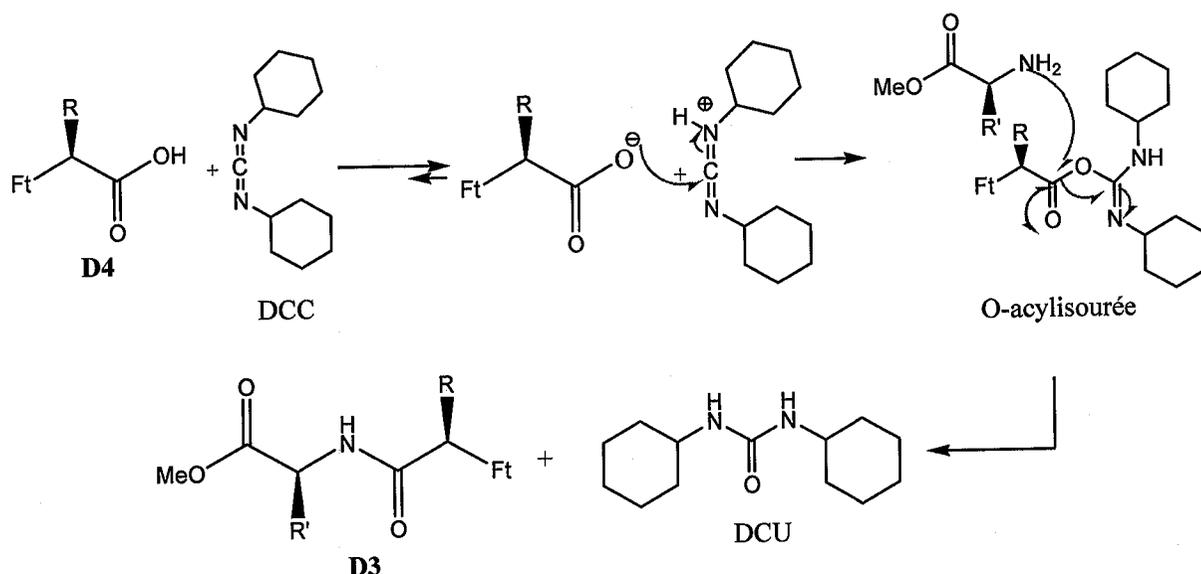


Schéma III-25

Pour réaliser cette synthèse, nous avons suivi les deux chemins (a et b) séparément, en utilisant la L-phénylalanine comme aminoacide de départ ($R = R' = \text{CH}_2\text{Ph}$).

(175) Staab, H. A. ; Lueking, M. ; Duerr, F. H. *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 1275-1283.

III. C.2.a. Chemin (a)

Ce chemin consiste tout d'abord à préparer l'aziridine selon la méthode décrite plus haut à partir de la *N*-phtalimido-*L*-phénylalanine **88S** et le glycidol racémique. Ensuite, la *N*-phtalimidophénylalanylazidridine **109** ((*S, S*) et (*S, R*)) obtenue subit un couplage peptidique en deux étapes.

Etape 1 : déprotection de la fonction amine

En général, la déprotection du groupe phtalimido s'effectue avec l'hydrazine (ou l'hydrate d'hydrazine) dans un solvant ou un mélange de solvants à température ambiante (176,177). Au cours de cette réaction, il se produit une transamidation qui engendre un solide, la tétrahydrophthalazine-1,4-dione qui est éliminée par simple filtration (**Schéma III-26**).

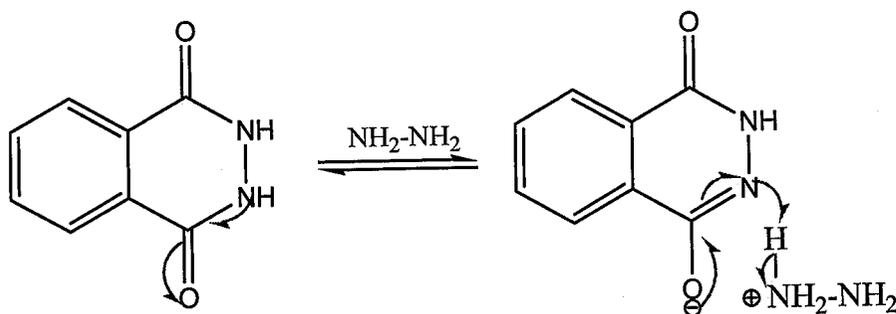


Schéma III-26

Dans ce processus, nous avons fait réagir la *N*-phtalimidophénylalanylazidridine **109** avec deux équivalents d'hydrate d'hydrazine à 98% dans un mélange de dichlorométhane/méthanol (1 : 1) à température ambiante pendant 18 heures. Ce procédé est ensuite repris avec les mêmes réactifs dans le dioxane pendant 4 heures (**Tableau III-6** et **Schéma III-27**).

(176) Applegate, H. ; Cimarwsti, C. M.; Dolfini, J. E.; Funke, P. T.; Roster, W. H. ; Puar, M. S. SlusarIye, W. A. ; Young, M. G. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 8.

(177) Nisato, D. ; Frigerio, M. *J. Heterocycl. Chem.* **1985**, *22*, 961.

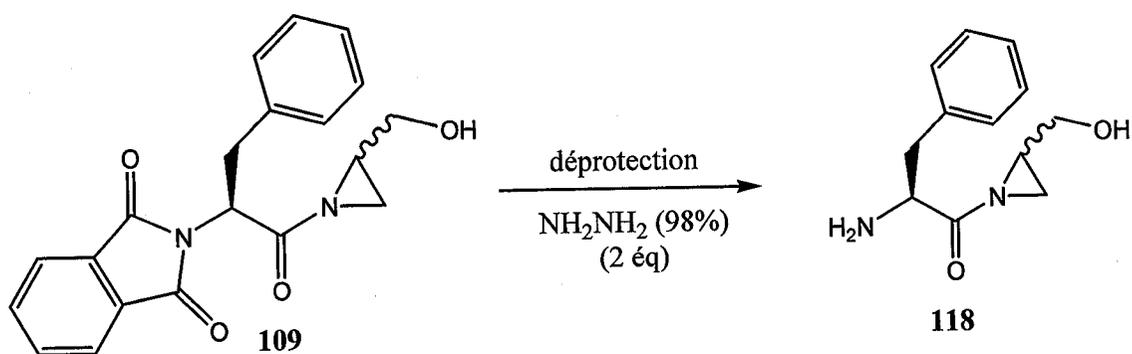


Schéma III-27

Les résultats obtenus avec les deux procédés sont répertoriés dans le tableau suivant :

Entrée	conditions	résultats
1	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1 : 1), t.a, 18 heures	118 : Rendement de 75%, Tf = 45°C
2	Dioxane, t.a, 4 heures	118 : Rendement de 95%, Tf = 45°C

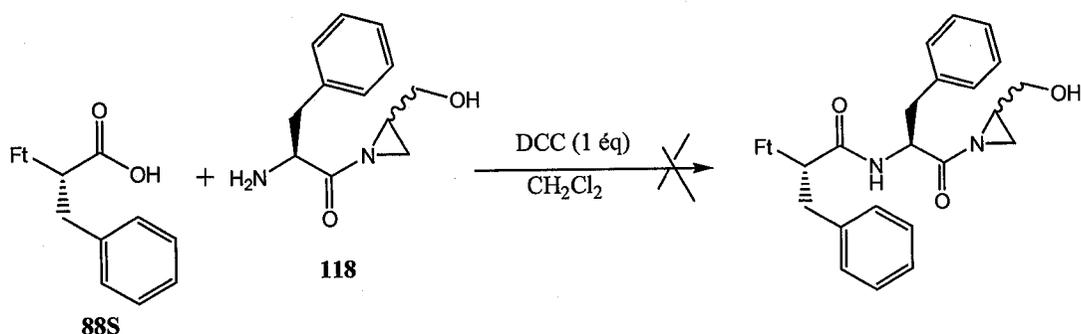
Tableau III-6

Etape 2 : couplage

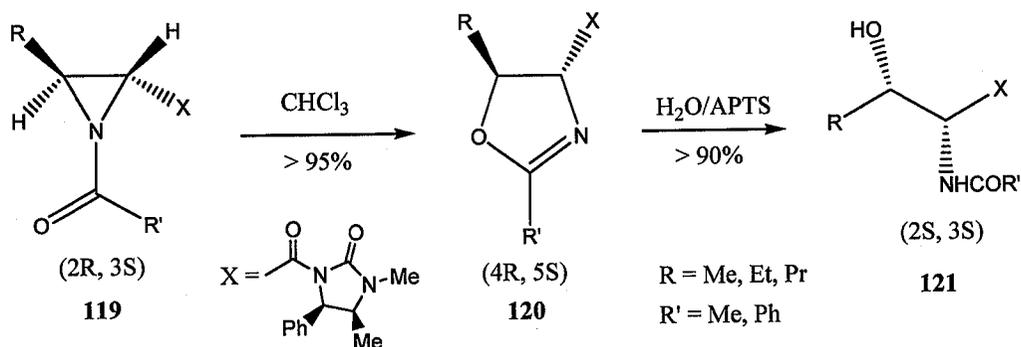
La réaction de couplage peptidique⁽¹⁷⁵⁾ consiste à mettre en contact la *N*-hydroxyméthylphénylalanylaziridine **118** avec un aminoacide ; dans ce cas, l'acide engagé dans la réaction est la *N*-phthalimido-*L*-phénylalanine **88S** dans le dichlorométhane.

Une solution de DCC dans le dichlorométhane est additionnée goutte à goutte au mélange précédent à 0°C pendant 1h ; ensuite, la réaction se poursuit à température ambiante durant 24 h.

L'avantage de l'utilisation du DCC dans cette réaction est la formation de la dicyclohexylurée (DCU), solide insoluble qui confirme la réalisation du couplage peptidique (**Schéma III-25**). Cependant, nous n'avons pas observé la formation de ce solide et par conséquent, nous avons dû admettre que la réaction n'a pas été effective (**Schéma III-28**). On peut avancer l'idée suivante : l'activation de la fonction acide carboxylique a bien eu lieu, mais le couplage ne s'est pas réalisé, sans doute à cause de la forte gêne stérique autour de la fonction amino libre.



En nous référant à la littérature, nous avons noté que les *N*-acylaziridines se réarrangent facilement en oxazolines sous l'effet de la température, des acides ou des nucléophiles, ce qui produit d'autres composés à cause de l'ouverture du cycle à trois chaînons. C'est notamment le cas qui est illustré sur le schéma III-29. L'aziridine **119** se réarrange thermiquement pour donner l'oxazoline **120** avec à la fois, une très grande régio et stéréosélectivité. Ensuite, une hydrolyse acide ultérieure conduit à un β -hydroxy α -aminoacide **121** ^(178, 179) (**Schéma III-29**).



Dans cette partie de notre travail, le couplage n'avait pas eu lieu à cause de la présence du carboxylate qui a joué le rôle d'un nucléophile. Cela donne la possibilité de formation de l'oxazoline ou l'ouverture directe du cycle aziridine (**Schéma III-30**). Suite à toutes les perspectives qu'ouvre ce chemin et aux nombres de produits qu'on peut avoir, cette procédure a été abandonnée et remplacée par le chemin (b) (**Schéma III-24**).

(178) Cardillo, G. ; Gentiluccu, L. ; Tolomelli, A. ; Tomasini, C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6953.

(179) Cardillo, G. ; Gentiluccu, L. ; Tolomelli, A. *Tetrahedron.* **1999**, *55*, 15151.

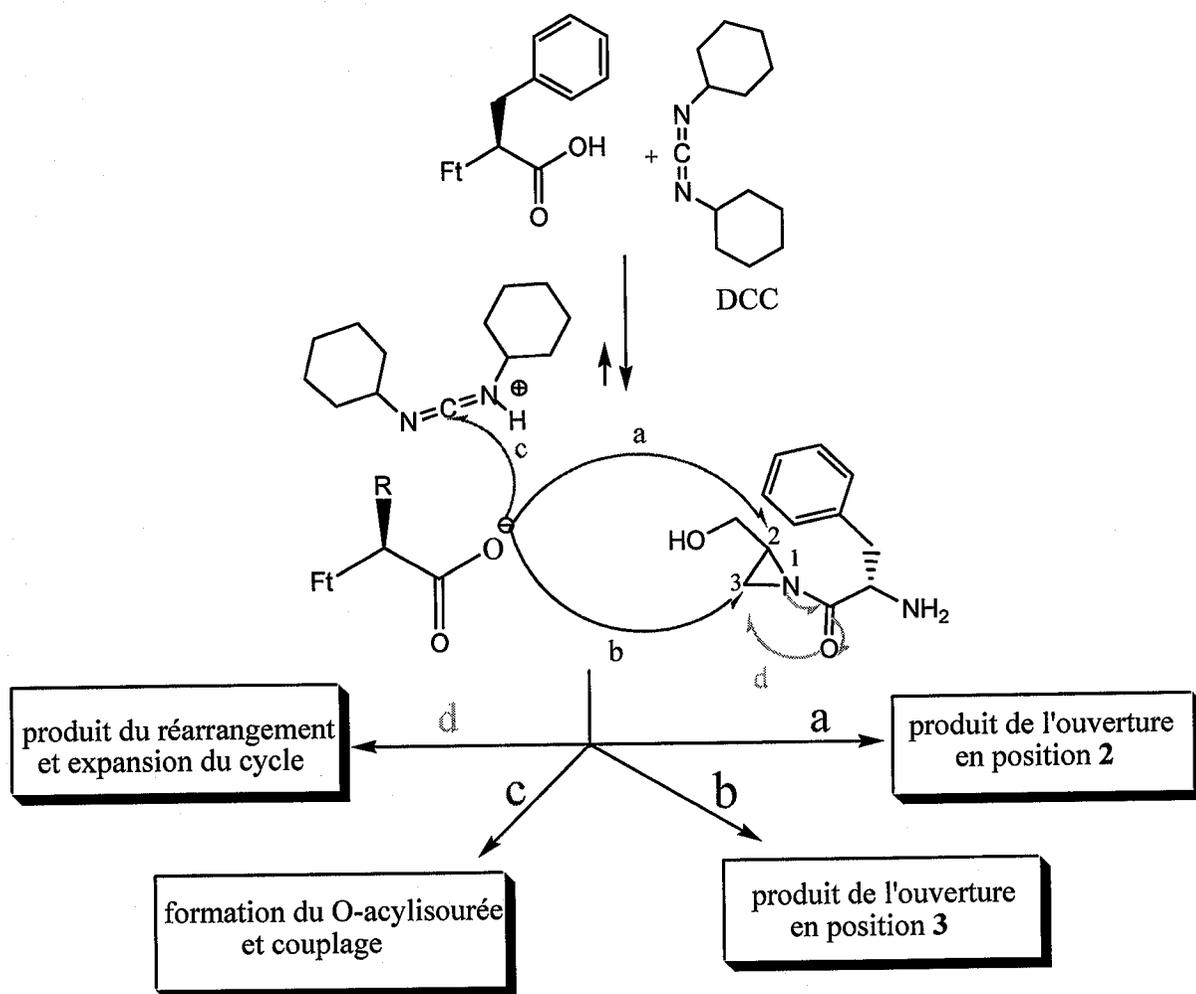


Schéma III-30

III. C. 2. b. Chemin (b)

Dans cette approche, la synthèse de l'aziridinylpeptide **D2** est reprise du point de départ à partir de la L-phénylalanine, par conséquent le nombre des étapes a augmenté par rapport à la méthode décrite précédemment. Dans ce cas, nous avons commencé la synthèse par un couplage peptidique entre les deux aminoacides protégés ; ensuite, nous avons effectué une déprotection de la fonction acide suivie par la formation du cycle aziridine. Toutes les réactions envisagées ont été conduites à température ambiante et sous des conditions douces, afin d'éviter l'hydrolyse de la liaison peptidique.

Le mélange réactionnel est ensuite agité à température ambiante pendant 24 heures. La formation du solide blanc qui correspond à la dicyclohexylurée (DCU) est observée tout juste après l'ajout du DCC ; le solide formé est éliminé à la fin de la réaction par filtration. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne avec un mélange de CH₂Cl₂/MeOH (98 : 2) (**Schéma III-32**).

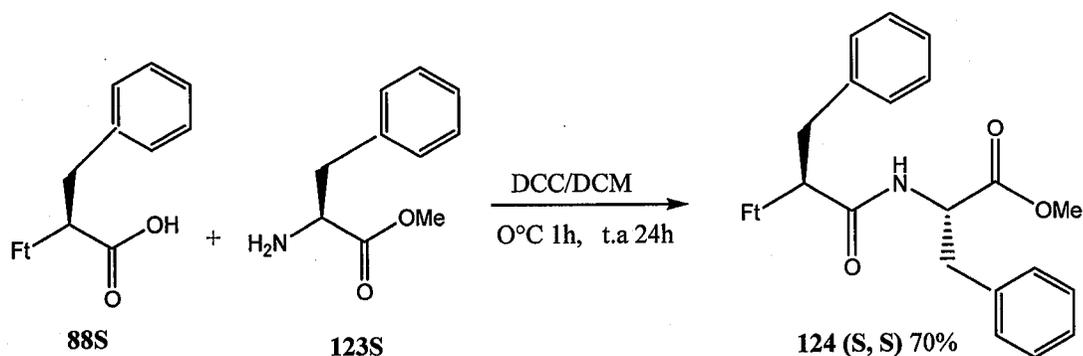


Schéma III-32

Etape 3 : hydrolyse de l'ester méthylique

L'étape de la saponification des esters est délicate compte tenu de la possibilité d'épimérisation en milieu basique ; par conséquent, une hydrolyse en milieu acide semble la mieux indiquée. Il faut signaler que des méthodes non racémisantes de saponification d' α -aminoesters sont décrites dans la littérature. Ces dernières utilisent généralement la lithine dans un mélange THF/H₂O à basse température ou à température ambiante.

Les conditions décrites par Jackson⁽¹⁸²⁾ sont donc appliquées pour saponifier l'ester de méthyle du peptide **124(S, S)** obtenu dans l'étape précédente. Cette hydrolyse est effectuée avec 1,2 équivalents d'hydroxyde de lithium (lithine, 1N) dans un mélange de solvants THF/H₂O (2 : 1) et à température ambiante pendant 4 h (**Schéma III-33**). Le produit est obtenu avec un rendement de 86% après purification sur colonne chromatographique de silice avec le mélange de DCM/MeOH (99 : 1).

(182) Deboves, H. J. C.; Grabowska, U.; Rizzo, A.; Jackson, R. F. W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **2000**, 4284-4292.

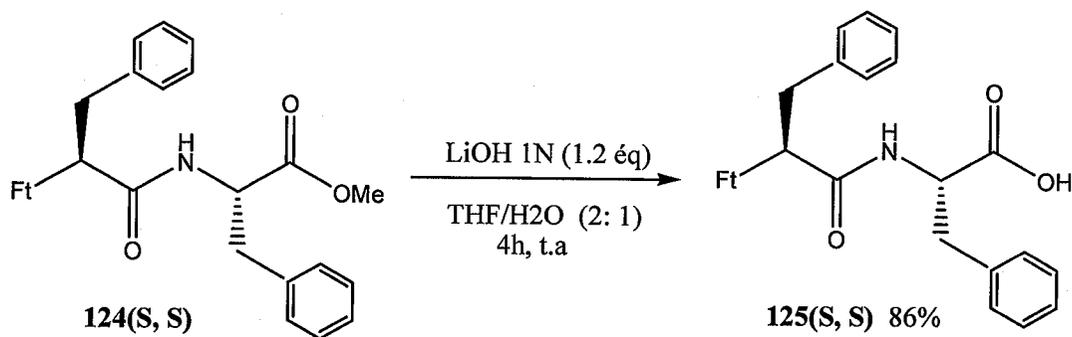


Schéma III-33

Etape 4 : préparation de l'acylazide

Pour avoir un acylazide sur notre peptide, nous avons suivi le procédé de Palomo⁽¹⁰¹⁾, qui représente toujours la meilleure méthode pour remplacer l'hydroxyle d'un carboxyle par un azide dans des conditions douces, tout en défavorisant l'hydrolyse de la liaison peptidique (Schéma III-34). Le rendement de cette réaction est de 71% et l'acylazide du peptide **126(S,S)** obtenu est engagé dans l'étape suivante sans purification.

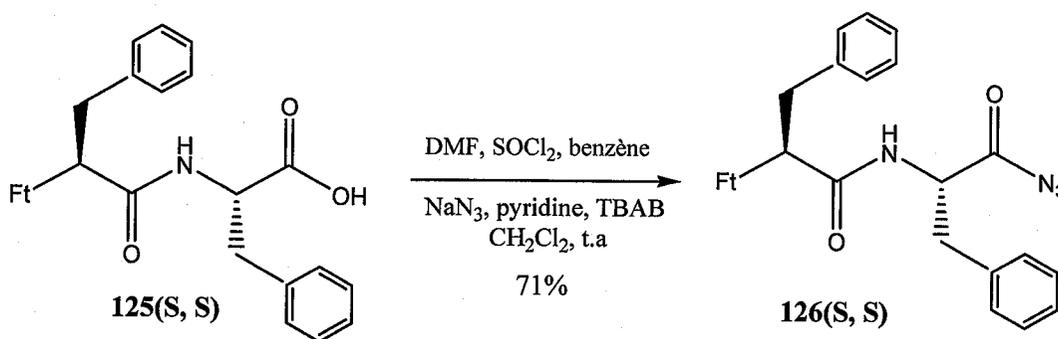


Schéma III-34

Etape 5 : synthèse de la N-acylaziridine

La N-acylaziridine est synthétisée par la méthode décrite dans ce chapitre en utilisant la triphénylphosphine pour former l'imino-phosphorane, qui est ensuite engagé *in situ* dans une autre réaction avec le glycidol racémique⁽⁸⁰⁾. La purification de l'aziridinylpeptide **127** (comportant les deux diastéréoisomères (S, S, S) et (S, S, R)) obtenu est réalisée par chromatographie sur colonne avec l'éluant : éther de pétrole (40-60°C)/dichlorométhane (1 : 4) pour aboutir à un rendement final de 65% (Schéma III-35).

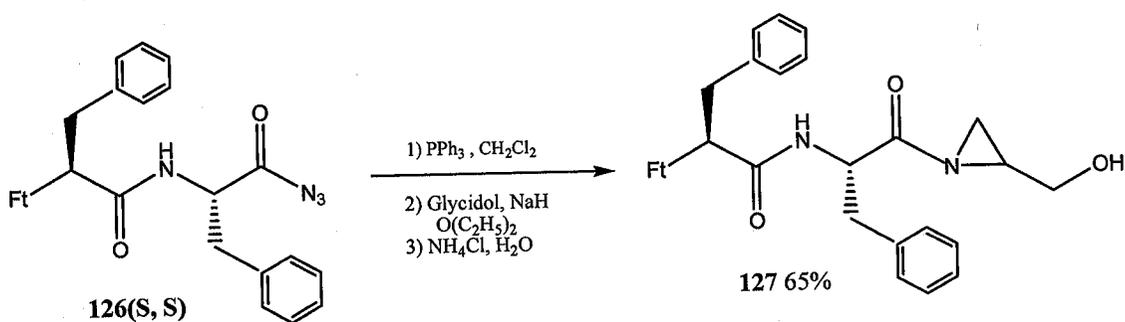


Schéma III-35

Les analyses spectrales confirment l'obtention de l'aziridinylpeptide type **D2**, ce qui nous a permis de valider le chemin (b) pour la synthèse des aziridines avec une chaîne peptidique plus longue.

De plus, ces aziridinylpeptides ont été préparés aussi en série énantiopure avec le glycidol R (Schéma III-36), parce que l'étape d'aziridination est une réaction stéréosélective comme nous l'avons montré dans le mécanisme proposé sur le schéma III-8.

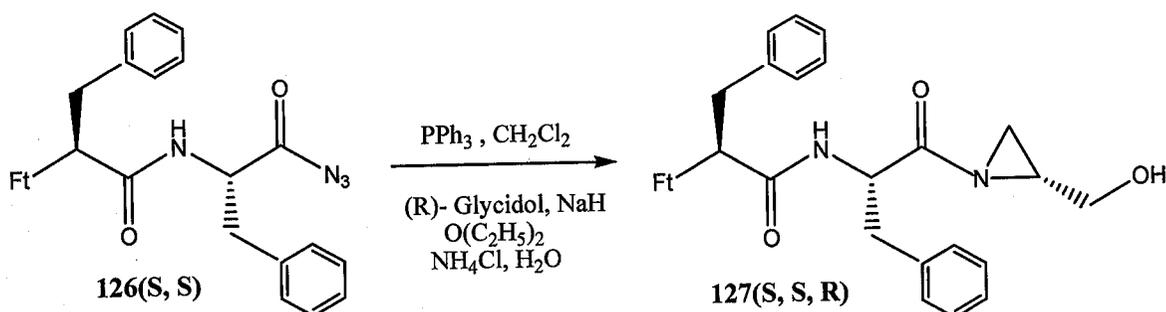


Schéma III-36

Par ailleurs, nous pouvons signaler que la réaction du phénylalanylphénylalanylazide **126(S, S)** avec le glycidol R a conduit à un résultat analogue, en ceci qu'un seul composé majoritaire a été obtenu (temps de rétention HPLC 11,28 min), avec une diastéréosélectivité totale, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -24,8$ (c : 0,5, CHCl_3) (Figure III-10). Ceci implique une induction asymétrique du motif phénylalanylphénylalanyl sur la stéréosélectivité de la réaction avec ses deux groupes benzyle.

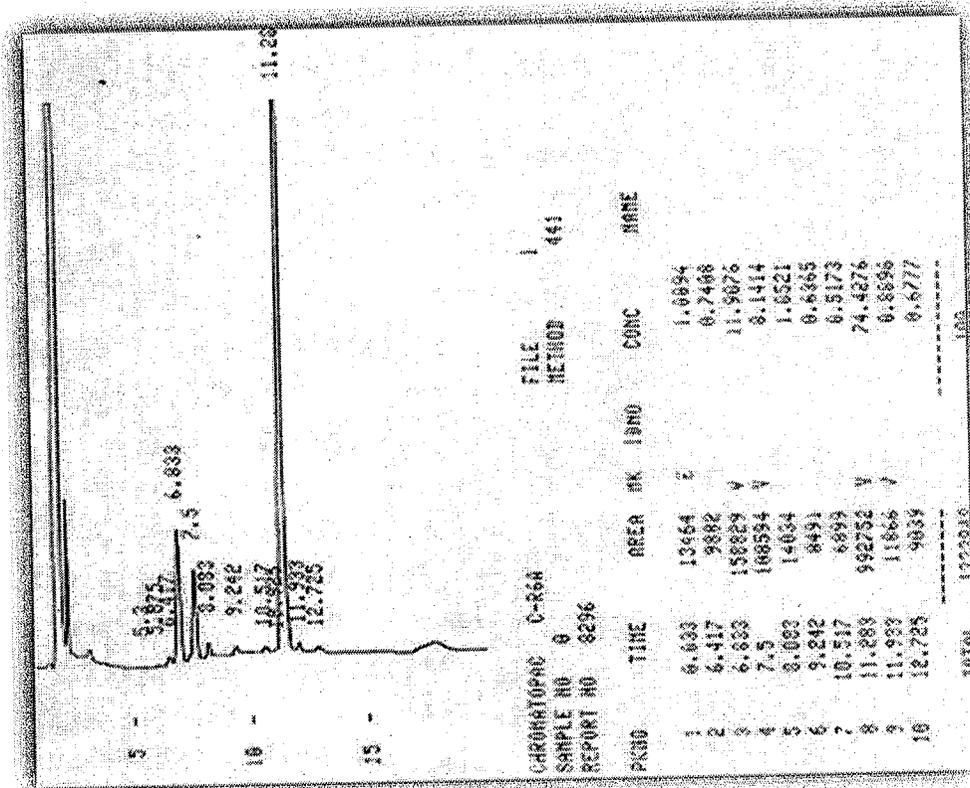


Figure III-10 : Dipeptide *L-Phe.L-Phe.aziridine 127(S, S, R)*

III. D. Conclusion partielle

D'après les résultats obtenus, l'aziridine représente un cycle très réactif même sous des conditions douces ; par conséquent, c'est une véritable gageure que de réussir à garder ce motif intact au cours de plusieurs transformations. Par contre, une liaison peptidique, malgré sa fragilité, peut résister à certaines conditions basiques et à des températures basses ou ambiantes. En jouant sur ces données, nous avons pu réaliser notre objectif selon le chemin (b).

Cependant, dans le chemin (a) nous avons provoqué l'ouverture de l'aziridine, qui peut ouvrir d'autres perspectives dans la chimie des peptidomimétiques, juste par la modification des conditions opératoires.

Nous pouvons dire que l'exploration de la réaction d'aziridination nous a beaucoup servi dans ce travail. Non seulement elle constitue une approche efficace et rapide dans l'obtention de cet hétérocycle, mais elle est aussi stéréosélective dans la mesure où elle préserve les centres asymétriques apportés par des réactifs chiraux de départ.

Comme nous l'avons signalé dans l'introduction de ce chapitre, ce travail a été mis au point suite aux résultats positifs des tests biologiques des aziridinylpeptides type **D1** en série racémique. L'allongement de la chaîne peptidique avec des acides α -aminés peut renforcer, ou tout au moins moduler cette activité biologique. Quelques aziridines de type D1 ont subi une déprotection de la fonction amino, mais les résultats des tests biologiques avec le groupe phtalimido ont été meilleurs. C'est pour cela que nous avons gardé ce groupe protecteur sur les nouveaux produits synthétisés.

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV

SYNTHÈSE D'UN PEPTIDOMIMÉTIQUE CYCLIQUE PRÉCURSEUR D'UN MIMÉ RGD

IV. A. Introduction

Dans le but de concevoir des composés mimant la structure du coude inverse de peptides et protéines, de nombreuses synthèses de peptidomimétiques ⁽¹⁸³⁾ ont été réalisées. Plusieurs composés non peptidiques de conformation rigide ont ainsi été imaginés pour mimer les différents types de coudes inverses. Leur incorporation dans des peptides biologiquement actifs peut conduire à l'élaboration de composés peptidomimétiques avec une activité améliorée ⁽¹⁸⁴⁾ à cause de la conformation bloquée qui facilite l'approche et les interactions protéine-récepteur et qui donne ainsi une meilleure résistance aux biodégradations.

Les hétérobicycloalcanes constituent une classe intéressante pour la réalisation de ce type de composés puisqu'ils présentent une structure rigide permettant de restreindre les conformations des chaînes latérales. Notamment, de nombreux amino-acides 1-aza-2-oxobicyclo[X.Y.0]alcanes (**Figure IV-1**) ont été synthétisés pouvant potentiellement mimer les coudes β ou les coudes γ . ⁽¹⁸⁵⁻¹⁸⁷⁾ Il s'agit principalement de composés 1-aza-2-oxobicyclo[3.3.0]alcanes (type pyrrolizidinone **128**), 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcanes (type indolizidinone **129** et **130**) ou type 1-aza-2-oxobicyclo[5.3.0]alcanes **131**. Les composés bicycliques de type **130** sont cependant moins courants dans la littérature. ⁽¹⁸⁸⁾

Pour cela, notre travail s'est intéressé à la synthèse des 1-aza-2-oxobicycloalcanes de type **130**.

-
- (183) Belivisi, L.; Bernedi, A.; Manzoni, L.; Potenza, D.; Scolastico, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2563-2569.
(184) De la Figuera, N.; Martín-Martínez, M.; Herranz, R.; García-Lopez, T.; Lattore, M.; Cenarruzabeita, E.; Del Río, J.; Gonzales-Muniz, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 43-48.
(185) Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W.D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854.
(186) Halab, L.; Gosselin, F.; Lubell, W.D. *Biopolym.* **2000**, *55*, 101-122.
(187) Angiolini, M.; Araneo, S.; Belvisi, L.; Cesarotti, E.; Checchia, A.; Crippa, L.; Manzoni, L.; Scolastico C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2571-2581.
(188) Gosselin, F.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2163-2171.

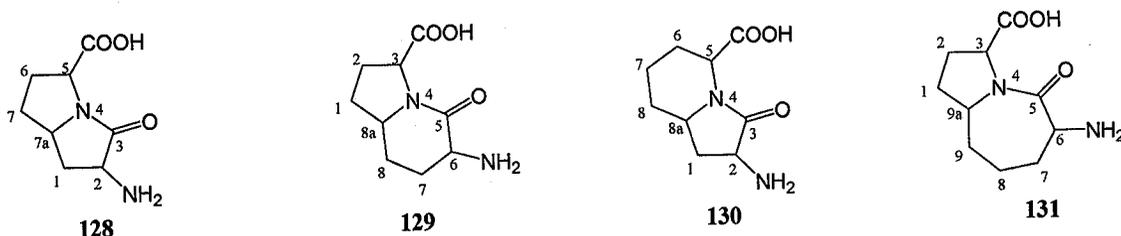


Figure IV-1 : Amino-acides 1-aza-2-oxobicyclo[X.Y.0]alcane

La synthèse que nous avons envisagée est basée sur la formation du cycle à 6 chaînons par cyclisation intramoléculaire d'une oléfine sur un intermédiaire *N*-acyliminium **F2** (Schéma IV-1), comprenant un premier cycle à 5 chaînons. Celui-ci pourrait être généré à partir d'un γ -lactame α,β -insaturé **F3**. Pour réaliser cette synthèse, nous avons choisi de partir de l'ester de l'allylglycine **F4**.

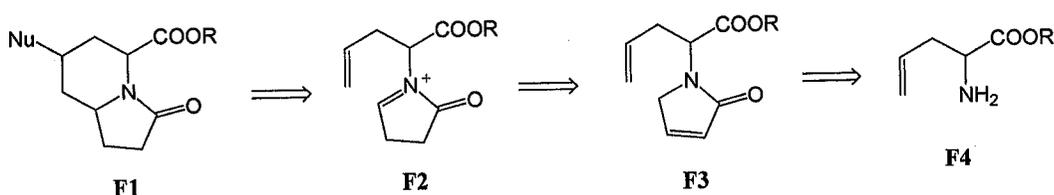


Schéma IV-1 : Rétrosynthèse envisagée

Pendant, certaines réactions de cyclisation sur un ion *N*-acyliminium peuvent s'accompagner d'un réarrangement d'Aza-Cope (Schéma IV-2). Ceci soulève le problème d'une éventuelle épimérisation du centre en α de l'azote. Dans notre cas, c'est le carbone au pied du groupement ester du composé **F2** qui peut subir une racémisation lors de la cyclisation.



Schéma IV-2 : Réarrangement d'Aza-Cope

La formation du squelette 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane de type **130** repose donc sur une étape clé de cyclisation intramoléculaire par attaque nucléophile d'une oléfine sur un ion *N*-acyliminium.

L'enjeu de cette cyclisation réside, d'une part, dans le contrôle de la stéréochimie des divers centres asymétriques formés, et d'autre part, dans la conservation de la stéréochimie de départ du carbone en α de l'ester.

IV. B. Synthèse de l'allylglycine précurseur de synthèse

Les acides α -aminés jouent un rôle central en biologie et en chimie, car ce sont les principaux constituants des peptides et protéines; ils sont également d'intéressants intermédiaires chiraux utilisés en synthèse asymétrique. Aussi, de nombreuses méthodologies de synthèse se sont développées afin d'obtenir divers acides aminés naturels et non naturels (141).



Figure IV-2 : Acides α -aminés

Les méthodes d'obtention d'acides aminés optiquement actifs consistent à effectuer des synthèses asymétriques (189, 190) (utilisation des auxiliaires chiraux, des catalyseurs métalliques ou de la catalyse par transfert de phase), ou des résolutions de mélanges racémiques (191, 192) (méthodes enzymatiques...)

Pour des raisons de coût nous avons commencé ce travail en préparant l'allylglycine afin d'élaborer notre péptidomémitique cyclique. De plus, une méthode décrite dans la littérature était à notre portée pour obtenir l'allylglycine. Aussi, comme dans tout notre travail, l'allylglycine a d'abord été obtenue en série racémique. Ensuite, elle a été synthétisée sous forme énantiopure afin de vérifier la non racémisation lors de l'étape de cyclisation de l'ion acyliminium et de valider ultérieurement la synthèse en série énantiopure.

(189) Guillena, G.; Najera, C. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7310-7322.

(190) Myers, A. G.; Gleason, J. L.; Yoon, T.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 656-673.

(191) Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.

(192) Wolf, L. B.; Sonke, T.; Tjen, K. C. M. F.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B.; Schoemaker, H. E.; Rutjes, F. P. J. *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 662-674.

IV.B.1. Synthèse racémique de l'allylglycine

Nous avons repris une méthode décrite dans la littérature⁽¹⁹³⁾, partant de l'acétamidomalonate d'éthyle **132** et qui permettait d'obtenir la *N*-acétyl-*DL*-allylglycine **135** avec un rendement global de 27%.

L'allylation en milieu basique s'effectue avec un très bon rendement mais l'étape de saponification du composé **133** en composé **134** est longue. De plus, elle conduit à un mélange avec, en plus du produit souhaité, les composés **135** et **136** (Schéma IV-3). Les acides **134** et **135** sont difficiles à extraire de la phase aqueuse et nécessitent une extraction en continu pendant plusieurs jours avec un mélange DCM/MeOH : 80/20. La décarboxylation du diacide **134** est ensuite effectuée à sec pour obtenir le composé **135**.

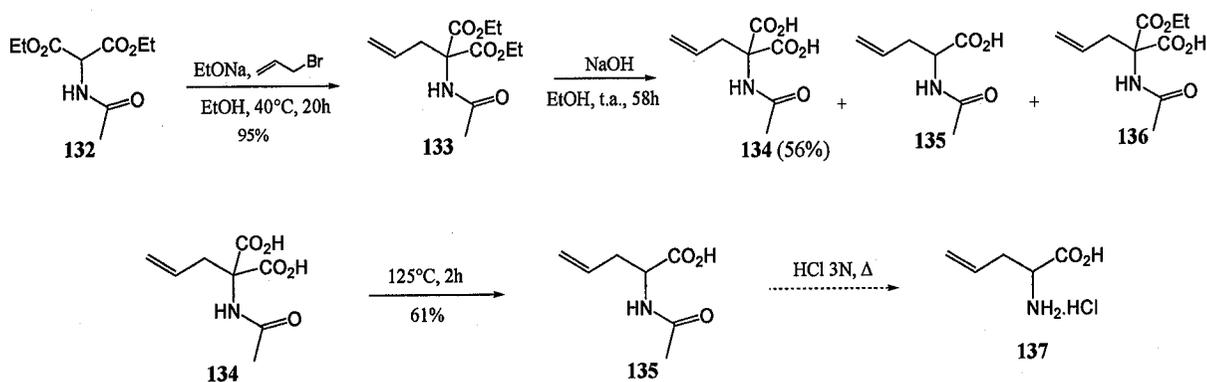


Schéma IV-3

Le rendement moyen obtenu et les temps nécessaires lors de la saponification nous ont amenés à modifier ce protocole. En recommençant du point de départ, la première réaction consiste à dissoudre du sodium dans de l'éthanol pour former l'éthanolate de sodium puis, d'y ajouter l'acétamidomalonate de diéthyle pour obtenir ainsi le carbanion souhaité. Ensuite, nous procédons à une substitution nucléophile sur le bromure d'allyle par le carbanion formé. Le produit final est obtenu avec un rendement brut de 95%. Par après, nous avons réalisé l'hydrolyse des esters, la décarboxylation et la déacétylation en une seule étape par utilisation de l'acide chlorhydrique à reflux pour obtenir directement le chlorhydrate de l'allylglycine **137** (Schéma IV-4).

(193) Gaudry, R.; Berlinguet, L.; Langis, A.; Paris, G. *Can. J. Chem.* **1956**, *34*, 502-514.

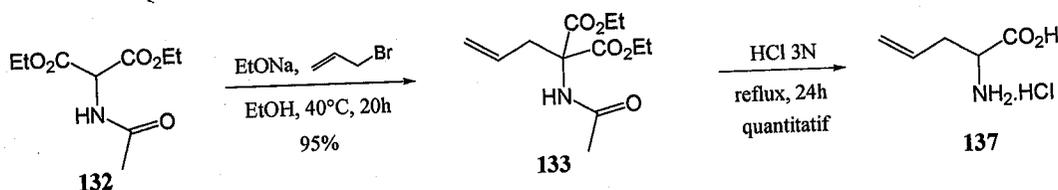


Schéma IV-4

Le chlorhydrate d'allylglycine est obtenu en deux étapes à partir de l'acétamidomalonate d'éthyle commercial avec un rendement brut global de 96%.

IV.B.2. Synthèse énantiopure de l'allylglycine

La préparation de l'allylglycine énantiopure est effectuée par dédoublement enzymatique comme décrit par Black et Wright⁽¹⁹⁴⁾. Il s'agit d'une déacétylation sélective de l'isomère *L* de la *N*-acétyl-allylglycine avec une enzyme de type acylase. A partir du chlorhydrate de l'allylglycine obtenu précédemment (Schéma IV-4), une acétylation est effectuée à l'aide d'anhydride acétique en présence de soude⁽¹⁹¹⁾ pour obtenir la *N*-acétyl-*DL*-allylglycine 135 (Schéma IV-5). Un rendement de 32% est obtenu après recristallisation.

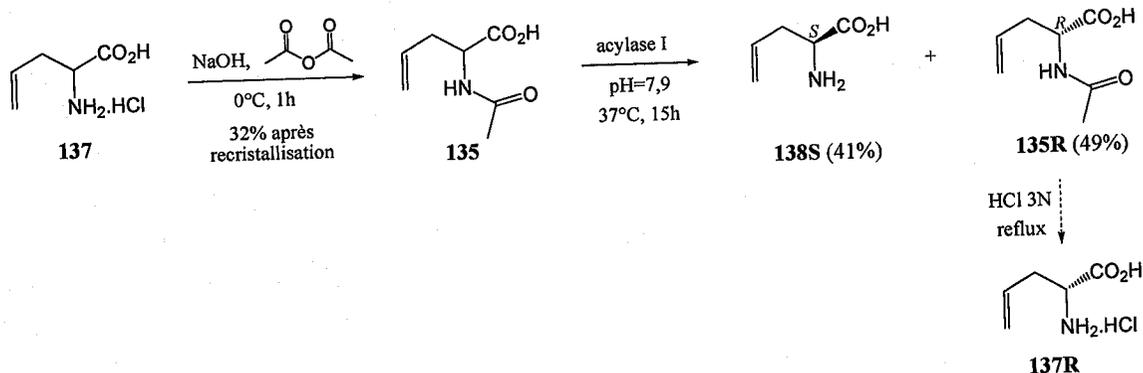


Schéma IV-5

La *L*-allylglycine 138S est ensuite obtenue par réaction enzymatique avec l'acylase I de foie de porc⁽¹⁹⁵⁾. Elle est isolée de la *N*-acétyl-*D*-allylglycine n'ayant pas réagi sur résine échangeuse d'ions (Schéma IV-5) avec un rendement de 41% et la *N*-acétyl-*D*-allylglycine avec 49% de rendement.

(194) Black, S.; Wright, N. G. *J. Biol. Chem.* **1955**, 213, 39-45.

(195) Cox, R. J.; Sherwin, W. A.; Lam, L. K. P.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7449-7460.

Le pouvoir rotatoire de la *L*-allylglycine **138S** est mesuré grâce à un polarimètre et on observe une valeur de $[\alpha]_D^{20} = -36,5$ (c 4.0, H₂O) {lit. ⁽¹⁹⁰⁾ $[\alpha]_D^{24} = -37,1$ (c 4.0, H₂O)}.

La pureté énantiomérique de l'allylglycine synthétisée est mesurée par HPLC après dérivatisation ^(196, 197). Il est utile de faire remarquer que, d'une part, cette méthode introduit un nouveau centre chiral engendrant des diastéréoisomères séparables sur simple colonne HPLC (nul besoin d'une colonne chirale), d'autre part, l'allylglycine n'absorbant pas dans l'UV, la méthode utilisée permet de la rendre détectable.

Les réactifs de dérivatisation, l'*o*-phthaldialdéhyde (**OPA**) et la *N*-(acétyl)cystéine (**NAC**), réagissent rapidement et totalement avec une amine (**Schéma IV-6**). Leur réaction avec l'allylglycine conduit au composé **139** en quelques secondes de façon quantitative. Le brut de cette réaction est aussitôt injecté en HPLC sur une colonne C18 Kromasil.

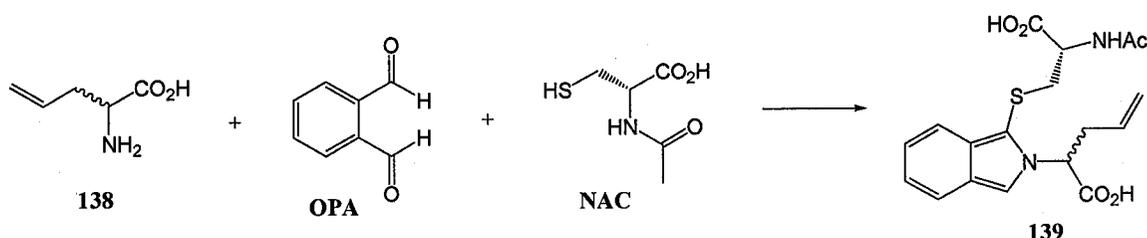


Schéma IV-6

L'injection en HPLC du mélange racémique (*D,L*)-allylglycine conduit au chromatogramme suivant (**Figure IV-3**). Les deux diastéréoisomères **139S** et **139R** sont séparés dans un mélange constitué d'acétate de sodium 0,055M (90%) et d'acétonitrile (10%).

La *L*-allylglycine issue du dédoublement enzymatique est ensuite injectée dans ces mêmes conditions (**Figure IV-4**). Seul le diastéréoisomère **139S** est observé.

(196) Brüchner, H.; Wittner, R.; Goder, H. *J. Chromatogr. A* **1989**, 476, 73-82.

(197) Vermeij, T. A. C.; Edelbroek, P. M. *J. Chromatogr. B* **1998**, 716, 233-238.

En série optiquement active, l'ester de méthyle est obtenu dans les mêmes conditions à partir du chlorhydrate d'allylglycine énantiopure *S* avec un rendement de 99%. $[\alpha]_D$ est conforme aux données de la littérature : $[\alpha]_D^{33} = + 8,4$ (c 1.0, MeOH) {lit. $[\alpha]_D^{20} = + 8,3$ (c 1.07, MeOH) ⁽¹⁹⁸⁾}.

IV.C. Obtention d'un γ -lactame α, β -insaturé

IV.C.1. Rappels bibliographiques

Les γ -lactames α, β -insaturés représentent depuis longtemps des véritables précurseurs dans la synthèse des composés cycliques, notamment ceux qui sont doués d'intérêt thérapeutique. En effet, ces composés sont caractérisés par leurs réactivités variées et sont d'intéressants intermédiaires synthétiques.

IV.C.1.a. Préparation d'un γ -lactame α, β -insaturé

Le laboratoire où ce travail été réalisé a développé, il y a une dizaine d'années, une méthode d'obtention de γ -lactames α, β -insaturés en une seule étape à partir d'une amine primaire par condensation avec le diméthoxydihydrofurane (Schéma IV-8)⁽¹⁹⁹⁾.

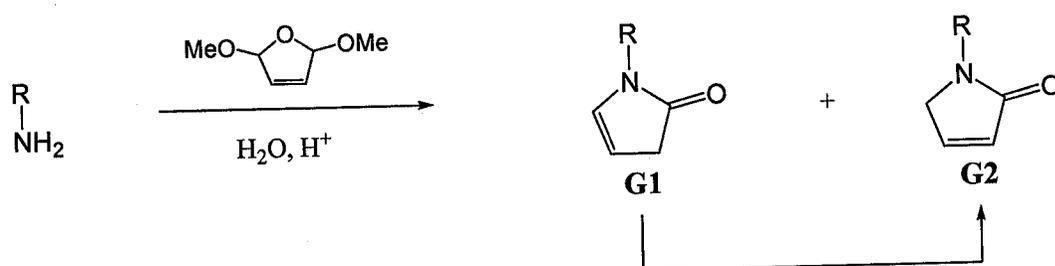


Schéma IV-8 : Condensation d'une amine primaire avec le diméthoxydihydrofurane

(198) Kaul, R.; Surprenant, S.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3838-3844.

(199) Baussanne, I.; Chiaroni, A.; Husson, H.-P.; Riche, C.; Royer, J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3931-3934.

La réaction est réalisée à température ambiante dans l'eau en présence d'un acide. Elle conduit à deux produits régioisomères : le γ -lactame β,γ -insaturé **G1** et le γ -lactame α,β -insaturé **G2**. Généralement, le lactame non conjugué **G1** s'isomérise en lactame conjugué **G2** plus stable, plus ou moins rapidement selon la nature du groupement R.

Cette réaction de condensation a été appliquée à plusieurs amines primaires chirales et semble être généralisable avec des rendements allant de moyens à bons, selon les amines employées.

IV.C.1.b. Proposition de mécanismes

Les mécanismes suivants sont envisagés pour expliquer ces résultats : dans un premier temps, l'attaque nucléophile de l'azote et les équilibres acide-base conduiraient aux éliminations successives des deux groupements méthoxy pour conduire à l'intermédiaire cyclique **G3** en équilibre dans l'eau avec la forme **G4** (Schéma IV-9).

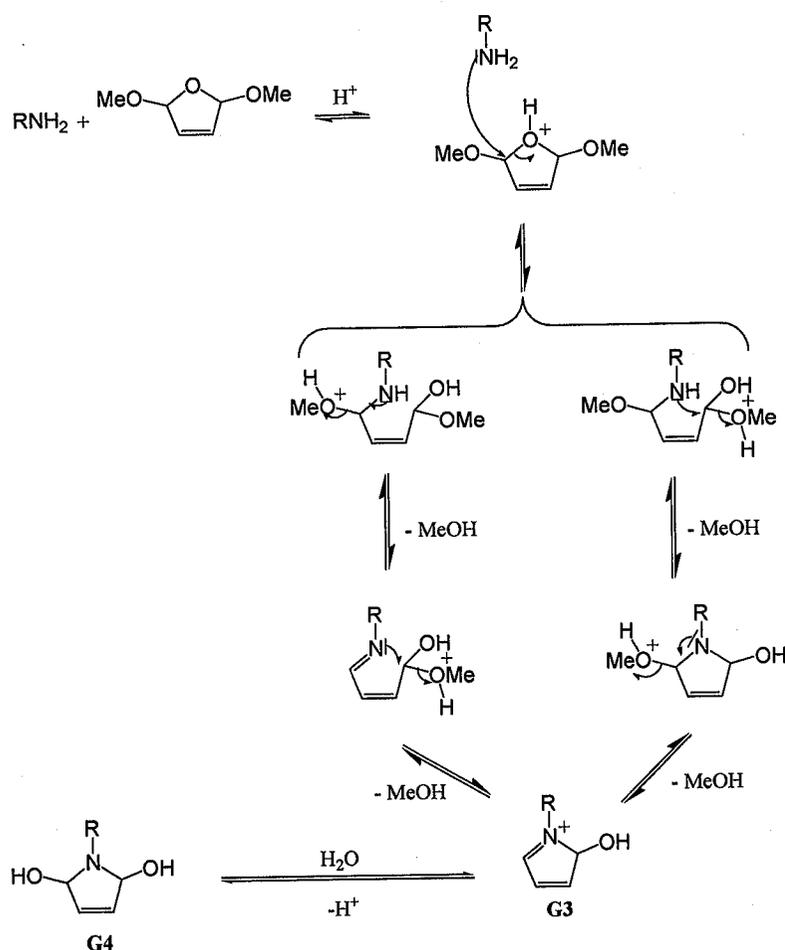


Schéma IV-9 : Mécanisme envisagé de la Condensation

Plusieurs possibilités sont proposées pour la suite du mécanisme :

Mécanisme via une aromatisation

Un premier mécanisme possible consiste en un départ du proton au pied de l'alcool de l'intermédiaire **G3** conduisant à son aromatisation en pyrrole-2-hydroxylé **G5**, ce qui engendre le composé cinétique **G1** par prototropie (**Schéma IV-10**). En effet, malgré la faible acidité de ce proton, l'aromatisation est un facteur énergétique favorable. Ce mécanisme a également été proposé par Grigg⁽²⁰⁰⁾ pour expliquer la condensation d'une amine sur un dialdéhyde.

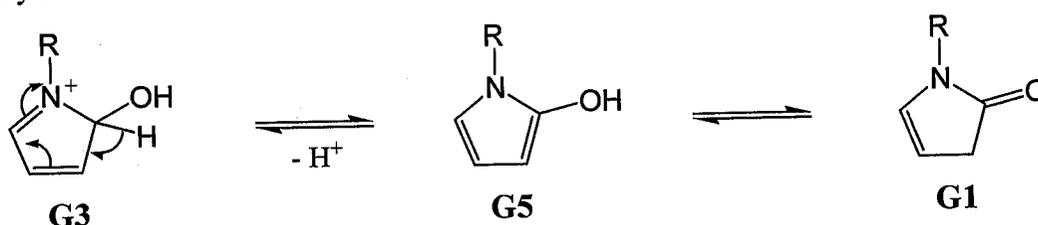


Schéma IV-10 : Mécanisme passant par une aromatisation

Mécanisme via un transfert d'hydrure

Un deuxième mécanisme a également été proposé, faisant intervenir deux types de transferts d'hydrure à partir de l'intermédiaire **G3** : le transfert d'hydrure 1,2 conduisant au composé non conjugué **G1** et un transfert d'hydrure 1,3 conduisant directement au composé le plus stable **G2** (**Schéma IV-11**).

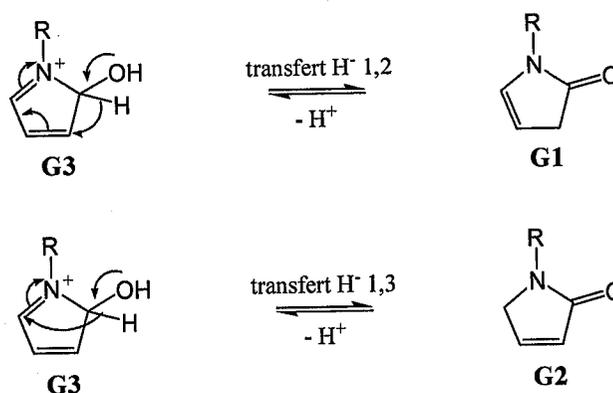


Schéma IV-11 : Mécanisme faisant intervenir un transfert d'hydrure

(200) Grigg, R.; Gunaratna, H. Q. N.; Sridkaran V. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* 1985, 17, 1183-1984.

Un transfert d'hydrure est généralement évoqué pour expliquer la condensation d'amines sur des dialdéhydes aromatiques^(198, 201). Mais en général, ce transfert s'effectue dans des conditions aprotiques, à chaud. Aussi, le mécanisme par aromatisation semble être le plus probable.

IV.C.1.c. Rappels sur la réactivité des γ -lactames α,β -insaturés

Les γ -lactames α,β -insaturés ont fait l'objet de nombreuses études compte tenu de leurs réactivités intéressantes. En effet, ces composés offrent des possibilités variées de fonctionnalisation (**Figure IV-5**) et constituent d'intéressants intermédiaires avec diverses applications en synthèse totale⁽²⁰²⁾.

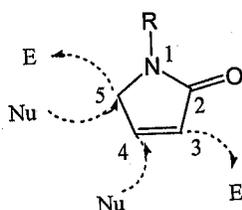


Figure IV-5 : Réactivité des γ -lactames α,β -insaturés

Fonctionnalisation en position C_3

Peu d'exemples de substitution en α d'un γ -lactame α,β -insaturé ont été décrits dans la littérature. En présence d'une base, le diénolate **G6** formé peut être substitué en α ou en γ de l'amide. Seules les réactions d'alkylation conduisent facilement au substituant en α de l'amide dans le cas des diénolates de lithium (**Schéma IV-12**).

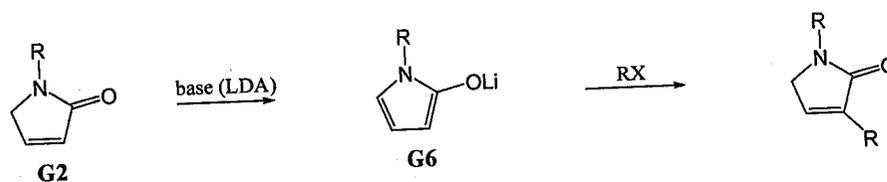


Schéma IV-12 : Réactivité en C_3 vis-à-vis d'un électrophile

(201) Allin, S. M.; Hodkinson, C. C.; Taj, N. *Synlett* **1996**, 781-782.

(202) Baussanne, I.; Dudot, B.; Pérard-Viret, J.; Planas, L.; Royer, J. *Arkivoc* **2006**, 57-66.

Fonctionnalisation en position C₄

Les composés carbonylés insaturés peuvent subir des additions 1,4 (addition de Michael) (**Schéma IV-13**). Cependant les amides α,β -insaturés sont moins réactifs mais leur réactivité peut être améliorée par la présence d'un groupement électroattracteur R₁ en α de l'azote.

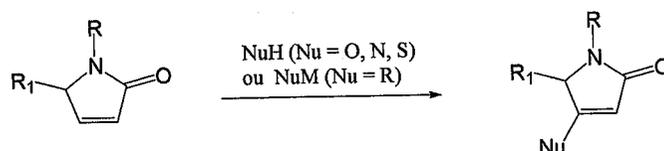


Schéma IV-13 : Réactivité en C₄ vis-à-vis d'un nucléophile

Fonctionnalisation en position C₅

Du fait du système α,β -insaturé, le carbone C₅ possède des caractéristiques particulières. En effet, il est à la fois en position γ d'un amide et en α d'un azote. Ces deux caractéristiques lui procurent des réactivités distinctes :

- La position γ d'un amide α, β -insaturé peut être activée via un diénolate silylé **G7** pour y substituer un électrophile (**Schéma IV-14**) permettant des réactions d'aldolisation, d'alkylation ou d'addition de Michael.

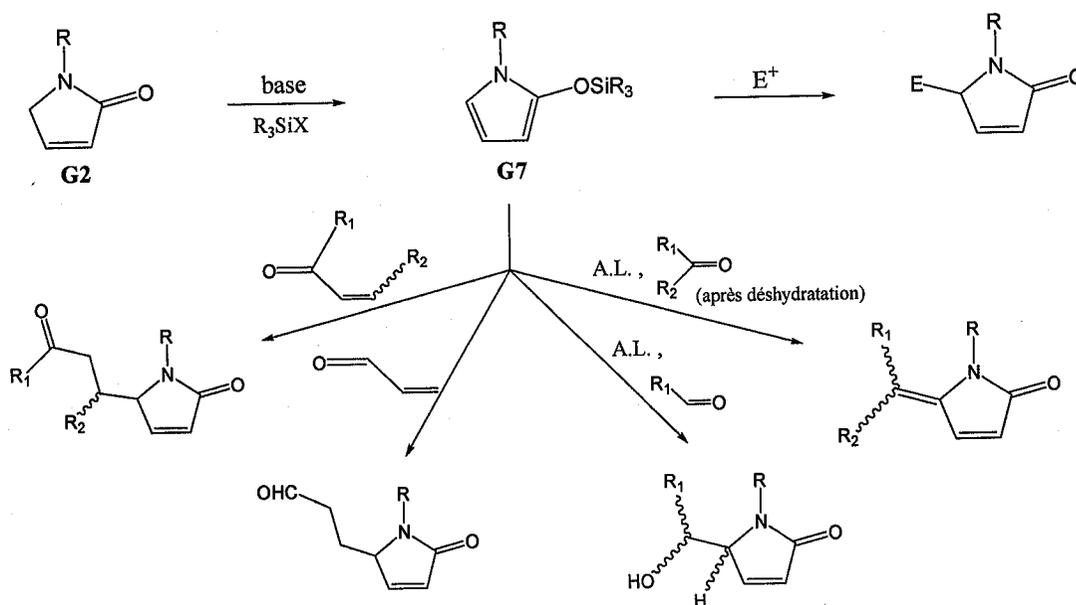


Schéma IV-14 : Réactivité en C₅ vis-à-vis d'un électrophile via un éther d'énol silylé

La position en α de l'azote acylé peut être fonctionnalisée par un nucléophile via un acyliminium. En effet, en milieu acide, le γ -lactame α,β -insaturé **G2** est en équilibre avec sa forme **G1** possédant une fonction énamide (Schéma IV-15). Les énamides sont connus pour être protonables, générant des intermédiaires *N*-acyliminium **G8** ⁽²⁰³⁾. C'est à cause de cette dernière propriété que nous avons effectué la synthèse du γ -lactame α,β -insaturé à partir de l'allylglycine.

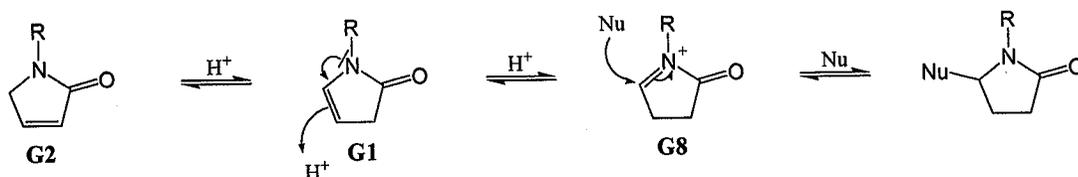


Schéma IV-15 : Réactivité en C_5 vis-à-vis d'un nucléophile via un ion *N*-acyliminium

IV.C.2. Synthèse du γ -lactame α,β -insaturé : résultats obtenus

La réaction de condensation de l'ester de l'allylglycine sur le diméthoxydihydrofurane est effectuée dans les conditions décrites plus haut en utilisant une solution aqueuse de HCl (Schéma IV-16).

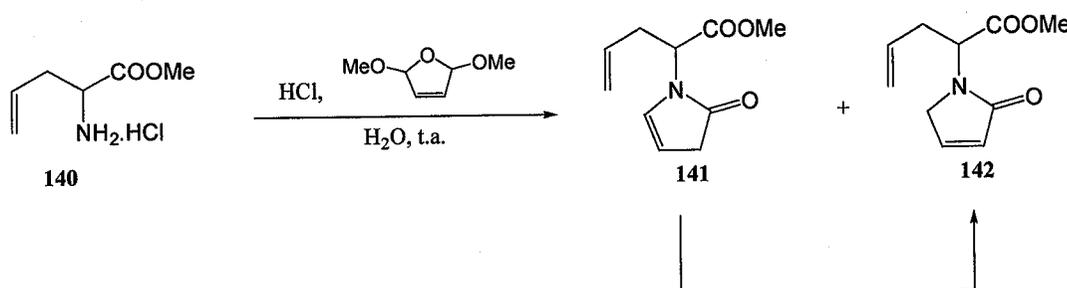


Schéma IV-16

Un premier essai avec 1,5 équivalent d'HCl 1N dans l'eau à température ambiante, pendant 4h a permis d'isoler, après traitement basique, un mélange des deux composés **141** et **142**, séparables par chromatographie sur colonne, avec un rendement brut quantitatif. Le composé cinétique **141** s'isomérise totalement en composé thermodynamique **142** en l'absence de solvant après plusieurs heures à température ambiante. La réaction s'accompagne de produits secondaires et des polymères, peu visibles en RMN, mais qui rendent la purification du produit de condensation difficile et qui sont responsables du rendement moyen obtenu après purification (34% après purification sur colonne).

(202) Bienz, S.; Busacca, C.; Meyers, A.I. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1905-1907.

Un deuxième essai effectué avec 0,5 équivalent de HCl dans l'eau à température ambiante, pendant 2h a permis d'isoler très majoritairement le composé cinétique **141** (cinétique/thermodynamique : 88/12). Par conséquent, l'obtention du composé **141** largement majoritaire rend le mécanisme de transfert d'hydrure 1,3 décrit plus haut (**Schéma IV-11**) peu probable.

Les meilleurs rendements, compris entre 60 et 75% après purification, sont obtenus pour des quantités catalytiques d'acide (0,5 équivalent) et des temps de réaction relativement courts (30 min à 1h30 selon les quantités d'amine de départ engagées). Ces rendements peu élevés sont dus aux purifications difficiles, ne permettant pas d'obtenir le produit pur.

On peut cependant noter que l'addition du diméthoxydihydrofurane est très rapide en milieu acide mais le produit final n'est observé qu'après traitement basique : 5 à 6 extractions sont requises et nécessitent de vérifier le pH de la phase aqueuse qui a tendance à redevenir acide au fur et à mesure des extractions. Ceci montre qu'une partie de la réaction s'effectue également en milieu basique et est relativement lente (il peut notamment s'agir de la déprotonation conduisant à l'aromatisation de l'intermédiaire **G3** décrit sur les (**Schéma IV-10**)).

Réaction en série optiquement active : obtention des γ -lactames α,β insaturés **141** et **142**

La condensation de l'ester de l'allylglycine **140S** avec le diméthoxydihydrofurane (**Schéma IV-16**) est ici effectuée dans l'eau avec 1 équivalent d'acide citrique à 50°C pendant 10 min. La réaction est ensuite traitée avec une solution d'acétate de sodium. Après extraction, un rendement brut de 88% est obtenu contenant les deux régioisomères **141** et **142**. Le brut est engagé directement sans purification dans l'étape de cyclisation dans l'acide formique.

L'acide citrique est utilisé à la place de l'acide chlorhydrique pour ses propriétés antioxydantes. En effet, la formation de produits secondaires peut être due à l'oxydation de dérivés du diméthoxydihydrofurane. Nous espérons ainsi limiter leur formation et améliorer les rendements, mais nous n'avons pas observé d'amélioration notable du rendement, même si la réaction semble un peu plus propre.

IV.D. Cyclisation sur l'ion *N*-acyliminium

IV.D.1. Rappels bibliographiques

IV.D.1.a. Réactivité et stabilité des ions *N*-acyliminium

Les ions *N*-acyliminium sont connus pour leur électrophilie importante. Très réactifs, ils sont généralement utilisés pour la formation de liaisons carbone-carbone via divers carbones nucléophiles (aromatiques, alcènes, alcynes, carbanions...).

Notamment, leur utilisation pour la construction d'hétérocycles azotés à partir d'oléfines (**Schéma IV-17**) a été largement étudiée, en particulier par Speckamp^(204, 205). En théorie, la cyclisation oléfine-ion iminium sur le composé **H1** peut conduire à deux carbocations régioisomères **H2** et **H3**.

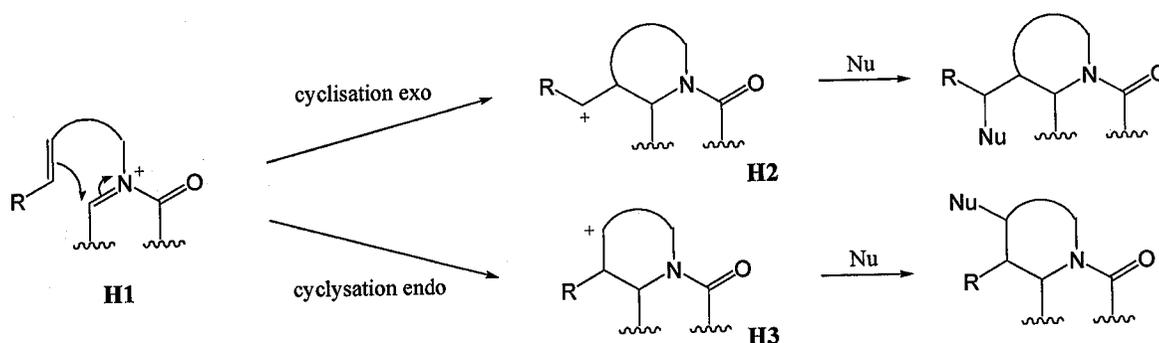


Schéma IV-17 : Cyclisation ion iminium-oléfine

Les cyclisations vinylsilane-ion iminium (**Schéma IV-18**) ont également trouvé de nombreuses applications en synthèse, les vinylsilanes étant d'intéressants composés nucléophiles pour ce type de réaction compte tenu de l'effet directeur de l'atome de silicium⁽²⁰⁶⁾.

(204) de Koning, H.; Speckamp, W. N. *Houben-Weyl* 1995, E21b, 1953-2010.

(205) Speckamp, W. N.; M. J. Moolenaar, M. J. *Tetrahedron* 2000, 56, 3817-3856.

(206) Daub, G. W.; Dirt A. Heerding, D. A.; Overman, L. E. *Tetrahedron* 1988, 44, 3919-3930.

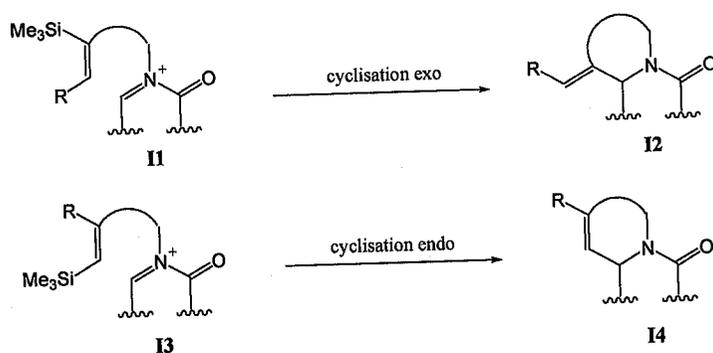


Schéma IV-18 : Cyclisation ion iminium-vinylsilane

Formation d'ions *N*-acyliminium

Compte tenu de leur faible stabilité, les ions *N*-acyliminium sont généralement formés *in situ*. De plus souvent, les ions *N*-acyliminium résultent de l'élimination d'un groupe partant en α de l'azote (**Schéma IV-19**), en général un groupement alkoxy⁽²⁰⁷⁾. L'utilisation de γ -lactames α,β -insaturés (ou énamides) pour générer ces ions (illustrée précédemment sur le **Schéma IV-15**) est beaucoup moins fréquente.

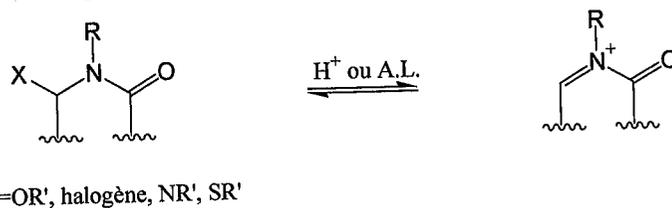


Schéma IV-19 : Formation d'ions *N*-acyliminium par hétérolyse d'un substituant partant

La formation de l'ion acyliminium est un équilibre, tandis que l'attaque du carbone nucléophile est souvent irréversible. Cet équilibre est généralement l'étape limitante de la réaction et dépend de nombreux facteurs : nature du solvant, conditions acides, groupements présents... En général, et à titre d'exemple, les iminiums de carbamates sont plus facilement formés que les iminiums d'amides à partir des *N,O*-acétals correspondants puisque le doublet libre de l'azote y est plus disponible pour la stabilisation du cation : la cyclisation du composé **143** (**Schéma IV-20**)⁽²⁰⁸⁾ conduit exclusivement au produit **144** de façon quantitative (cependant, ces iminiums sont généralement moins réactifs mais ici, la réactivité plus faible de l'iminium de carbamate est sans doute compensée par la formation d'un cycle à 6 plus stable).

(207) Clauss, K.; Grimm, D.; Prossel, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 539-560.

(208) Kurihara, H.; Mishima, H. *Heterocycles* **1982**, 17, 191-192.

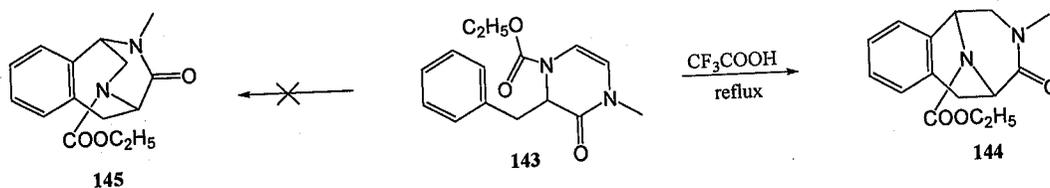


Schéma IV-20 : Iminium de carbamate favorisé

Conditions expérimentales de cyclisation

Les conditions expérimentales de cyclisation nécessitent un milieu acide. Les acides utilisés peuvent être un acide de Bronsted (comme l'acide formique, le TFA), soit un acide de Lewis (BF_3OEt_2 , SnCl_4 , TiCl_4 , FeCl_3 , ZnBr_2 ou LiClO_4 ...).

IV.D.1.b. Le réarrangement d'aza-Cope

Les réarrangements d'aza-Cope d'ions acyliminium ont été évoqués en premier par Speckamp⁽²⁰⁹⁾. En effet, certaines cyclisations d'ions acyliminium conduisent à une racémisation partielle lorsque l'équilibre d'aza-Cope se produit plus rapidement que la cyclisation. Dans l'exemple suivant (**Schéma IV-21**), la cyclisation du composé **146** optiquement pur (dans l'acétonitrile en présence de TfOH à -20°C) engendre deux énantiomères **148** et **149** dans un rapport 71:29⁽²¹⁰⁾.

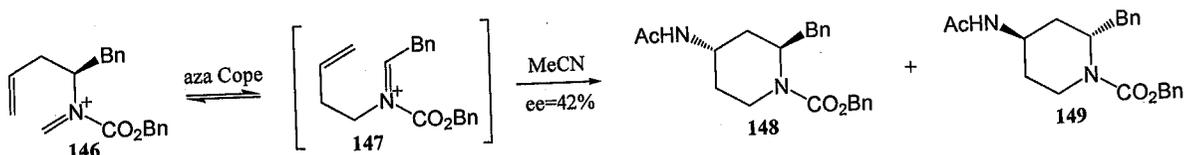


Schéma IV-21: Exemple de cyclisation partiellement racémisante

Dans ses travaux, Hart *et coll.* ont mis en évidence cet équilibre d'aza-Cope en piégeant les ions acyliminium par traitement avec l'hydruide de triéthylsilane⁽²¹¹⁾. En effet, la cyclisation du composé **150** (**Schéma IV-22**) conduit en présence de TFA aux composés cyclisés **151**, **152** et **153** (avec des rendements respectifs de 49%, 13% et 12%) et en présence d'acide formique au composé **154** (60%).

(209) Schoemaker, H. E.; Dijkink, J.; Speckamp, W.N. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 163-172.

(210) Veenstra S.J.; Hauser, K.; Schilling, W.; Betschart, C.; Ofner, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 3029-3034.

(211) Hart, D.J.; Yeun-Min Tsai Y.-M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1567-1570.

Lorsque **150** est traité dans les mêmes conditions avec l'hydrure de triéthylsilane, il ne se forme pas de produit de cyclisation mais deux produits de réductions **155** et **156**, provenant des deux formes d'ions acyliminium **157** et **158** de l'équilibre d'aza-Cope.

De plus, avec l'acide trifluoroacétique, 73% d'un mélange 3:5 de **155** et **156** est obtenu. Dans le cas de l'acide formique, ces mêmes proportions 3:5 sont retrouvées (avec 42% de rendement), ce qui montre que l'équilibre d'aza-Cope est rapidement atteint tandis que les processus de réduction et de cyclisation sont plus lents.

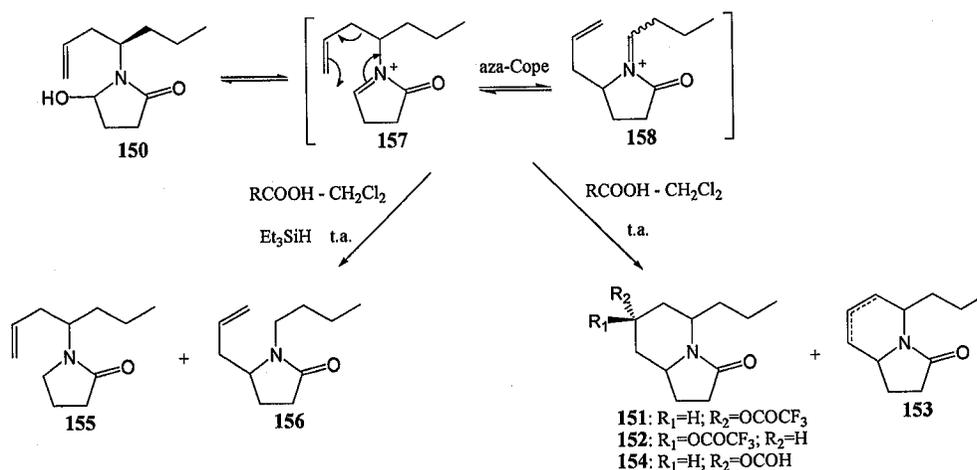


Schéma IV-22 : Mise en évidence de l'équilibre d'aza-Cope

Ultérieurement, Hiemstra et Speckamp ⁽²¹²⁾ ont montré que dans le cas de composés comprenant un groupement ester en α de l'azote, l'équilibre d'aza-Cope est fortement déplacé vers la forme de type **161** (Schéma IV-23). En effet, en présence de triéthylsilane, le composé **159** donne l'allylglycine N-méthylée **163** comme seul produit de réaction, provenant de la forme **161** de l'équilibre d'aza-Cope.

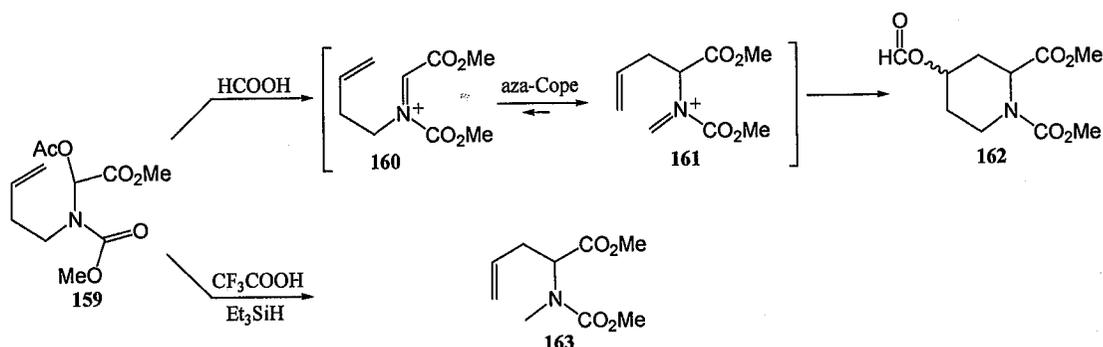


Schéma IV-23 : Effet d'un substituant ester sur l'équilibre d'aza-Cope

(212) Esch, P. M.; Boska, I. M.; Hiemstra, H.; Speckamp, W. N. *Synlett* **1989**, 38-40.

Hiemstra *et coll.*⁽²¹³⁾ ont exploité ces observations et montré que l'effet électroattracteur du groupement ester en α de l'ion acyliminium pouvait empêcher l'équilibre aza-Cope de se produire, en partant de la forme acyliminium de type **165**. Cependant, certains composés présentent des exceptions, notamment des vinylsilanes comme le composé **170** (Schéma IV-24).

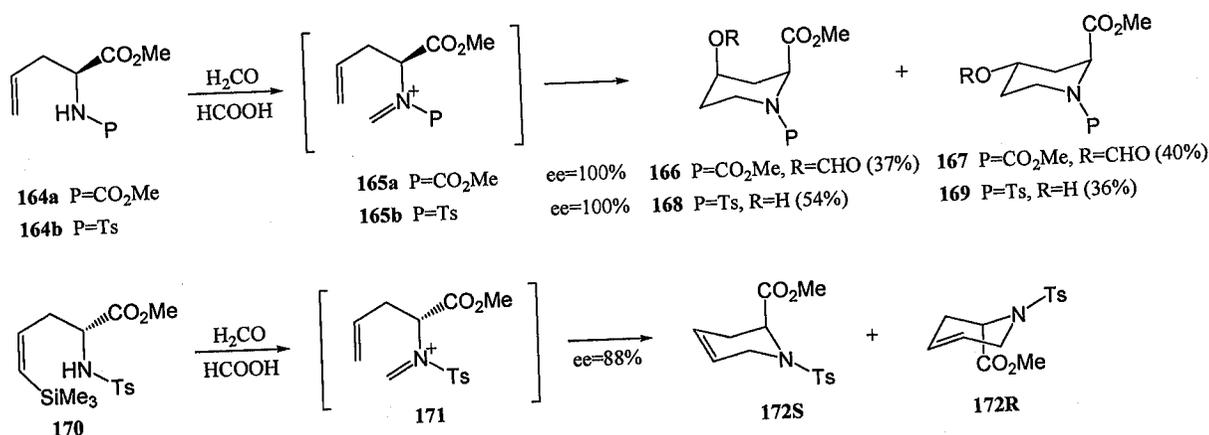


Schéma IV-24 : Effet du substituant ester : excès énantiomériques rencontrés

IV.D.2. Cyclisation dans l'acide formique : résultats obtenus

Nous avons choisi d'effectuer la réaction de cyclisation du composé **142** dans l'acide formique. Compte tenu de la présence d'un substituant ester sur le carbone en α de l'acyliminium, un réarrangement d'aza-Cope serait fortement défavorisé d'après Hiemstra. De plus, une réaction endocyclique est attendue (Schéma IV-25), formant le carbocation secondaire **174** avec un cycle à 6 plus stable.

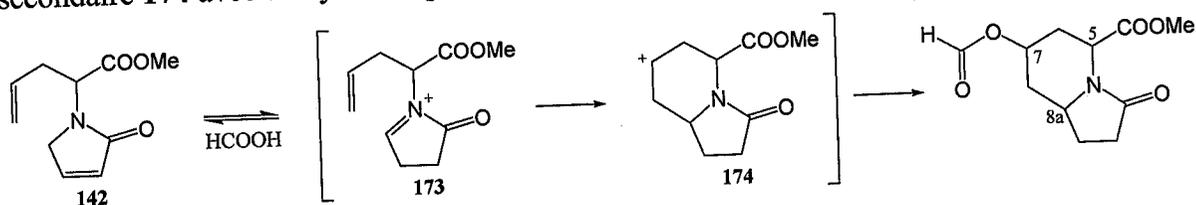


Schéma IV-25

Au cours de cette cyclisation, 2 centres asymétriques (les centres C₇ et C_{8a}) sont formés pouvant engendrer 4 diastéréoisomères.

(213) Rutjes, F.P.J.T.; Veerman, J.J.N.; Meester, W.J.N.; Hiemstra, H.; Schoemaker, H.E. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 5, 1127-1135.

Un nombre encore plus grand de stéréoisomères peut être obtenu si un réarrangement d'aza-Cope se produit.

Dans un premier temps, nous avons effectué la réaction en série racémique pour étudier la stéréosélectivité de la cyclisation. Puis, elle est reproduite en série énantiopure pour contrôler la pureté énantiomérique des produits de la même cyclisation.

IV.D.2.a. Cyclisation en série racémique

Dans ce cas, le mélange brut des deux régioisomères **141** et **142** de l'étape précédente peut être engagé sans purification (**Schéma IV-26**). La réaction est d'abord effectuée dans l'acide formique pur à température ambiante, condition classique de la littérature⁽²¹³⁾. Au bout de 18h, la réaction est incomplète, mais deux diastéréoisomères séparables **175** et **176** sont observés dans des proportions de 50/50.

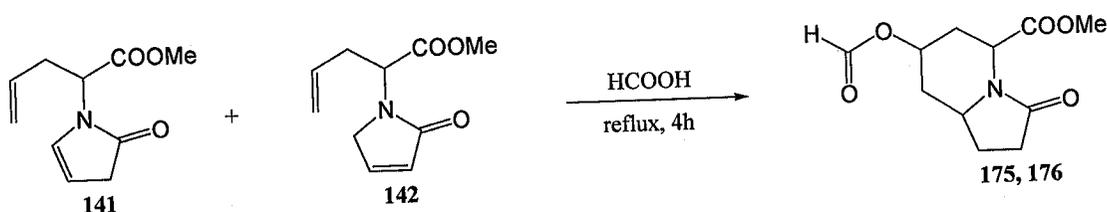


Schéma IV-26

A cause de ce fait, la réaction est alors effectuée au reflux avec l'acide formique pendant 4h et, dans ce cas, elle est complète. Les deux diastéréoisomères **175** et **176** observés sont formés dans les proportions de 60/40. En partant d'un mélange de lactames insaturés **141** et **142** purifié une fois sur colonne (71%), un rendement de 84% est obtenu pour la cyclisation après purification, soit un rendement global sur les deux étapes (condensation et cyclisation) de 60%.

On peut noter que la diastéréosélectivité de la réaction semble varier avec la température. Les diastéréoisomères **175** et **176** sont séparables sur silice. Ces composés étant plus difficilement visibles en CCM avec les révélateurs courants, le brut est généralement engagé tel quel dans les étapes suivantes. Compte tenu de la proximité des signaux en RMN, la configuration des centres asymétriques est étudiée sur les produits de réaction de l'étape suivante.

Etude de la configuration des composés formés

L'étape suivante consiste à réduire les diester **175** et **176** en diols **177** et **178** (Schéma IV-27). Le mélange brut peut être directement engagé dans les conditions classiques de réduction des esters avec le borohydrure de sodium au reflux dans l'éthanol.

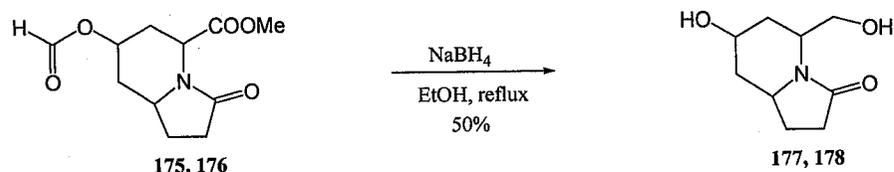


Schéma IV-27

Le rendement moyen de cette étape s'explique notamment par la difficulté à extraire ces diols lors du traitement, puisqu'ils sont solubles dans l'eau. Les deux composés **177** et **178** obtenus sont purifiés et séparés sur silice, tandis que leurs configurations sont déterminées en RMN par expérience NOE. Les résultats obtenus sont décrits sur la (Figure IV-6).

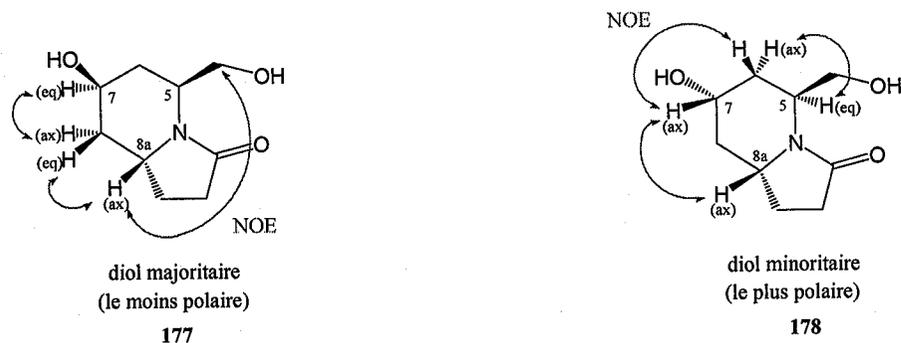


Figure IV-6

Les deux diastéréoisomères obtenus ne diffèrent que par la configuration du centre C_7 au pied de l'alcool secondaire.

Etude de la stéréosélectivité de la réaction

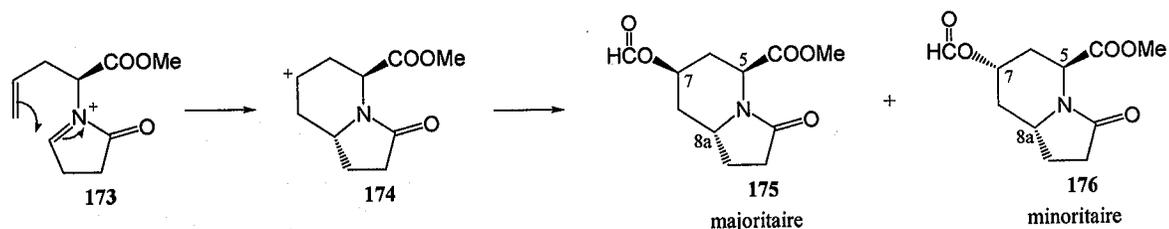


Schéma IV-28

La stéréochimie des composés 175 et 176 (Schéma IV-8) montre que la cyclisation de l'oléfine sur l'ion acyliminium est totalement stéréosélective, puisqu'une seule configuration est obtenue pour le centre C_{8a}. C'est l'addition du formiate qui conduit au mélange de diastéréoisomères observé.

La stéréosélectivité de la réaction peut être expliquée à partir du schéma IV-29 où la cyclisation fait intervenir un intermédiaire en forme chaise. L'intermédiaire le plus favorable est l'intermédiaire pseudo-chaise 173a, bien qu'il impose au substituant ester une position axiale. En effet, l'intermédiaire 173c, plaçant le lactame en position axiale est défavorisé à cause d'interactions diaxiales trop importantes. Sur l'intermédiaire 173b, la position équatoriale du substituant ester est très défavorisée à cause de répulsions électroniques avec le carbonyle de l'amide. A partir de l'intermédiaire 173a, l'attaque de la double liaison se fait sur la position α de l'azote conduisant ainsi à l'intermédiaire carbocation supposé 174, avec la stéréochimie observée.

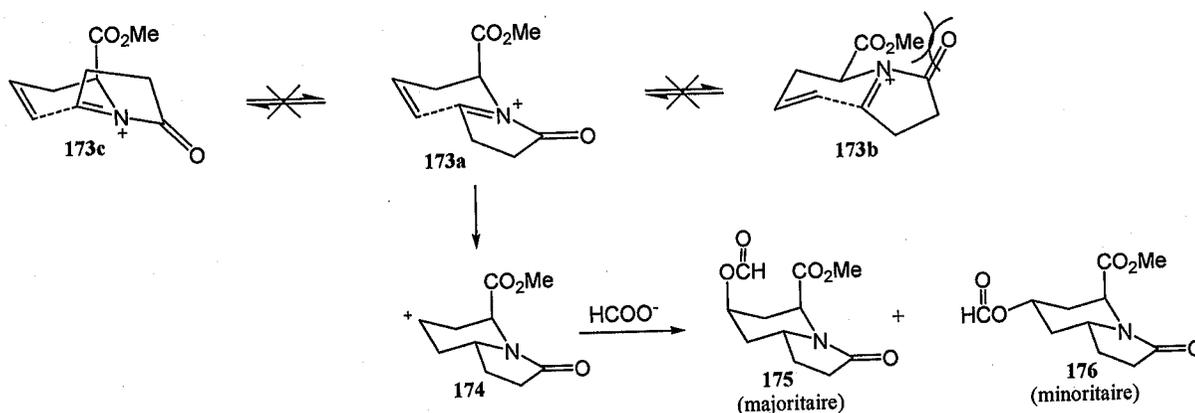


Schéma IV-29

Si l'attaque du formiate se fait directement sur le carbocation, ceci ne permet pas d'expliquer la stéréosélectivité observée en faveur du composé 175 présentant les deux groupements ester en position *cis* et une gêne stérique plus importante.

L'étude des constantes de couplage montre également qu'à température ambiante, les composés 175 et 176 sont dans une conformation chaise où le lactame est en position équatoriale, le groupement ester méthylique se retrouvant en position axiale. De plus, la position axiale ou équatoriale du groupement formiate est particulièrement bien caractérisée grâce au signal de l'hydrogène adjacent : le signal du H₃ en position axiale a l'aspect d'un quadruplet dans le cas où le substituant est en position équatoriale (Figure IV-7).

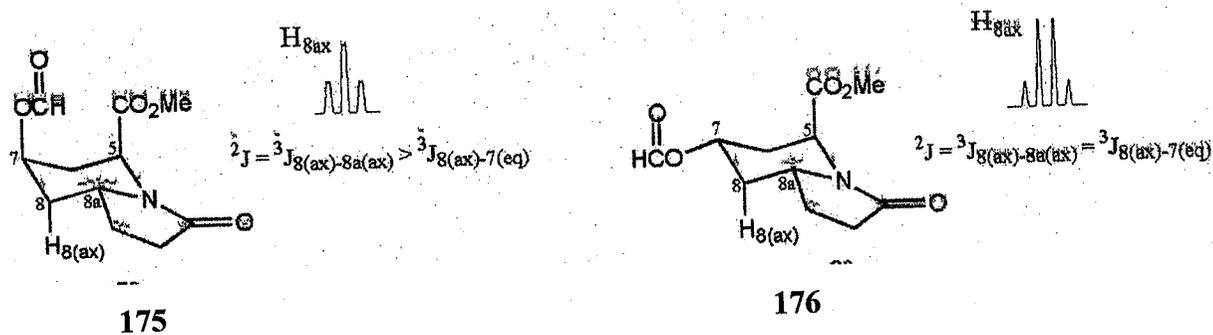


Figure IV-7

IV. D. 2. b. Résultats obtenus en série énantiopure :

Comme nous l'avons vu précédemment, le chlorhydrate du (2*S*)-aminopentenoate de méthyle est condensé avec le diméthoxydihydrofurane en présence d'acide citrique (Schéma IV-30).

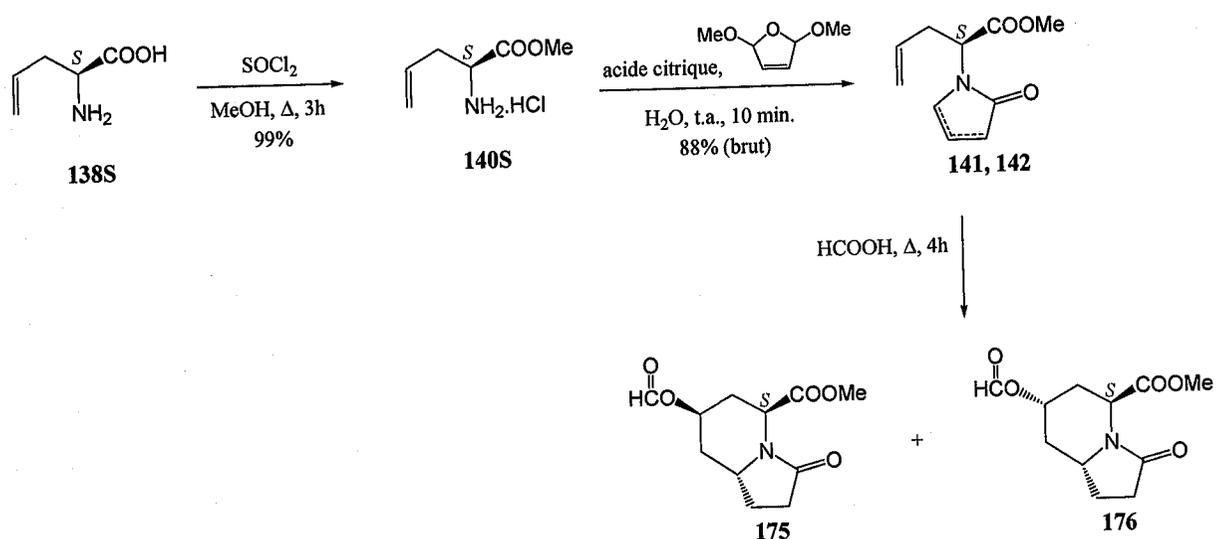


Schéma IV-30

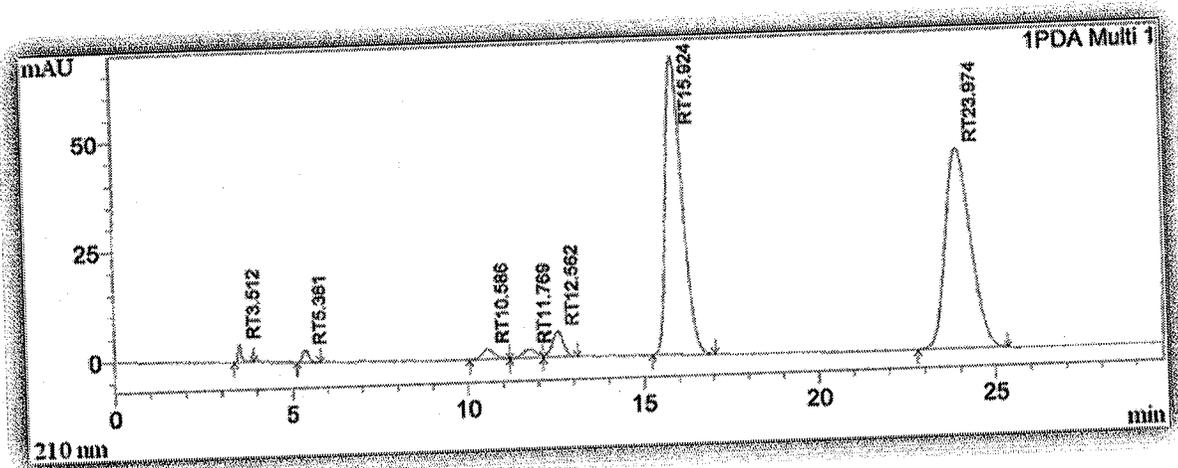
Le mélange brut de 141 et 142 est engagé directement, pour l'étape de cyclisation, dans les mêmes conditions qu'en série racémique : la réaction est effectuée dans l'acide formique à reflux pendant 4h. Après purification, les composés 175 (5*S*, 7*R*, 8*aR*) et 176 (5*S*, 7*S*, 8*aR*) sont obtenus avec un rendement global de 55% sur les deux étapes (condensation et cyclisation) en proportions 56/44 respectivement. Les pouvoirs rotatoires observés sont respectivement, pour le composé 175 : $[\alpha]_D^{25} = -29,7$ (c 1.0, CHCl₃), et pour le composé 176 :

$[\alpha]_D^{33} = -19,6$ (c 1.0, CHCl_3). Leur pureté énantiomérique est vérifiée par HPLC sur colonne chirale.

Vérification par HPLC :

Composé 175 :

L'analyse HPLC est effectuée sur une colonne chirale OD dans un mélange n-hexane/iPrOH de 80/20. Le mélange racémique de composé 175 (5*S*, 7*R*, 8*aR*) et (5*R*, 7*S*, 8*aS*) est séparé avec un ΔR_f de 8 min.



En série optiquement active, l'énantiomère (5*R*, 7*S*, 8*aS*) est inexistant :

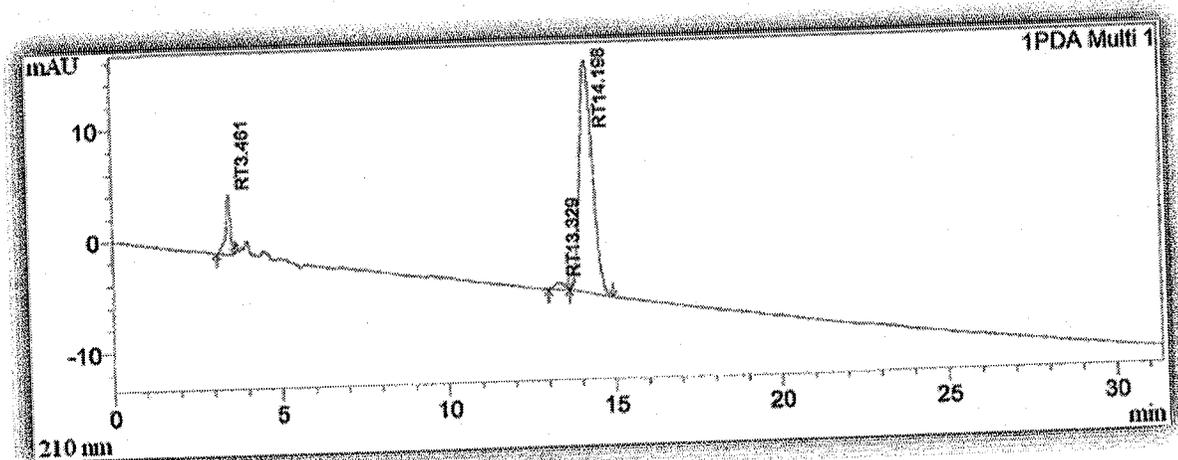
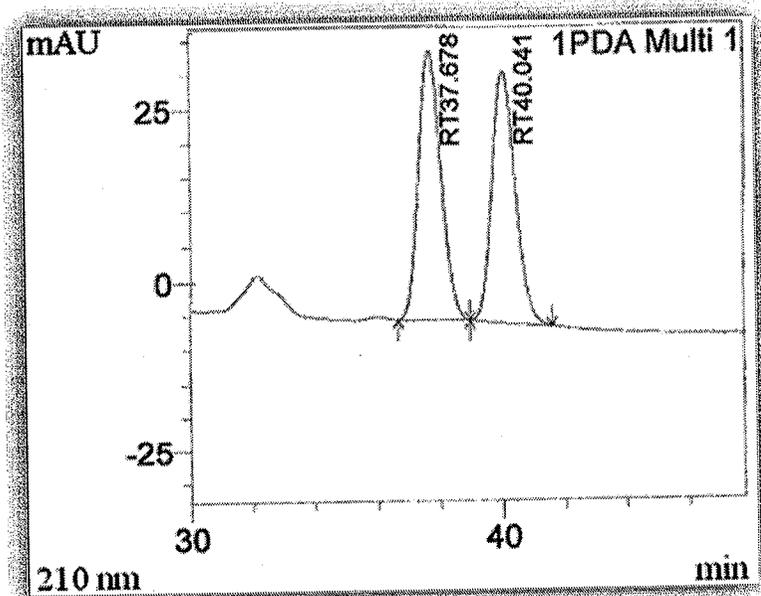


Figure IV-8

Composé 176 :

Pour ce composé, une colonne chirale AD et un mélange n-hexane/EtOH de 85/15 sont utilisés pour séparer le mélange racémique. Un ΔR_f de 2 min est observé entre les énantiomères (5*S*, 7*S*, 8*aR*) et (5*R*, 7*R*, 8*aS*) du composé 176. En série optiquement active, l'énantiomère (5*R*, 7*R*, 8*aS*) n'est pas détecté en HPLC chirale.

Série racémique



Série énantipure

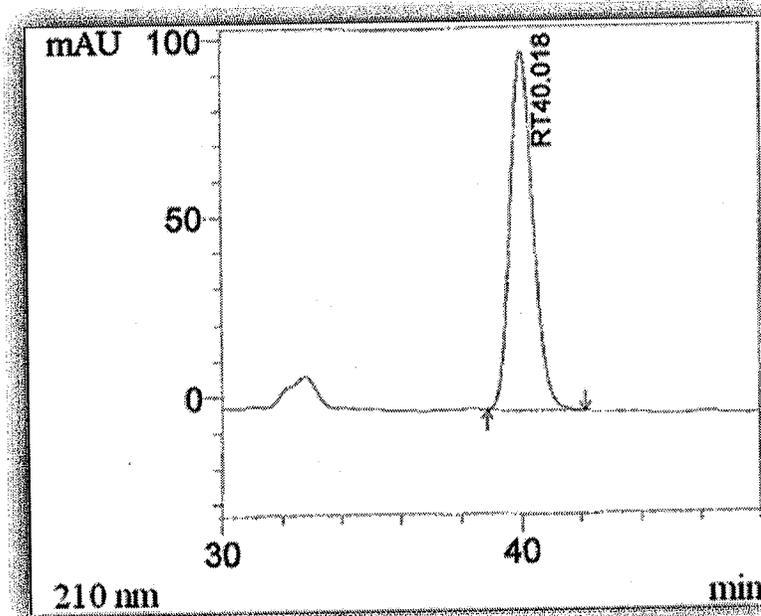


Figure IV-9

Nous pouvons conclure que les composés **175** et **176** obtenus sont énantiopurs. Il n'y a pas de racémisation même partielle lors de la cyclisation.

IV.E. Fonctionnalisation du bicyclic obtenu

L'introduction d'un groupement formiate sur le bicyclic permet l'accès à une fonction hydroxyle sur laquelle, après hydrolyse, pourraient être greffés différents composés (cytotoxiques ou autres). Pour les besoins de la synthèse, cet hydroxyle est protégé.

IV.E.1. Accès à la fonction alcool

Pour obtenir un alcool secondaire en position C₇, la première possibilité consistait à réduire le formiate avec NaBH₄ (Schéma IV-31). Comme nous l'avons vu précédemment, les diols **177** et **178** ont pu être obtenus avec de faibles rendements. La réduction dans le même temps de l'ester méthylique, permettait d'éviter l'épimérisation du centre C₅ lors des étapes suivantes de la synthèse qui nécessitent un milieu fortement basique.

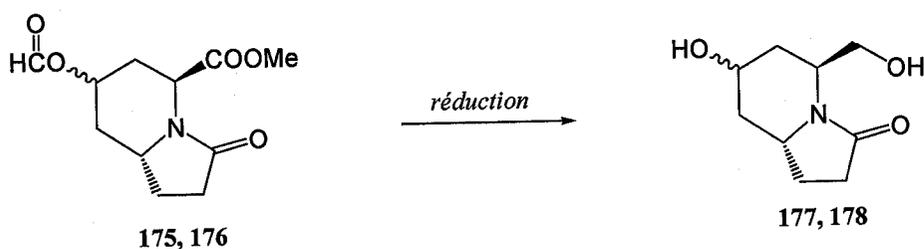


Schéma IV-31

Compte tenu du faible rendement observé dû à la solubilité de ces composés dans l'eau et dans le but de différencier ces deux fonctions, nous avons envisagé de réduire sélectivement le groupement formiate par rapport à l'ester de méthyle.

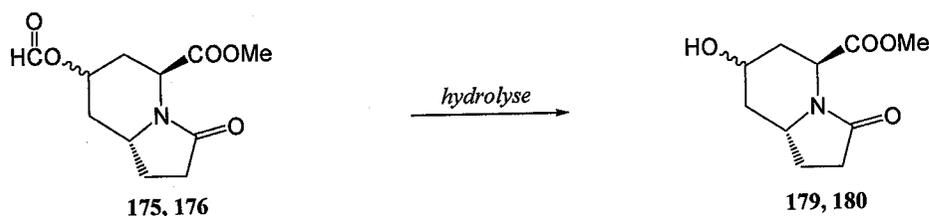


Schéma IV-32

Plusieurs exemples d'hydrolyses sélectives sont décrits dans la littérature. Certaines méthodes utilisent 1 équivalent de soude 1M⁽²¹⁴⁾. D'autres auteurs décrivent une hydrolyse sélective en milieu acide avec l'APTS⁽²¹⁵⁾. Des essais avec ces deux méthodes ont été réalisés sur le mélange de diesters **175** et **176** mais, ils n'ont pu aboutir aux composés souhaités (**Tableau IV-1**).

Entrée	Réactif utilisé	Conditions	Résultats
1	NaOH 1M (1 éq.)	0°C, MeOH, 20 min	peu de produit est extrait de la phase aqueuse, l'ester de méthyle ayant été saponifié.
2	APTS (0,075 éq.)	t.a., MeOH, 1h30	produit de départ majoritaire, quelques produits de dégradation.

Tableau IV-1

Une méthode douce d'hydrolyse de formiate décrite dans la littérature⁽²¹⁶⁾ utilisant le K₂CO₃ dans le méthanol a été appliquée au mélange de composés **175** et **176**. D'abord satisfaisante sur faible quantité (0,6 mmoles) cette réaction a cependant conduit à l'hydrolyse de l'ester de méthyle sur grosses quantités (37 mmoles), donnant les acides carboxyliques **181** et **182** (**Schéma IV-33**). Une méthode similaire⁽²¹⁷⁾ utilisant le KHCO₃ a cependant permis d'isoler les composés **179** et **180** désirés sur une dizaine de grammes avec un rendement de 86% après purification (**Tableau IV-2**). Les composés **179** et **180**, ne sont pas séparables sur silice.

(214) Feenstra, R.W.; Stokkingreef, E.H.M.; Nivard, R.J.F. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 5583-5595.

(215) Iso, Y.; Iroe, T.; Iwaki, T.; Kii, M.; Sando, Y. *J. Antibiot.*, **1996**, *49*, 478-484.

(216) Voigt, B.; Schmidt, J.; Adam, G. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 1997-2004.

(217) Carda, M.; Murga, J.; Falomir, E.; Gonzalez, F.; Marco, J.A. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 677-683.

Entrée	Réactif utilisé	Conditions	Résultats
1	K ₂ CO ₃ (2,5 éq.) m=230 mg	t.a., MeOH, 6h30	179, 180 obtenus avec 78% de rendement brut
2	K ₂ CO ₃ (2,5 éq.) m=12,8 g	t.a., MeOH, 5h	179 + 180 : 47% de rendement ; 181 + 182 : 28% de rendement après purification.
3	KHCO ₃ (1,1 éq.)	0°C, MeOH, 1h	179 et 180 obtenus avec 86% de rendement après purification.

Tableau IV-2

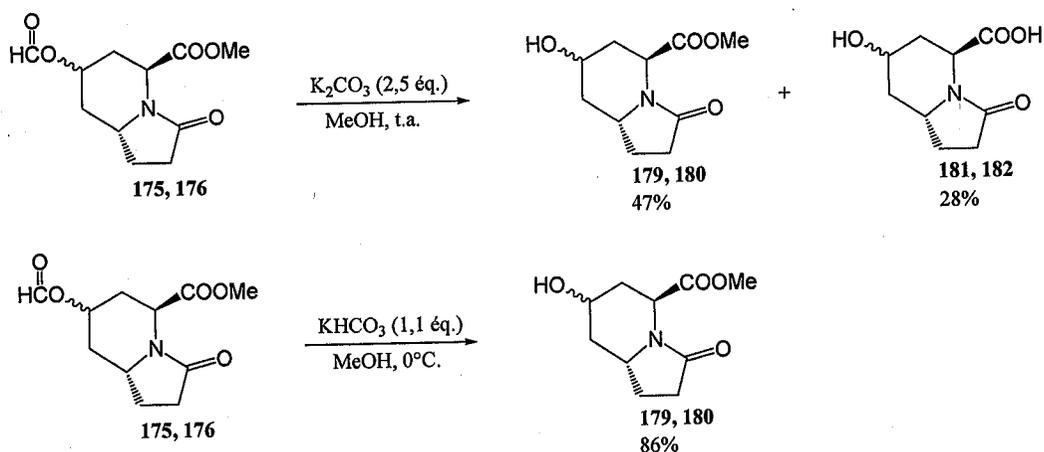


Schéma IV-33

Une fois la méthode d'hydrolyse sélective mise au point, la fonction hydroxyle est protégée.

IV.E.2. Groupement protecteur utilisé

- Groupement méthoxyméthyle

Le groupement méthoxyméthyle est maintenu pour la suite de la synthèse puisqu'il est connu pour être résistant en milieu basique. Clivé en milieu acide, il permet une déprotection finale rapide.

La protection par le groupement MOM est effectuée suivant une méthode connue utilisant le chlorure de méthoxyméthyle en présence de diisopropyl-éthylamine comme base (218).

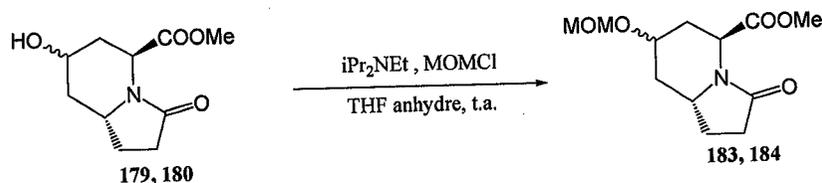


Schéma IV-34

Dans le cas de nos composés, la réaction d'éthérisation du mélange est très lente dans les conditions quasi-stoechiométriques utilisées dans la littérature ⁽²¹⁹⁾ (Tableau IV-3, entrée 1) mais la vitesse de réaction est notablement accrue en augmentant la proportion des réactifs.

Entrée	Réactifs utilisés	Conditions	Résultats
1	iPr ₂ NEt (1,3 éq.) ; MOMCl (1,2 éq.)	t.a., THF anhydre, 5 jours	183 + 184 : 48% (et 30% de produit de départ)
2	iPr ₂ NEt (4,5 éq.) ; MOMCl (4,5 éq.)	t.a., THF anhydre, 2 jours	183 + 184 : 87%

Tableau IV-2 : étherification des alcools 17, 180

Ainsi, avec 4,5 équivalents de réactif, les éthers **183** et **184** sont obtenus avec un très bon rendement (87%).

Comme nous l'avons signalé précédemment, après avoir obtenu le squelette 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane, ce dernier est utilisé dans la synthèse d'un mime de RGD 4. La suite de ce travail consiste à introduire une chaîne carbonée destinée à être fonctionnalisée en guanidine. Ceci repose sur l'alkylation stéréocontrôlée en α du carbonyle des lactames **183** et **184**.

(218) Chênevert, R.; Dickman, M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3322-3341.

(219) Tremmel, P.; Brand, J.; Knapp, V.; Geyer, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 878-884.

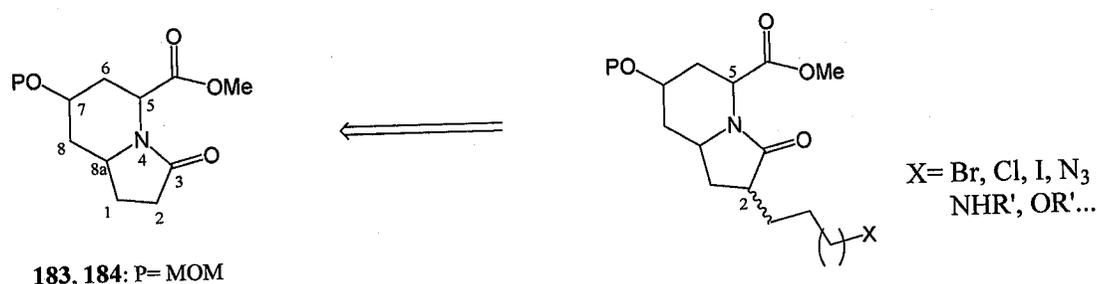


Schéma IV-35

Les réactions d'alkylation des γ -lactames sont classiques et font intervenir la formation d'un énolate et sa réaction avec un électrophile (Schéma IV-36).

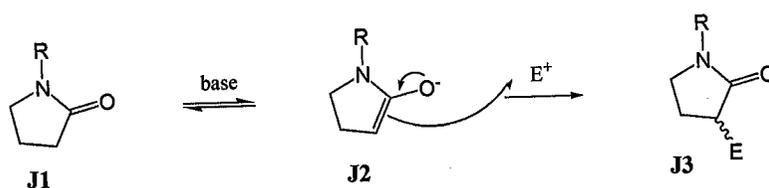


Schéma IV-36

La déprotonation en α du carbonyl nécessite l'utilisation de bases fortes, généralement organométalliques (LDA, *sec*-BuLi, LiHMDS, NaHMDS, KHMDS...).

Compte tenu de la présence d'une fonction ester en α de l'azote, le proton H_α au pied de l'ester est relativement acide et peut être facilement arraché par une base. Aussi, lors de l'alkylation, l'anion formé en C_5 peut être alkylé ou subir une épimérisation. La réaction d'alkylation, effectuée en milieu fortement basique, doit donc être effectuée avec précaution afin de préserver la configuration du centre asymétrique C_5 .

Pour éviter une réaction sur le centre C_5 lors de l'alkylation, diverses stratégies sont possibles. La présence d'un groupement encombré proche du centre épimérisable peut parfois gêner l'approche par une base encombrée (LDA...) et empêcher sa déprotonation. Une autre possibilité consiste à réduire l'ester en alcool, et c'est cette méthode que nous avons adoptée.

IV. E. 3. Réduction de l'ester de méthyle en alcool

Pour éviter que l'alkylation ne s'effectue sur le centre C_5 , une autre solution consiste à réduire l'ester de méthyle en alcool primaire. Le lactame pourra alors être alkylé sans risque d'épimérisation ou d'alkylation du centre C_5 dont le proton sera beaucoup moins acide.

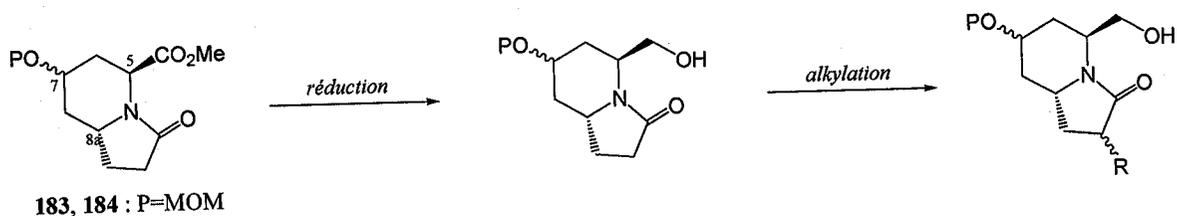


Schéma IV-37

-Utilisation du borohydrure de sodium : réduction sélective

Le borohydrure de sodium est couramment utilisé pour réduire les aldéhydes et les cétones. Il est également capable de réduire des esters mais dans ce cas, nécessite généralement d'être employé en large excès et d'être activé par un chauffage. Ces conditions ne sont cependant pas assez fortes pour réduire la fonction amide du lactame. La réaction est souvent effectuée dans le méthanol ou l'éthanol.

Le mélange des deux diastéréoisomères *cis* **183** et *trans* **184** est ainsi mis en réaction en présence de 10 équivalents de borohydrure de sodium dans l'éthanol à reflux. A l'issue de la réaction, on constate que seul l'isomère *trans* **184** est réduit en alcool **186** (Schéma IV-38).

En effet, l'isomère *cis* **183** comprend le groupement méthoxyméyle en position axiale engendrant un encombrement stérique important autour du groupement ester de méthyle, également en position axiale. L'approche du borohydrure de sodium et la réaction de réduction s'en trouvent limitées. Par contre, au cours de la même réaction, ce groupement ester de méthyle est transestérifié par l'éthanol dans les conditions relativement basiques, qui sont celles de cette réaction, pour générer le composé **185**.

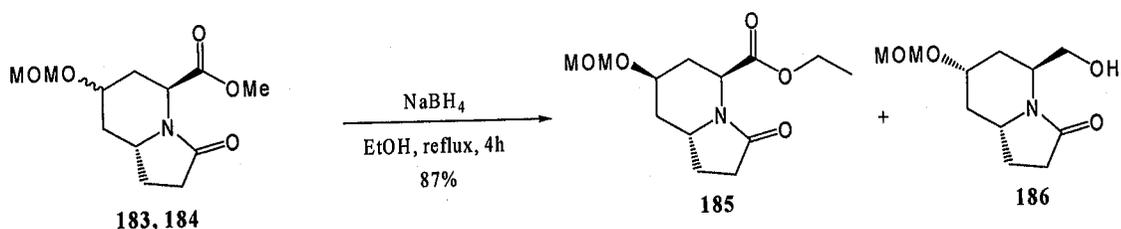


Schéma IV-38

La réduction est donc diastéréosélective et permet de séparer facilement les composés *cis* et *trans*. Il faut cependant noter que lorsque l'agitation est maintenue trop longtemps au reflux, une petite partie du composé **183** est également réduite.

La purification du produit de la réaction s'effectue par chromatographie flash en utilisant l'acétate d'éthyle et le méthanol (90 :10) ; le rendement dans ce cas est de 83%. Suite

à cette purification, nous avons pu récupérer le diastéréoisomère *trans* et un peu de son homologue *cis*, les deux identifiés par RMN proton.

IV. E. 4. . Azidation en présence de l'alcool libre

L'azidation en α de la fonction amide du lactame cyclique est envisagée afin d'introduire une fonction amine capable de rendre le site C₂ du bicyclic réactif vis-à-vis de d'autres fonctionnalisations. Ainsi, s'ouvrent plusieurs perspectives vers des analogues de mime RGD:

- Hydrolyse de l'azide en amine.
- Acétylation sur l'amine.
- Couplage peptidique.

La réaction est effectuée sur les alcools primaires *cis* **187** et *trans* **186** (Schéma IV-39) par le bis (triméthylsilyl) amide de potassium (2,2 éq.) comme base, et le trisylazide dans le THF anhydre. L'addition des réactifs se fait à -78°C. Après 1 à 2 minutes, l'acide acétique glacial (4,6 éq) est ajouté. Au départ le mélange réactionnel est agité entre 25- 30 ° C pendant 30 minutes. Après analyse RMN du produit obtenu (rendement de 60%), nous avons constaté que la partie hydrolyse n'a pas eu lieu. Par conséquent, la réaction a été reprise une deuxième fois à température ambiante pendant 48 heures et une troisième fois avec 9,2 éq d'acide, malheureusement le même problème a été rencontré.

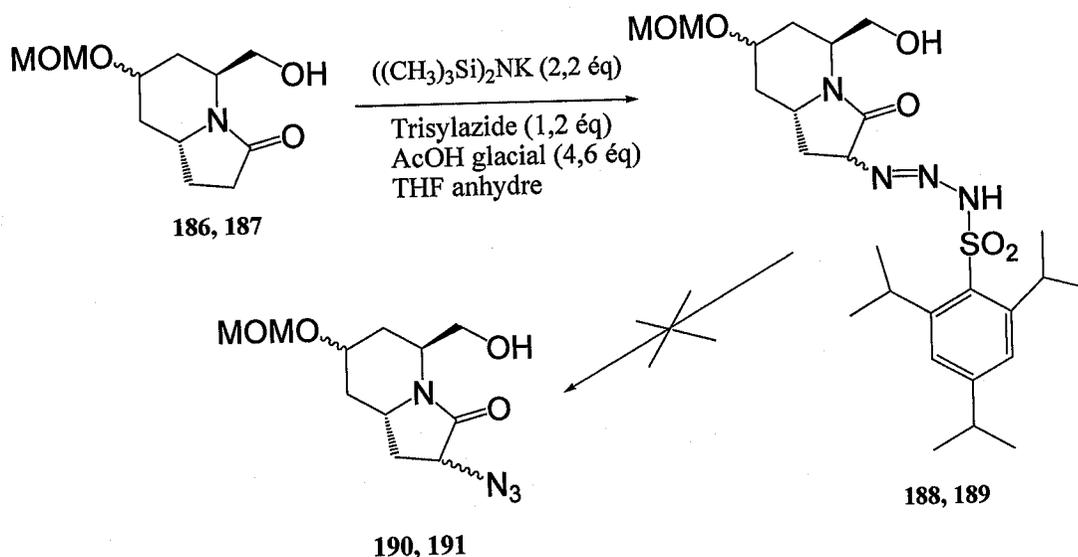


Schéma IV-39

IV.F. Conclusion partielle

De nombreuses méthodes de synthèse de lactames bicycliques substitués ou non sont connues dans la littérature et nécessitent un nombre d'étapes parfois élevé, avec des rendements globaux très variables. D'autre part, ces synthèses ne sont pas toujours stéréosélectives, la configuration des divers centres asymétriques étant déjà apportée par les composés de départ. Certaines de ces synthèses font intervenir des cyclisations par réaction *via* un ion acyliminium.

Les composés 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane comportant la liaison amide sur le cycle le plus petit sont beaucoup moins représentés dans la littérature. Les composés **79** et **80** comportant un squelette 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane ont pu être obtenus en 3 étapes à partir du chlorhydrate d'allylglycine *via* un ion acyliminium avec un rendement global de 60%. La synthèse du bicyclic a également été effectuée et validée en série énantiopure.

Par la suite, les alcools primaires (*cis* et *trans*) obtenus ont été engagés dans d'autres travaux en parallèle, consistant à introduire des chaînes latérales portant les fonctions acide carboxylique et guanidinium, fondamentales pour l'obtention des mimes de peptide RGD.

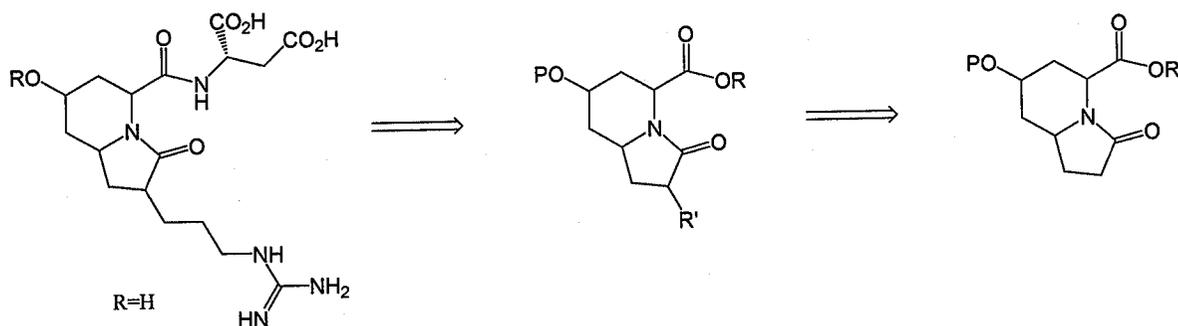


Schéma IV-40

CHAPITRE V

CHAPITRE V

EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE

V. A. Introduction

Ce chapitre est une compilation de résultats relatifs à l'évaluation de l'activité biologique de nos produits. Des tests exhaustifs ont été réalisés aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* par F.Z. Baba Ahmed, sous la direction de Mme le Pr H. Merzouk dans le cadre d'une thèse de doctorat ès Sciences⁽²²⁰⁾. Nous ne reprenons ici que les résultats qui mettent en exergue cette activité qui peut déboucher sur le développement d'un médicament, et ne mentionnons pas tous les résultats obtenus par l'équipe des biologistes, et qui intéressent plus cette branche que la chimie.

L'ensemble des tests a été réalisé avec des lymphocytes humains, afin d'évaluer une activité anticancéreuse sur les lymphocytes, dans la mesure où ces cellules spécialisées, sont les premières à être impliquées dans les processus de défense de l'organisme^(221,222). Comme nous l'avons vu au chapitre I, et à cause des effets secondaires de la chimiothérapie classique, les stratégies actuelles de l'immunothérapie visent à stimuler une réponse immunitaire dirigée spécifiquement contre les antigènes tumoraux, conduisant à la destruction de cellules cancéreuses par des lymphocytes tueurs (lymphocytes TCD8 cytotoxiques et les cellules dendritiques)^(8, 40).

Les aziridines ainsi que leurs dérivés sont connus comme des agents alkylants⁽²²³⁾ qui se transforment en ion aziridinium^(224, 225); c'est cet ion qui réagit directement sur l'ADN. Ceci explique pourquoi les substances analogues sont largement utilisées dans le traitement de différents types de tumeurs⁽²²¹⁾, car leur fixation sur l'ADN de cellules tumorales est plus rapide que sur les cellules saines.

-
- (220) F.Z. Baba Ahmed "Contribution à l'étude des effets des N-acyl-2-hydroxyméthylaziridines : - *in vivo* : essais de toxicité aigüe. - *in vitro* : modulation du système immunitaire ». Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaid. 23.11.2008
- (221) a) Han, I.; Kohn, H. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4648.
b) Skibo, E. B.; Islam, I.; Heileman, M. J.; Schulz, W. G. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 78.
- (222) Nikolaos, P.; Evans, A. C.; Blank, T. J.; Scott Miller, J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2879.
- (223) a) Tomasz, M.; Lipman, R.; Chowdary, D.; Pawlak, J.; Verdine, G.; Nakanishi, K. *Science.* **1987**, *235*, 1204.
b) Gargiulo, D.; Musser, S. S.; Yang, L.; Fukuyama, T.; Tomasz, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9388.
- (224) Rayner, C. M. *Synlett.* **1997**, 11.
- (225) Ince, J.; Shipman, M. D.; Ennis, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5887.

Signalons d'autre part que les cellules engagées dans l'ensemble des tests ont été obtenues des volontaires au CHU de Tlemcen avec d'une part, des témoins constitués par des femmes saines, et d'autre part, des femmes souffrant d'une tumeur du sein pour former le groupe d'étude. Enfin, ce travail constitue une étape importante dans les expérimentations précliniques ayant pour but de s'assurer de la non toxicité des substances chimiques nouvellement synthétisées en vue d'une éventuelle application thérapeutique.

V. B. Tests biologiques

V. B. 1. Préambule

Dans le but d'étudier le comportement des aziridines sur les cellules cancéreuses, et plus particulièrement vis-à-vis du cancer du sein, les tests sont effectués avec comme objectifs prédéfinis suivants :

- ✓ Détermination des effets *in vitro* des produits sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par les agents mitogènes, sans oublier d'évaluer une éventuelle sécrétion des interleukines, agents anti cancéreux, dans les cellules dont la prolifération était avérée.
- ✓ Examiner les effets *in vitro* des mêmes produits sur les lymphocytes de patientes atteintes d'un cancer du sein.
- ✓ Enfin, déterminer les effets *in vivo* des aziridinylopeptides chez le rat Wistar, animal de laboratoire choisi pour les essais toxicologiques.

V. B. 2. Principe des tests

Le protocole expérimental comporte deux parties, l'une *in vitro* et l'autre *in vivo* :

V. B. 2. a. Etude *in vitro*

Les échantillons de sang utilisés pour ces tests proviennent de femmes atteintes d'un cancer du sein dans le service de maternité du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen (CHU), et de femmes volontaires en bonne santé prises comme témoins. Les prélèvements sanguins (4 ml) se font dans des tubes contenant un anticoagulant (héparine ou EDTA), et servent à l'isolation des lymphocytes le jour même du prélèvement.

L'isolation des lymphocytes se fait grâce au ficoll (densité : 1,075) qui permet l'agrégation des hématies. Les hématies ont une densité inférieure à celle du ficoll et se trouvent à l'interface entre le ficoll et le plasma. Après centrifugation, les lymphocytes

(densité : 1,063) sont facilement récupérés du plasma et lavés avec une solution saline équilibrée. Elles sont ensuite gardées dans un milieu de culture (RPMI 1640). Le comptage des cellules viables est réalisé après coloration au bleu trypan. Enfin, la suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4.10^6 cellules/ml.

Les substances testées sont solubilisées dans le DMSO et l'éthanol (solution mère de 100mM), et les concentrations finales sont respectivement de 0 μ M ; 1 μ M ; 10 μ M ; 50 μ M ; 100 μ M ; 500 μ M ; 1mM ; 5mM et 10mM avec un volume final de 1ml dans le milieu RPMI 1640 (gardées à 4°C pendant 12h). Les tests suivent l'ordre chronologique suivant :

- Test de transformation lymphoblastique (TTL) : ce test permet d'étudier la prolifération *in vitro* des lymphocytes T et B stimulés par des agents mitogènes spécifiques : concanavoline A (cellules T) et la lipopolysaccharide (LPS : cellules B). Les lymphocytes sont mises en culture (4.10^5 cellules/puit) en présence de l'aziridine à différentes concentrations finales sur des plaques ELISA de 96 puits ; ensuite, elles sont incubées 48h à 37°C, en présence 5% de CO₂.
- Comptage des lymphocytes (par cellule de Malassez au microscope optique) après coloration au bleu de trypan.
- Détermination de la prolifération lymphocytaire par la méthode du MTT (bromure de 3-(4,5-diméthyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) qui permet de calculer l'indice de prolifération (IP) après l'incubation.
 - **IP = DO** (cellules stimulées) finale/ **DO** (cellules non stimulées) initiale
 - **DO : Densité Optique** mesurée par un spectrophotomètre à 630nm
- Dosage des protéines et interleukines (II et VI) pour la détermination de la prolifération lymphocytaire.
- Analyse de la composition en acides gras des phospholipides membranaires par HPLC et CPG dans le but de déterminer la fluidité membranaire des lymphocytes.
- Extraction et analyse de l'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose (révélation par l'acridine orange ou le bleu de Nile). L'image de l'électrophorèse est celle d'une boule pour l'ADN intact, alors qu'elle ressemble à la queue d'une comète, lorsque la structure de l'ADN est altérée.

V. B. 2. b. Etude *in vivo*: Essais de toxicité aigue

Il faut noter qu'au cours du long processus de découverte de toute substance à pouvoir thérapeutique, les tests de toxicités aiguës constituent la première étape des expérimentations précliniques qui représentent un préalable indispensable à tout essai chez l'être humain. Le rat demeure l'animal le plus utilisé dans ces études ; aussi le protocole expérimental est-il effectué conformément aux lignes directrices de l'OCDE et de la FDA (Figure V-1).

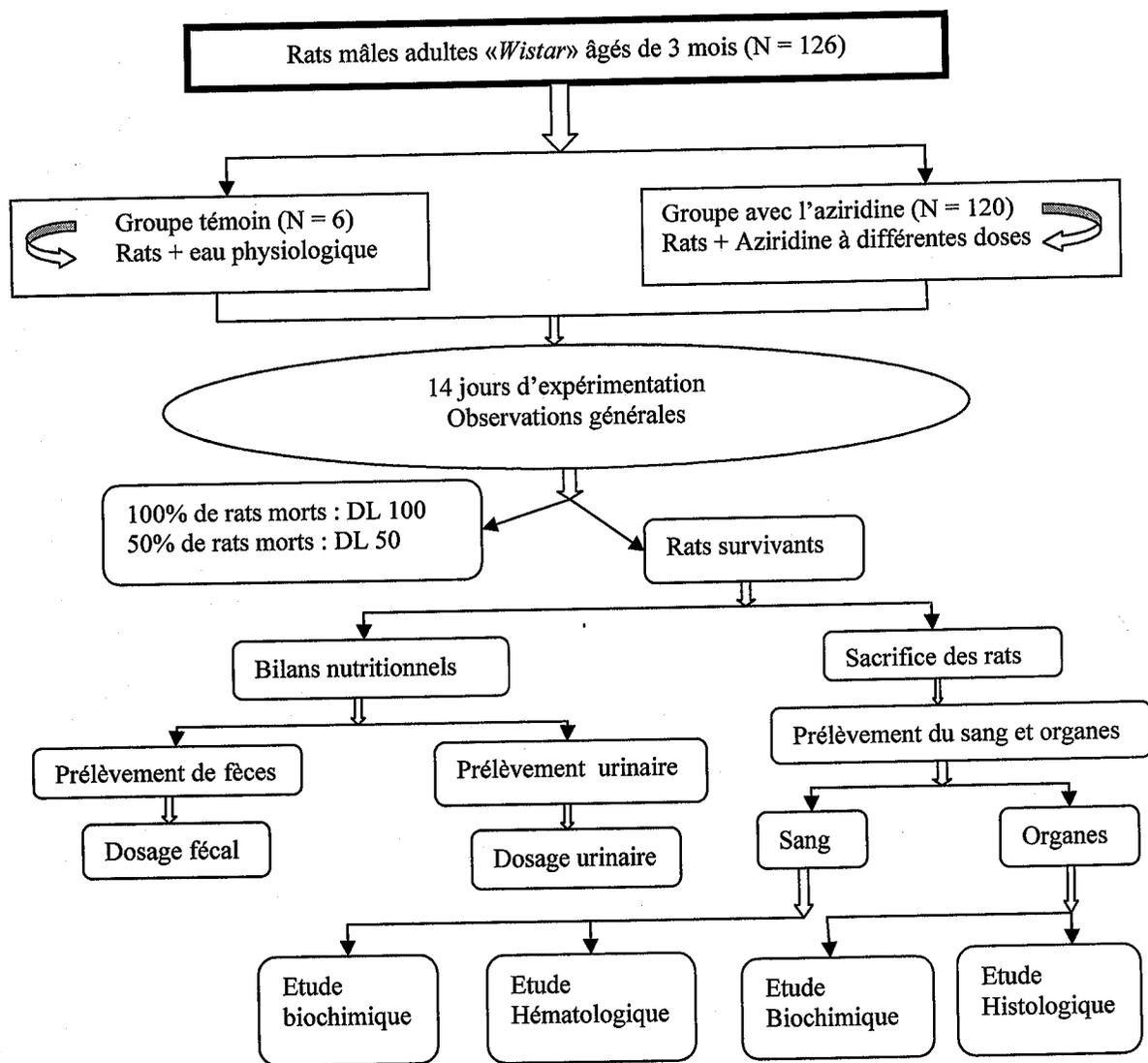


Figure V-1

V. B. 3. Interprétation des résultats

Avant de procéder à une analyse succincte des différents histogrammes, nous donnons dans le tableau suivant les valeurs moyennes de la formule leucocytaire chez les témoins et chez les sujets atteints d'une tumeur du sein.

Formule leucocytaire par mm ³	Témoins (n=10)	Sujets cancéreux (n=10)
Globules blancs	8000 ± 25,40	2 500 ± 19,70
Lymphocytes	2880 ± 30	1 250 ± 12
Polynucléaires	4880 ± 54,10	1 050 ± 38,12
Monocytes	240 ± 10,3	200 ± 7,40

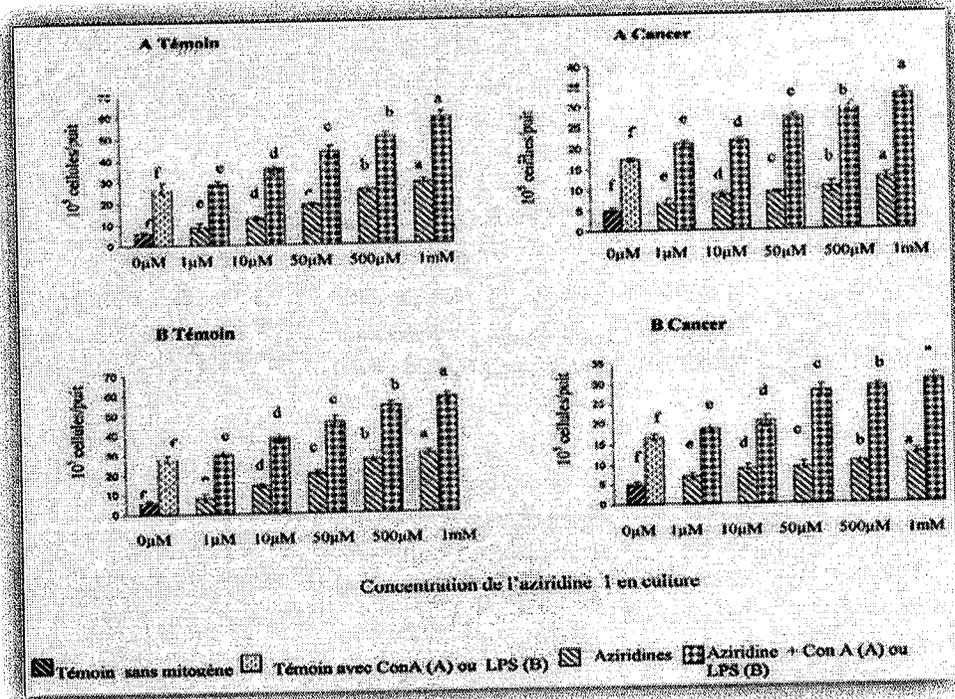
Tableau V-1 : formule leucocytaire

Ce tableau montre clairement la dépression des moyens de défense immunitaire chez les sujets malades, en ceci que ce sont les cellules spécialisées dans la lutte contre les infections extérieures qui sont bien touchées, ce qui se traduit par une diminution sensible de leur nombre, spécialement en ce qui concerne les globules blancs en général et les polynucléaires en particuliers.

Les histogrammes présentés ci-dessous, comme tous les autres qui viendront à leur suite, reprennent les résultats obtenus avec l'aziridine provenant de la glycine (Gly), amino acide non substitué et utilisé comme témoin, et ceux obtenus avec l'aziridine provenant de la phénylalanine (Phe). Cette dernière a été celle qui a fourni les résultats les plus prometteurs.

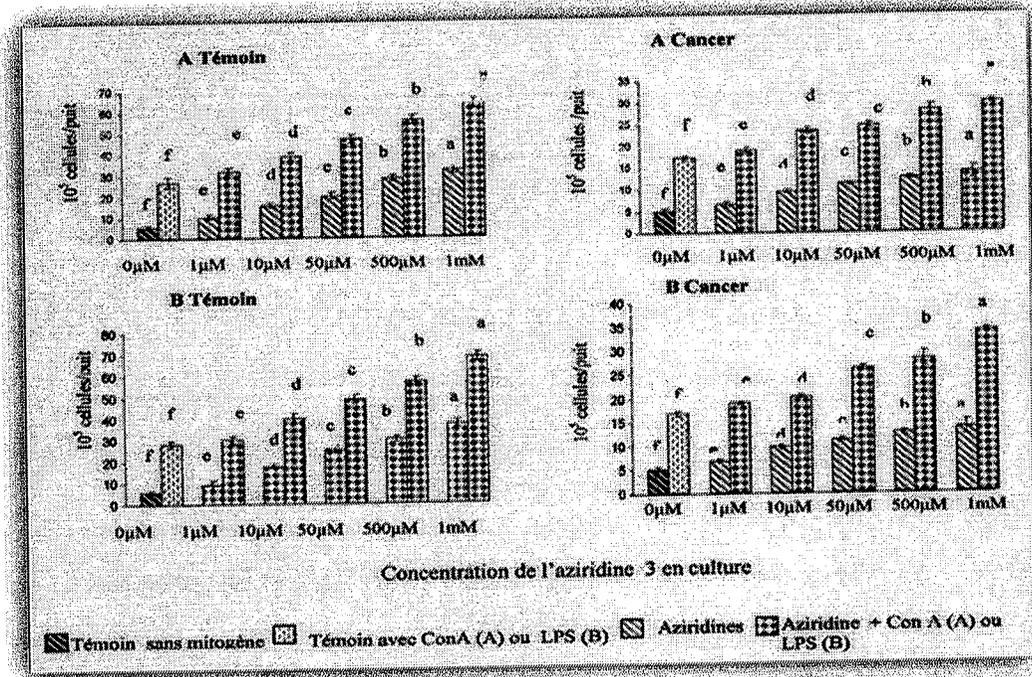
L'histogramme 1 doit être lu dans le sens vertical de la manière suivante :

- A traduit dans tous les cas les effets de la concavoline A sur les lymphocytes T des témoins, mais aussi sur ceux de sujets malades.
- B représente par contre les effets obtenus en présence d'un autre agent mitogène, le liposaccharide (LPS) sur les lymphocytes B, aussi bien chez les sujets sains que chez les malades.
- Sur le même histogramme, on trouve aussi les effets de l'addition de l'aziridine sur la potentialisation de l'activité de l'agent mitogène.



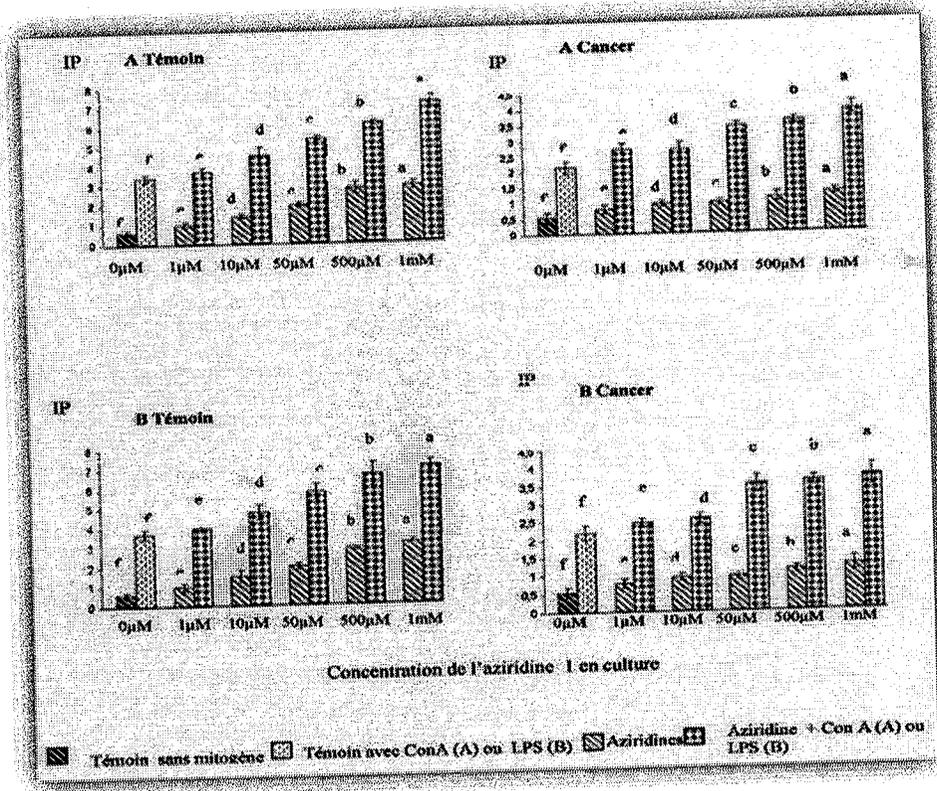
Histogramme V-1 : aziridine 1 (Gly)

On voit clairement l'action potentialisatrice de l'aziridine de référence, celle provenant de la glycine (Gly) sur l'activité mitogène de la concavaline A ainsi que celle de la LPS. Cette action est dose dépendante dans tous les cas.

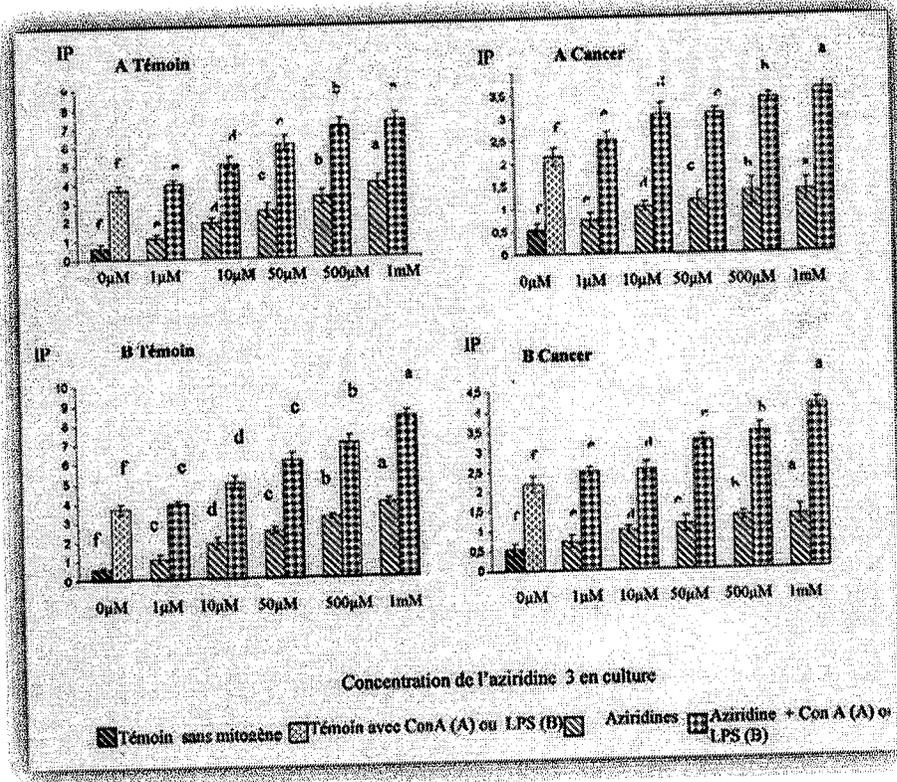


Histogramme V-2 : aziridine 3 (Phe)

La même observation peut être faite avec l'aziridine provenant de la phénylalanine, mais cette fois-ci, la potentialisation est plus importante.



Histogramme V-3 : Indice de Prolifération (IP Gly)



Histogramme V-4 : IP (Phe)

Les histogrammes 3 et 4 montrent des résultats qui vont dans le même sens ; il s'agit de l'indice de prolifération, **IP**, (rapport de la densité optique de cellules stimulées sur celles de cellules non stimulées)

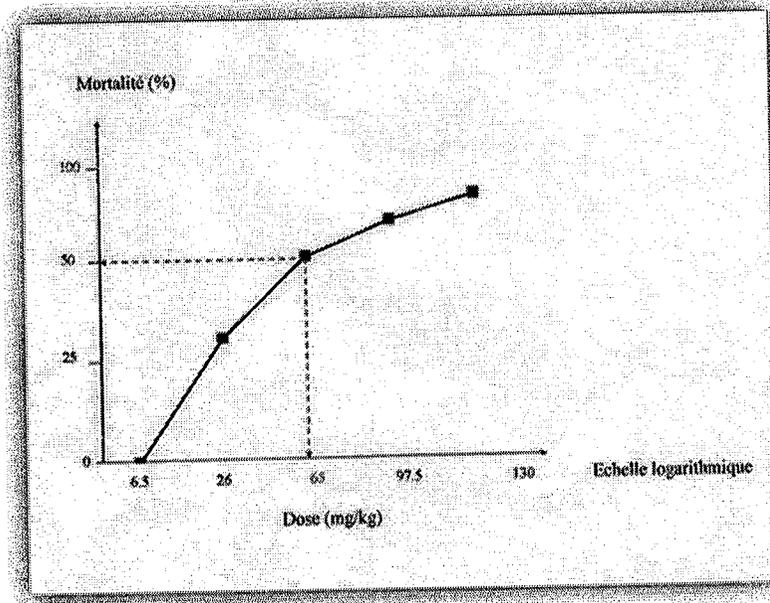


Figure V-2 : détermination de la dose létale (Gly)

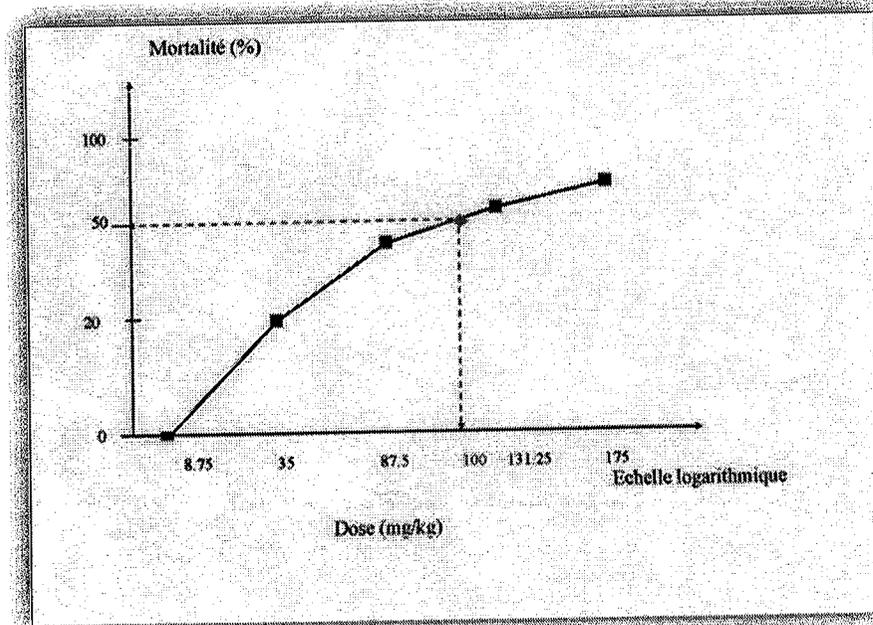


Figure V-3 : détermination de la dose létale (Phe)

Les deux aziridines sont classées comme moyennement toxiques car la première possède une DL50 de 65mg/kg, tandis que de la deuxième est de 87,5mg/kg.

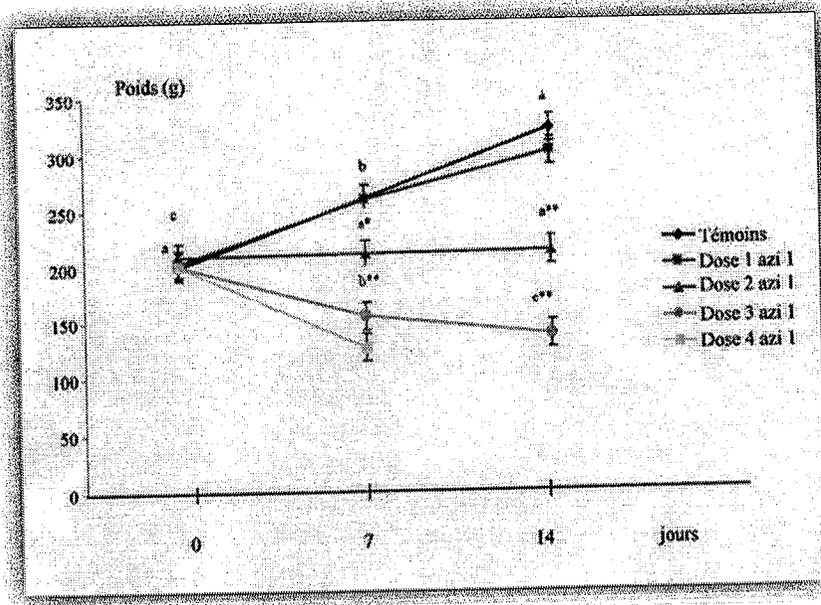


Figure V-4 : variation du poids corporel des rats

Chez les témoins, l'administration de l'aziridine n'affecte pas une prise de poids normale durant la croissance des rats. Cependant, seule l'aziridine (Gly) entraîne une croissance normale, alors que les autres induisent une perte de poids dose dépendante, qui a pour conséquence l'apparition de signes de maladie chez la bête au bout de 14 jours.

Ceci peut être expliqué en termes d'effets secondaires du produit, malgré le gain obtenu en lymphoprolifération. Ceci ne doit surprendre en rien, car toutes les substances thérapeutiques actuellement en usage sont douées, en plus de leurs effets bénéfiques, d'effets secondaires.

Enfin, la dernière figure représente la variation des paramètres hématologiques des rats d'expérience à l'issue de 14 jours d'expérimentation. On peut faire les observations suivantes :

1. L'injection de la dose 1 ne provoque pas de variations significatives de taux de globules blancs (GB), globules rouges (GR) et d'hémoglobine (HG), par rapport au témoin.
2. L'administration de doses élevées de produits se traduit par une augmentation importante de globules blancs (prolifération), en même temps que diminuent les globules rouges et le taux d'hémoglobine. Ces effets sont amplifiés davantage à la dose 3 comparés au témoin. Ceci indique une sensible amélioration de l'état des rats et, dans le meilleur des cas, pourrait être transposé à l'être humain souffrant d'une

tumeur et qui, comme on l'a vu précédemment, subit une forte altération de ses paramètres hématologiques lorsqu'il est affecté par un cancer.

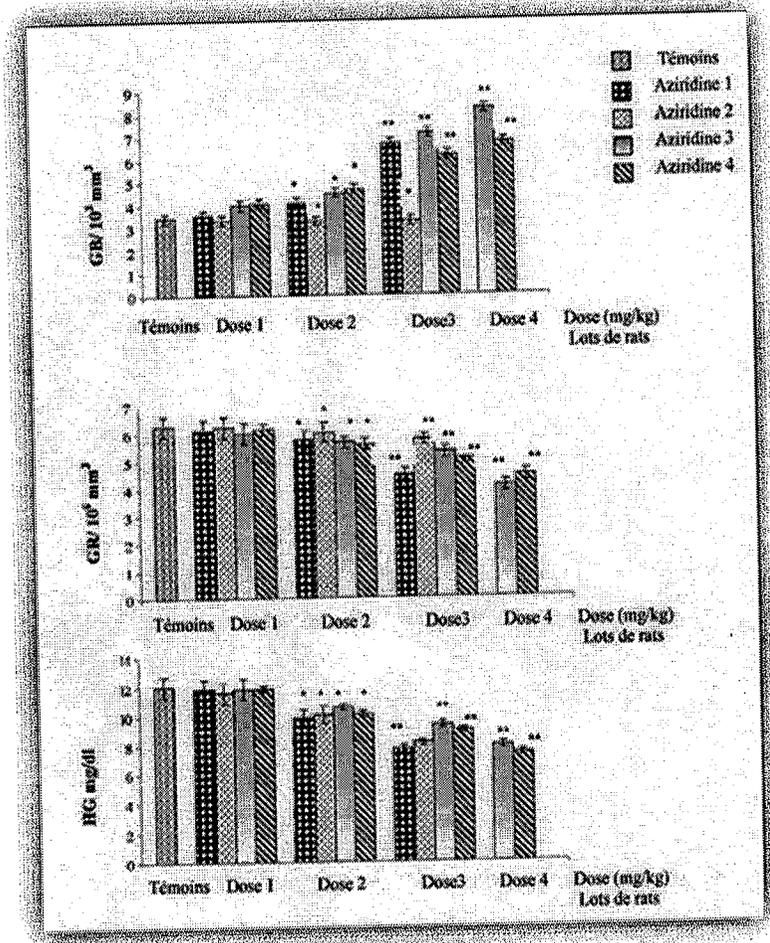


Figure V-5 : variation de paramètres hématologiques

V. C. Conclusion partielle

L'étude in vitro nous a permis de montrer que les aziridinylpeptides synthétisés dans notre laboratoire sont capables de renforcer le système immunitaire. Ceci est prouvé par une augmentation significative de la prolifération des lymphocytes T et B, ainsi que la sécrétion des interleukines 2 et 6 aussi bien chez les femmes témoins (en bonne santé) que chez les femmes atteintes d'un cancer du sein.

En ce qui concerne les peptidomimétique cycliques, synthétisées dans le laboratoire de Pr. J. Royer à Paris V, L'affinité des mimes obtenus est évaluée à l'Institut Curie à l'aide de tests d'adhérence cellule-matrice sur des lignées de cellules présentant deux types majeurs d'intégrines dont l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ impliquée dans l'angiogénèse. Ceux-ci n'ont pas révélé d'activité importante sur ces deux types d'intégrines.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Notre travail se situe dans le large domaine de recherches menées depuis de nombreuses années pour juguler le cancer, ou du moins en réduire l'incidence et l'impact sur la santé des populations. A cet effet, nos produits cibles font partie des peptidomimétiques, car ces derniers présentent une plus grande stabilité aux enzymes métaboliques et sont plus aptes à atteindre leur cible que les peptides naturels. De plus, leur utilisation dans le domaine de la thérapie anticancéreuse a montré tout le bénéfice que l'on peut en tirer comme le montrent les exemples suivants⁽²²⁶⁾ :

- des peptides radio-marqués (après incorporation d'atomes ^{125}I , ^{18}F mais aussi ^{64}Cu) ont été utilisés pour diagnostiquer la présence de cellules tumorales.
- ils peuvent également être utilisés pour véhiculer des agents thérapeutiques afin de les délivrer de façon spécifique aux cellules tumorales. L'internalisation de composés dans d'autres types de cellules est également possible par l'intermédiaire de ces peptides.
- ils ont également été incorporés à la surface de polymères pour la conception de biomatériaux permettant de fixer ou d'adhérer à des types cellulaires spécifiques. En effet, ces biomatériaux sont destinés à aider la régénération de tissus, les greffes osseuses, la transplantation d'organes... en promouvant l'attachement des cellules et leur multiplication.

Dans l'avenir, une meilleure compréhension des mécanismes de reconnaissance et de communication des récepteurs biologiques devrait permettre un meilleur développement d'agents antagonistes offrant de nombreuses applications et des perspectives prometteuses.

Signalons que l'examen des structures secondaires des peptides et protéines, et notamment celui des coudes inverses (coude β ou coude γ) a été à l'origine d'une stimulation de recherches pour la conception de peptides de masse moléculaire plus petite et de structure conformationnellement contrainte. Cela était dû au fait que de grosses structures posent souvent le problème de leur transport dans l'organisme et d'une certaine néphrotoxicité.

(226) Dunehoo, A.L.; Anderson, M.; Majumdar, S.; Kobayashi, N.; Berkland, C.; Siahaan, T.J. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006, 95, 1856-1872.

Dans son ensemble, notre travail est, d'une part, une contribution à la chimie des aziridines, composés fort répandus dans la littérature de par leurs diverses utilisations comme synthons stéréospécifiques. Il s'agit aussi de substances qui sont à l'origine de propriétés biologiques intéressantes en chimie thérapeutique. Voilà pourquoi nous avons choisi de préparer des *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridines à partir des aminoacyliminophosphoranes en réaction avec le glycidol.

De nombreuses méthodes de synthèse des aziridines à partir des amino acides existent dans la littérature. Cependant, toutes ces conversions sont effectuées sur la fonction amino des amino acides, alors que notre approche travaille exclusivement sur la fonction carboxyle. Ce choix n'a pas été fait au hasard : en effet, seule cette fonction nous offrait la possibilité d'accéder en peu d'étapes à des *N*-acylaziridines, produits cibles que nous avons cherché à obtenir pour l'élaboration de nouveaux types de peptidomimétiques.

Tout le processus de synthèse qui va de l'acylazide à l'aziridine se déroule dans le même ballon de réaction et comporte trois étapes. Il implique aussi l'utilisation de réactifs couramment trouvés dans un laboratoire de synthèse organique. La première étape consiste à faire réagir un *N*-acylazide (obtenu à partir d'un α -amino acide *N*-protégé), avec la triphénylphosphine. Il se forme l'imino-phosphorane correspondant, intermédiaire que nous avons pu isoler et identifier. De plus, et dans un cas précis, nous avons pu en étudier la réactivité vis-à-vis de quelques nucléophiles plus doux que l'alcoolate du glycidol, ce qui nous a fait déboucher sur des structures totalement inattendues et originales dans ce genre de processus.

D'autre part, et dans l'intention d'explorer davantage le domaine de peptidomimétiques, nous avons abordé un travail basé sur un lactame de type 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane, peptidomimétique bicyclique très rigide utilisé dans la synthèse des mimes de RGD4 dans le laboratoire de Dr. J. Royer à l'Université René Descartes-Paris V. Le lactame est facilement accessible par condensation d'un acide aminé insaturé avec le diméthoxydihydrofurane et cyclisation de l'oléfine sur l'ion *N*-acyliminium. Il a été obtenu avec de bons rendements dans l'acide formique. Cette cyclisation est totalement stéréosélective, et elle ne conduit qu'à une seule configuration sur le carbone en α de l'azote. L'élaboration du RGD est ensuite réalisée en effectuant quelques aménagements fonctionnels sur les chaînes latérales du 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcane, afin d'aboutir à des fonctions

carboxylate et guanidinium, responsables de la reconnaissance du mime par les intégrines impliquées dans l'angiogénèse tumorale.

L'affinité des mimes RGD synthétisées à partir des composés **A** est évaluée à l'aide de tests d'adhérence cellule-matrice sur des lignées cellulaires présentant deux types majeurs d'intégrines, dont l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ impliquée dans l'angiogénèse. Ceux-ci n'ont pas révélé d'activité importante sur ces deux types d'intégrines.

Par contre les composés **B** montrent aussi bien dans la série racémique qu'en série énantiopure, une intéressante activité sur la prolifération *in vitro* des lymphocytes humains ; cette activité est très remarquable dans le cas des aziridinylpeptides obtenues à partir de la phénylalanine. Ces résultats sont remarquables même dans le cas de lymphocytes isolés de patients souffrant d'une tumeur du sein. En effet, le renforcement du système immunitaire obtenu suite à la présence de nos aziridines est très significative tant chez la personne saine que chez une autre atteinte d'un cancer de sein.

En résumant tout ce qui précède, le travail effectué est une contribution significative à la recherche de nouveaux antagonistes dans la thérapie anticancéreuse.

Comme perspective, notre travail s'oriente vers deux axes totalement distincts en prenant comme point de départ des aminoacides, afin d'effectuer une synthèse asymétrique complète de deux types de peptidomimétiques cycliques (1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]alcanes **A**) et linéaires (aziridinylpeptides **B**). Dans le cas de dérivés linéaires (**B**), la présence d'une fonction hydroxyméthyle sur la chaîne latérale nous ouvre de nombreuses perspectives en matière de fonctionnalisation avec de substances bioactives.

Ces mimes peptidiques permettent d'ouvrir d'autres perspectives potentielles si nous rassemblons les deux composés **A** et **B** (aziridinylpeptides de la phénylalanine) sur la même molécule (**Figure 1 et 2**), en créant une molécule au départ « chimérique », mais qui pourrait receler des propriétés jusque là insoupçonnées.

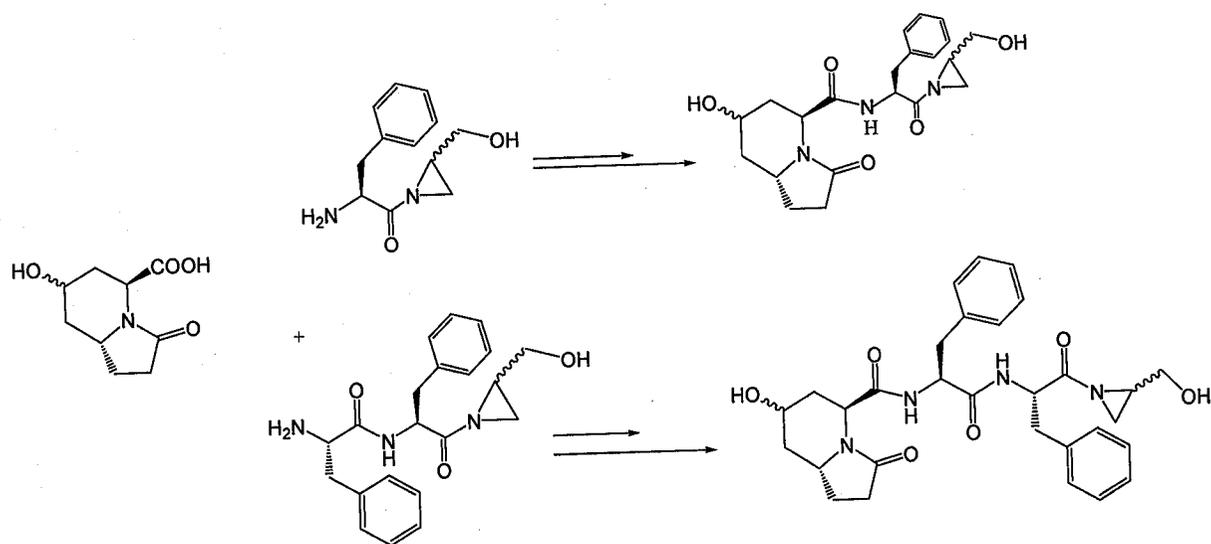


Figure 1

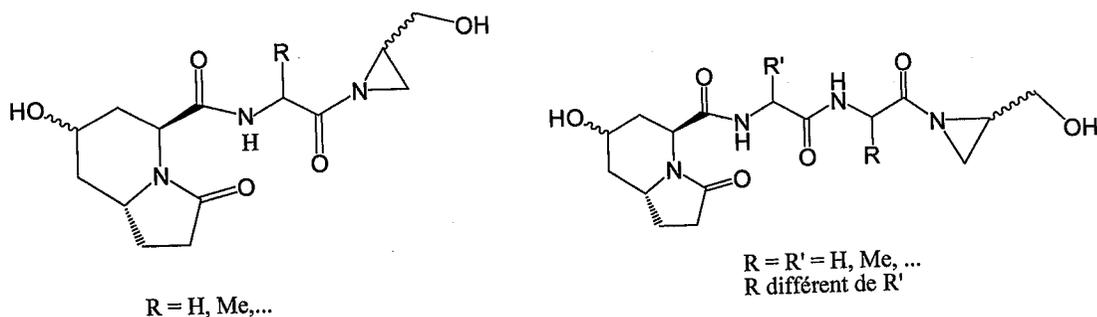


Figure 2

Suivant notre schéma de synthèse, une grande diversité de mimes peuvent être obtenus en jouant sur les nombreuses autres variantes possibles : la longueur des chaînes latérales, l'incorporation de la fonction guanidyle et acide carboxylique sur d'autres sites en vue de moduler l'activité biologique des mimes. Toutes ces variantes font partie des perspectives à développer dans notre laboratoire et elles ne nous demandent pas de moyens exceptionnels pour leur mise en œuvre.

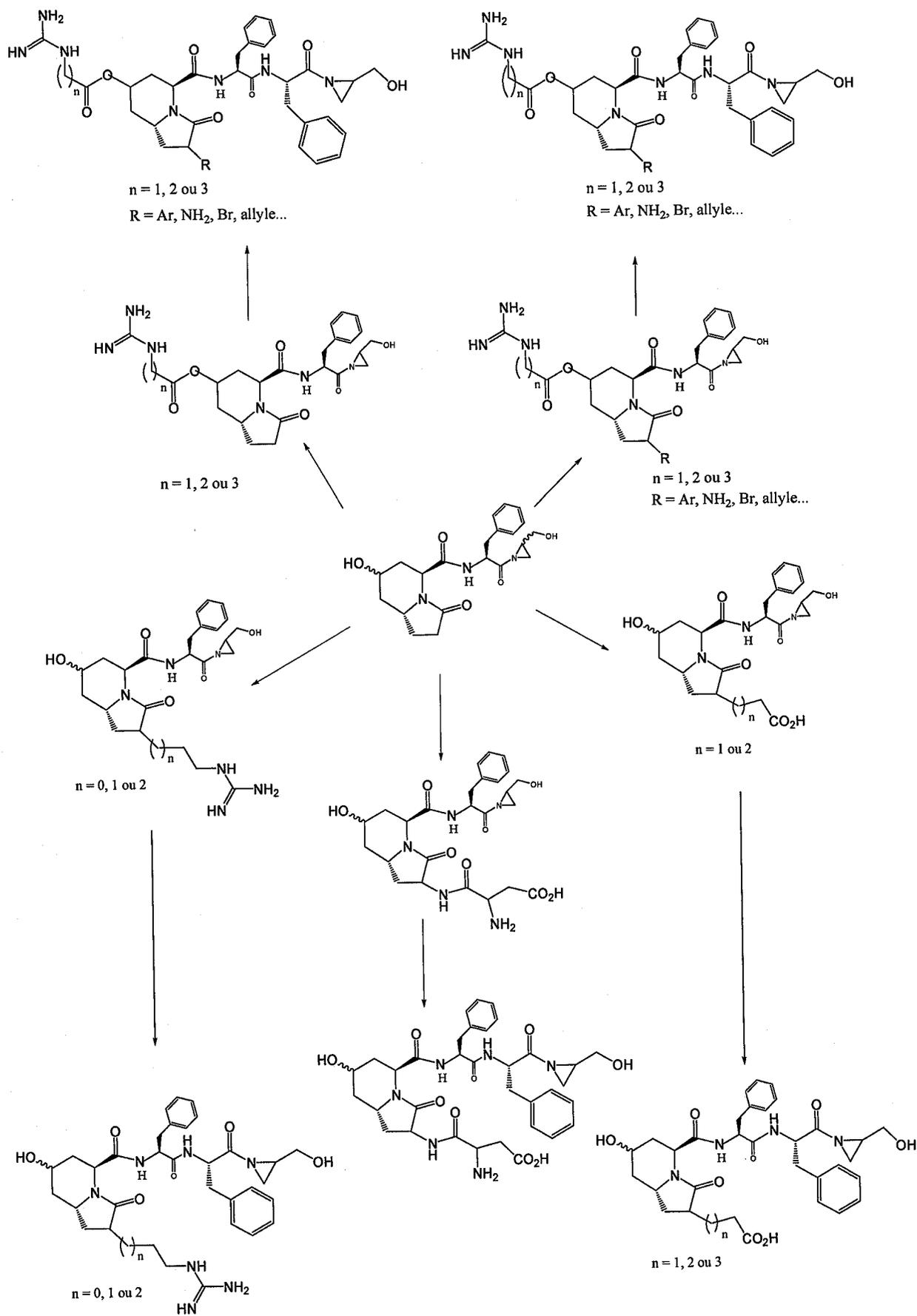


Figure 3

PROTOCOLE

Procédé A : *passage par un chlorure d'acyle*

Dans un ballon tricol muni d'un réfrigérant et sous courant d'azote, 5 équivalents de chlorure de thionyle ou d'oxalyle (0,074 moles,) sont ajoutés sur l'acide (2,2g, 0,015 moles) dans le toluène. Le mélange est porté au reflux pendant 2h30, ensuite le toluène et l'excès du chlorure de thionyle ou d'oxalyle sont évaporés à l'aide d'un dispositif de distillation relié directement au ballon réactionnel. Le résidu obtenu est porté à 0°C pour effectuer l'addition de 1,1 équivalent du NaN₃ (1,07g, 0,0165 moles) avec le DMF anhydre. Ensuite, on laisse le mélange agiter à 40°C pendant une nuit. A la fin, on lui ajoute de l'eau (50 ml) puis, on lave successivement avec une solution à 5% d'HCl (3x25ml) et avec de l'eau saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur CaSO₄ et le solvant est chassé sous vide.

Procédé B : *Méthode de PALOMO*

Etape 1 : préparation du réactif de PALOMO

Ce premier réactif est préparé *in situ* dans une ampoule à décanter de 50 ml à partir d'un mélange de benzène sec (15 ml), de DMF (0,03 moles), et de SOCl₂ (0,033 moles). Les différents réactifs sont additionnés dans l'ordre indiqué ci-dessus. Après 5 min, deux phases se forment, et le réactif d'activation du carboxyle se trouve dans la phase inférieure.

Etape 2 :

L'acylazide est préparé en additionnant le réactif obtenu ci-dessus à une suspension contenant l'acide (4,4g, 0,03 moles), l'azoture de sodium (4g, 0,06 moles), le bromure de tétrabutylammonium (0,003 moles) et la pyridine (0,06 moles) dans le dichlorométhane sec. On laisse agiter toute une nuit à température ambiante. On ajoute au mélange refroidi de l'eau (50 ml), on sépare la phase organique, puis on lave successivement avec une solution à 5% d'HCl (3x25ml) et avec de l'eau saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur CaSO₄ et le solvant est chassé sous vide.

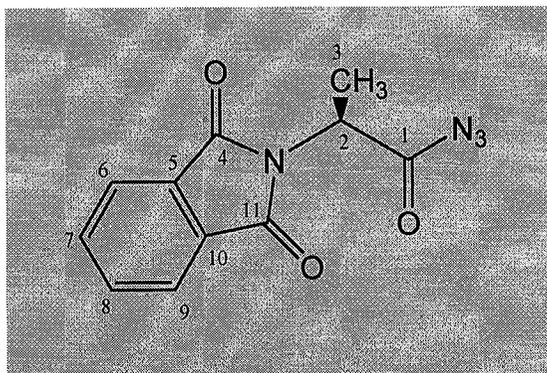
CARACTERISATION

Rdt : procédé A: 50%, procédé B: 82%

Tf = 92 °C

I.R (cm⁻¹): 2148,11 (N₃), 1777 (C=O phtalimido), 1723 (C=O acyle)

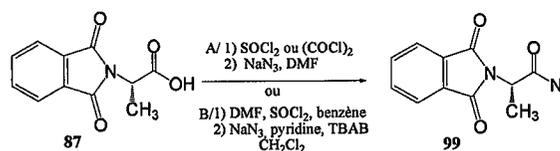
RMN ¹H (300MHz ; δ : ppm, CDCl₃): 4,5 (s, 2H₂, CH₂), 7,83 (m, 4H₅₋₈, Ft).



99: azide de N-phtalimido-L-alanyle

C₁₁H₈N₄O₃

M= 244,09 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédé A et B).

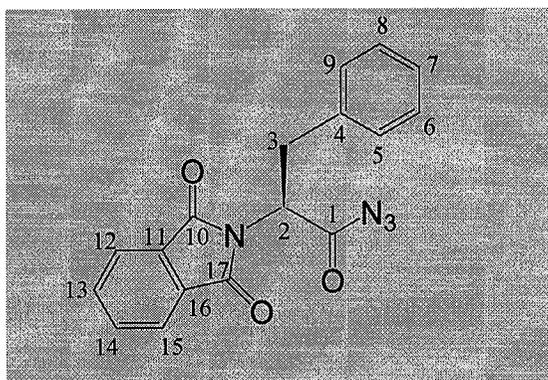
CARACTERISATION

Rdt : procédé A : 60%, procédé B : 93%

Tf = 92°C

I.R (cm⁻¹) : 2145,54 (N₃), 1730 (C=O phtalimido), 1718 (C=O acyle).

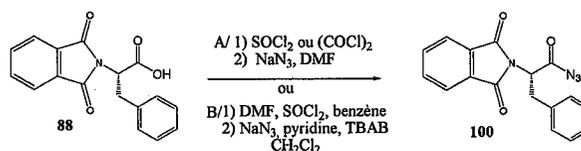
RMN ¹H (300MHz; δ : ppm, J: Hz, CDCl₃) : 1,68 (d, ³J= 8Hz, 3H₃, CH₃), 3,02 (q, ³J=8Hz, 1H₂, CH), 7,83 (m, 4H₆₋₉, Ft).



100 : azide de N-phthalimido-L-phénylalanyle

$C_{17}H_{12}N_4O_3$

M = 320,19 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédés A et B).

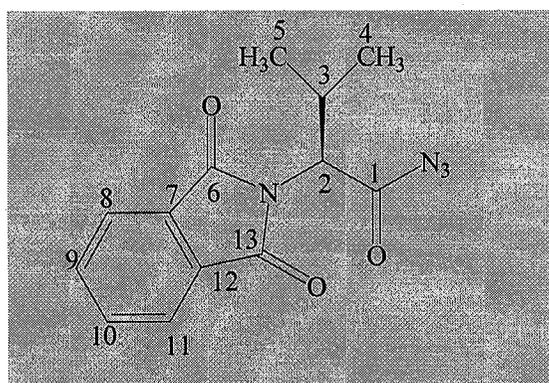
CARACTERISATION

Rdt : procédé A: 45%, procédé B: 95%

Tf = 70°C

I.R (cm^{-1}) : 2360,44 (N₃), 1720 (C=O phthalimido), 1716 (C=O acyle) .

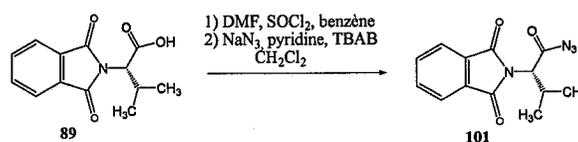
RMN ¹H (300MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃): 3,66 (d, ³J= 8Hz, 2H₃, CH₂), 5,14 (t, ³J= 8Hz, 1H₂, CH), 7,20 (m, 5H₅₋₉, Ph), 7,75 (m, 4H₁₂₋₁₅, Ft).



101 : azide de N-phthalimido-L-valinyle

$C_{13}H_{12}N_4O_3$

M = 279,72 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédé B).

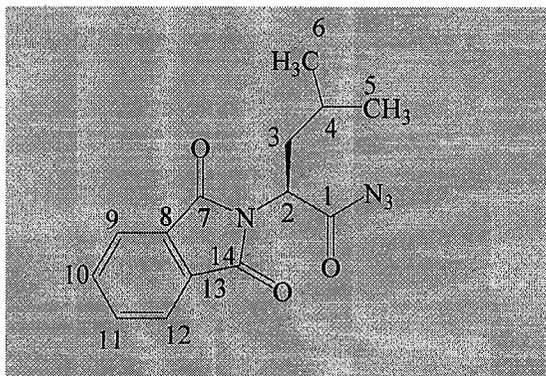
CARACTERISATION

Rdt : procédé B: 86%

Produit pâteux

IR (cm^{-1}) : 2360 (N_3), 1772 ($\text{C}=\text{O}$ phtalimido), 1717 ($\text{C}=\text{O}$ acyle).

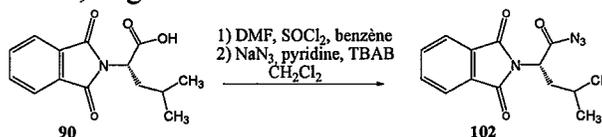
RMN¹H (200MHz δ : ppm, J: Hz, CDCl_3) : 0,94 (d, $^3\text{J}=6\text{Hz}$ 3H₄, CH₃), 1,17 (d, $^3\text{J}=6\text{Hz}$ 3H₅, CH₃), 2,85 (m, 1H₃, CH), 4,58 (d, $^3\text{J}=4\text{Hz}$, 1H₂, CH), 7,85 (m, 4H₈₋₁₁, Ft).



102 : azide de N-phtalimido-L-leucine

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$

$M = 286,27 \text{ g/mole}$



PROTOCOLE

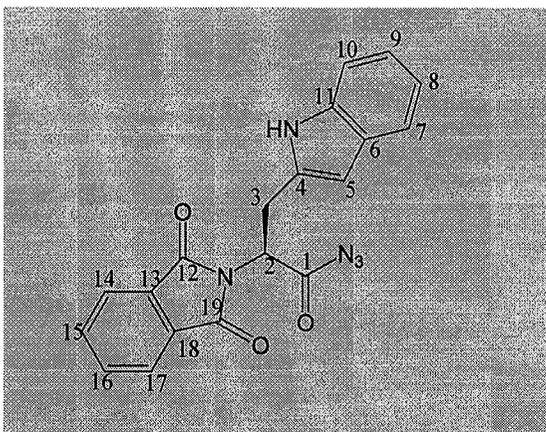
Identique à celui du composé **32** (procédé B).

CARACTERISATION

Rdt : procédé B: 82%

Produit pâteux

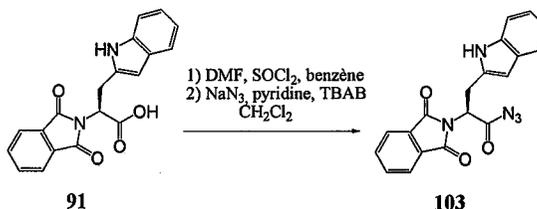
IR : 2360 (N_3), 1772 ($\text{C}=\text{O}$ phtalimido), 1717 ($\text{C}=\text{O}$ acyle).



103 : azide de N-phtalimido-L-tryptophane

$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_3$

$M = 480,41 \text{ g/mole}$



PROTOCOLE

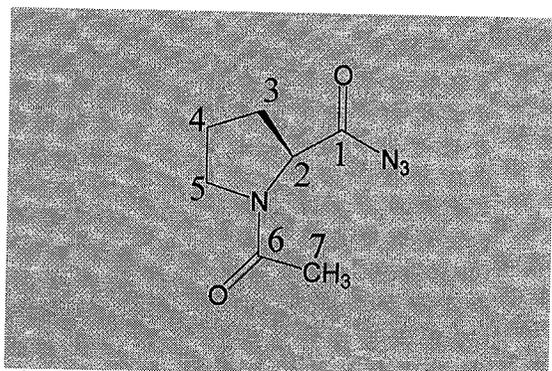
Identique à celui du composé **32** (procédé B).

CARACTERISATION

Rdt : procédé B : 45%

Tf = 90°C

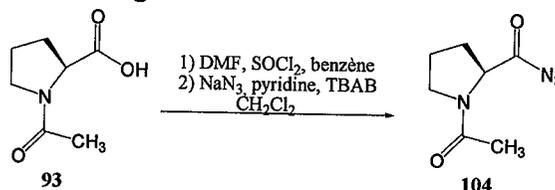
I.R (cm⁻¹): 2360 (N₃), 1772 (C=O phtalimido), 1717 (C=O acyle).



104 : azide de N-acétyl-L-prolyle

C₇H₁₀N₄O₂

M = 198,77 g/mole



PROTOCOLE

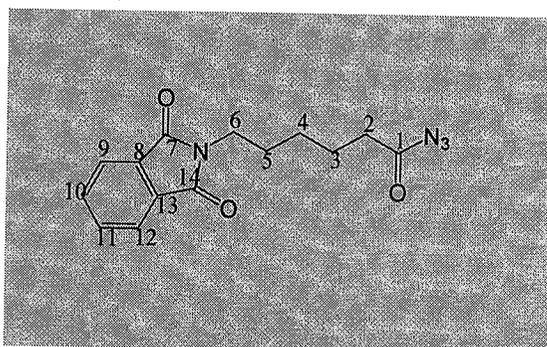
Identique à celui du composé **32** (procédé B).

CARACTERISATION

Rdt : procédé B : 40%

Produit pâteux

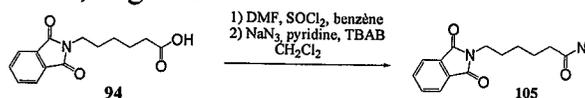
I.R (cm⁻¹): 2260 (N₃), 1772 (C=O acétyl), 1717 (C=O acyle).



105 : azide de 6 -phtalimidoaminocaproyle

C₁₄H₁₄N₄O₃

M = 286,18 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédé B).

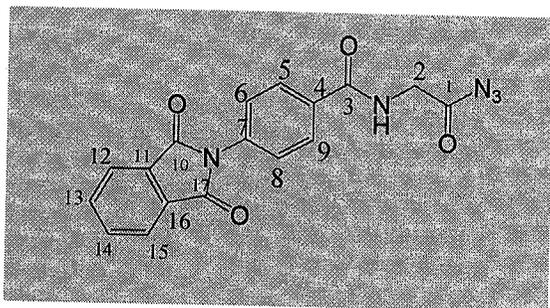
CARACTERISATION

Rdt : procédé B: 85%

Tf = 60 °C

I.R (cm⁻¹): 2160 (N₃), 1772 (C=O phtalimido), 1711 (C=O acyle).

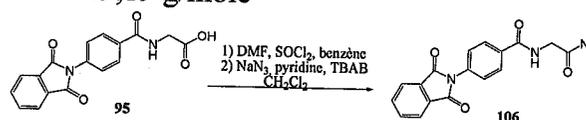
RMN ¹H (200MHz; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 2,20 (t, ³J= 6Hz, 2H₂, CH₂-CO), 1,52 (m, 6H_{3,5}, 3(CH₂)), 3,68 (t, ³J= 6Hz, 2H₆, CH₂), 7,86 (m, 4H₉₋₁₂, Ft).



106 : azide de N-phtalimido aminohippuryle

C₁₇H₁₁N₅O₄

M = 349,19 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédé B).

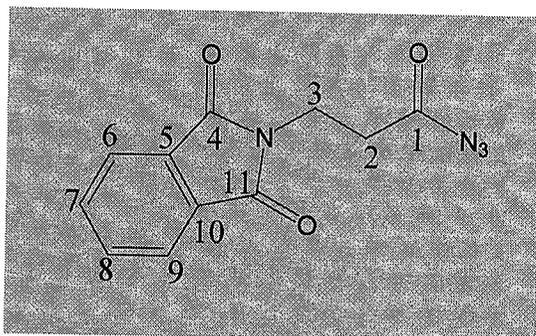
CARACTERISATION

Rdt : procédé B: 67%

Tf = 160 °C

I.R (cm⁻¹) : 2360 (N₃), 1748 (C=O phtalimido), 1700 (C=O acyle).

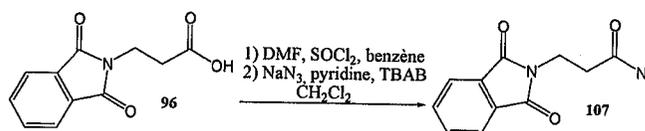
RMN ¹H (200MHz δ : ppm, J :Hz, DMSO-d₆) : 3,02 (d, ³J= 4Hz, 2H₂, CH₂), 6,73 (d, ³J= 2Hz, 2H_{5,9}, CHar), 7,12 (m, 4H₁₂₋₁₅ Ft), 7,25 (d, 2H_{6,8}, 2Hz, CHar), 8,07 (t, ³J= 4Hz, 1H, NH).



107 : azide de N-phtalimido-β-alanine

C₁₁H₈N₄O₃

M = 244,09 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **32** (procédé A et B).

CARACTERISATION

Rdt : procédé A: 43%, procédé B: 85%

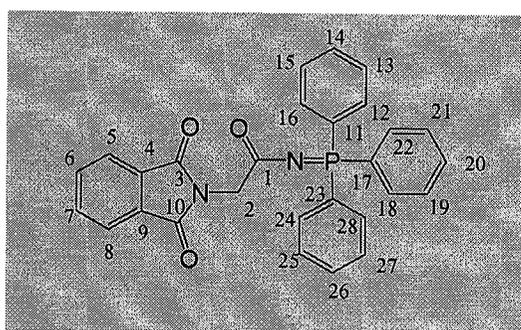
Tf = 87°C

I.R (cm⁻¹): 2145,54 (N₃), 1730 (C=O phtalimido), 1718 (C=O acyle).

B.3. Condensation des iminophosphoranes avec les différents carboxylates

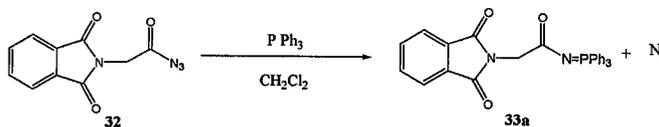
B.3.a. Condensation avec l'acide 2,3-dibromopropanoïque

- préparation de l'imino-phosphorane:



33a : N-phtalimodoglycyliminotriphényl
Phosphorane

C₂₈H₂₁N₂O₃P
M = 452g /mole



PROTOCOLE

Dans un premier tricol, on place 0,025 moles de N-acylazide dans 100 ml de dichlorométhane sec. La solution est refroidie à 0°C, puis la triphénylphosphine (ou le triéthylphosphite) (0,925 moles) est ajoutée par petites fractions. On laisse le mélange remonter à la température ambiante et on agite pendant 2h. Le dichlorométhane est ensuite évaporé, et la poudre blanche obtenue est recristallisée dans le méthanol.

CARACTERISATION

Rdt = 40.54%

Tf = 201°C

Microanalyse :

Calculé (%) : C 71.68 H 4.646 N 6.194

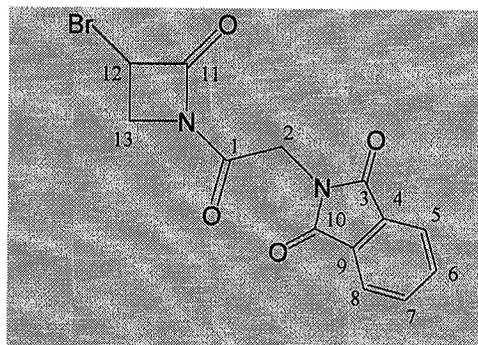
Obtenu (%) : C 69.69 H 3.78 N 6.041

IR (cm⁻¹) : 1767,79 (C=O (Ft)), 1711, (C=O (gly)), 1608,26 (doublet aromatique))

RMN ^1H (300MHz ; δ :ppm, J :Hz, CDCl_3) : 4,56 (s, 2H₂, CH₂), 7,5 (m, 4H₅₋₈, CH_{Ft}), 7,7 (m, 15H_{12-16, 18-22, 24-28}, CH_{Ph}).

RMN ^{13}C (300MHz ; δ :ppm, CDCl_3): 44,20 (1C₂, CH₂ (Gly)), 123, 17 (2C_{5, 8}, C_{Ft}), 128,57 (9C_{13-14, 19-21, 25-27}, C_{Ph}), 132,97 (5C_{4,9, 11,17,23}, 2C_{Ft}, 3C_{Ph}), 133,10 (6C_{12,16, 18,22,24,28}, C_{Ph}), 133,61 (2C_{6,7}, C_{Ft}), 168,24 (2C_{3, 10}, C=O(Ft)), 175,43 (1C₁, C=O (Gly)).

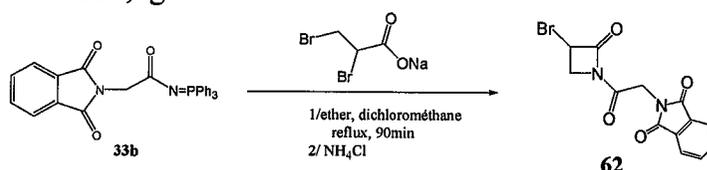
- Condensation avec les carboxylates :



62 : *N*-phthalimidoglycyl-3-bromo- β -lactame

$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4\text{Br}$

$M = 336,9\text{g/mole}$



PROTOCOLE

Dans un deuxième tricol, on introduit 0,027 moles d'hydruure de sodium à 50%, en suspension dans l'éther anhydre 50 ml ; on agite pendant 45 min à froid, puis on ajoute goutte à goutte l'acide carboxylique (0,025 moles), et on laisse agiter pendant 30 min.

On transvase sous courant d'azote le contenu du deuxième ballon dans l'ampoule à addition et on l'additionne goutte à goutte au mélange réactionnel précédent, en maintenant la température à 0°C pendant toute l'addition. Ensuite, l'ensemble est chauffé à reflux pendant 90 min. A la fin de ce temps, on ajoute au mélange réactionnel une solution de chlorure d'ammonium à 10%, puis on extrait avec le dichlorométhane (3x25ml). Les phases organiques réunies sont séchées sur CaSO_4 . Enfin, on évapore le solvant et le produit ainsi obtenu est purifié par séparation dans différents solvants, puis par colonne chromatographique ou par recristallisation.

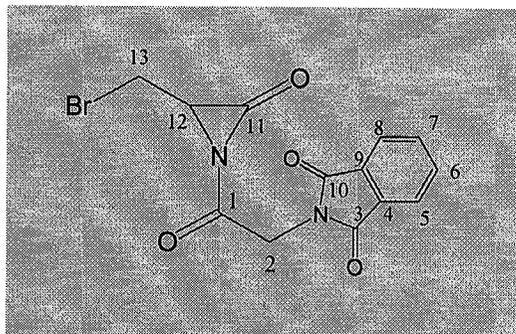
CARACTERISATION

Rdt = 34,25%

Produit pâteux (chromatographie sur colonne avec AcOEt)

IR (cm^{-1}): 1770, 84 (C=O (Ft)), 1720,37 (C=O (Gly), C=O (β -lactame)), 713(CBr)

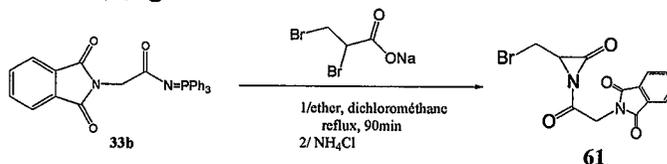
RMN ^1H (300MHz; δ : ppm, J : Hz, CDCl_3) : 4,52 (s, 2H₂, CH₂), 4,55 (d, 2H₁₃, $^3\text{J}=1,8\text{Hz}$, CH₂), 6,4 (d, 1H₁₂, $^3\text{J}=1,8\text{Hz}$, CH), 7,8 (m, 4H₅₋₈, Ft).



61 :N-phthalimidoglycyl-2-bromométhyl- α -lactame

$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4\text{Br}$

M= 336,9g/mole



PROTOCOLE

Même protocole que le composé 62

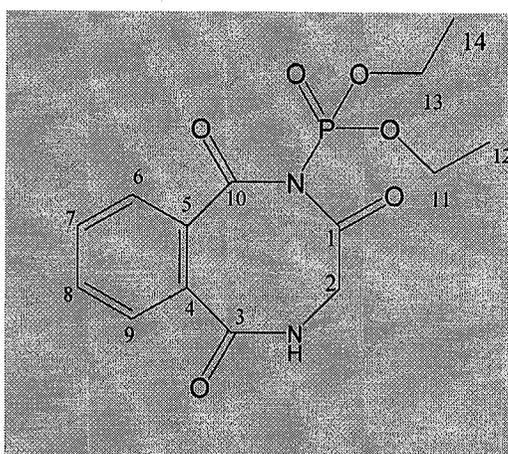
CARACTERISATION

Rdt = 40,50%

Produit pâteux (chromatographie sur colonne avec AcOEt)

IR (cm^{-1}): 1770, 84 (C=O (Ft)), 1720,37 (C=O (Gly), C=O (α -lactame)), 650(CBr)

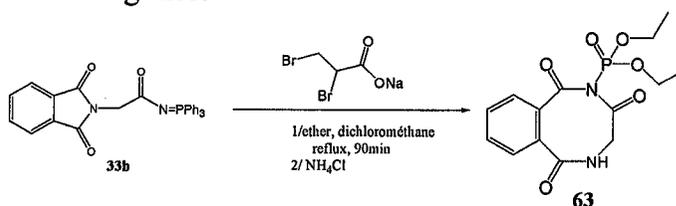
RMN ^1H (300MHz; δ : ppm, J : Hz, CDCl_3) : 3,8 (d, 2H₁₃, $^3\text{J}=2\text{Hz}$, CH₂), 4,4 (s, 2H₂, CH₂), 4,5 (d, 1H₁₂, $^3\text{J}=2\text{Hz}$, CH), 7,8 (m, 4H₅₋₈, Ft).



63 :N-diéthoxyphosphonyl-4,5-phényl-1,3,10-trioxocyclooctadiazine

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$

M= 340g/mole



PROTOCOLE

Même protocole que le composé 62

CARACTERISATION

Rdt = 9.14%

Tf = 194°C (Recristallisation dans le MeOH)

Microanalyse : C₁₄H₁₇N₂O₆P

Calculé (%) : C 49.118 , H 5, N 8.23

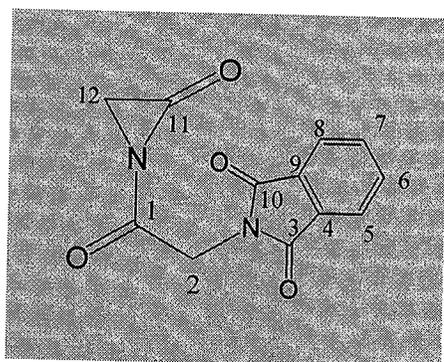
Obtenu (%) : C 48.8, H 5.0, N 8.4

IR (cm⁻¹): 1772.17 (C=O (Ft)), 1721.01 (C=O (Gly)), 966.94 (P=O), 3346.81 (NH)

RMN ¹H (300MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1,3 (t, 6H_{12,14}, ³J = 7,2Hz, CH₃), 4,1 (q, 4H_{11,13}, ³J = 7,2Hz, CH₂), 5,2 (d, 2H₂, ³J = 6,3 Hz, CH₂), 5,8 (t, 1H, ³J = /Hz, NH), 7,8 (m, 4H₆₋₉, Ft).

RMN ¹³C (300MHz ; δ : ppm, CDCl₃): 18,61(2C_{12,14}, CH₃), 43,07 (2C_{11,13}, OCH₂), 64,22 (1C₂, CH₂), 123,84 (2C_{6,9}, 2CFt), 131,26 (2C_{4,5}, 2CFt), 134,30 (2C_{7,8}, 2CFt), 154, 41(1C₁, C=O), 167,68 (2C_{3,10}, C=O).

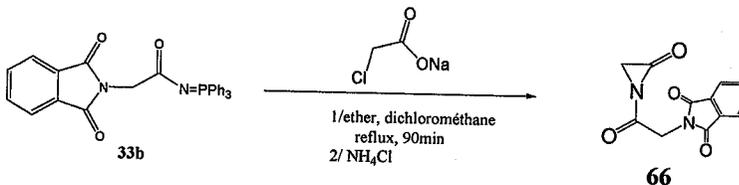
B.3. b. Condensation avec l'acide chloroacétique



66: N-phtalimidoglycyl-α-lactame

C₁₂H₈N₂O₄

M = 244g/mole



PROTOCOLE

Même protocole du composé 62

CARACTERISATION

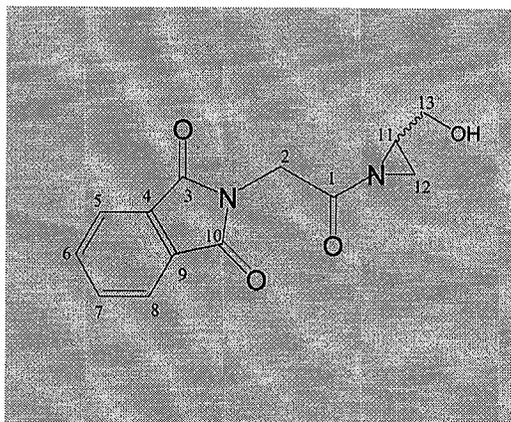
Rdt = 40%

Produit pâteux (chromatographie sur colonne avec AcOEt)

IR (cm⁻¹): 1770, 84 (C=O (Ft)), 1720,37 (C=O (Gly)), C=O (α-lactame)).

RMN ¹H (300MHz; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 4,5 (s, 2H₂, CH₂), 4,6 (s, 2H₁₂, CH₂), 7,8 (m, 4H₅₋₈, Ft).

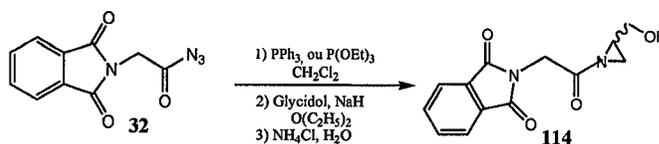
B.4. préparation des aziridines



114 :N-phthalimidoglycyl-2-hydroxyméthyl aziridine

$C_{13}H_{12}N_2O_4$

M= 261,43 g/mole.



PROCOLE

Dans un ballon sec et sous courant d'azote, le *N*-acylazide (5,75 g, 0,025moles) est placé en solution dans le dichlorométhane sec (100ml). La solution est refroidie à 0°C, puis la triphénylphosphine (6,65g, 0,025moles, ou triéthylphosphite) est ajoutée par petites fractions. On laisse la température remonter au niveau ambiant et on agite pendant 2h. Dans un autre ballon et sous atmosphère inerte, on introduit l'hydruure de sodium à 50% (0,027moles), en suspension dans l'éther anhydre (50ml) ; on agite pendant 45 min à froid, puis on ajoute goutte à goutte du glycidol (1,65 ml, 0,025moles) et on laisse agiter pendant 30min. On transvase, sous courant d'azote, le contenu du deuxième ballon dans une ampoule à addition et on l'additionne goutte à goutte au mélange réactionnel précédent, en maintenant la température à 0C° pendant toute l'addition. Ensuite l'ensemble est chauffé à reflux pendant 90 min, puis on refroidit.

On ajoute au mélange une solution de chlorure d'ammonium à 10%, puis on extrait avec du dichlorométhane (3x25ml). Les phases organiques sont réunies et séchées sur CaSO₄. On évapore le solvant et on redissout le mélange dans l'éther anhydre, l'oxyde de triphénylphosphine cristallise et il est éliminé par filtration. On recommence l'opération trois à six fois pour éliminer le reste de l'oxyde.

L'élimination de l'oxyde est contrôlée par CCM, en utilisant le mélange éther de pétrole-dichlorométhane (4 :1), et l'ultime purification des *N*-acylaziridines est faite par chromatographie sur colonne en utilisant le même éluant.

CARACTERISATION

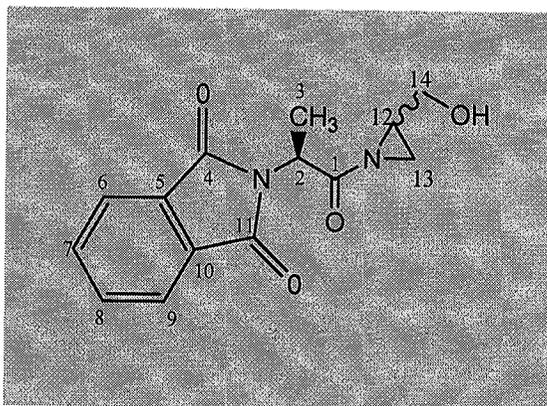
Rdt : PPh₃ : 51%, P(OEt)₃ : 42%

Tf = 70°C

I.R (cm⁻¹) : 3473 (O-H), 1781 (C=O phtalimido), 1720 (C=O amide).

RMN ¹H (300 MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1,2 (dd, ³J = 14Hz, 3Hz, 2H₁₂, CH₂ aziridine), 1,5 (m, 1H₁₁, CH aziridine), 2,90 (d, ³J = 5,2Hz, 2H₁₃, CH₂-OH), 3,5 (s, large, 1H, OH), 4,5 (s, 2H₂, Ft-CH₂-CO), 7,2 (s, 4H₅₋₈, Ft).

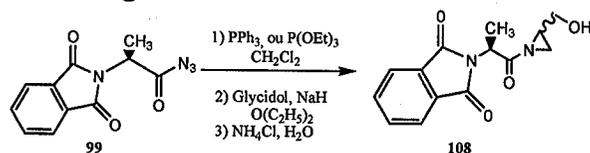
RMN ¹³C (300MHz ; δ : ppm, CDCl₃) : 29,02 (C₁₂), 29,5 (C₁₁), 52,08 (C₁₃), 52,5 (C₂), 128 (CHar), 137 (Car), 168 et 178 (C_{1,3,10}).



108: *N*-phtalimidoalanyl-2-hydroxyméthyl aziridine

C₁₄H₁₄N₂O₄

M = 275,54 g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114

CARACTERISATION

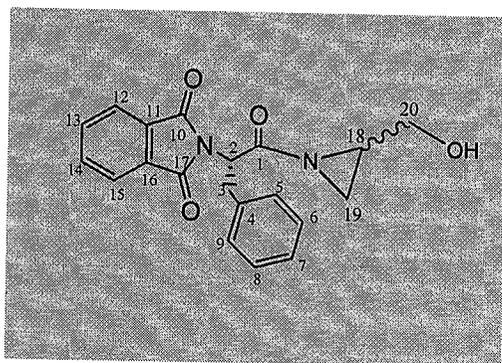
Rdt : PPh₃ : 70%, P(OEt)₃ : 40%

Tf = 60°C

I.R (cm⁻¹) : 3457 (O-H), 1781 (C=O phtalimido), 1711 (C=O), 741 (aromatique).

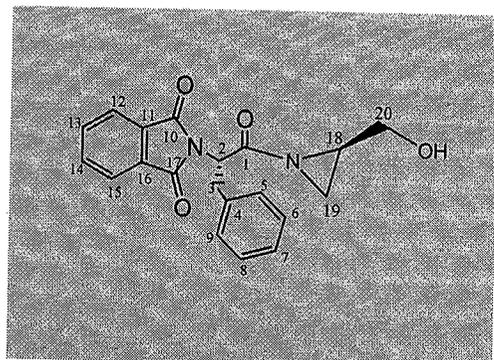
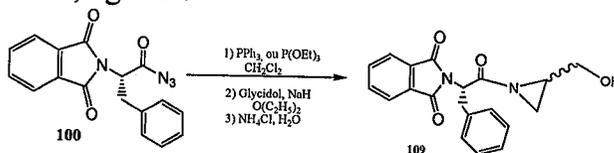
RMN ¹H (300MHz; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1,15 (dd, ³J = 7,18Hz, 4,8Hz, 2H₁₃, CH₂ aziridine), 1,5 (dd, ³J = 6,6Hz, 2Hz, 1H₁₂, CH aziridine), 1,75 (d, ³J = 7,4Hz, 3H₃, CH₃), 3,0 (m, 2H₁₄, CH₂-OH), 5,0 (q, ³J = 7,4Hz, 1H₂, CH), 7,35 (m, 4H, Ft).

RMN ¹³C (300MHz, δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 15,98 (C₃), 27 (C₁₃), 29,56 (C₁₂), 52,09 (C₁₄), 52,5 (C₂), 131 (CHar), 137 (Car), 168 et 179 (C_{1,4,11}).



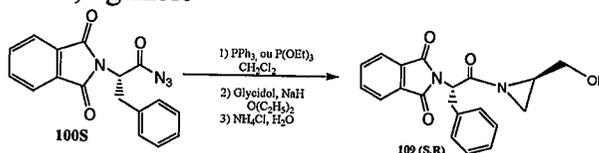
109 : *N*-phtalimidophénylalanyl-2-hydroxyméthyl aziridine

$C_{20}H_{18}N_2O_4$
 $M = 352,2$ g/mole



109(S,R) : (S,R)-*N*-phtalimidophénylalanyl-2-hydroxy méthyl aziridine

$C_{20}H_{18}N_2O_4$
 $M = 352,2$ g/mole



PROCOLE

Voir protocole du composé 114

CARACTERISATION

Rdt : PPh_3 : 98%, $P(OEt)_3$: 56%

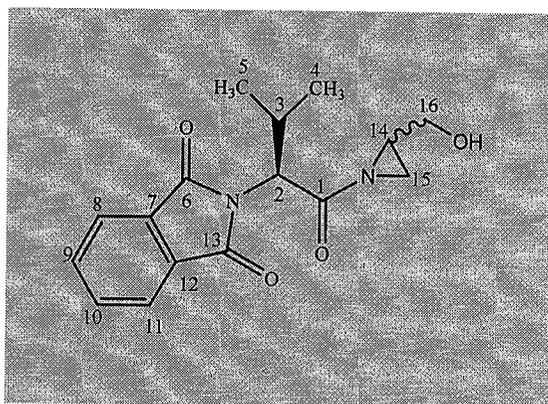
Tf = 51°C

$[\alpha]_D^{25} = -26,5$ (c: 0,5, $CHCl_3$) pour le composé **109 (S,R)**

CARACTÉRISATION

I.R (cm^{-1}) : 3383 (O-H), 1772 (C=O phtalimido), 1713 (C=O amide).

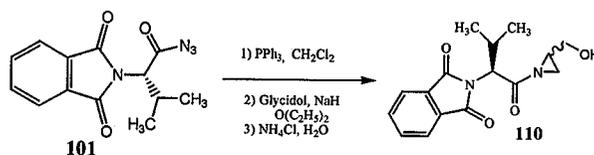
RMN 1H (300MHz; δ : ppm, J : Hz, $CDCl_3$) : 2,9 (dd, 2H₂₀, $^3J = 15Hz, 0,5Hz$, CH₂-OH), 3,57 (m, 1H₁₈, CH aziridine), 3,8 (d, $^3J = 7Hz, 2H_3$, CH₂), 3,9 (dd, $^3J = 8,5Hz, 4,9Hz$, 2H₁₉, CH₂ aziridine), 5,1 (t, $^3J = 7Hz, 1H_2$, CH), 7,1 (m, 5H₅₋₉, Ph), 7,4 (m, 4H₁₂₋₁₅, Ft).



110 :N-phthalimidovalinyl-2-hydroxyméthyl aziridine

$C_{16}H_{18}N_2O_4$

$M = 303,76$ g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé **114**

CARACTERISATION

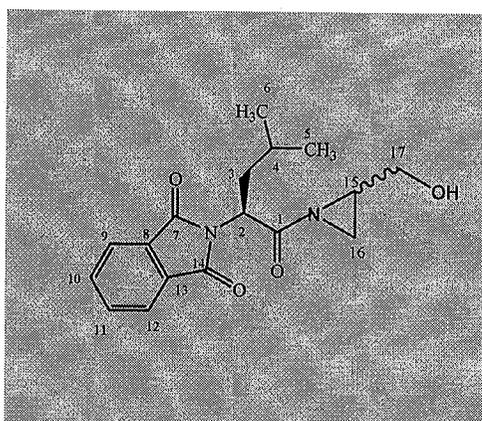
Rdt (avec PPh_3) : 52%

Tf = 53°C

CARACTÉRISATION

I.R (cm^{-1}) : 3446 (O-H), 1772 (C=O phthalimido), 1716 (C=O)

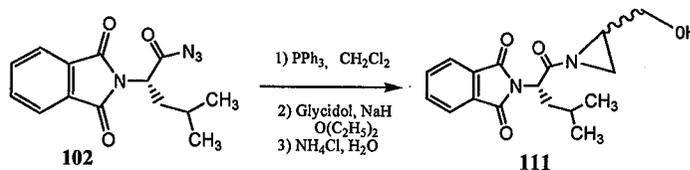
RMN 1H (300MHz; δ :ppm, J: Hz, $CDCl_3$): 0,8 (d, $^3J = 6,6$ Hz, 3H₅, CH₃), 1,1(d, J= 6,6Hz, 3H₄, CH₃) 1,2(dd, $^3J = 10$ Hz, 6,35Hz, 2H₁₅, CH₂ aziridine) 2(m, 1H₃, CH(Me)₂), 2,4(m, 1H₁₄, CH aziridine), 3,57(d, $^3J = 17$ Hz, 1H₂, CH), 3,65(dd, $^3J = 6,35$ Hz, 4,6Hz, 2H₁₆, CH₂-OH), 7,2 (m, 4H₈₋₁₁, Ft).



111 : N-phthalimidoleucyl-2-hydroxyméthyl aziridine

$C_{17}H_{20}N_2O_4$

$M = 317,87$ g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé **114**

PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

A. Généralités

Au cours de notre travail, les manipulations et analyses ont respectivement été réalisées dans les laboratoires suivants et selon les disponibilités :

1. Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), l'Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen, où le gros des travaux de synthèse organique a été effectué
2. Laboratoire de synthèse et structure de molécules d'intérêt pharmaceutique, Université Descartes Paris V, pour la synthèse de précurseurs du RGD, les analyses RMN et la HPLC chirale.
3. Unité de recherche des Systèmes membranaires, laboratoire de Pharmacochimie, Université Denis Diderot Paris 7, pour des analyses RMN proton.
4. Laboratoire des polymères, Université d'Oran Es-Sénia pour la RMN proton

Solvants et réactifs :

- a) Au laboratoire COSNA : les solvants nécessitant une utilisation dans des conditions anhydres sont distillés sous atmosphère d'azote. Les solvants ou réactifs utilisés au cours des différentes réactions ont été distillés à pression atmosphérique et séchés selon le cas soit sur sodium effilé pour l'éther diéthylique, le benzène et le dioxane ; sur chlorure de calcium pour le chloroforme ; sur du pentoxyde de phosphore pour le dichlorométhane et sur potasse pour la pyridine et la triéthylamine.
- b) Au laboratoire de Paris V : le THF, l'éther éthylique et le toluène sont distillés sur sodium-benzophénone. Le DCM, le chloroforme, le méthanol et l'éthanol absolu sont distillés sur hydrure de calcium. Le DMF est distillé et conservé sur tamis moléculaire. La triéthylamine, la diisopropylamine, et la pyridine sont distillées sur hydrure de calcium et conservés sous argon. Le bromure d'allyle est séché sur $MgSO_4$ avant d'être distillé.

Chromatographies

- a) Laboratoire COSNA : les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur plaques de silice sur support plastique et/ou aluminium (Merck 60-F-254, SDS de 0.25mm d'épaisseur) avec détection UV à 254 et 365nm ou par des vapeurs d'iode.

b) Paris V :

- i. CCM : plaque de silicagel de 0,2 mm d'épaisseur sur support d'aluminium (Merck, 60-F-254), puis observées à l'UV et révélées par une solution d'acide phosphomolybdique dans l'éthanol, ou par une solution de ninhydrine dans le butan-1-ol. Par contre, les chromatographies sur colonne sont réalisées selon des techniques de chromatographie éclair, sous moyenne pression sur des colonnes de silice SDS 60 A C.C 35-70 μm .
- ii. HPLC : sur un appareillage Shimadzu (SCL-10VP, LC-10AD) avec un détecteur UV de 210nm. La colonne utilisée est une colonne Chromatopac C-R6A, de dimensions 250mmx4, 6mm, et de porosité 100Å. Les solvants sont utilisés selon un système binaire eau-acétonitrile avec une composition initiale de 40% d'acétonitrile et un gradient qui évolue sur 20min pour atteindre une composition finale de 90% du même solvant.

Appareillage et analyses spectrales

- a) Université de Paris V : les spectres RMN ^1H sont enregistrés soit sur un appareil Bruker Avance 300 (300 MHz), soit sur un appareil Bruker Avance 400 (400 MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS), et les constantes de couplage (J) en Hertz (Hz). La multiplicité des signaux est exprimée par les abréviations suivantes : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet). L'annotation (l) indique que le signal est large. Les spectres RMN du ^{13}C sont enregistrés sur un appareil Bruker Avance 300 (75 MHz) ou sur un appareil Bruker Avance 400 (100 MHz). Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. Lorsque cela est nécessaire, les attributions des signaux sont réalisées à l'aide des expériences DEPT135, NOE, COSY (effectuées sur l'appareil Bruker Avance 300 ou sur l'appareil Bruker Avance 400). Les analyses élémentaires sont réalisées au Service de Microanalyse de l'Institut de Chimie de Substances Naturelles.
- b) Université Denis Diderot Paris 7 (France) : appareil BRÜKER AC, à 200 MHz pour la RMN- ^1H et à 50,32 MHz pour la RMN- ^{13}C .
- c) Université Es Sénia (Oran) : appareil (BRUKER AC, à 300 MHz), tant pour le proton que pour le ^{13}C .

Les analyses dans l'infrarouge (IR) ont toutes été effectuées au Centre de mesures du laboratoire COSNA, sur un appareil « Mattson Genesis II FTIR ». Les échantillons étaient traités soit en solution dans le chloroforme, ou sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm^{-1}).

Les points de fusion sont déterminés soit sur un banc Köfler Leica, ou grâce à un fusionomètre digital de la série IA9200 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires.

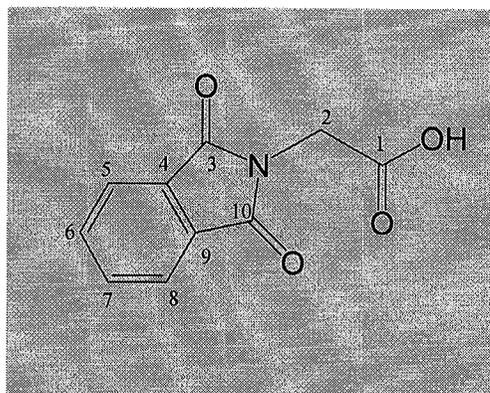
Les analyses élémentaires sont réalisées sur un appareil **LECO** CHN-900 étalonné avec l'acétanilide. La température du four de réduction est de 650°C , tandis que celle du four oxydation est de 1000°C , avec comme gaz vecteur l'hélium à une pression de 40 psi.

Les pouvoirs rotatoires ($[\alpha]_{\text{D}}$) sont mesurés à l'aide d'un polarimètre Perkin-Elmer 141 MC à 589nm (lampe à sodium). Les concentrations sont exprimées en g/100 mL.

Les tests de l'activité biologique des *N*-acyl-2-hydroxyméthylaziridines ont été réalisés par l'équipe de biologie sous la direction de Mme Pr. Merzouk Hafida, dans le cadre du projet ANDRS 05/05/01/01/013. D'autres tests ont été effectués à l'UPRES 2422, Lipides et Nutrition, UFR Sciences et Vie, Université de Bourgogne, Dijon, sous la direction des Pr J. Belleville et J. Prost.

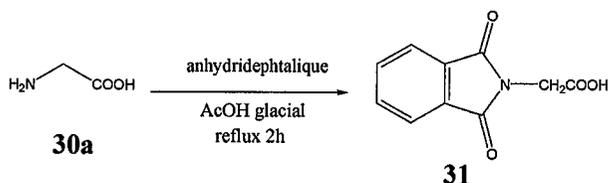
B. Composés synthétisés

B.1. protection de la fonction amino des acides aminés



31 : N-phthalimidoglycine

$C_{10}H_7NO_4$
M= 205 g/mole.



PROTOCOLE

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit la glycine (15g, 0,19 moles) et l'anhydride phtalique (41g, 0,13moles) dans 40ml d'acide acétique glacial, et on porte à reflux pendant 2h. Ensuite, on laisse refroidir le mélange et le solide cristallisé est filtré sous vide en faisant des lavages à l'eau pour entraîner l'acide acétique. Le produit brut est purifié par recristallisation dans un mélange eau-éthanol

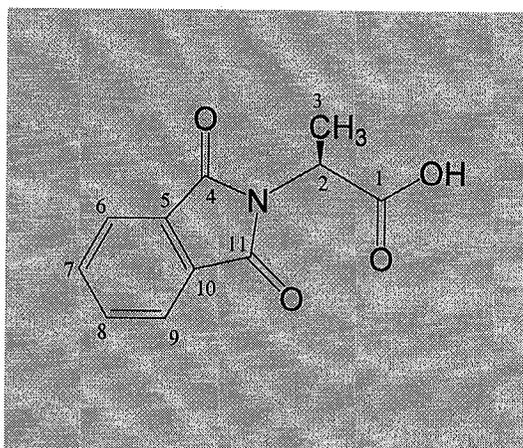
CARACTERISATION

RDT = 89%

TF = 196 °C (RECRISTALLISATION DANS UN MELANGE EAU-ETHANOL 1 :1)

I.R (cm^{-1}) : 3500-2300 (O-H de la fonction acide), 1830 (C=O phtalimido), 1720 (C=O carboxyle), 1650,1505 (doublet aromatique).

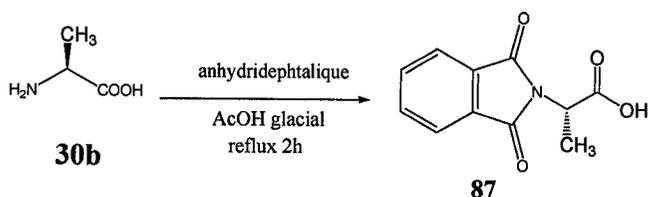
RMN 1H (200MHz, δ ppm, Ace- d_6): 4,46 (s, 2H $_2$, CH $_2$), 7,94 (m, 4H $_{5-8}$, Ft), 11 (s, 1H $_1$, CO $_2$ H).



87 : *N*-phtalimido-L-alanine

$C_{11}H_9NO_4$

$M = 219,09$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **31**

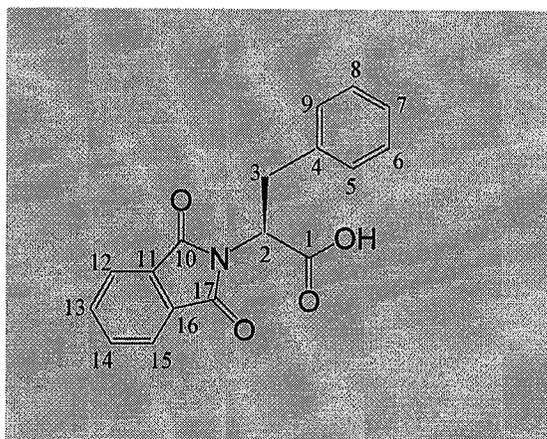
CARACTERISATION

RDT = 94%

TF = 162°C (RECRISTALLISATION EAU-ETHANOL 4 : 1)

I.R (cm^{-1}) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1700 (C=O carboxyle).

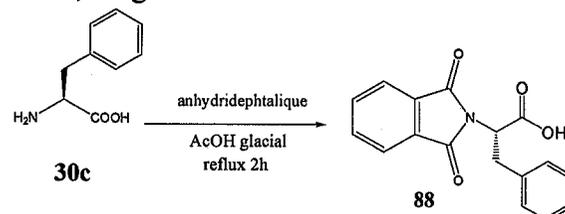
RMN 1H (200MHZ δ : PPM, J: HZ, ACE- D_6) : 1,73 (D, $^3J = 8HZ$, 3H $_3$, CH $_3$), 5,05 (Q, $^3J = 8HZ$, 1H $_2$, CH), 7,94 (M, 4H $_{6-9}$, FT), 10,45 (S, 1H $_1$, CO $_2$ H).



88 : *N*-phtalimido-L-phénylalanine

$C_{17}H_{13}NO_4$

$M = 295,19$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **31**

CARACTERISATION

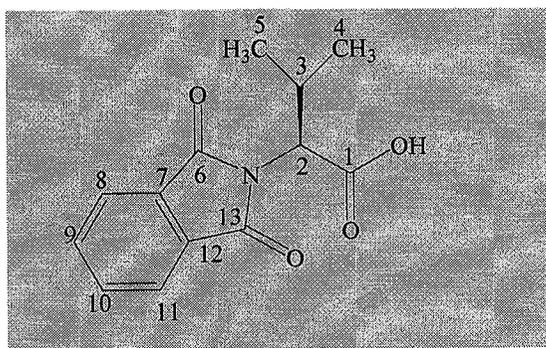
Rdt = 80%

Tf = 183 °C (recristallisation eau-éthanol 1 : 4)

$[\alpha]_D^{25} = -30,4$ (c : 0,5, CHCl₃)

I.R (cm⁻¹) : 3000-2400 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1700 (C=O carboxyle).

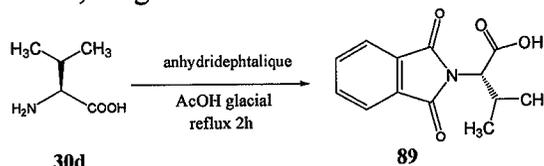
RMN ¹H (200MHz, δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 3, 6 (d, ³J= 7,5, 2H₃, CH₂), 5, 24 (t, ³J= 7,5, 1H₂, CH), 7,25 (m, 5H₅₋₉, Ph), 7, 79 (m, 4H₁₂₋₁₅, Ft), 9,71 (s, 1H₁, CO₂H).



89 : N-phtalimido-L-valine

C₁₃H₁₃NO₄

M = 247, 15 g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **31**

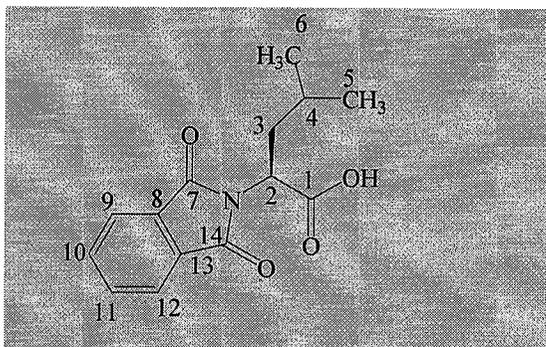
CARACTERISATION

Rdt = 82%

Tf = 116°C (recristallisation eau-éthanol 3 : 1)

I.R (cm⁻¹) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1730 (C=O carboxyle), 720 (aromatique).

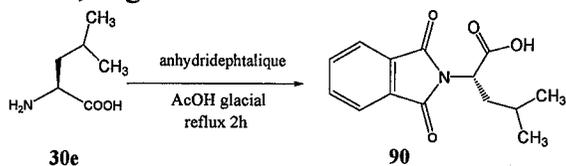
RMN ¹H (200MHz; δ : ppm, J : Hz, Ace-d₆) : 0,98 (d, ³J= 6Hz, 3H₅, CH₃), 1,21 (d, ³J= 6Hz, 3H₄, CH₃), 2,82 (m, 1H₃, CH), 4,66 (d, ³J= 8Hz, 1H₂, CH), 7,99 (m, 4H₈₋₁₁, Ft), 10,62 (s, 1H₁, CO₂H).



90 : *N*-phtalimido-L-leucine

$C_{14}H_{15}NO_4$

$M = 261,27$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **31**

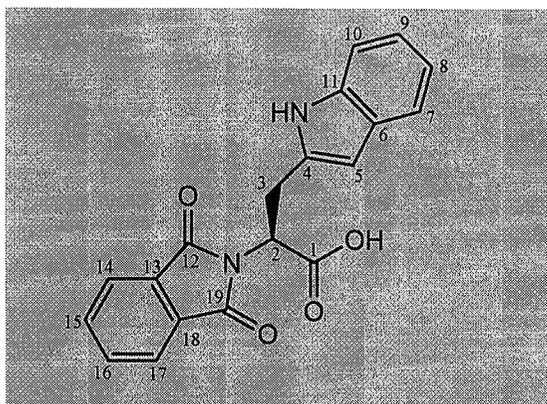
CARACTERISATION

Rdt = 75%

Tf = 124°C (recristallisation eau-éthanol 1 :1)

I.R (cm^{-1}) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1730 (C=O carboxyle), 720 (aromatique).

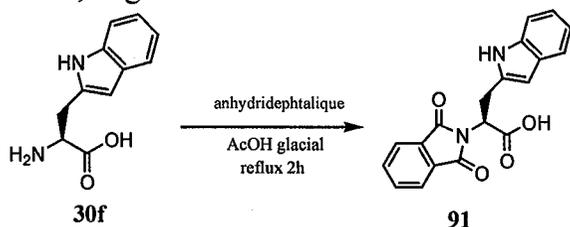
RMN 1H (300MHz, δ : ppm, J : Hz, Ace- d_6) : 0,90 (d, $^3J=6$ Hz, 3H₅, CH₃), 1,21 (d, $^3J=6$ Hz, 3H₆, CH₃), 1,68(m, $^3J=6$ Hz, 1H₄, CH), 2,07(m, 2H₃, CH₂), 4,62(t, $^3J=7$ Hz, 1H₂, CH), 7,99 (m, 4H₉₋₁₂, Ft), 10,62 (s, 1H₁, CO₂H).



91 : *N*-phtalimido-L-tryptophane

$C_{19}H_{14}N_2O_4$

$M = 311,31$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé **31**

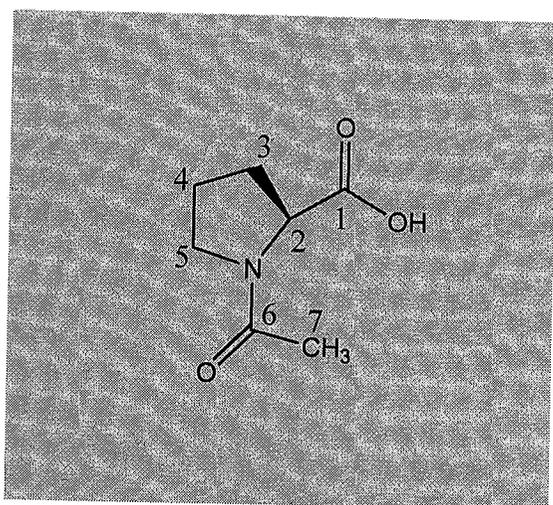
CARACTERISATION

Rdt = 43%

Tf = 179 °C (recristallisation eau-éthanol 4:1)

I.R (cm⁻¹) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1730 (C=O carboxyle), 1669-1580 (NH de l'amine)

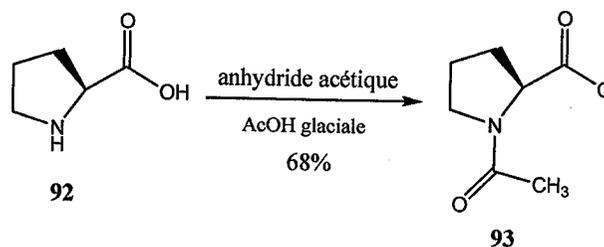
RMN ¹H (200MHz; δ : ppm, J: Hz, DMSO-d₆) : 1,5 (s, 1H, NH) 3,02 (d, ³J= 7Hz, 2H, CH₂), 4,3 (t, ³J= 7Hz, 1H, CH), 7,01 (m, 1H, =CH), 7,39 (m, 4H, Ph), 7,79 (m, 4H, Ft), 10,72(s, large, 1H, CO₂H).



93 : N-acétyl-L-proline

C₇H₁₁NO₃

M = 149,17 g/mole



PROTOCOLE

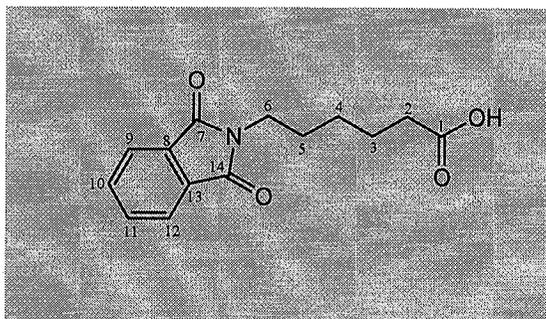
Identique à celui du composé **31**, sauf qu'à la place de l'anhydride phtalique nous avons utilisé 0,13 moles d'anhydride acétique.

CARACTERISATION

RDT = 68,5%

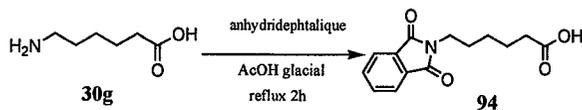
Produit pâteux

I.R (cm⁻¹) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1680 (C=O acétyl), 1730 (C=O carboxyle).



94 : *N*-phtalimido-6-amino caproïque

$C_{14}H_{15}NO_4$
 $M = 261,18$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé 31

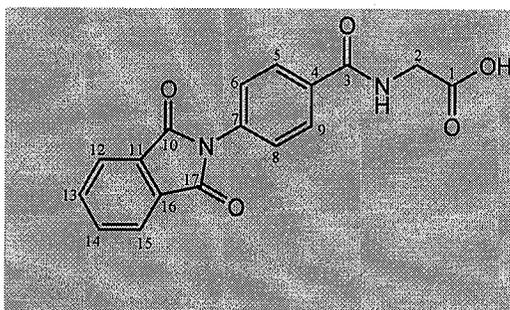
CARACTERISATION

Rdt = 74%

Tf = 108 °C (recristallisation eau-éthanol 2 :1)

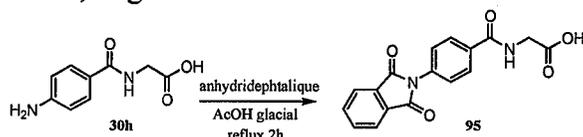
I.R (cm^{-1}) : 2590 (O-H de l'acide), 1770 (C=O), 720 (cycle aromatique)

RMN 1H (200MHz; δ : ppm, J : Hz, $CDCl_3$) : 1,57 (m, 6H₃₋₅, (CH₂)₃), 2,31 (t, $^3J=7$, 2H₂, CH₂-CO₂H), 3,68 (t, $^3J=7$, 2H₆, N-CH₂), 7,79 (m, 4H₉₋₁₂, Ft), 10,62 (s, 1H₁, CO₂H).



95 : acide *N*-phtalimidoaminohippurique

$C_{17}H_{12}N_2O_5$
 $M = 324,19$ g/mole



PROTOCOLE

Identique à celui du composé 31

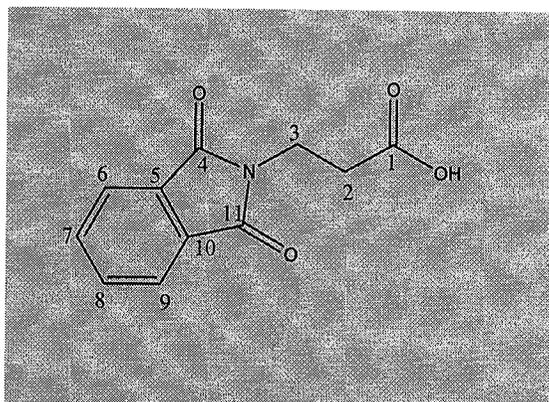
CARACTERISATION

Rdt = 85%

Tf = 261°C (recristallisation : éthanol)

I.R (cm^{-1}) : 3300 (NH de l'amide), 2590 (O-H de l'acide), 1770 (C=O), 720 (cycle aromatique)

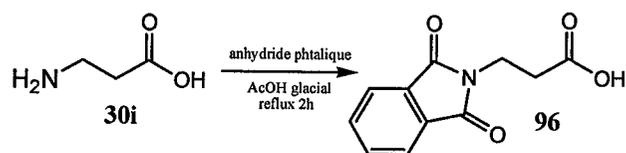
RMN ^1H (200MHz δ : ppm, J : Hz, CDCl_3) : 3,13(d, $^3\text{J}=4\text{Hz}$, 2H_2 , NH- CH_2 - CO_2H), 6,76(m, $4\text{H}_{5-6-8-9}$, CH_{ar}), 7,25(m, 2H_{12-15} , CH_{ar}), 8,07(t, $^3\text{J}=4\text{Hz}$, 1H, NH)



96 : *N*-phtalimido- β -alanine

$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4$

$M = 219,09 \text{ g/mole}$



PROTOCOLE

Identique à celui du composé 31

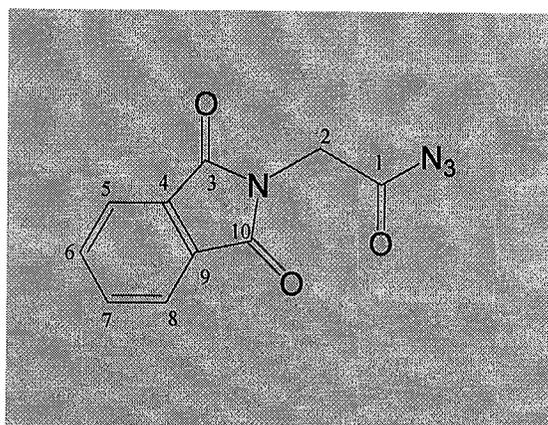
CARACTERISATION

Rdt = 84%

Tf = 130°C (recristallisation eau)

I.R (cm^{-1}) : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1780 (C=O phtalimido), 1700 (C=O carboxyle).

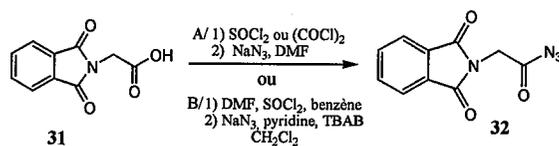
B.2. *N*-acylazides



32 : azide de *N*-phtalimido glycyle

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$

$M = 230,17 \text{ g/mole}$.



CARACTERISATION

Rdt (avec PPh₃) : 50%

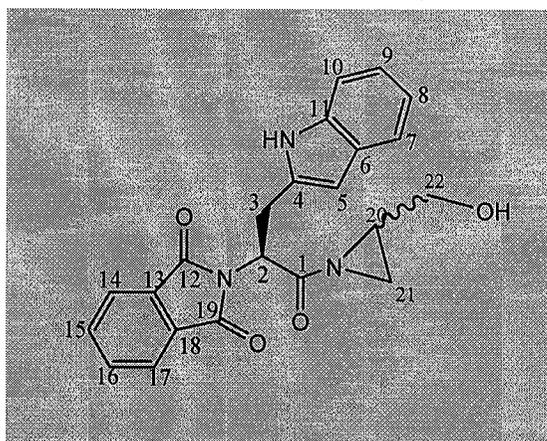
Produit pâteux

CARACTÉRISATION

I.R (cm⁻¹) : 3441 (O-H), 1778 (C=O phtalimido), 1723 (C=O amide).

RMN ¹H (300MHz; δ: ppm, J : Hz, CDCl₃): 0,8(d, ³J= 4,4Hz, 6H₅₋₆, 2Me), 1,15(m, 2H₁₆, CH₂ aziridine), 2, 3(dt, ³J= 4,7Hz, 14Hz, 2H₃, CH-CH₂-CHMe₂), 2,5(m, 1H₁₅, CH aziridine), 3,0(m, 2H₁₇, CH₂-OH), 3,5(m, 1H₄, CHMe₂), 4,9(t, J= 11,5Hz, 1H₂, Ft-CH-CO), 7,2(m, 4H, Ft)

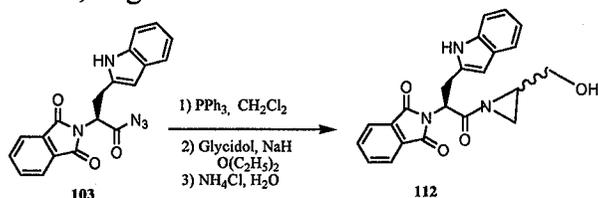
RMN ¹³C (300MHz; δ : ppm, CDCl₃): 16(C_{5,6}), 27(C₁₆), 29,56 (C₁₅), 38(C₃), 52,09(C₁₇), 52,5(C₄), 122 (C₂), 130 (CHar), 137 (Car), 168 et 179(C_{1,7,14}).



112:N-phtalimidotryptyl-2-hydroxyméthyl aziridine

C₂₂H₁₉N₃O₄

M = 391,42 g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114

CARACTERISATION

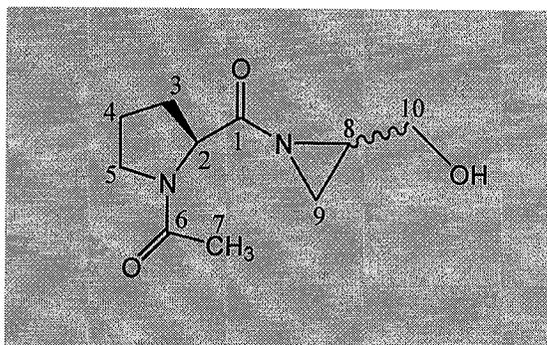
Rdt (avec PPh₃) : 96%

Tf = 61°C

CARACTÉRISATION

I.R (cm⁻¹) : 3480 (O-H), 1781 (C=O phtalimido), 1722 (C=O amide).

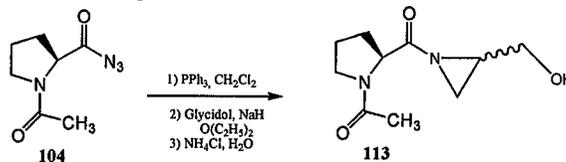
RMN ¹³C (50,32 MHz; δ: ppm, CDCl₃): 29,4 (C₂₁), 29,57 (C₂₀), 52,08 (C₂₂), 52,5 (C₂), 128 (C₃), 137 (CHar, Car).



113 :N-acétylproplyl-2-hydroxyméthylaziridine

$C_{10}H_{16}N_2O_4$

$M = 229,10 \text{ g/mole}$



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114

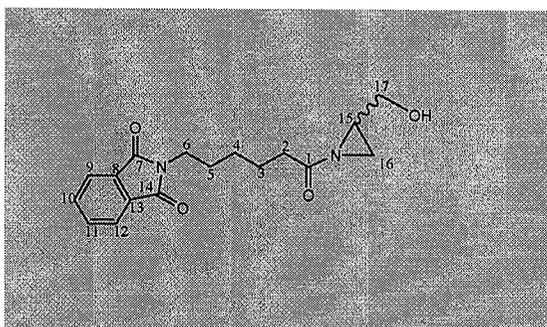
CARACTERISATION

Rdt (avec PPh_3) : 55%

Produit pâteux

CARACTÉRISATION

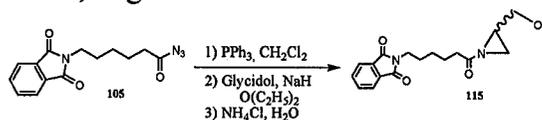
IR (cm^{-1}): 3480 (O-H), 1731 (C=O acétyl), 1722 (C=O amide).



115 :6-phtalimidocaproyl-2hydroxyméthyl aziridine

$C_{17}H_{20}N_2O_4$

$M = 317,87 \text{ g/mole}$



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114

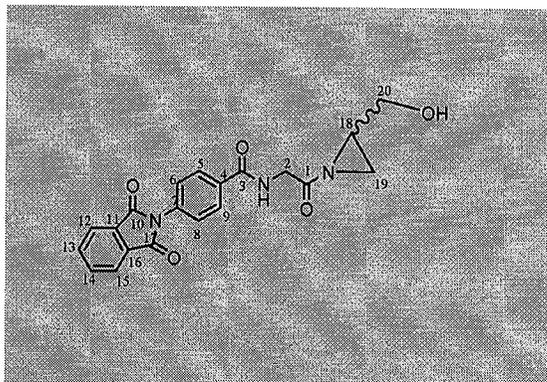
CARACTERISATION

Rdt : (avec PPh_3) : 60%

Tf = 35°C

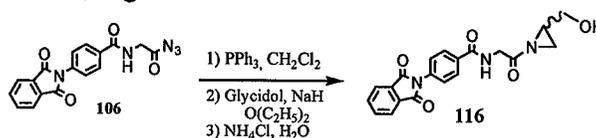
CARACTÉRISATION

I.R (cm⁻¹) : 3460 (O-H), 1792 (C=O phtalimido), 1711 (C=O amide).



116:N-phtalimidohippuryl-2-hydroxyméthyl aziridine

C₂₀H₁₇N₃O₅
M = 381,02g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114

CARACTERISATION

Rdt (avec PPh₃) : 45%

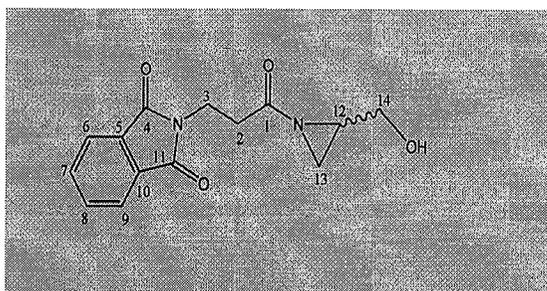
Produit pâteux

CARACTÉRISATION

I.R (cm⁻¹) : 3392 (OH), 1771 (C=O Ft), 1714 (C=O amide), 764 et 697(aromatique)

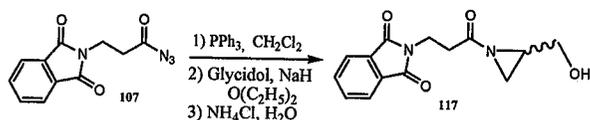
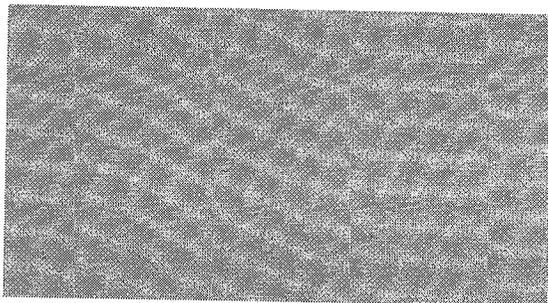
RMN ¹H (200 MHz, δ: ppm, J: Hz, CDCl₃): 1,8(dd, ³J=14Hz, 4Hz, 2H₁₉, CH₂ aziridine), 2,5(m, 1H₁₈, CH aziridine), 3,0(m, 2H₂₀, CH₂-OH), 4,5(d, ³J= 10,8Hz, 2H₂, HN-CH₂-CO), 7,6(t, ³J= 10,8Hz, 1H, N-H), 7,1(m, 4H₁₂₋₁₅, Ft), 7,4(m, 4H_{5,6,8,9}, C₆H₄).

RMN ¹³C (50,32MHz; δ: ppm; CDCl₃): 27(C₁₉), 29,50(C₁₈), 52,09(C₂₀), 52,5(C₂), 130(8CH ar), 138(4C ar), 168(C_{1,3})



117 :N-phtalimido-β-alanyl-2-hydroxyméthyl aziridine

C₁₄H₁₄N₂O₄
M= 275,54 g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé **114**.

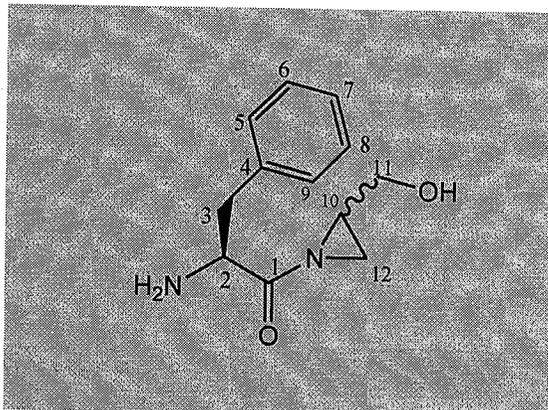
CARACTERISATION

Rdt (avec PPh_3) : 66%

Tf = 45°C

I.R (cm^{-1}) : 3457 (O-H), 1781 (C=O phtalimido), 1711 (C=O), 741 (aromatique).

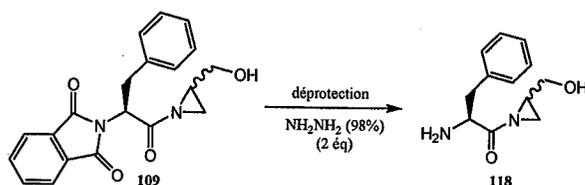
B.5. Déprotection de la fonction amine des aziridines



118 : N- phénylalanine-2-hydroxyméthylaziridine

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$

M = 221,32 g/mole



PROTOCOLE

Procédé A :

Dans un ballon sec, et sous courant d'azote, l'aziridine (7,04 g, 20 mmoles) et une solution de $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5M (0,4 ml) sont placées dans le dioxane sec (6ml) ; la solution est agitée à 25 °C pendant 4h, et ensuite le solvant est évaporé sous vide.

On ajoute un mélange de HCl 1N (0,2ml) dans l'eau (6ml) et de diméthoxyéthane (1/1) à la solution précédente ; on agite pendant 1h. Après évaporation du solvant, on dissout le mélange dans un mélange de EtOAc et H₂O à pH 2.

A la fin, on extrait la phase aqueuse inférieure avec EtOAc (pH 7,7) ; la phase organique est séchée sur Na₂SO₄, on termine par l'évaporation du solvant sous vide.

Procédé B :

A une suspension de l'aziridine (8,4g, 24 mmoles) dans un litre de méthanol sec, on ajoute l'hydrate d'hydrazine (0,339 moles). Après 2h de reflux, on dilue le mélange avec de l'éther diéthylique (1 litre), puis on filtre le solide.

On sépare la phase organique inférieure et ensuite, on évapore le solvant. Le résidu est dilué dans de l'eau (500ml) et extrait par Et₂O sec, le produit déprotégé est obtenu après évaporation du solvant.

CARACTERISATION

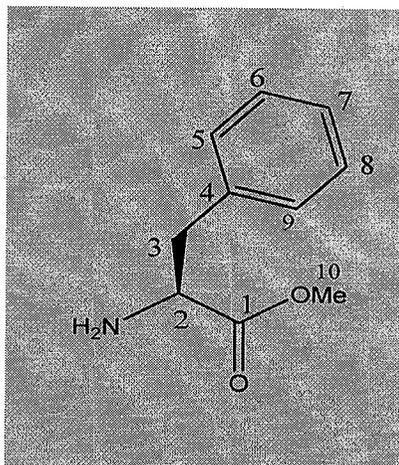
Rdt : procédé A: 95%, procédé B: 75%

Tf = 45°C

I.R (cm⁻¹): 3429 (NH₂ de l'amine), 3383 (O-H), 1713 (C=O amide), 1669-1580 (NH de l'amine)

RMN ¹H (400 MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 2,9 (dd, 2H₁₂, ³J = 15Hz, 0,5Hz, CH₂-OH), 3,57 (m, 1H₁₀, CH aziridine), 3,8 (d, ³J= 7Hz, 2H₃, CH₂), 3,9 (dd, ³J= 8,5Hz, 4,9Hz, 2H₁₁, CH₂ aziridine), 5,1 (t, ³J= 7Hz, 1H₂, CH), 7,1 (m, 5H₅₋₉, Ph).

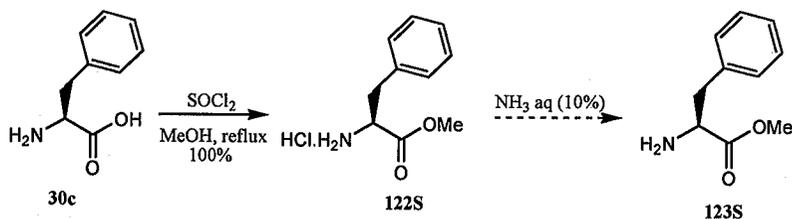
B.6. protection de la fonction acide des acides aminés



123S : 2-amino-3-phénylpropanoate de méthyle

C₁₀H₁₃NO₂

M= 179 g/mole



PROTOCOLE

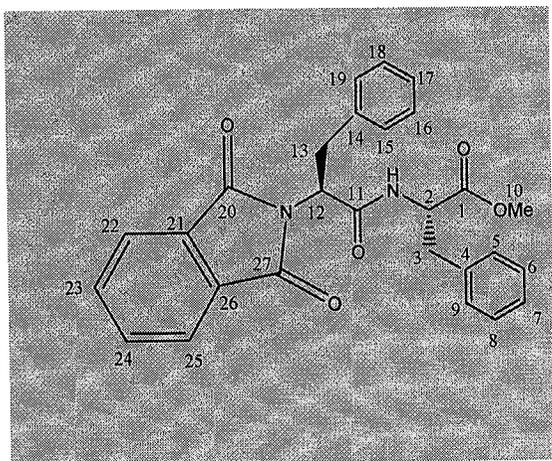
L'acide aminé (3,5 g, 21,4 mmole) est dissout dans 30 mL de méthanol anhydre dans un ballon surmonté d'une ampoule à brome et un réfrigèrent avec garde à CaCl₂ et sous courant d'azote. A -5°C, le chlorure de thionyle (0,13 ml, 43,8 mmole ; 2 équ.) est ajouté goutte à goutte à l'aide de l'ampoule à brome. Une fois l'addition terminée, le mélange est agité à reflux avec garde à CaCl₂ pendant 2h. Une fois le mélange revenu à température ambiante. Le solvant est évaporé sous vide, et le chlorhydrate d'amino ester cristallisé est séché deux heures sous vide avec la trompe à eau. Pour récupérer l'ester de l'aminoacide, il suffit de laver le chlorhydrate par une solution d'ammoniaque à 10% et à pH = 8, ensuite la phase organique est séchée avec CaSO₄. A la fin, le solvant est évaporé.

CARACTERISATION

Rdt : 100%

I.R (cm⁻¹): 3429 (NH₂ de l'amine), 1742 (C=O l'ester), 1669-1580 (NH de l'amine), 1285 (C-O-C de l'ester).

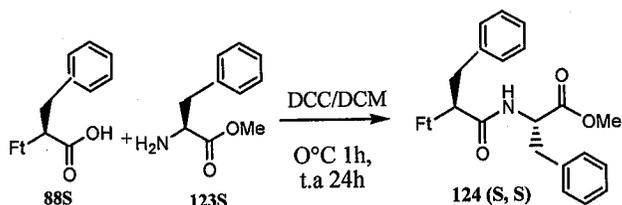
B.7. Couplage peptidique



124(S,S) : amide de *N*-phthalimidophénylalanyl-
3-phénylpropanoate de méthyle

C₂₇H₂₄N₂O₅

M= 456 g/mole



PROTOCOLE

Dans un ballon on introduit la *N*-phthalimidoalanine (2,36g, 7,3 mmole) avec le 2-amino-3-phénylpropanoate de méthyle (1, 32g, 7,4 mmole) dans 30 ml de dichlorométhane. A 0°C, un mélange de DCC (1,52 g, 7,4 mmole) avec 20 ml de dichlorométhane est additionné.

La suspension est ensuite agitée à 0°C pendant une heure et à température ambiante pendant 24 heures. A la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration, le solvant est évaporé, et le produit final est purifié par chromatographie sur colonne avec un mélange de CH₂Cl₂/MeOH (98 : 2).

CARACTERISATION

Rdt : 70%

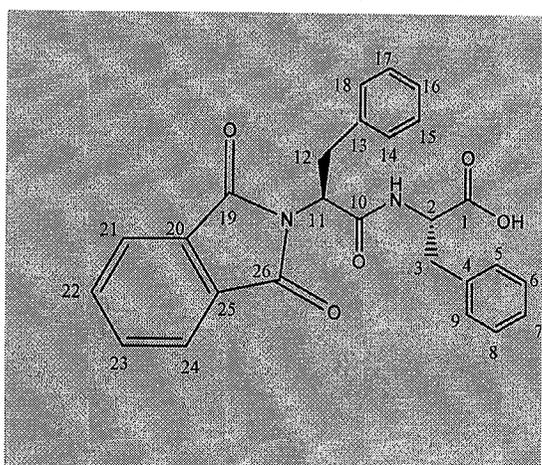
Tf = 80°C

I.R (cm⁻¹): 3326 (NH de l'amide), 1755-1791 (C=O phtalimido), 1734 (C=O l'ester), 1285 (C-O-C de l'ester).

RMN ¹H (400 MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1,9 (d, 4H_{3,13}, ³J = 15Hz, CH₂), 3,57 (s, 3H₁₀, CH₃), 4,4-4,5 (t, ³J = 15Hz, 2H_{2,12}, CH), 7,26 (m, 10H_{5-9, 15-19}, Ph), 7,7 (m, 4H₂₂₋₂₅, Ft).

RMN ¹³C (400 MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 22,6-25 (C_{3,13}), 52 (C₁₀), 54 (C_{2,11}), 127-132 (14Char), 137 (4Car), 167,9 (C_{20,27}), 171,1 (C₁₁), 171, 6 (C₁).

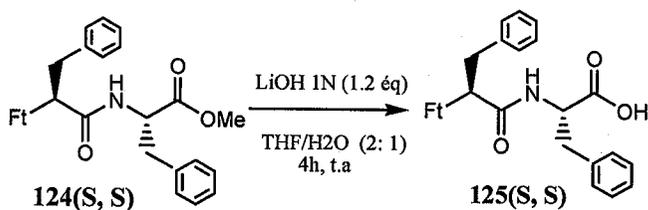
B.8. Hydrolyse de l'ester méthylique



125(S,S) : acide *N*-phtalimidophénylalanyl-3-phénylpropanoïque

C₂₆H₂₂N₂O₅

M = 442 g/mole



PROTOCOLE

Dans un ballon, l'amide de *N*-phtalimidophénylalanyl-3-phénylpropanoate de méthyle (9,6 g, 21 mmole) est dissout dans un mélange de THF/H₂O (2 : 1), ensuite une solution de LiOH 1N (25,2 mmole, 1,2 éq) est ajoutée goutte à goutte à 0°C. Le mélange est maintenu à 0°C pendant une heure et à température ambiante pendant 4 heures, suivie d'un lavage avec l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est ensuite acidifiée à pH = 2 et extraite avec l'acétate d'éthyle. L'acide obtenu est purification sur colonne chromatographique de silice avec le mélange de DCM/MeOH (99 : 1).

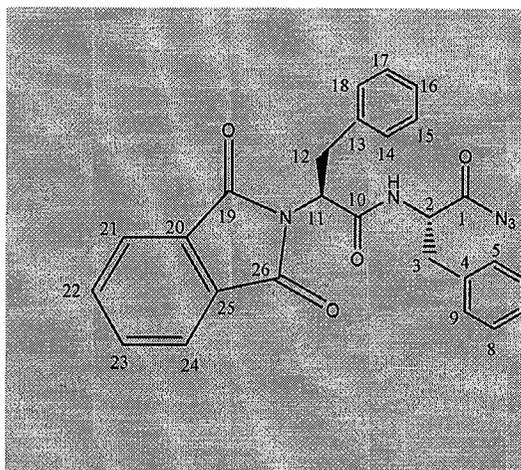
CARACTERISATION

Rdt : 86%

Tf = 110°C

I.R (cm⁻¹): 3326 (NH de l'amide), 1755-1791 (C=O phtalimido), 1700 (C=O carboxyle).

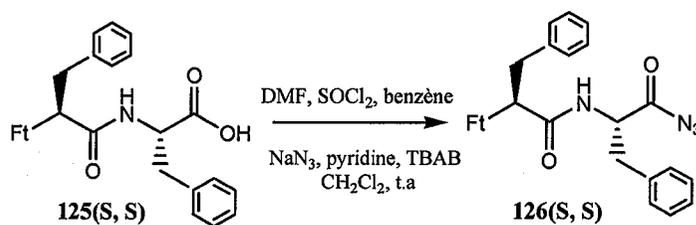
B.9. préparation de l'acylazide du dipeptide



126(S,S) : azide de *N*-phtalimidophénylalanyl-3-phénylpropanoyle

C₂₆H₂₁N₅O₄

M = 467g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé **32** (procédé B).

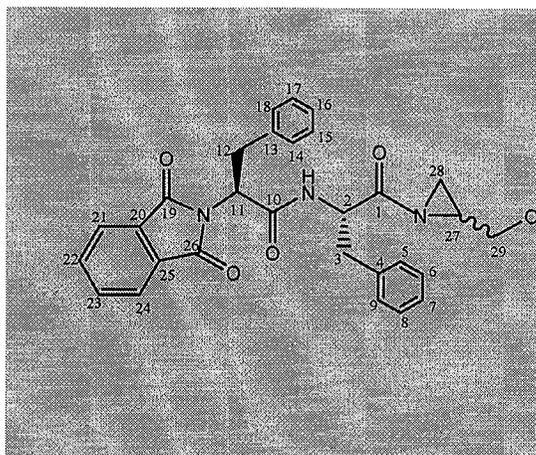
CARACTERISATION

Rdt : 71%

Produit pâteux

I.R (cm⁻¹) : 2159,44 (N₃), 1720 (C=O phtalimido), 1716 (C=O acyle)

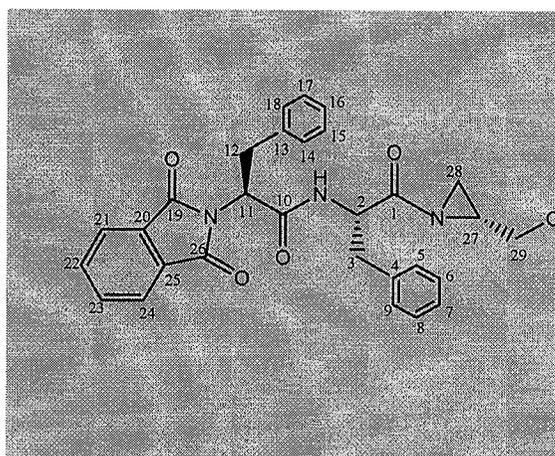
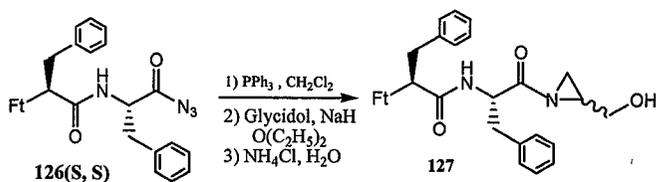
B.10. synthèse de la *N*-acylaziridine du dipeptide



127 : *N*-phtalimidophénylalanyl-3-phényl propanoylaziridine

$C_{29}H_{27}N_3O_5$

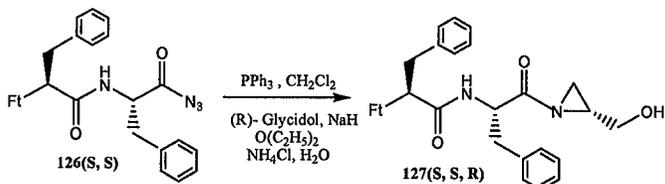
M = 497 g/mole



127(S,S,R) : *N*-phtalimidophénylalanyl-3-phényl propanoylaziridine

$C_{29}H_{27}N_3O_5$

M = 497 g/mole



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 114.

CARACTERISATION

Rdt : 65%

Tf = 95°C

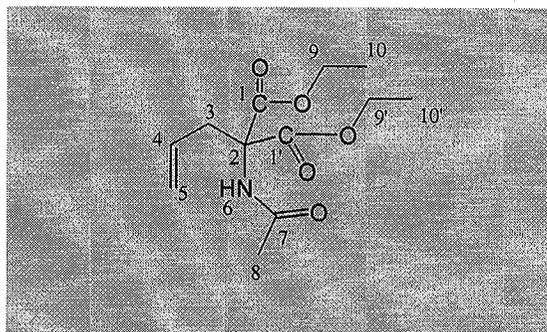
Pour le diastéréoisomère 127(S,S,R) le Rdt = 50%, et $[\alpha]_D^{25} = -24,8$ (c : 0,5, $CHCl_3$)

LR (cm^{-1}) : 3446 (O-H), 1772 (C=O phtalimido), 1716 (C=O)

RMN 1H (400 MHz ; δ : ppm, J : Hz, $CDCl_3$) : 1,2(dd, $^3J = 10$ Hz, 6,35Hz, 2H₂₈, CH₂ aziridine), 1,9 (d, 4H_{3,12}, $^3J = 15$ Hz, CH₂), 2,4(m, 1H₂₇, CH aziridine), 3,65(dd, $^3J = 6,35$ Hz, 4,6Hz, 2H₂₉, CH₂-OH), 4,4-4,5 (t, $^3J = 15$ Hz, 2H_{2,11}, CH), 7,26 (m, 10H_{5-9, 14-18}, Ph), 7,7 (m, 4H₂₁₋₂₄, Ft).

RMN ^{13}C (400 MHz ; δ : ppm, J : Hz, CDCl_3) : 22,6-25 ($\text{C}_{3,12}$), 29,02(C_{28}), 29,5 (C_{27}), 52,08 (C_{29}), 54 ($2\text{C}_{2,11}$), 127-132 (14CHar), 137 (4Car), 167,9 ($\text{C}_{19,26}$), 171,1 ($\text{C}_{1,10}$).

B.11. Synthèse des précurseurs d'un mime RGD



133: 2-acétylamino-2-allylmalonate de diéthyle

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_5$

M = 257,1 g/mol

PROTOCOLE

De l'éthanol anhydre (100 mL) est placé dans un tricol surmonté d'un réfrigérant avec garde à chlorure de calcium et d'une ampoule à brome. Du sodium (4,8 g ; 208 mmole ; 1 éq.) est ajouté lentement par petits morceaux en vérifiant que le mélange ne chauffe pas trop. Une fois le sodium totalement dissous, l'acétamidomalonate de diéthyle **132** (45,0 g ; 207 mmole) est ajouté et le mélange est agité 30 min : on obtient un mélange laiteux. Le bromure d'allyle (20,0 mL ; 230 mmole ; 1,1 éq.) est ajouté goutte à goutte à l'aide de l'ampoule à brome en maintenant la température à t.a. puis le mélange est agité à 40°C pendant 20h. L'éthanol est évaporé sous vide et le résidu est repris dans 20 mL d'eau. Après avoir acidifié la solution avec une solution d' H_2SO_4 1M (6 mL), le produit est extrait avec Et_2O et séché sur Na_2SO_4 anhydre, puis le solvant est évaporé sous vide. Une huile jaune est obtenue. Après séchage sur pompe à palette, la cristallisation peut-être amorcée au congélateur. On obtient un solide jaune pâle.

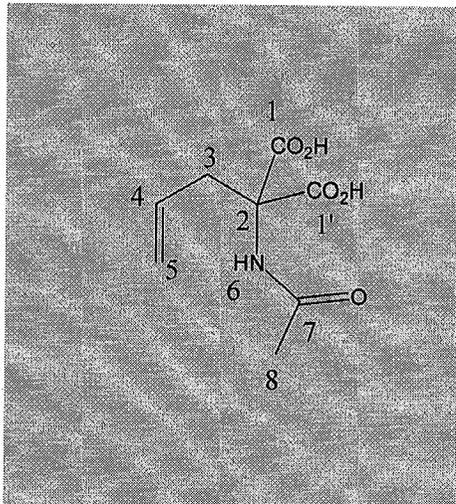
CARACTERISATION

Rdt = 96%

Tf < 60°C

RMN ^1H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl_3) : 1,24 (t, 6H, $^3\text{J}=7,1$, 3H_{10} et $3\text{H}_{10'}$), 2,02 (s, 3H, 3H_8), 3,05 (d, 2H, $^3\text{J}=7,4$, 2H_3), 4,22 (q, 4H, $^3\text{J}=7,1$, 2H_9 et $2\text{H}_{9'}$), 5,08 (m, 2H, 2H_5), 5,55 (dddd, 1H, $^3\text{J}=17,4$; $^3\text{J}=9,6$; $^3\text{J}=7,4$, H_4), 6,78 (s, 1H, H_6).

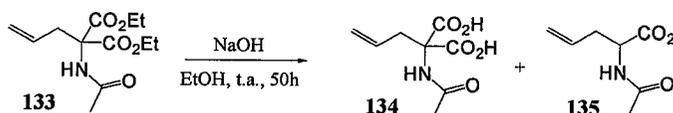
RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; CDCl_3) : 14,0 (C_{10} et $\text{C}_{10'}$) ; 22,9 (C_8) ; 36,9 (C_3) ; 62,6 (C_9 et $\text{C}_{9'}$) ; 66,2 (C_2) ; 119,8 (C_5) ; 131,3 (C_4) ; 167,6 (C_1 et $\text{C}_{1'}$) ; 169,0 (C_7).



134 : acide 2-acétylamino-2-allylmalonique (acide allylacétamidomalonique)

$C_8H_{11}NO_5$

$M = 201,1 \text{ g/mol}$

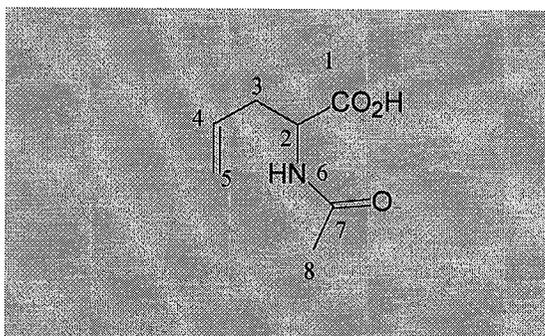


PROCOLE

L'allyl-acétamidomalonnate de diéthyle (24,55 g ; 95,5 mmole) est dissous dans 120 mL d'EtOH 95%. Une solution de soude 1,1M est ajoutée (2,3 éq. ; 220 mmole ; 200 mL) et la solution est agitée à t.a. pendant 58h. La phase aqueuse est extraite 3 fois au DCM. Une fois acidifiée avec 19 mL d'HCl concentré (2,7 éq. ; 260 mmole), la phase aqueuse est extraite avec 3 fois 100 mL d'une solution de DCM/MeOH : 80/20. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et concentrée sous vide. Le composé désiré **134** est obtenu sous forme de solide blanc (34% ; 6,58 g). La phase aqueuse est extraite en continue avec un mélange DCM/MeOH : 80/20 (chauffage à $50^\circ C$) pendant 2 jours. Un mélange 50/50 de **134** et **135** est obtenu (7,63 g). Soit au total : **134** : 56% ; **135** : 22%.

CARACTERISATION

RMN 1H (400 MHz ; δ : ppm ; J : Hz; MeOD): 2,00 (s,3H, 3H₈), 3,01(d, 2H, $^3J=7,4$, 2H₃), 5,10 (m, 2H, 2H₅), 5,66 (m, 1H, H₄).

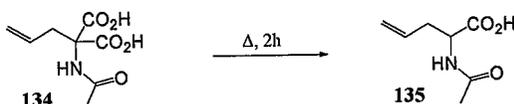


135 : acide 2-acétylamino-pent-4-énoïque
(N-acétylallylglycine)

$C_7H_{11}NO_3$

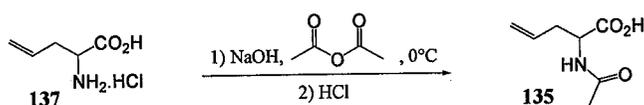
$M = 157,1 \text{ g/mol}$

PROTOCOLE



Procédé A

L'acide allylacétamidomalonique (6,84 g ; 34 mmole) est chauffé dans un ballon avec un bain d'huile à 125°C pendant 2h. Le produit est ensuite dissous dans 30 mL d'eau distillée et la solution est décolorée sur charbon actif, puis filtrée. L'eau est évaporée. On obtient un gel incolore. Le produit est purifié sur résine échangeuse d'anion (DOWEX 1X2-400). Les fractions contenant la (*R,S*)-*N*-acétyllallylglycine sont rassemblées et concentrées sous vide (CCM : DCM/MeOH/AcOH : 89,5/10/0,5). L'acide attendu **135** est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec 61% de rendement (3,25 g).



Procédé B

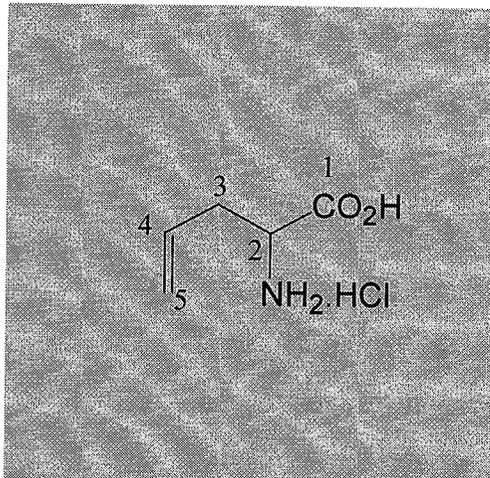
Le chlorhydrate d'allylglycine **137** (199 mmol ; 30,14 g) est dissous dans 200 mL de soude 2M (2 éq. 400 mmole). A 0°C, l'anhydride acétique (1,5 éq. ; 299 mmole ; 28,2 mL) est ajouté en cinq portions sur une période de 1h. Puis, 4 mL d'une solution saturée de NaOH sont ajoutés pour maintenir le pH de la solution au dessus de 9,5. Après 15 min d'agitation, de l'acide chlorhydrique concentré (3,2 éq. ; 640mmole ; 55 mL) est ajouté à 0°C, ramenant la solution à un pH de 1. La phase aqueuse est extraite avec 5 fois 100 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé sous vide. L'acide attendu **135** est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec 72% de rendement brut (22,46 g). Le produit est purifié par recristallisation dans un mélange acétone/éther de pétrole (50/50 ; 100 mL). L'acide **135** pur est obtenu sous forme de poudre blanche (32% ; 10,1 g).

CARACTÉRISATION

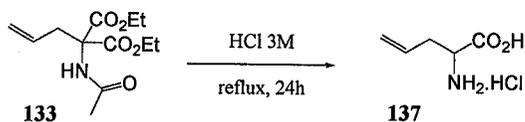
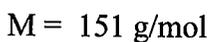
Tf = 114°C

RMN ¹H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz; D₂O): 1,91(s, 3H, 3H₈), 2,45 (m, 2H, 2H₃), 4,31(dd, 1H, ³J=8,1 ; ³J=5,3, H₂), 5,07 (m, 2H, 2H₅), 5,68 (dddd, 1H, ³J=17,2 ; ³J=10,2 ; ³J=7,0, H₄).

RMN ¹³C (75 MHz ; δ : ppm, D₂O): 21,5 (C₈) ; 34,8 (C₃) ; 52,5 (C₂) ; 118,7 (C₅) ; 132,6 (C₄) ; 174,1 et 175,2 (C₁ et C₇).



137 : chlorhydrate de l'acide 2-amino-pent-4-
enoïque



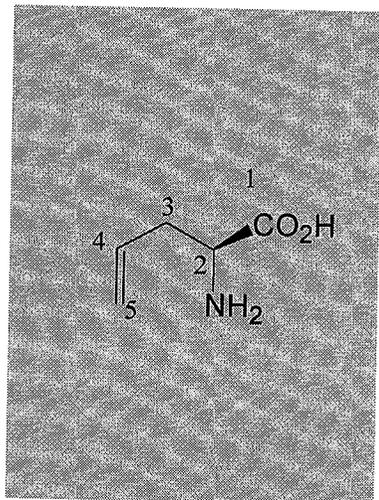
PROTOCOLE

L'allylacétamidomalonate de diéthyle (52,3 g ; 203 mmole) est dissous dans 600 mL d'HCl 3M et le mélange est agité à reflux pendant 24h. Une fois le mélange refroidi à 40-50°C, le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est repris dans quelques mL d'éthanol absolu et rééaporé. L'opération est répétée au moins trois fois. Cette opération est répétée avec du DCM si le produit ne cristallise pas. Le composé **137**, séché sur la pompe à palette, est obtenu sous forme d'un solide écru avec un rendement quantitatif (30,8 g).

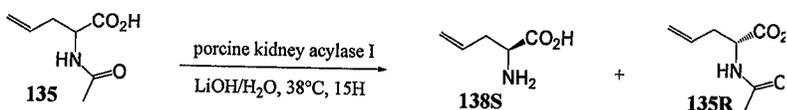
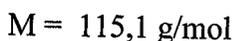
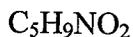
CARACTERISATION

RMN ^1H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz; D_2O): 2,62 (m, 2H, 2H₃), 4,04 (dd, 1H, $^3\text{J}=5,9$; $^3\text{J}=4,7$, H₂), 5,2 (d, 1H, $^3\text{J}=8,8$, H₅ (cis/H₄)), 5,23 (d, 1H, $^3\text{J}=15,3$, H₅ (trans/H₄)), 5,69 (dddd, 1H, $^3\text{J}=15,3$; $^3\text{J}=9,1$; $^3\text{J}=^3\text{J}=6,1$, H₄).

RMN ^{13}C (75 MHz; δ : ppm ; D_2O): 34,1 (C₃) ; 52,3 (C₂) ; 121,3 (C₅) ; 130,3 (C₄) ; 171,8 (C₁).



138S : acide (2*S*)-2-amino-pent-4-énoïque ou (*S*)-allylglycine



PROTOCOLE

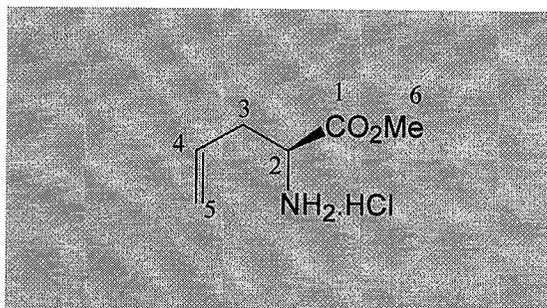
La (*RS*)-*N*-acétylallylglycine (57,3 mmole ; 9 g) est dissoute dans 420 mL d'eau distillée. Le pH de la solution est ajusté à 7,8 à l'aide d'une solution de LiOH 1M. L'enzyme *porcine kidney acylase I* (105 mg) est ajoutée et le mélange est agité à 38°C pendant 15h. 1,5 g de charbon actif est ajouté pour neutraliser l'enzyme et le mélange est agité 15 min. Le tout est filtré sur une couche de célite compactée avec de l'eau distillée. La célite est rincée avec de l'eau distillée (60 mL). Le filtrat est passé sur résine échangeuse de cation (DOWEX 50WX8-400 ; sous forme H⁺). Un lavage à l'eau (4 fois 100 mL) permet de récolter la (*R*)-*N*-acétylallylglycine, puis l'allylglycine est décrochée avec une solution d'ammoniaque 1M (6 fois 100 mL). Les fractions contenant l'amine sont évaporées (CCM : phase organique d'un mélange butan-1-ol/AcOH/H₂O : 4/1/5 ; révélée à la ninhydrine). La (*R*)-*N*-acétylallylglycine (solide marron, 49% ; 4,43 g) et la (*S*)-allylglycine (poudre blanche, 41% ; 2,7 g) sont ainsi obtenues séparément.

CARACTERISATION 42S

$[\alpha]_D^{20} = -36,5$ (c 4,0, H₂O) {lit.⁽¹⁹⁰⁾ $[\alpha]_D^{24} = -37,1$ (c 4,0, H₂O)}

RMN ¹H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz ; D₂O) : 2,51 (m, 2H, 2H₃), 3,64 (dd, 1H, ³J=6,8 ; ³J=5,2, H₂), 5,18 (m, 2H, 2H₅), 5,70 (dddd, 1H, ³J=17,2 ; ³J=10,1 ; ³J=7,1, H₄).

RMN ¹³C (75 MHz ; δ : ppm ; D₂O) : 33,0 (C₃) ; 52,3 (C₂) ; 118,7 (C₅) ; 130,0 (C₄) ; 170,7 (C₁).

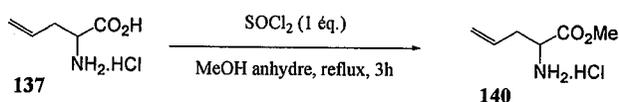


140 : chlorhydrate du (2*S*)-2-amino-pent-4-enoate de méthyle



$M = 165,1 \text{ g/mol}$

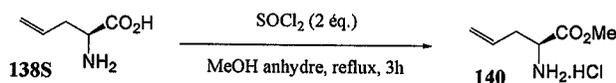
PROTOCOLE



Procédé A

Le protocole est le même que le procédé B décrit ci-dessous mais ici, 1 éq. de SOCl_2 est utilisé. Le rendement est quantitatif à l'échelle de plusieurs grammes.

Procédé B



La (*S*)-allylglycine (2,46 g ; 21,4 mmoles) est dissoute dans 30 mL de méthanol anhydre dans un ballon surmonté d'une ampoule à brome avec garde à CaCl_2 . A 0°C , le chlorure de thionyle (3,2 mL ; 43,8 mmoles ; 2 éq.) est ajouté goutte à goutte à l'aide de l'ampoule à brome. Une fois l'addition terminée, le mélange est agité à reflux avec garde à CaCl_2 pendant 3h. Une fois le mélange revenu à t.a., le solvant est évaporé sous vide. L'huile jaune pâle obtenue est reprise dans quelques mL de méthanol et concentrée sous vide. L'opération est répétée trois fois puis avec du DCM si le produit ne cristallise pas. Une fois séché sur la pompe à palette, l'ester **140** est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (3,5 g).

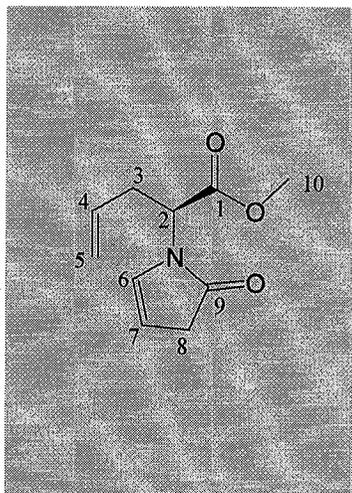
CARACTERISATION

$T_f = 62^\circ\text{C}$

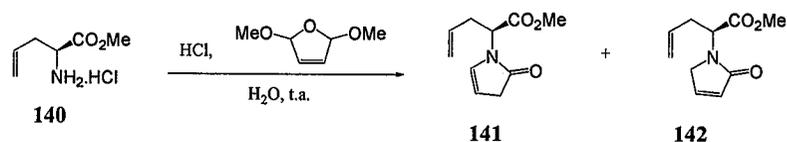
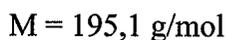
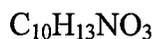
$[\alpha]_D^{33} = + 8,4$ (c 1.0, MeOH) {lit.⁽¹⁹⁸⁾ $[\alpha]_D^{20} = + 8,3$ (c 1.07, MeOH)}

RMN ^1H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz ; MeOD): 2,73 (m, 2H, 2H₃), 3,86 (s, 3H, H₆), 4,20 (dd, 1H, $^3J=6,6$; $^3J=5,7$, H₂), 5,30 (m, 2H, 2H₅), 5,82 (dddd, 1H, $^3J=16,8$; $^3J=9,6$; $^3J=^3J=7,2$, H₄).

RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; MeOD) : 34,3 (C₃) ; 52,2 et 52,3 (C₂ et C₆) ; 120,3 (C₅) ; 130,3 (C₄) ; 169,0 (C₁).



141 : 2-(2-oxo-2,3-dihydro-pyrrol-1-yl)-pent-4-enoate de méthyle



PROTOCOLE

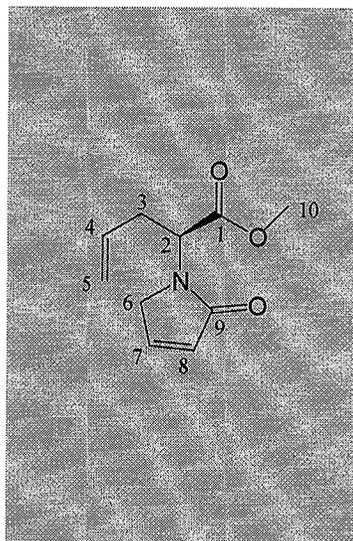
L'ester de l'allylglycine (37,83 g ; 229 mmoles) est dissous dans 750 mL d'eau distillée. L'HCl 1M (46 mL ; 46 mmoles ; 0,2 éq.) puis le 2,4-diméthoxydihydrofurane (28 mL ; 231 mmoles ; 1 éq.) sont ajoutés et l'agitation est maintenue pendant 2h30 à t.a. Le NaHCO₃ solide est ajouté à 0°C progressivement au mélange sous agitation (dégagement de CO₂) jusqu'à pH basique (23,1 g de NaHCO₃) puis le mélange est extrait 2 fois au DCM. La phase aqueuse étant de nouveau acide, elle est basifiée avec 5,0 g de NaHCO₃ (soit au total 28,1g ; 334 mmoles). Le mélange est extrait 6 fois au DCM. Les fractions sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ anhydre et concentrées sous vide. Une huile rouge cassis est obtenue (rendement brut de 96% ; 42,79 g). Le mélange est purifié en partie sur chromatographie flash (SiO₂ ; gradient : AcOEt/Cyclohexane : 40/60 → 60/40). Les deux régioisomères **141** et **142** sont caractérisés (cf ci-dessous) puis rassemblés et séchés sur pompe à palette pour donner 71% d'une huile rouge et liquide (31,9 g).

CARACTERISATION

Rf = 0,6 (AcOEt/cyclohexane : 60/40)

RMN ¹H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz; CDCl₃): 2,34 (m, 1H, H₃), 2,53 (m, 1H, H₃), 2,86 (d, 2H, ³J=2,1, 2H₈), 3,52 (s, 3H, 3H₁₀), 4,67 (dd, 1H, ³J=10,0 ; ³J=5,1, H₂), 4,87 (d, 1H, ³J=8,8, H₅ (trans/H₄)), 4,93 (d, 1H, J=1,4, H₅ (cis/H₄)), 5,12 (dd, 1H, ³J=5,3 ; ³J=2,8, H₇), 5,48 (m, 1H, H₄), 6,41 (d, 1H, ³J=5,0Hz, H₆).

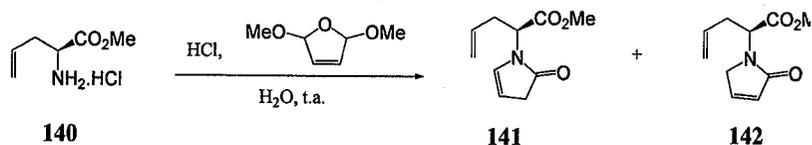
RMN ¹³C (75MHz ; δ : ppm ; CDCl₃): 34,6 (C₃) ; 36,3 (C₈) ; 51,8 (C₁₀) ; 53,1 (C₂) ; 103,5 (C₇) ; 118,2 (C₅) ; 130,1 (C₆) ; 131,9 (C₄) ; 170,1 et 176,3 (C₁ et C₉).



142 : 2-(2-oxo-2,5-dihydro-pyrrol-1-yl)-pent-4-enoate de méthyle

$C_{10}H_{13}NO_3$

$M = 195,1 \text{ g/mol}$



PROTOCOLE

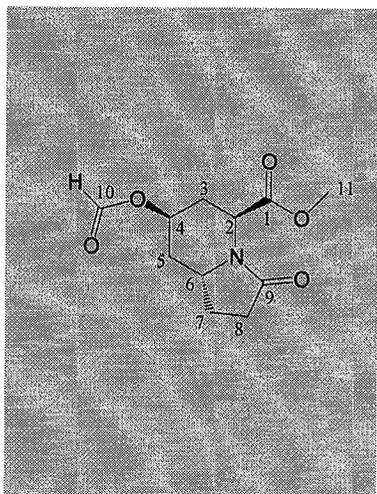
Voir protocole du composé **141**.

CARACTERISATION

$R_f = 0,52$ (AcOEt/cyclohexane : 60/40)

RMN 1H (300 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; $CDCl_3$) : 2,41 (m, 1H, H_3), 2,65 (m, 1H, H_3), 3,57 (s, 3H, $3H_{10}$), 3,87 (dd, 1H, $^2J=19,9$; $^3J=1,7$, H_6), 4,1 (dd, 1H, $^2J=19,9$; $^3J=1,7$, H_6), 4,85 (dd, 1H, $^3J=10,5$; $^3J=5,2$, H_2), 4,93 (d, 1H, $^3J=10,7$, H_5 (cis/ H_4)), 5,01 (d, 1H, $^3J=17,4$, H_5 (trans/ H_4)), 5,56 (m, 1H, H_4), 6,02 (ddd, 1H, $^3J=6,0$; $^3J=^3J=1,7$, H_7), 7,03 (d, 1H, $^3J=6,0$, H_8).

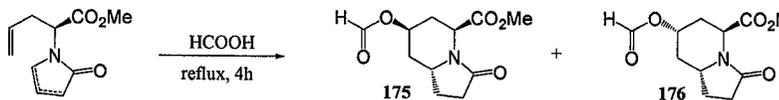
RMN ^{13}C (75MHz ; δ : ppm ; $CDCl_3$) : 34,1 (C_3) ; 49,7 (C_6) ; 52,0 (C_{10}) ; 52,5 (C_2) ; 117,9 (C_5) ; 126,7 (C_7) ; 132,9 (C_4) ; 143,9 (C_8) ; 171,1 et 171,6 (C_1 et C_9).



175 : 7-formyloxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate de méthyle

$C_{11}H_{15}NO_5$

$M = 241,1 \text{ g/mol}$



PROTOCOLE

Le lactame (0,165 mol ; 32,25 g) est dissous dans 450 mL d'acide formique pur. Le mélange est agité à reflux avec réfrigérant et garde à $CaCl_2$ pendant 4h. L'acide formique est ensuite évaporé. Le résidu est repris dans le DCM et le reste d'acide est neutralisé avec une solution saturée de $NaHCO_3$. Le mélange est extrait trois fois au DCM, la phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 ; AcOEt/Cyclohexane : 90/10) pour donner 84% d'un mélange de deux diastéréoisomères séparables 175/176 : 60/40. Le solide 175 obtenu est recristallisé dans un mélange iPr_2O/DCM : 10/1 (solide jaune pâle).

CARACTÉRISATION

$R_f = 0,23$ (AcOEt/Cyclohexane : 90/10)

$T_f = 98^\circ C$

Microanalyse :

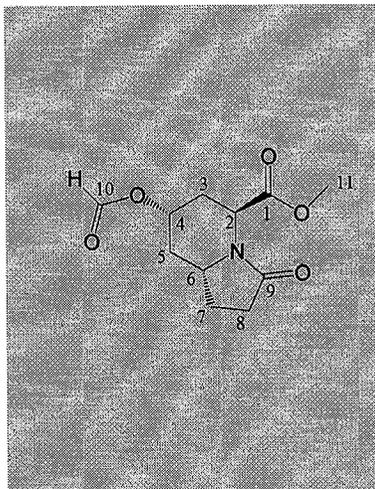
Calculé (%) : C 54,77 H 6,27 N 5,81

Obtenu (%) : C 54,55 H 6,27 N 5,82

RMN 1H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; $CDCl_3$) : 1,19 (dd, 1H, $^2J=^3J_{ax-ax}=12,0$, $H_{5(ax)}$), 1,34 (m, 1H, H_7), 1,64 (ddd, 1H, $^2J=14,8$; $^3J=7,0$; $^3J=2,2$, H_3), 1,86 (dm, 1H, $^2J=13,0$, $H_{5(eq)}$), 2,1 (m, 3H, $2H_8 + H_7$), 2,31(d, 1H, $^2J=14,8$, H_3), 3,42 (s, 3H, $3H_{11}$), 3,7 (dddd, 1H, $^3J_{ax-ax}=11,5$; $^3J=8,0$; $^3J=3,5$, H_6), 4,47 (d, 1H, $^3J=6,9$, H_2), 5,0 (m, 1H, H_4), 7,58 (s, 1H, H_{10}).

RMN ^{13}C (100 MHz ; δ : ppm; $CDCl_3$) : 25,6 (C_7) ; 29,5 (C_3) ; 29,9 (C_8) ; 35,8 (C_5) ; 47,8 (C_2) ; 49,1 (C_6) ; 52,2 (C_{11}) ; 66,7 (C_4) ; 159,7 (C_{10}) ; 170,5 et 174,5 (C_1 et C_9).

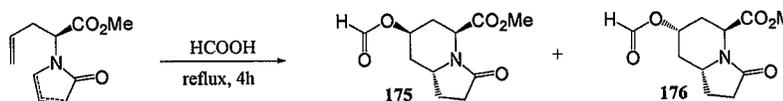
(5*S*, 7*S*, 8*aR*) : $[\alpha]_D^{32} = -29,7$ (c 1.0, CHCl₃)



176 : 7-Formyloxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate
de méthyle

C₁₁H₁₅NO₅

M = 241,2 g/mol



PROTOCOLE

Voir protocole du composé 175. Le composé 176 est obtenu sous forme d'huile visqueuse jaune.

CARACTÉRISATION

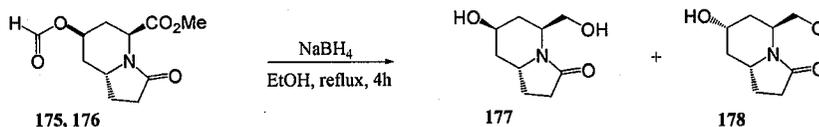
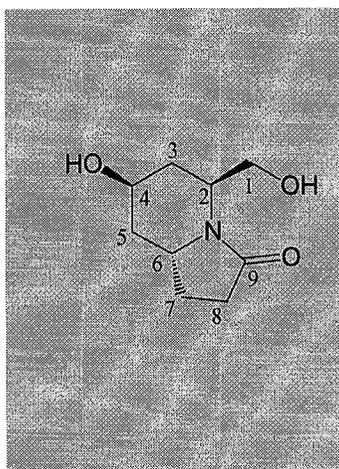
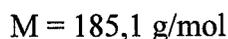
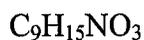
R_f = 0,33 (AcOEt/Cyclohexane : 90/10)

RMN ¹H (400 MHz ; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl₃) : 1,23 (ddd, 1H, ²J=³J_{ax-ax}=11,7, H_{5(ax)}), 1,6 (m, 2H, H₃ + H₇), 2,2 (m, 2H, H₇ + H_{5(eq)}), 2,4 (m, 3H, H₃ + 2H₈), 3,69 (s, 3H, 3H₁₁), 3,82 (dddd, 1H, ³J_{ax-ax}=11,3; ²J=7,5; ³J=3,4, H₆), 4,89 (m, 2H, H₂ + H₄), 7,95 (s, 1H, H₁₀).}}

RMN ¹³C (100 MHz ; δ : ppm ; CDCl₃) : 25,2 (C₇) ; 30,0 (C₈) ; 31,2 (C₃) ; 38,0 (C₅) ; 49,7 (C₂) ; 52,7 (C₁₁) ; 53,0 (C₆) ; 67,5 (C₄) ; 160,1 (C₁₀) ; 170,3 et 174,2 (C₁ et C₉).

(5*S*, 7*R*, 8*aR*) : $[\alpha]_D^{33} = -19,6$ (c 1.0, CHCl₃)

177: 7-Hydroxy-5-hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-3-one



PROTOCOLE

Le diester (6,386 g ; 26,5 mmoles ; 175/176 : 60/40) est dissous dans 250 mL d'éthanol absolu dans des conditions anhydres. Le borohydrure de sodium (9,91 g ; 262 mmoles, 10 eq.) est ajouté par petites portions. Le mélange est porté à reflux (réfrigérant avec garde à CaCl_2) pendant 4h. L'éthanol est évaporé avec précaution et le résidu est repris dans le DCM. Une solution saturée en K_2CO_3 est ajoutée. Après 3 extractions au DCM, la phase organique est séchée sur MgSO_4 et concentrée sous vide. Les diastéréoisomères sont purifiés et séparés sur colonne de silice (DCM/MeOH : 90/10). Le diol **178** est isolé sous forme de cristaux jaunâtres avec un rendement de 6% (319 mg). Le diol **177** est isolé sous forme de cristaux jaunâtre avec un rendement de 24% (1,179 g). Un mélange de diols **177/178** est également obtenu avec 21% de rendement (1,024g ; 177/178 : 28/72). Au total, le mélange de diols est obtenu avec un rendement de 51% (177/178 : 58/42).

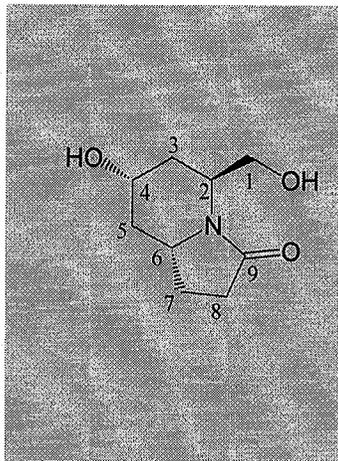
CARACTÉRISATION

Rf = 0,28 (DCM/MeOH : 90/10)

RMN ^1H (300 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl_3) : 1,37 (ddd, 1H, $^2\text{J}=13,9$; $^3\text{J}_{\text{ax-ax}}=11,4$; $^3\text{J}=2,5$, $\text{H}_{5(\text{ax})}$), 1,55 (m, 1H, H_7), 1,93 (m, 2H, 2H_3), 2,03 (dm, 1H, $^2\text{J}=13,7$, $\text{H}_{5(\text{eq})}$), 2,26 (m, 1H, H_7), 2,4 (m, 2H, 2H_8), 3,77 (dd, 1H, $^2\text{J}=11,0$; $^3\text{J}=4,3$, H_1), 3,92 (dd, 1H, $^2\text{J}=11,0$; $^3\text{J}=4,1$, H_1), 4,12 (dddd, 1H, $^2\text{J}=11,3$; $^3\text{J}=\text{J}=7,6$; $^3\text{J}=3,6$, $\text{H}_{6(\text{ax})}$), 4,22 (m, 1H, $\text{H}_{4(\text{eq})}$), 4,31 (m, 1H, $\text{H}_{2(\text{eq})}$).

RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; CDCl_3) : 25,4 (C_7) ; 30,0 (C_8) ; 31,3 (C_3) ; 39,3 (C_5) ; 48,3 (C_2) ; 50,0 (C_6) ; 62,4 (C_4) ; 64,0 (C_1) ; 174,5 (C_9).

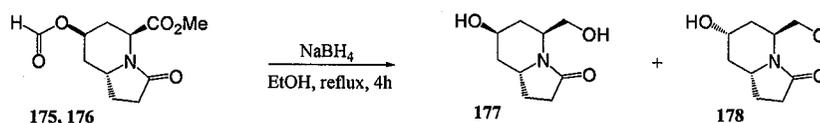
(5S, 7S, 8aR) : $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -44,3$ (c 3.9, MeOH)



178: 7-Hydroxy-5-hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-3-one

$C_9H_{15}NO_3$

$M = 185,1 \text{ g/mol}$



PROTOCOLE

Voir le protocole du composé 177.

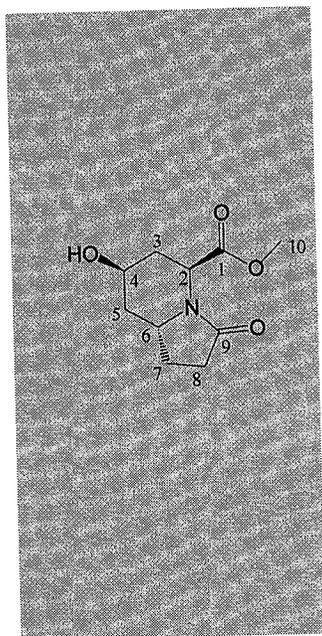
CARACTÉRISATION

$R_f = 0,21$ (DCM/MeOH : 90/10)

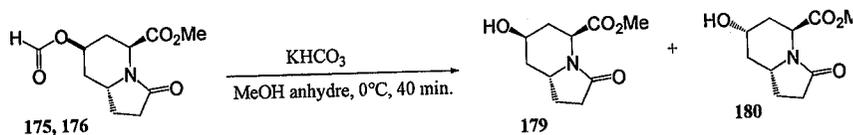
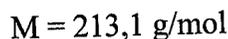
RMN 1H (300 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; $CDCl_3$) : 1,18 (ddd, 1H, $^2J=^3J_{ax-ax}=^3J_{ax-ax}=12,0$, $H_{5(ax)}$), 1,51 (ddd, 1H, $^2J=14,0$; $^3J_{ax-ax}=12,0$; $^3J=7,0$, $H_{3(ax)}$), 1,67 (m, 1H, H_7), 2,05 (dddd, 1H, $^2J=14,0$; $^3J=4,4$; $^3J=^4J=2,2$, $H_{3(eq)}$), 2,13-2,3(m, 2H, $H_5 + H_7$), 2,42 (m, 2H, $2H_8$), 3,78 (d, 2H, $J=5,0$, $2H_1$), 3,75 (dddd, 1H, $^2J=11,5$; $^3J=^3J=7,4$; $^3J=3,6$, $H_{6(ax)}$), 3,98 (m, 1H, $H_{4(ax)}$), 4,45 (ddd, 1H, $^3J=^3J=^3J=7,4$, $H_{2(eq)}$).

RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; MeOD) : 25,7 (C_7) ; 31,1 (C_8) ; 34,5 (C_3) ; 43,5 (C_5) ; 51,0 (C_2) ; 54,7 (C_6) ; 62,0 (C_1) ; 65,0 (C_4) ; 176,5 (C_9).

(5*S*, 7*S*, 8*aR*) : $[\alpha]_D^{25} = -21,1$ (c 3.9, MeOH)



179: 7-Hydroxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate de méthyle



PROTOCOLE

Le mélange de composés formylés (175/176 :66/34 ; 10,91 g ; 45,2 mmoles) est dissous dans 210 mL de MeOH anhydre. Le ballon, surmonté d'une garde à CaCl₂ est refroidi à 0°C pour l'ajout de KHCO₃ solide (4,54 g ; 45,4 mmoles ; 1 éq.). Le tout est agité à 0°C pendant 40 min. Le KHCO₃ est filtré sur coton et le filtrat est concentré sous vide. Une purification sur chromatographie flash (SiO₂ ; gradient : AcOEt/MeOH : 95/5 → 90/10) conduit à 8,3 g d'un mélange non séparable (solide jaune beige ; 86%).

Ce protocole effectué sur 175 seul a conduit au composé 179 avec un rendement brut quantitatif.

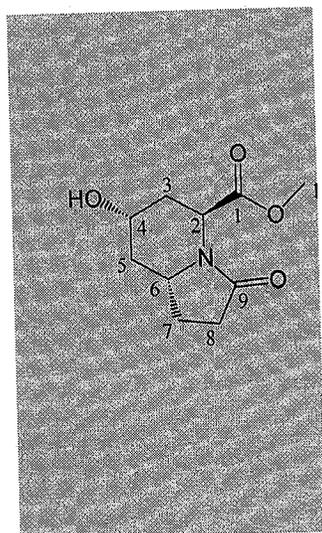
CARACTÉRISATION

R_f = 0,3 (AcOEt/MeOH : 90/10)

T_f = 127°C

RMN ¹H (300 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl₃) : 1,30 (ddd, 1H, ²J=13,8 ; ³J_{ax-ax}=12,0 ; ³J=2,2, H_{5(ax)}), 1,55 (dddd, 1H, ²J=12,4 ; ³J=³J=9,8 ; ³J=8,5, H₇), 1,76 (ddd, 1H, ²J=14,3 ; ³J=7,0 ; ³J=2,2, H_{3(ax)}), 2,01(dm, 1H, ²J=13,4, H_{5(eq)}), 2,23 (dddd, 1H, ²J=12,3 ; ³J=9,3 ; ³J=7,1 ; ³J=3,0, H₇), 2,5-2,3 (m, 3H, 2H₈ + H₃), 3,67 (s, 3H, 3H₁₀), 4,08 (dddd, 1H, ³J_{ax-ax}=11,8 ; ³J=³J=8,0 ; ³J=3,5, H_{6(ax)}), 4,19 (m, 1H, H_{4(eq)}), 4,68 (d, 1H, ³J=6,0, H_{2(eq)}).

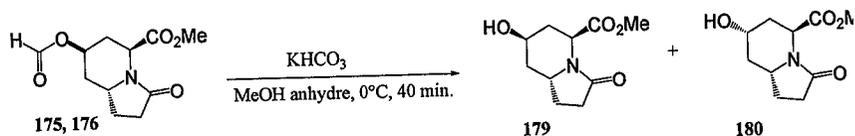
RMN ¹³C (75 MHz ; δ : ppm ; CDCl₃) : 25,8 (C₇) ; 30,2 (C₈) ; 32,7 (C₃) ; 38,8 (C₅) ; 48,1 (C₂) ; 49,2 (C₆) ; 52,4 (C₁₀) ; 63,7 (C₄) ; 171,9 et 175,3 (C₁ et C₉).



180 : 7-Hydroxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate de méthyle

$C_{10}H_{15}NO_4$

$M = 213,1 \text{ g/mol}$



PROTOCOLE

Voir le protocole du composé **179**.

Le protocole effectué avec le composé **176** seul à conduit au composé **180** avec un rendement de 76% après purification. Un solide jaune clair est obtenu.

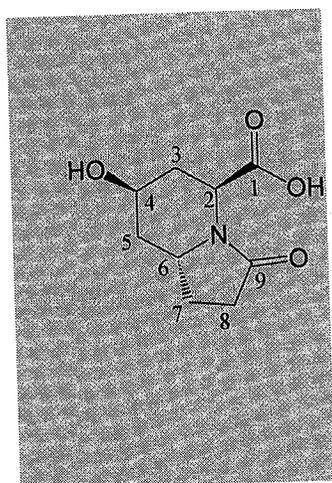
CARACTÉRISATION

R_f = 0,3 (AcOEt/MeOH : 90/10)

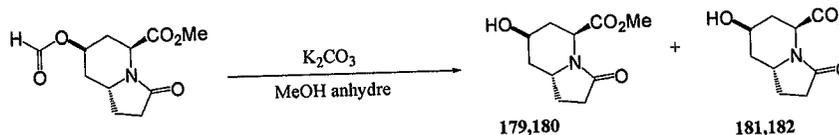
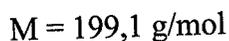
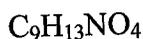
T_f = 94°C

RMN ¹H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; $CDCl_3$) : 1,1 (ddd, 1H, $^2J = ^3J_{ax-ax} = ^3J_{ax-ax} = 11,7$, $H_{5(ax)}$), 1,48 (m, 1H, H_3), 1,6 (m, 1H, H_7), 2,09 (d, 1H, $^2J = 11,8$, H_5), 2,2 (m, 1H, H_7), 2,38 (m, 3H, $2H_8$; H_3), 3,66 (s, 4H, $3H_{10}$; H_4), 3,75 (dddd, 1H, $^3J = 7$, $^2J = 5$, $H_{6(ax)}$), 4,8 (d, 1H, $^3J = 5,7$, $H_{2(eq)}$).

RMN ¹³C (100 MHz; δ : ppm : $CDCl_3$) : 25,5 (C_7) ; 30,4 (C_8) ; 34,7 (C_3) ; 41,8 (C_5) ; 50,2 (C_2) ; 52,6 (C_{10}) ; 53,9 (C_6) ; 65,2 (C_4) ; 170,9 et 174,8 (C_1 et C_9).



181 : Acide 7-hydroxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylique



PROTOCOLE

Le mélange de diester (8,96 g ; 37,2 mmole) est dissous dans 350 mL de méthanol. Le K_2CO_3 (12,8 g ; 93 mmoles ; 2,5 éq.) est ajouté et le mélange est agité pendant 5h. Le carbonate est filtré, le filtrat est acidifié avec une solution de HCl 1M et le tout est extrait au DCM puis avec un mélange DCM/MeOH : 80/20 (6 fois). Le résidu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 ; gradient : AcOEt/MeOH : 95/5 \rightarrow 80/20). Le mélange d'alcools **179** et **180** est obtenu avec 47% de rendement (3,75 g). Le mélange d'acide **181** et **182** est isolé avec 28% de rendement (2,04 g) sous forme de solide marron (*cis/trans* : 53/47). L'acide *cis* est recristallisé dans l'AcOEt et obtenu sous forme de solide blanc.

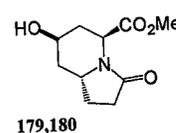
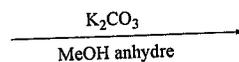
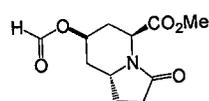
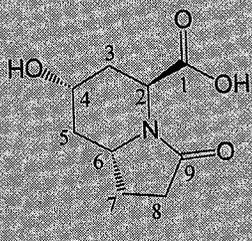
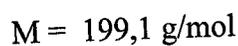
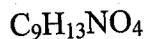
CARACTÉRISATION

Tf = 208°C

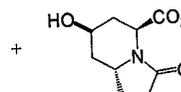
RMN 1H (300 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; D_2O) : 1,42 (ddd, 1H, $^2J=13,6$; $^3J_{ax-ax}=11,5$; $^3J=2,1$, $H_{5(ax)}$), 1,65 (m, 1H, H_7), 1,85(ddd, 1H, $^2J=14,2$; $^3J=7,3$; $^3J=2,1$, $H_{3(ax)}$), 2,03 (dm, 1H, $^2J=13,4$, $H_{5(eq)}$), 2,23-2,5 (m, 4H, $H_7 + H_3 + 2H_8$), 3,86 (m, 4H, $H_{6(ax)}$), 4,15 (m, 1H, $H_{4(eq)}$), 4,59 (d, 1H, $^3J=6,5$, $H_{2(eq)}$).

RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; D_2O) : 25,1 (C_7) ; 30,0 (C_3) ; 31,8(C_8) ; 37,3 (C_5) ; 48,1 (C_2) ; 49,9 (C_6) ; 63,2 (C_4) ; 174,2 et 177,6 (C_1 et C_9).

182 : Acide 7-hydroxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylique



179,180



181, 182

PROTOCOLE

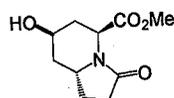
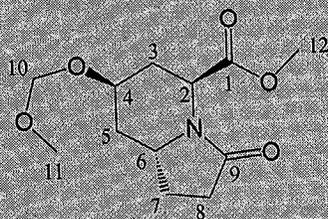
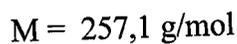
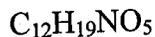
Voir protocole du composé **181**. Le mélange d'acide (solide marron) est récupéré avec 28% (mélange *cis/trans* : 53/47). L'acide *trans* recristallise très peu dans l'AcOEt.

CARACTÉRISATION

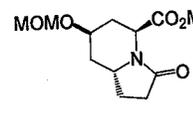
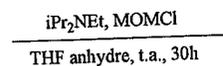
RMN 1H (300 MHz ; δ : ppm ; J : Hz ; D_2O) : 1,18 (ddd, 1H, $^2J=^3J_{ax-ax}=^3J_{ax-ax}=11,8$, $H_{5(ax)}$), 1,5-1,7 (m, 2H, $H_7 + H_3$), 2,17 (dm, 1H, $^2J=12,1$, $H_{3(ax)}$), 2,23-2,53 (m, 4H, $H_7 + H_3 + 2H_8$), 3,7 (dddd, 1H, $^3J_{ax-eq}=^3J_{ax-eq}=11,4$; $^3J=^3J=3,9$, $H_{4(ax)}$), 4,15 (m, 1H, $H_{6(ax)}$), 4,79 (d, 1H, $^3J=6,4$, $H_{2(eq)}$).

RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; D_2O) : 24,5 (C_7) ; 30,0 (C_3) ; 33,5 (C_8) ; 40,2 (C_5) ; 50,3 (C_2) ; 54,6 (C_6) ; 64,7 (C_4) ; 173,0 et 177,2 (C_1 et C_9).

183 : 7-Méthoxyméthoxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate de méthyle



179, 180



183, 184

PROTOCOLE

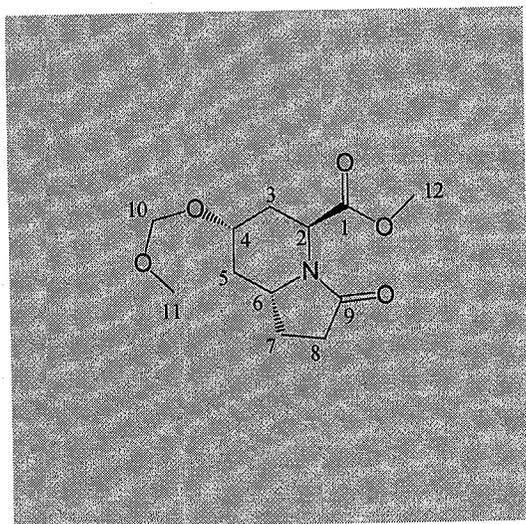
Le mélange d'alcool (371 mg ; 1,74 mmoles) est dissous dans 7 mL de THF anhydre sous argon. La diisopropyléthylamine distillée (860 μ L ; 5,2 mmoles ; 3 eq.) puis le chlorure de méthoxyméthane (395 μ L ; 5,2 mmoles ; 3 eq.) sont ajoutés à 0°C. Le mélange est agité à t.a. pendant 20h au bout desquelles il reste du produit de départ. 1,5 eq. supplémentaire de chacun des réactifs est ajouté et le tout est agité 16h. Du DCM et une solution saturée en NH_4Cl sont ajoutés. La phase organique est extraite, séchée sur MgSO_4 anhydre, filtrée et concentrée sous vide. Le résidu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 ; AcOEt) pour donner 388 mg (87%) du mélange des deux éthers de méthoxyméthyle.

CARACTÉRISATION

Rf = 0,39 (AcOEt/cyclohexane/MeOH : 80/15/5)

RMN ^1H (400 MHz ; δ : ppm ; J : Hz; CDCl_3) : 1,25 (ddd, 1H, $^2\text{J}=13,6$; $^3\text{J}=11,7$; $^3\text{J}=1,9$, $\text{H}_{5(\text{ax})}$), 1,52 (m, 1H, H_7), 1,66 (ddd, 1H, $^2\text{J}=14,4$; $^3\text{J}=7,0$; $^3\text{J}=2,0$, H_3), 2,03 (dm, 1H, $^2\text{J}=13,4$, H_5), 2,21 (m, 1H, H_7), 2,26-2,44 (m, 2H, H_8), 2,48 (d, 1H, $^2\text{J}=14,4$, H_3), 3,26 (s, 3H, 3H_{12}), 3,63 (s, 3H, 3H_{11}), 4,0 (m, 2H, H_4+H_6) 4,41(d, 1H, $^2\text{J}=6,8$, H_{10}), 4,55 (d, 1H, $^2\text{J}=6,8$, H_{10}), 4,66 (d, 1H, $^3\text{J}=6,6$, H_2).

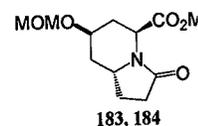
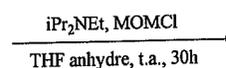
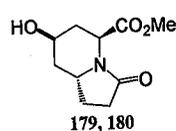
RMN ^{13}C (100 MHz ; δ : ppm ; CDCl_3) : 25,9 (C_7) ; 29,9 et 30,2 (C_3 et C_8) ; 37,2 (C_5) ; 48,2 et 49,5(C_2 et C_6) ; 52,2 (C_{11}) ; 55,5 (C_{12}) ; 67,7 (C_4) ; 94,0 (C_{10}) ; 171,2 et 174,9 (C_1 et C_9).



184 : 7-Méthoxyméthoxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate de méthyle

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_5$

M = 257,1 g/mol



PROTOCOLE

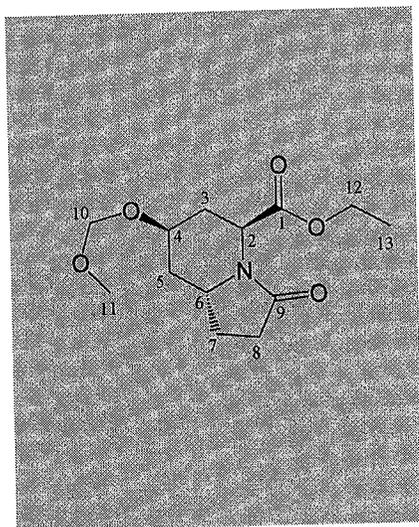
Voir le protocole du composé **183**.

CARACTÉRISATION

Rf = 0,46 (AcOEt/cyclohexane/MeOH :
80/15/5)

RMN ^1H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl_3) : 1,19 (ddd, 1H, $^2\text{J}=\text{J}=\text{J}=11,7$, $\text{H}_{5(\text{ax})}$), 1,61 (m, 2H, H_7+H_3), 2,24 (m, 2H, H_7+H_5), 2,3-2,5 (m, 3H, $2\text{H}_8+\text{H}_3$), 3,34 (s, 3H, 3H_{12}), 3,63 (m, 1H, $\text{H}_{4(\text{ax})}$), 3,72 (s, 3H, 3H_{11}), 3,80 (m, 1H, $\text{H}_{6(\text{ax})}$), 4,65 (s, 2H, 2H_{10}), 4,9 (d, 1H, $^3\text{J}=5,7$, H_2).

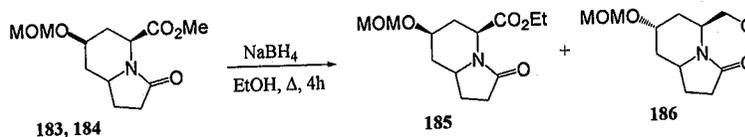
RMN ^{13}C (75 MHz ; δ : ppm ; CDCl_3) : 25,5 (C_7) ; 30,2 (C_8) ; 32,5 (C_3) ; 39,7 (C_5) ; 50,1 (C_2) ; 53,5 (C_6) ; 70,9 (C_4) ; 95,0 (C_{10}) ; 170,9 et 174,2 (C_1 et C_9).



185 : 7-Méthoxyméthoxy-3-oxo-octahydro-indolizin-5-carboxylate d'éthyle

$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_5$

M = 271,1 g/mol



PROTOCOLE

Dans un monocol surmonté d'un réfrigérant avec garde à CaCl_2 , l'ester de méthyle (*cis/trans* : 74/26 ; 128 mg ; 0,5 mmole) est dissous dans 10 mL d'éthanol absolu. Le borohydrure de sodium (189 mg ; 5 mmole ; 10 éq.) est ajouté à la solution, puis le mélange est agité à reflux pendant 4h. La solution est refroidie et le précipité de sels de boranes est filtré sur coton et lavé avec un peu de DCM. Le filtrat est concentré sous vide et le résidu est repris dans 10 mL d'eau distillée et extrait trois fois au DCM. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 ; Gradient : AcOEt/cyclohexane : 95/5 \rightarrow AcOEt/MeOH :

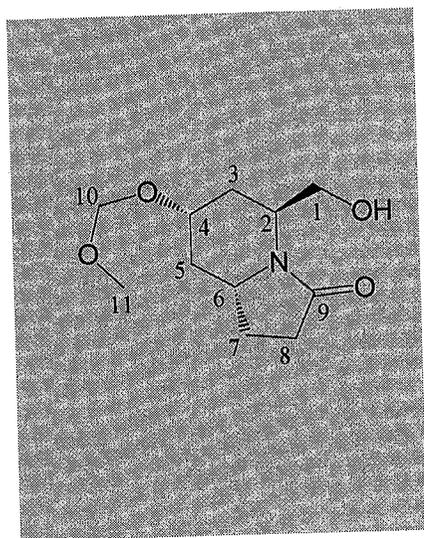
95/5) pour donner 86 mg de **185** (huile incolore, 63%, 86% sur **183**) et 23 mg de **186** (huile incolore, 20%, 77% sur **184**).

CARACTERISATION

Rf = 0,38 (AcOEt/cyclohexane/MeOH : 80/15/5)

RMN ¹H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl₃) : 1,10 (t, 3H, ³J=7,2, 3H₁₃), 1,16 (ddd, 1H, ²J=13,8 ; ³J_{ax-ax}=12,1 ; ³J=2,2, H_{5(ax)}), 1,43 (dddd, 1H, ²J=12,4 ; ³J=9,8 ; 9,8 ; 8,9, H₇), 1,58 (ddd, 1H, ²J=14,4 ; ³J=7,1 ; ³J=2,3, H_{3(ax)}), 1,95 (ddd, 1H, ²J=13,4, H_{5(eq)}), 2,12 (dddd, 1H, ²J=12,3 ; ³J=8,3 ; 5,4 ; 2,6, H₇), 2,22 (ddd, 1H, ²J=17,0 ; ³J=9,7 ; ³J=2,6, H₈), 2,29 (m, 1H, H₈), 2,40 (dddd, 1H, ²J=14,4 ; ³J=3,3 ; 1,7 ; 1,7, H_{3(eq)}), 3,19 (s, 3H, 3H₁₁), 3,89 (m, 2H, H₄ et H_{6(ax)}), 3,97 (dq, 1H, ²J=10,8 ; ³J=7,1, H₁₂), 4,03 (dq, 1H, ²J=10,8 ; ³J=7,2, H₁₂), 4,27 (d, 1H, ²J=6,8, H₁₀), 4,43 (d, 1H, ²J=6,7, H₁₀), 4,48 (dd, 1H, ³J=7,2 ; ³J=1,1, H_{2(eq)}).

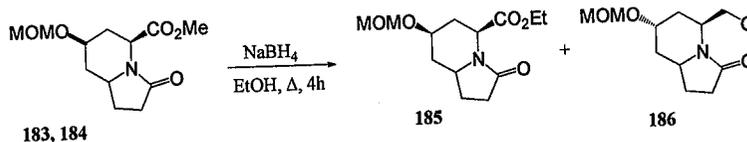
RMN ¹³C (100 MHz ; δ : ppm ; CDCl₃) : 14,1 (C₁₃) ; 26,0 (C₇) ; 29,8 (C₃) ; 30,3 (C₈) ; 37,1 (C₅) ; 48,3 (C₂) ; 49,5 (C₆) ; 55,4 (C₁₁) ; 61,1 (C₁₂) ; 67,7 (C₄) ; 93,9 (C₁₀) ; 170,6 et 174,8 (C₁ et C₉).



186 : 5-Hydroxymethyl-7-methoxymethoxy-hexahydroindolizin-3-one

C₁₁H₁₉NO₄

M = 229,1 g/mol



PROTOCOLE

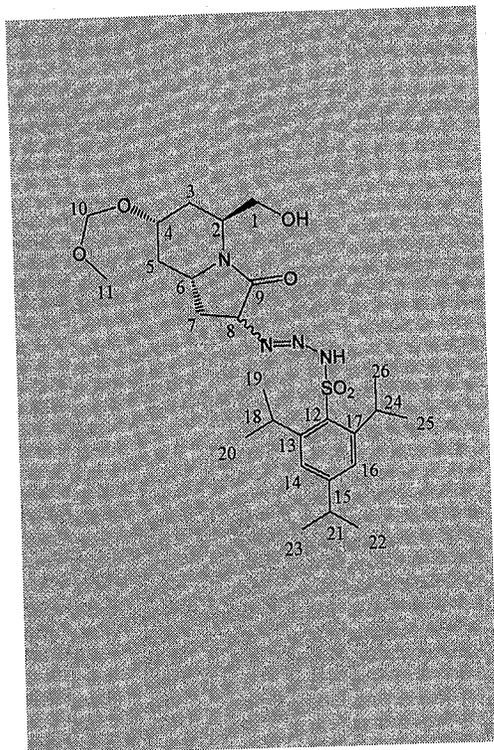
Voir le protocole du composé **185**.

CARACTÉRISATION

Rf = 0,09 (AcOEt/cyclohexane/MeOH : 80/15/5)

RMN ¹H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl₃) : 1,13 (ddd, 1H, ²J=³J=³J=11,7, H_{5(ax)}), 1,44 (ddd, 1H, ²J=³J_{ax-ax}=13,2 ; ³J=6,6, H_{3(ax)}), 1,58 (m, 1H, H₇), 2,05 (d, 1H, ²J=13,2, H_{3(eq)}), 2,18 (m, 2H, H_{5(eq)} + H₇),

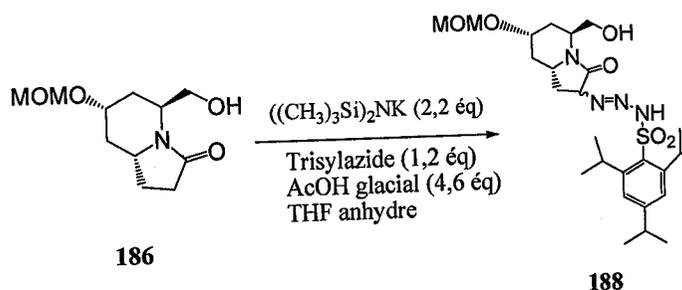
2,35 (m, 2H, 2H₈), 3,30 (s, 3H, 2H₁₁), 3,57 (d, 2H, ³J=6,7, 2H₁), 3,67 (m, 1H, H_{6(ax)}), 3,83 (m, 1H, H_{4(ax)}), 4,30 (ddd, 1H, ²J=³J=³J=6,6, H₂), 4,62 (s, 2H, 2H₁₀).



188 : 2-(2, 4, 6-triisopropylsulfonylazide)-5-Hydroxyméthyl-7-méthoxyméthoxy-hexahydro-indolizin-3-one

C₂₆H₄₂N₄O₆

M = 506 g/mol



PROTOCOLE

Dans un ballon et sous un atmosphère d'argon l'hexaméthylidisilylazide de potassium (0,7 ml, 3 mmoleé, 2,2 éq) est dissous dans 5 ml de THF à -78°C, le composé **186** (310 mg, 1,35 mmoleé) dissout dans 5 ml de THF anhydre est ajouté. Le mélange est agité pendant 30 min à -78°C, ensuite le trisylazide (500 mg, 1,62 mmoleé, 1,2éq, dissous dans 5 ml d THF) est additionné au mélange précédent à l'aide d'une cannule, après 1 à 2 min l'acide acétique glacial (0,36 ml, 6,21mmoles, 4,6éq) est ajouté. On laisse la température remonte à l'ambiante, ensuite à 30°C à l'aide d'un bain marie pendant 30 min. A la fin le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, la phase aqueuse est extrait trois fois avec le DCM, les phases organiques sont réunies et lavées avec une solution saturée de NaHCO₃, ensuite séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, une huile jaune est obtenue. Le résidu est purifié par chromatographie flash (SiO₂ ; Gradient : AcOEt 100%) pour donner 216 mg de **188**.

CARACTÉRISATION

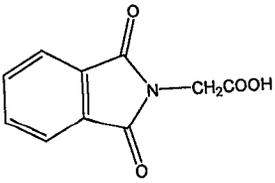
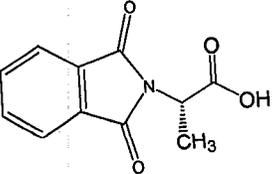
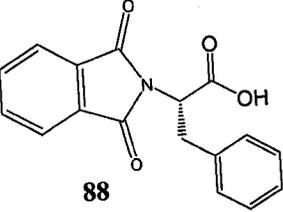
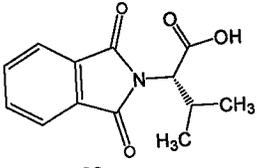
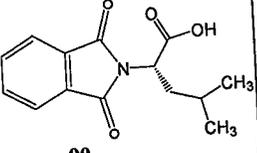
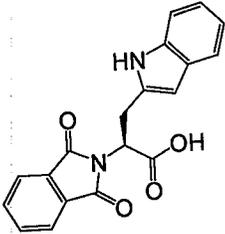
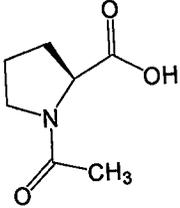
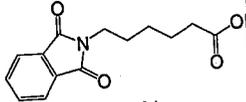
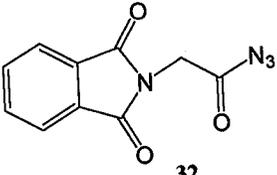
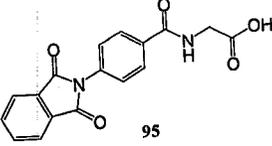
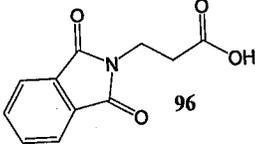
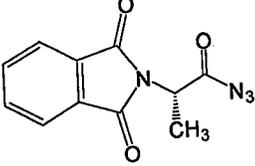
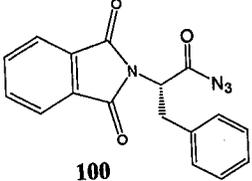
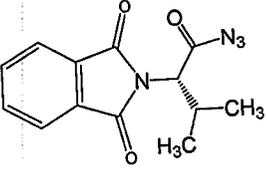
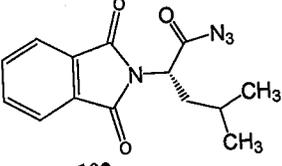
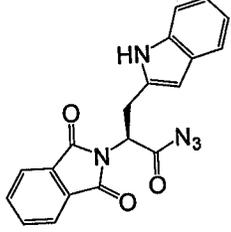
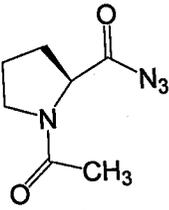
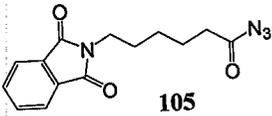
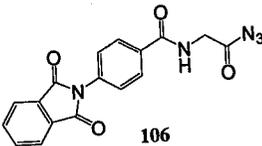
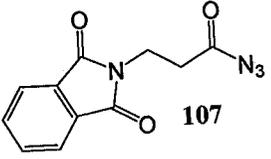
Rdt = 60%

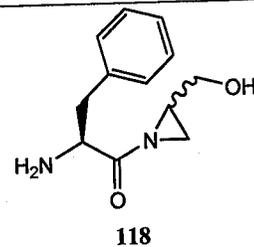
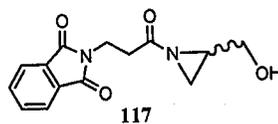
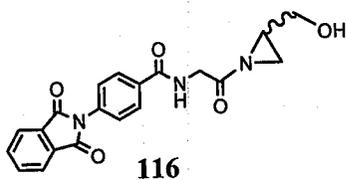
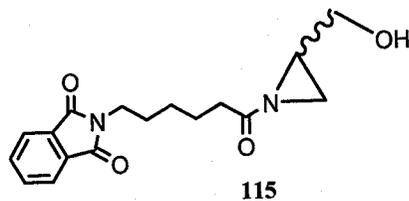
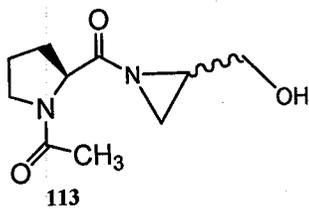
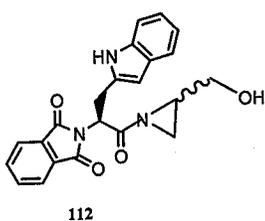
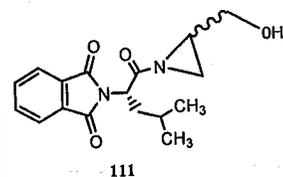
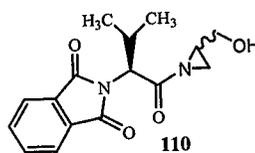
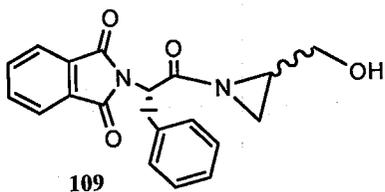
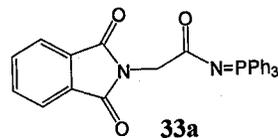
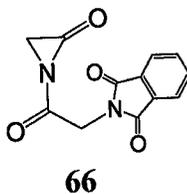
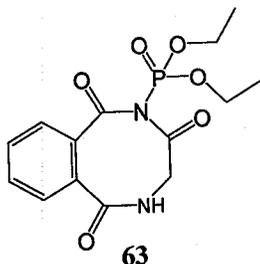
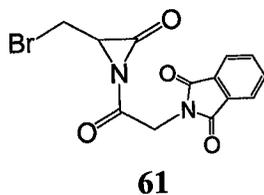
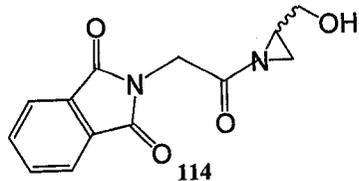
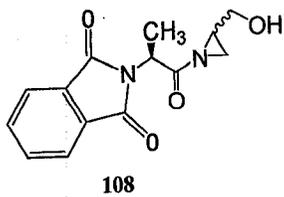
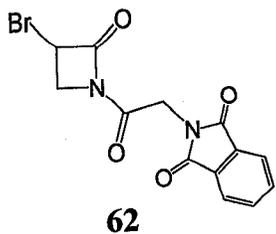
Rf = 0,48 (AcOEt)

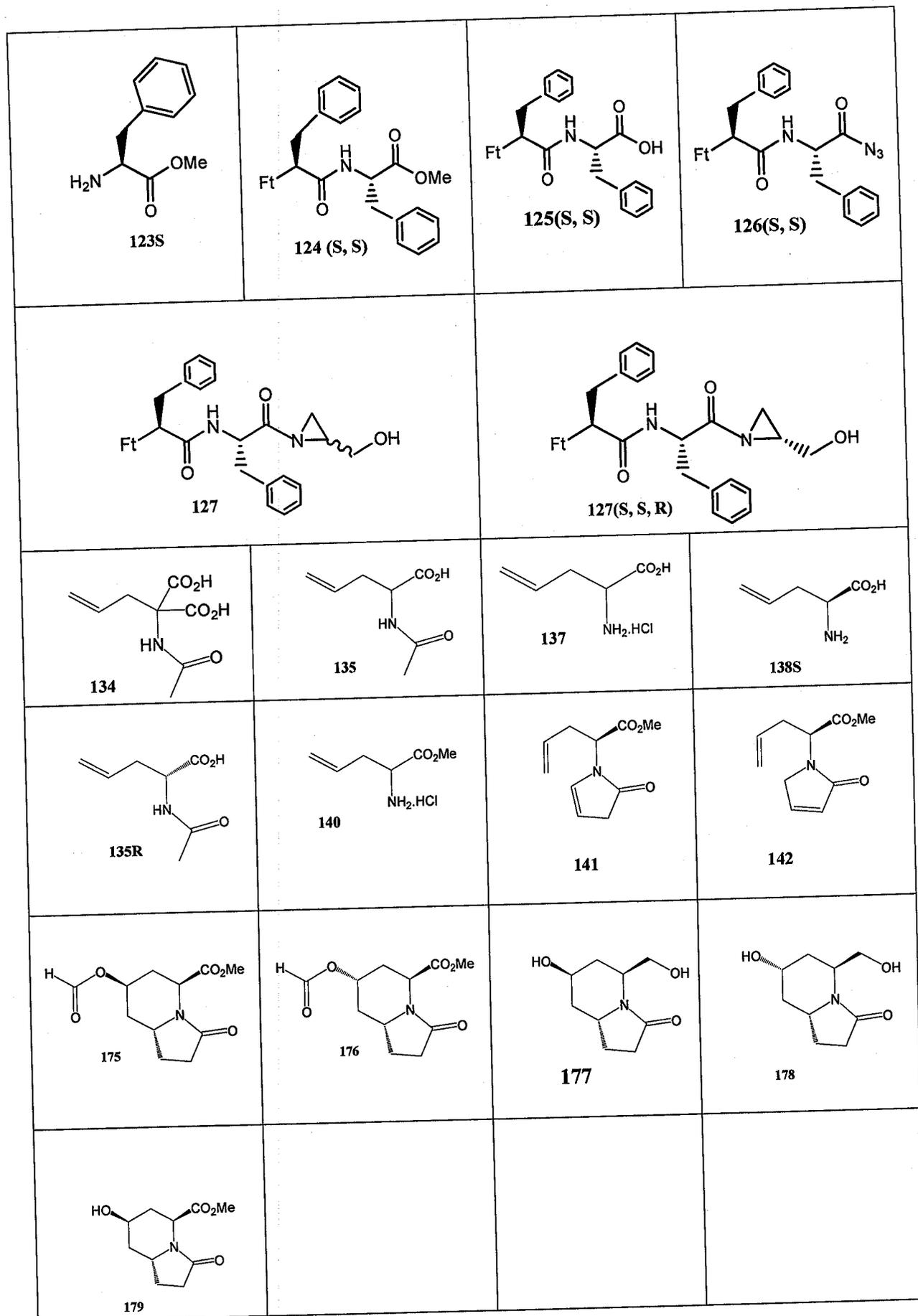
RMN ^1H (400 MHz; δ : ppm ; J : Hz ; CDCl_3) : 1,13 (ddd, 1H, $^2\text{J}=\text{}^3\text{J}=\text{}^3\text{J}=11,7$, $\text{H}_{5(\text{ax})}$), 1,29 (d, 18H, $^3\text{J}=8,2$, $3\text{H}_{19,20,22,23,25,26}$), 1,44 (ddd, 1H, $^2\text{J}=\text{}^3\text{J}_{\text{ax-ax}}=13,2$; $^3\text{J}=6,6$, $\text{H}_{3(\text{ax})}$), 1,58 (m, 1H, H_7), 2,05 (d, 1H, $^2\text{J}=13,2$, $\text{H}_{3(\text{eq})}$), 2,18 (m, 2H, $\text{H}_{5(\text{eq})} + \text{H}_7$), 2,35 (m, 1H, H_8), 3,12 (m, 3H, $1\text{H}_{18,21,24}$) 3,30 (s, 3H, 2H_{11}), 3,57 (d, 2H, $^3\text{J}=6,7$, 2H_1), 3,67 (m, 1H, $\text{H}_{6(\text{ax})}$), 3,83 (m, 1H, $\text{H}_{4(\text{ax})}$), 4,30 (ddd, 1H, $^2\text{J}=\text{}^3\text{J}=\text{}^3\text{J}=6,6$, H_2), 4,62 (s, 2H, 2H_{10}), 7,1 (s, 2H, $1\text{H}_{14,16}$).

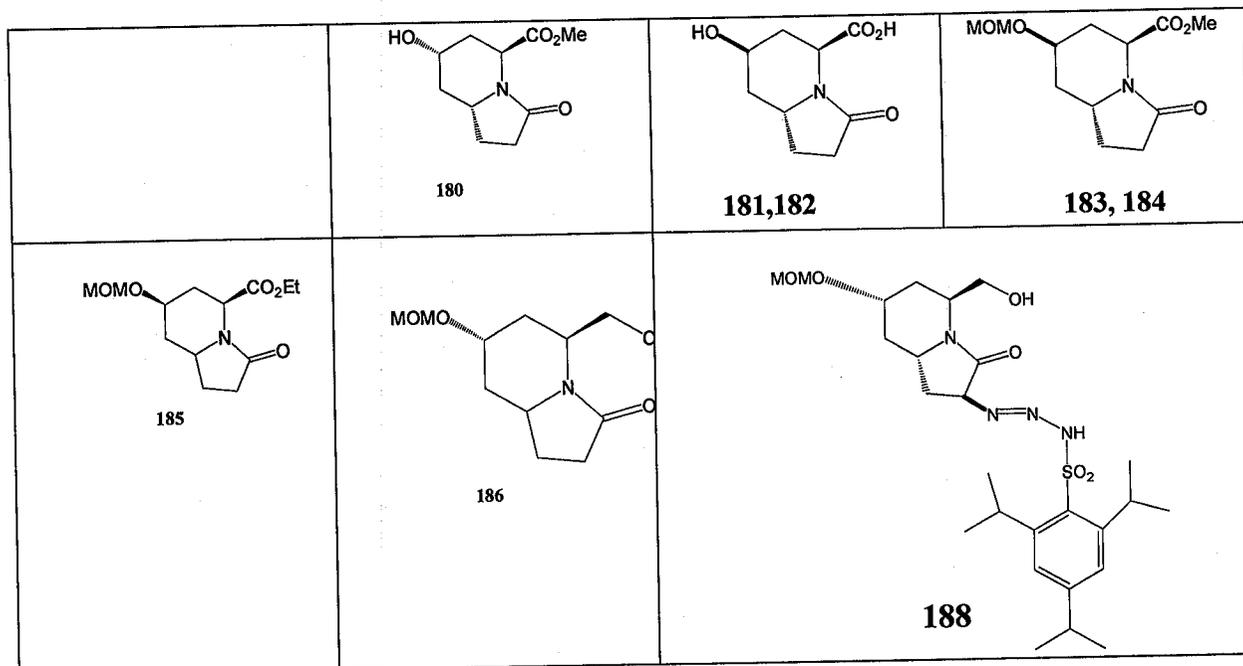
ANNEXE

TABLEAU DES COMPOSES SYNTHÉTISÉS

 <p>31</p>	 <p>87</p>	 <p>88</p>	 <p>89</p>
 <p>90</p>	 <p>91</p>	 <p>93</p>	 <p>94</p>
 <p>32</p>	 <p>95</p>	 <p>96</p>	 <p>99</p>
 <p>100</p>	 <p>101</p>	 <p>102</p>	 <p>103</p>
 <p>104</p>	 <p>105</p>	 <p>106</p>	 <p>107</p>







ANNEXES ET BIBLIOGRAPHIE

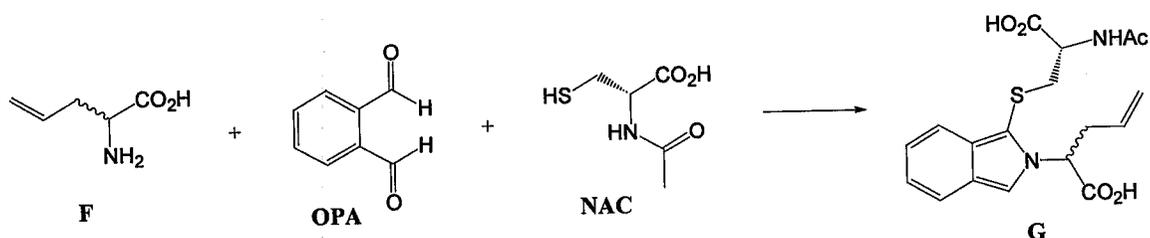
ANNEXES I

Détermination par HPLC de la pureté énantiomérique de l'allylglycine : dérivatisation par OPA / NAC

L'*o*-phthaldialdéhyde (OPA) et la *N*-acétyl-(*L*)-cystéine (NAC) réagissent rapidement et totalement avec une amine et sont utilisés comme réactifs de dérivation des aminoacides pour la détermination d'excès énantiomériques ^(196, 197).

Ces réactifs permettent de générer des diastéréoisomères, puisqu'un nouveau centre chiral est introduit par la NAC, mais également de rendre détectable à l'UV des aminoacides non-absorbants.

Afin de déterminer la pureté énantiomérique de l'allylglycine issue du dédoublement enzymatique, la réaction suivante est effectuée, d'abord sur le mélange racémique, puis sur la (*S*)-allylglycine obtenue.



Protocole de dérivation :

La réaction est effectuée en présence d'une solution de tampon borate 0,1M (pH=10,4), préparée à partir du di-sodium tétraborate $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Juste avant l'injection, le mélange réactionnel suivant est effectué dans un tube à essai et agité quelques secondes seulement :

- 50 μL d'une solution d'acide aminé dans l'HCl 0,01M (1 mg/mL)
- 50 μL d'une solution d'OPA dans le tampon borate (5 mg/mL de tampon borate à laquelle ont été ajoutées quelques gouttes de méthanol pour parfaire la solubilisation)
- 50 μL d'une solution de NAC dans le tampon borate (8 mg/mL de tampon borate)
- 100 μL de la solution de tampon borate

(196) Brüchner, H.; Wittner, R.; Goder, H. *J. Chromatogr. A* 1989, 476, 73-82.
(197) Vermeij, T. A. C.; Edelbroek, P. M. *J. Chromatogr. B* 1998, 716, 233-238.

Injection en HPLC :

Le brut réactionnel est injecté en HPLC sur une colonne C18 Kromasil (de longueur 250 mm et de diamètre 4,6mm ; porosité 100Å ; diamètre des particules 5µm) avec un débit de 1ml/min. La détection est effectuée à une longueur d'onde 254 nm.

La phase mobile est constituée d'un mélange d'acétate de sodium (0,055M, tampon aqueux de pH 8,2) et d'acétonitrile en proportions 90/10.

Avec le mélange racémique, les deux diastéréoisomères **Ga** et **Gb** formés sont séparés avec un ΔR_f de 8 min.

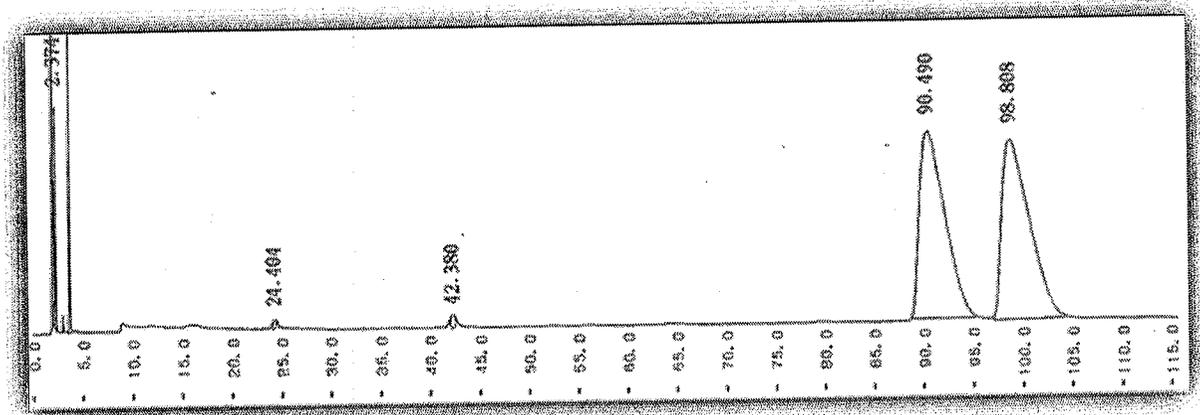


Figure 1

La (*S*)-allylglycine issue du dédoublement enzymatique est ensuite injectée dans ces mêmes conditions. Aucune trace de l'autre diastéréoisomère n'est observée.

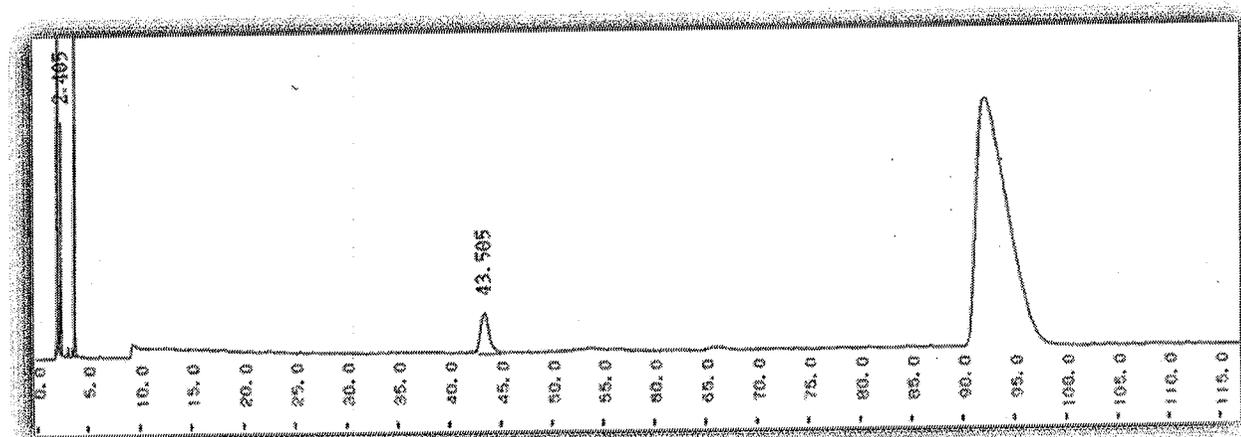


Figure 2

Cette étude a permis de démontrer que la (*S*)-allylglycine obtenue à l'aide de la méthode enzymatique est optiquement pure.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Petruzzelli, L.; Petruzzelli, L.; Petruzzelli, L.; Takami, M.; Humes, H. D. *Am. J. Med.* **1999**, *106*, 467-476.
- (2) Pierres, A.; Benoliel, A. M.; Bongrand, P. *Rev. Med. Intern.* **1999**, *20*, 1099-1113.
- (3) Stupack, D.G.; Cheresh, D.A. *J. Cell Science* **2002**, *115*, 3729-3738.
- (4) Karp, G. *Biologie Cellulaire et Moléculaire* – édition **1998**, DeBoeck Université.
- (5) Thiery, J. P. *C. R. Physique*, **2003**, *4*, 289-304.
- (6) Kriegelstein, C. F.; Granger, D. N. *Am. J. Hypertension*, **2001**, *14*, 44S-54S.
- (7) Simmons, D. L. *Curr. Opinion Pharmacol.*, **2005**, *5*, 398-404.
- (8) Costes, V.; Chatelet, F.P. Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie Pathologiques (AFECAP), **2005**
- (9) Manahan, D.; Weinberg, R. A. *Cell*, **2000**, *100*, 57-70.
- (10) Arkin, M. *Cur. Opinion Chem. Biol.*, **2005**, *9*, 317.
- (11) Lacave, R.; Larsen, C. J.; Robert, J. *Cancérologie fondamentale*, **2005**, 62.
- (12) Qianbin Li, Wenfang Xu, *Cur. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2005**, *5*, 53.
- (13) Ganong, W.; Jopin, M. *Physiologie médicale de Boeck Université*, **2007**, 547.
- (14) Weber, A.J.; De Brandt, M. *Rev. Rhum.*, **2000**, *67*, 573-592.
- (15) Brooks, P.C. *Eur. J. Cancer* **1996**, *32A*, 2423-2429.
- (16) Friedlander, M.; Brooks, P. C.; Shaffer, R. W.; Kincaid, C. M.; Varner, J. A.; Cheresh, D. A. *Science* **1995**, *270*, 1500-1502.
- (17) Alghisi, G.C. *Endothelium* **2006**, *13*, 113-135.
- (18) Folkman, J.; Shing, Y. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 10931-10934.
- (19) Boiron, M.; Marty, M. *Abstract Eurocancer 95 John Libbey Eurotext*, **1996**, 343.
- (20) Maill, M.; Lemullois, M. *Biologie Cellulaire 10^{ème} Edition Masson*, **2006**, 308.
- (21) Brooks, P. C.; Clark, R. A. F.; Cheresh, D.A. *Science* **1994**, *264*, 569-571.
- (22) Brooks, P.C.; Montgomery, A.M.P.; Rosenfeld, M.; Reisfeld, R.A.; Hu, T.; Klier, G.; Cherech, D.A. *Cell* **1994**, *79*, 1157-1164.
- (23) Hynes, R. O. *Cell* **1992**, *69*, 11-25.
- (24) Benneth, J. S. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 3363-3369.
- (25) Seow, K.-T.; Xiong, J.-P.; Arnaut, M.A.; Welge, J.; Rippmann, F.; Goodman, S.L. *Biochem. Pharmacol.*, **2002**, *64*, 805-812.
- (26) Goodman, T.G.; Bajt, M.L. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 23729-23736.
- (27) Humphries, M.J. *Biochem. Soc. Trans.* **2000**, *28*, 311-339.
- (28) Ruoslahti, E. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **1996**, *12*, 697-715.
- (29) Ginsberg, M.H.; Flow, E.F.; D'Souza, S.E. *Trends in Biochem. Science* **1991**, *16*, 246-250.
- (30) Gailit, J.; Ruoslahti, E. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 12927-12932.

- (31) Lin, E.C.K.; Ratnikov, B.I.; Tsai, P.M.; Gonzalez, E.R.; McDonald, S.; Pelletier, A.J.; Smith, J.W. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14236-14243.
- (32) Suehiro, K.; Smith, J.W.; Plow, E.F. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 10365-10371.
- (33) De Clercq, E. *Biochim Biophys Acta.* **2002**, *1587*, 258-75.
- (34) De Clercq, E. *Int J. Biochem. Cell Biol.* **2004**, *36*, 1800-1822.
- (35) Rezende, L.F.; Prasad, V.R. *Int J. Biochem and Cell. Biol.* **2004**, *36*, 1716-1725.
- (36) Roose, J.P.; Vannoorden, C.J.F. *J Lab. Clin Med.* **1995**, *125*, 433-441.
- (37) Wlodawer, A.; Gustchina, A. *Biochim Biophys Acta*, **2000**, *1477*, 16-34.
- (38) Letvin, N. L.; Barouch, D. H. ;Montefiori, D. C. *Annu Rev Immunol.* **2002**, *20*, 73-99.
- (39) Baltimore, D. ; Heilman, C. *Pour la Science.* **1998**, *251*, 44-50.
- (40) Dyken, S. J. V.; Locksley, R. M. *Immun. Cell Biol.*, **2007**, *85*, 572-574.
- (41) Srivastava, V.; Negi, A. S.; Kumar, J. K.; Gupta, M. M.; Khanuja, S. P. S. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 5892-5908.
- (42) Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325.
- (43) Redinbo, M. R. ; Stewart, L.; Kuhn, P.; Champoux, J. J.; Hol, W. G. *J. Science.* **1998**, *279*, 1505.
- (44) Staker, B. L. ; Hjerrild, K. ; Feese, M. D.; Behnke, C. A.; Burgin, A. B.; Jr.; Stewart, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 15387.
- (45) Adams, D. J. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents.* **2005**, *5*, 1-13.
- (46) Eisenhauer, E. A.; Vermorken, J. B. *Drugs.* **1998**, *55*, 5.
- (47) El-Zayat, A. A. E.; Degen, D.; Drabek, S.; Clark, G. M.; Pettit, G. R.; Von Hoff, D. D.; *Anti-Cancer Drugs.* **1993**, *4*, 19.
- (48) You, Y. J. ; Kim, Y. ; Nam, N. H.; Bang, S. C.; Ahn, B. Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 189.
- (49) Ojima, I.; Chakravarty, S.; Dong, Q. *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 337-360.
- (50) Pfaff, M.; Tangemann, B.; Muller, B.; Gurrath, M.; Muller, G.; Kessler, H., Timpl, R; Engel, J. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 20233.
- (51) Haubner, R.; Finsinger, D.; Kessler, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374-1389.
- (52) Haubner, R.; Gratias, R.; Diefenbach, B.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461-7472.
- (53) Vermuth, J.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328-1335.
- (54) Koppitz, M.; Huenges, M.; Gratias, R.; Kessler, H.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1280-1300.
- (55) Dechantstreiter, M.A.; Planker, E.; Mathä, B.; Lohof, E.; Hölzemann, G.; Jonczyk, A.; Goodman, S.L.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033-3040.

- (56) Schumann, F.; Müller, A.; Kokschi, M.; Müller, G.; Sewald, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12009-12010.
- (57) Kopple, K.D.; Baures, P.W.; Bean, J.W.; D'Ambrosio, Hugues, J.L.; C.A.; Peishoff, C.E.; Eggleston, D.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9615-9623.
- (58) Peishoff, C.E.; Ali, F. E.; Bean, J.W.; Calvo, R.; D'Ambrosio, C.A.; Eggleston, D.S.; Kline, T.P.; Koster, P.; Nicols, A.; Powrs, D.; Romoff, T.; Samanen, J.M.; Stadel, J.; Vasco, J.; Wong, A.; Kopple, K.D. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3962-3969.
- (59) Batt, D.G.; Petraitis, J.J.; Houghton, G.C.; Modi, D.P.; Cain, G.A.; Corjay, M.H.; Mousa, S.A.; Bouchard, P.J.; Forsythe, M.S.; Harlow, P.P.; Barbera, F.A.; Spitz, S.M.; Wexler, R.R.; Jadhav, P.K. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 41-58.
- (60) Askew, B.C.; Bednar, R.A.; Bednar, B.; Claremon, D.A.; Cook, J.J.; McIntyre, C.J.; Hunt, C.A.; Gould, R.J.; Lynch, R.J.; Lynch, J.J.; Gaul, S.L.; Stranieri, M.T.; Sitko, G.R.; Holahan, M.A.; Glass, J.D.; Hamill, T.; Gorham, L.M.; Prueksaritanont, T.; Baldwin, J.J.; Hartman, G.D. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1779-1788.
- (61) Keenan, R.M.; Miller, W.H.; Kwon, C.; Ali, F.E.; Callahan, J.F.; Calvo, R.R.; Hwang, S.-M.; Kopple, K.D.; Peishoff, C.E.; Samanen, J.M.; Wong, A.S.; Yuan, C.K.; Huffman, W.F. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2289-2292.
- (62) Duggan, M.E.; Duong, L.T.; Fisher, J.E.; Hamill, T.G.; Hoffman, W.F.; Huff, J.R.; Ihle, N.C.; Leu, C.T.; Nagy, R.M.; Perkins, J.J.; Rodan, S.B.; Wesolowski, G.; Whitman, D.B.; Zartman, A.E.; Rodan, G.A.; Hartman, G.D. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3736-3745.
- (63) Nicolaou, K.C.; Trujillo, J.I.; Jandeleit, B.; Chibale, K.; Rosenfeld, M.; Diefenbach, B.; Cheresch, D.A.; Goodman, S.L. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1185-1208.
- (64) Goodman, S.L.; Hölzemann, G.; Sulyok, G.A.G.; Kessler, H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1045-1051.
- (65) Kalish, V.; Kaldor, S.; Shetty, B.; Tatlock, J.; Davies, J.; Hammond, M.; Dressman, B.; Fritz, J.; Appelt, K.; Reich, S.; Musick, L.; Wu, B.W.; Su, K. *Eur J Med Chem.* **1995**, *30*, 201-214.
- (66) Melnick, M.; Reich, S.H.; Lewis, K.K.; Mitchell, L.J.; Nguyen, D.; Trippe, A.J.; Dawson, H.; Davies, J.F.; Appelt, K.; Wu, B.W.; Musick, L.; Gehlhaar, D.K.; Webber, S.; Shetty, B.; Kosa, M.; Kahil, D.; Andrada, D. *J Med Chem.* **1996**, *39*, 2795-2811.
- (67) Kaldor, S.W.; Kalish, V.J.; Davies, J.F.; Shetty, B.V.; Fritz, J.E.; Appelt, K.; Burgess, J.A.; Campanale, K.M.; Chirgadze, N.Y.; Clawson, D.K.; Dressman, B.A.; Hatch, S.D.; Khalil, D.A.; Kosa, M.B.; Lubbehusen, P.P.; Muesing, M.A.; Patick, A.K.; Reich, S.H.; Su, K.S.; Tatlock, J.H. *J Med Chem.* **1997**, *40*, 3979-3985.
- (68) Mierke, D. F.; Kurz, M.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1042-1049.
- (69) Müller, G.; Gurrath, M.; Kessler, H.; Timpl, R. *Angew. Chem. Int Ed. Engl.* **1992**, *31*, 326-328.
- (b) *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 341-343.

- (70) Benatalah, Z.; Trigui, N.; Sicsic, S.; Tonnaire, T.; de Rosny, E.; Boggetto, N.; Reboud, M. *Eur J Med Chem.* **1995**, *30*, 891-900.
- (71) Kahn, M.; Nakanish, H.; Chrusciel, R.A.; Fitzpatrick, D.; Johnson, M.E. *J Med Chem.* **1991**, *34*, 3395-3399.
- (72) Hamada, Y.; Ohtake, J.; Sohma, Y.; Kimura, T.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2002**, *10*, 4155-4167.
- (73) Hamada, Y.; Matsumoto, H.; Yamaguchi, S.; Kimura, T.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2004**, *12*, 159-170.
- (74) Matsumoto, H.; Kimura, T.; Hamawaki, T.; Kumagai, A.; Goto, T.; Sano, K.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem.* **2001**, *9*, 1589-600.
- (75) Le, V.D.; Mak, C.C.; Lin, Y.C.; Elder, J.H.; Wong, C.H. *Bioorg Med Chem.* **2001**, *9*, 1185-1195.
- (76) Matsumoto, H.; Hamawaki, T.; Ota, H.; Kimura, T.; Goto, T.; Sano, K.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem Lett.* **2000**, *10*, 1227-1231.
- (77) Kimura, T.; Matsumoto, H.; Matsuda, T.; Hamawaki, T.; Akaji, K.; Kiso, Y. *Bioorg Med Chem Lett.* **1999**, *9*, 803-806.
- (78) Schaschke, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 855-857.
- (79) Nakao, Y.; Fujita, M.; Warabi, K.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10462.
- (80) Medjahed, W.; Tabet Zatla, A.; Kajima Mulengi, J.; Baba Ahmed, F. Z.; Merzouk, H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1211
- (81) Safar, P.; Zuziova, J.; Bobosikova, M.; Marchalin, S.; Pronayova, N.; Dalla, V.; Dařch A. *Tetrahedron Asymmetry.* **2008**, *19*, 467
- (82) a) Segat-Dioury, F.; Lingibé, O.; Graffe, B.; Sacquet, M. C.; Lhomme, G. *Tetrahedron.* **2000**, *56*, 233
b) Garcia Ruano, J. L.; Garcia Paredes; C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5357.
- (83) Pearl, L.H.; Taylor, W.R. *Nature.* **1987**, *328*, 482.
- (84) Sanchez- Pescador, T.; Power, M.D.; Barr, P.J.; Steimer, K.S.; Stempien, M.M.; Brown-Shimer, S.L.; Gee, W.W.; Renard, A.; Randolph, A.; Levy, J.A.; Dina, D.; Luciw P. *Science.* **1985**, *227*, 484.
- (85) Haberhauer, G.; Somogyi, L.; Rebek J. Jr *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*.
- (86) Dondoni, A.; Perrone D. *Aldrichimica Acta.* **1997**, *30*, 35.
- (87) Wolfenden, R. *Nature.* **1969**, *223*, 704.
- (88) Rich D.H. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 263.
- (89) Nelson, W. L.; Wennestrom, J. E.; Sankar S. R. *J. Org. Chem.*, **1977**, *42*, 1006.
- (90) Emziane, M.; Lhoste, P.; Sinou D. *Synthesis.* **1988**, 541.

- (91) Fotadar, U.; Beau, C.; Borremans, F. A. M.; Antsunia M. J. O. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *34*, 3537.
- (92) Farrissey, W.J.; Nashu, A. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1970**, *7*, 331.
- (93) Caron, M.; Carlier, P.R.; Sharpless K. B. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5185.
- (94) Takano, M.; Yanase, M.; Ogasawa K. *Heterocycles.* **1989**, *29*, 249.
- (95) Takano, S.; Goto, E.; Hiramama, M.; Ogasawa K. *Heterocycles.* **1981**, *16*, 381.
- (96) Benedetti, F.; Maman, P.; Norbedo S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 10075.
- (97) Leung, D.; Abbernante, G.; Fairlie, D.P. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 305.
- (98) De Gasparo, M.; Cumin, F.; Nussberger, J.; Guyenne, T.T.; Wood, J. N.; Menard J. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1989**, *7*, 2735.
- (99) Kunieda, T.; Ishizuka T. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1997**, *55*, 1018.
- (100) Jurczak, J.; Golebiewski A. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149.
- (101) Palomo, C. A.; Arrieta, A.; Aizpurua, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *26*, 3365.
- (102) Bodanszky, M.; Klausner, Y. S.; Ondentti, A. M. *Peptide synthesis*. Wiley, New York, **1976**, 26.
- (103) Schnabel, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *188*, 702.
- (104) Ali, A.; Fahrenholz, F.; Weinstein, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, *11*, 29.
- (105) Itoh, M.; Hgiwara, D.; Kamiya, T. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4393.
- (106) Itoh, M.; Hgiwara, D.; Kamiya, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 718.
- (107) Yajima, H.; Kawatani, H.; Kiso, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, *1*, 50.
- (108) Kaiser, E.; Colecott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Anal. Biochem.*, **1970**, *34*, 595.
- (109) Carter, E. H.; Franc, L. R.; Johnston, W. H. *Organic Synthesis.* **1955**, *3*, 167.
- (110) Hwang, R. D.; Helquist, P.; Shekhani, S. M. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1264.
- (111) Levenson, H. C.; Meyer, B. R.; Jr. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 228.
- (112) Mathieu, J.; Panico, R. *Mécanismes réactionnels en Chimie Organique.* **1972**, Hermann, Ed.n° 1357.
- (113) a) Scriven, E. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297.
 b) Smith, S. C.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6339.
 c) McDonald, F. E.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7001.
- (114) Kappe, T.; Roschger, P. *J. Heterocyclic Chem.* **1993**, *30*, 1267.
- (115) Klima, R. F.; Gudmundsdottir, A. D. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry.* **2004**, *162*, 239.
- (116) Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.C.; Silverman, S.M.; Lindstrom, W.; Olson, A.J.; Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B.; Elder, J.H.; Fokin, V.V. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1463.
- (117) a) Ranganathan, S.; Ranganathan, D.; Mehrotra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 2265.
 b) Moorthy, S. N.; Devaprabaka, D. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 357.
- (118) Quitt, P.; Hellerback, J.; Vogler, K. *Helv. Chim. Acta.* **1963**, *26*, 327.
- (119) Hassner, A.; Sterm, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *25*, 478.

- (120) Kubo, A.; Kuboto, H.; Takahashi, M.; Nunami, I. K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4960
- (121) a) Scriven, E. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297.
 b) Patai, S. *The Chemistry of Azido Group*, Ed.; Wiley: New York, **1971**.
- (122) a) Coe, D. M.; Myers, P. L.; Parry, D. M.; Roberts, S. M.; Storer, R. *J. Chem. Soc.; Chem. Commun.* **1990**, 151.
 b) Jacobs, G. A.; Tino, J. A.; Zahler, R. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6955.
- (123) Kolb, H. C.; VanNienwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483.
- (124) Bonini, C.; Chiummiento, L.; Debonis, M.; Funicello, M.; Lupatteli, P.; Suanno, G.; Berli, F.; Campner, P. *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 6580
- (125) a) Palomo, L. A.; Torrens, E. *Afinidad.* **1971**, *28*, 975.
 b) Ballester, M.; Riera, J.; Castaner, J.; Rovira, C.; Vecianu, J.; Onrubia, C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3716.
- (126) Palomo, C. A.; Arrieta, A.; Aizpurua, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *26*, 3365.
- (127) Palomo, L. A. *An. R. Soc. Esp. Fis. Quim.* **1969**, *65*, 1167.
- (128) Palomo, L. A.; Ferrer, G. *An. R. Soc. Esp. Fis. Quim.* **1969**, *55*, 163.
- (129) Newman, S. M.; Sujeeeth, K. P. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4367.
- (130) Palomo, L. A.; Ferrer, G.; *Tetrahedron Lett.* **1969**, *26*, 2161.
- (131) Böhme, H. Viehe, G. H. "Iminium Salts in Organic Chemistry" John Wiley, New York, **1979**.
- (132) Zbiral, E.; Bauer, E.; Stroh, J. *Monatsh. Chem.* **1971**, *102*, 168.
- (133) Jun-Feng, Z.; Chang, X.; Sheng-Zhen, X.; Ming-Wu, D.; Wen-Jing, X. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 130.
- (134) K. Clauss, D. Grimm, G. Prossel *Liebigs Ann. Chem.*, **1974**, 539.
- (135) J.C. Arnaud, P. Boutron, MJ Pasquet *Eur. J. Med.Chem.*, **1992**, *27*, 131.
- (136) Baba, A. F.; Medjahed, W. ; Merzouk, H. ; Kajima Mulengi, J. ; Belleville, J.; Prost, J. *Gen. Physiol. Biophys.* **2006**, *25*, 277-287.
- (137) a) Kinoshita, S.; Uzu, K.; Nakano, K.; Shimizu, M.; Takahashi, T. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 103.
 b) Kuroda, T.; Hisamura, K.; Matsukuma, I.; Osawa, Y.; Sugaya, T.; Nishikawa, H.; Morimoto, M.; Ashizawa, T. ; Nakamizo, N.; Otsuji, Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*, 113.
 c) Papaioannou, N.; Evans, C. A.; Blank, J. T.; Miller, S. J. *J. Org. Lett.* **2001**, *3*, 2879-2882.
- (138) Wiley, J.; Sons, I. *Biopolymers. Peptide Science.* **1999**, *51*, 87-97.
- (139) a) Gerhart, F.; Higgins, W.; Tardif, C.; Ducep, J. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2157.
 b) Tanner, M. E.; Miao, S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4073.
- (140) Kasai, M.; Kono, M. *Synlett.*, **1992**, 778.
- (141) Maruoka, K.; Oai, T. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3013-3028.

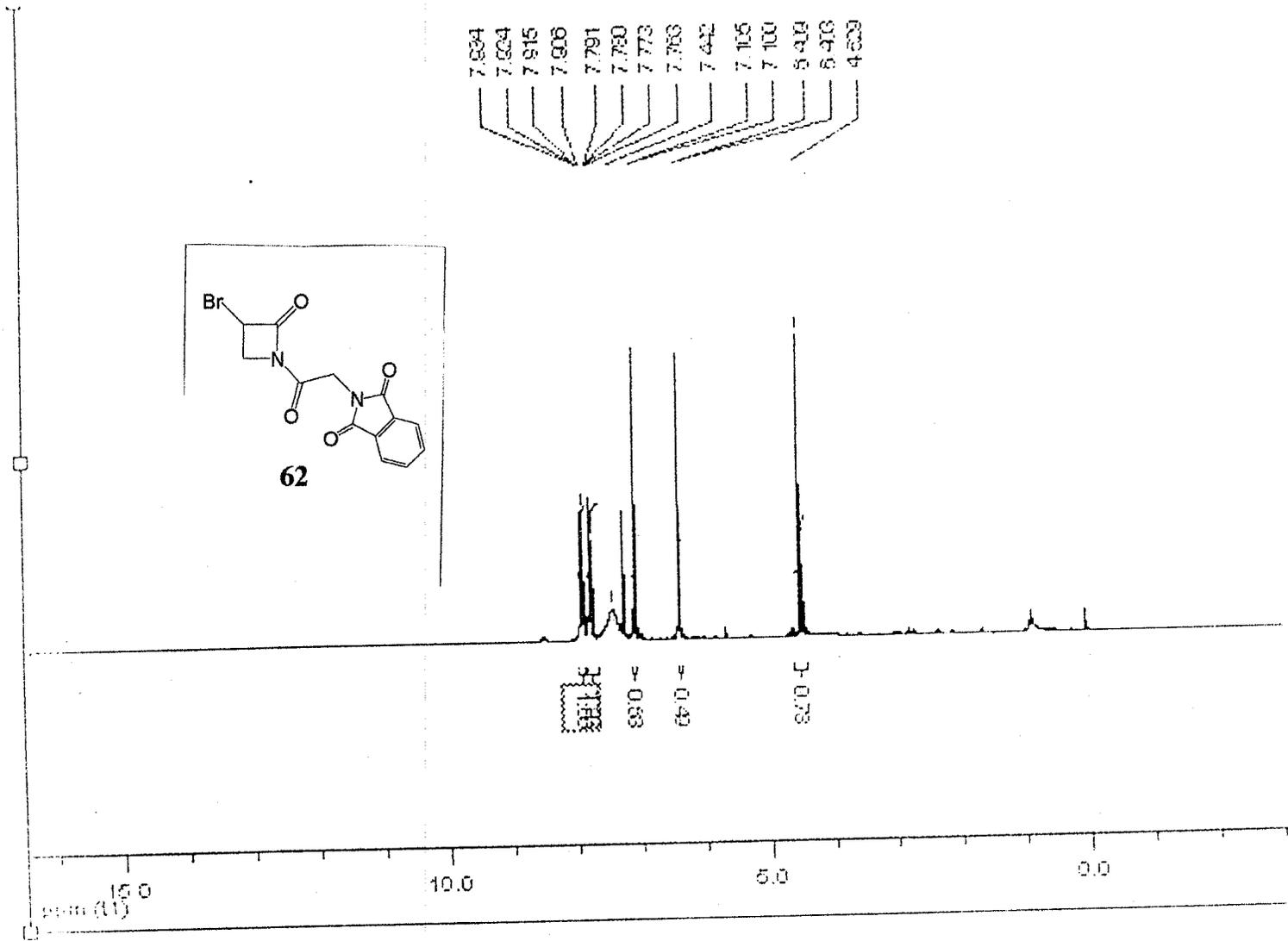
- (142) Kuyil-Yeheskiely, E. ; Lodder, M. ; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3013.
- (143) Wessig, P.; Schwartz, J. *Synlett.* **1997**, 893-894.
- (144) Berry, M. B.; Craig, D. *Synlett.* **1992**, 41-44.
- (145) Bieber, L. W. ; De Araujo, M. C. F. *Molecules.* **2002**, *7*, 902-906.
- (146) Park, J. ; Rong Tian, G. ; Kim, D. H. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3696-3703.
- (147) Capitosti, S. M. ; Hansen, T. P.; Brown, M. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 327-336.
- (148) Cadwel, J. *Chem. Industry.* **1995**, 176.
- (149) Henson, P. D. ; Mislow, K.. *J. Chem. Soc.* **1969**, *D*, 413.
- (150) March, J. *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* Wiley. **1985**, 107.
- (151) Kondekar, N. B. ; Kandula, S. R. V.; Kumar, P. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 5477-5479.
- (152) a) Kimura, T.; Shuto, D.; Kasai, S.; Liu, P. ; Hidaka, K. ; Hamada, T. ; Hayashi, Y. ; Hattori, C.; Asai, M.; Kitazume, S.; Saido, T. C.; Ishiura, S.; Kiso, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 152
- b) Hidaka, K. ; Kimura, T. ; Hayashi, Y.; McDaniel, K. F.; Dekhtyar, T.; Colletti, L.; Kiso, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 93-96.
- (153) Chu, W. ; Tu, Z. ; McElveen, E. ; Xu, J. ; Taylor, M. ; Luedtke, R. R. ; Mach, R. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 77-87.
- (154) Kuwajima, I. ; Urabe, H. *Organic Syntheses ;Wiley : New York.* **1993**, *Collect. Vol. VIII*, 486-489.
- (155) Knapp, S. ; Gibson, F. S. *Organic Syntheses ;Wiley : New York.* **1998**, *Collect. Vol. IX*, 516-521.
- (156) Klosa, J. J. *Prakt. Chem.* **1962**, *19*, 45-55.
- (157) Bruckner, R. *Advanced Organic Chemistry, Reaction Mechanisms ; Harcourt/Academic : San Diego ;* **2002**, 239.
- (158) Venkataraman, K.; Wagle, D. R. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *32*, 3037-3040.
- (159) Downie, I. M. ; Lee, J. B.; Matough, M. F. S. *Chem. Commun.* **1968**, 1350-1351.
- (160) Jang, D. O.; Park, D. J.; Kim, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 5323-5326.
- (161) Devos, A.; Remion, J.; Frisque-Hesbain, A. M. ; Colens, A. ; Ghosez, L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 1180-1181.
- (162) Sanchez-Sancho, F. ; Mann, E. ; Herradon, B. *Synlett.* **2000**, *4*, 509-513.
- (163) Bouron, E. ; Goussard, G. ; Marchand, C. ; Bonin, M. ; Pannecoucke, X. ; Quirion, J. C. ; Husson, H. P. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7227-7230.
- (164) Ragnarsson, U.; Grehn, L. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 494-501.
- (165) Carpino, L. A. ; Sadar-Aalae, D. ; Chao, H. G.; DeSelms, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9651-9652.

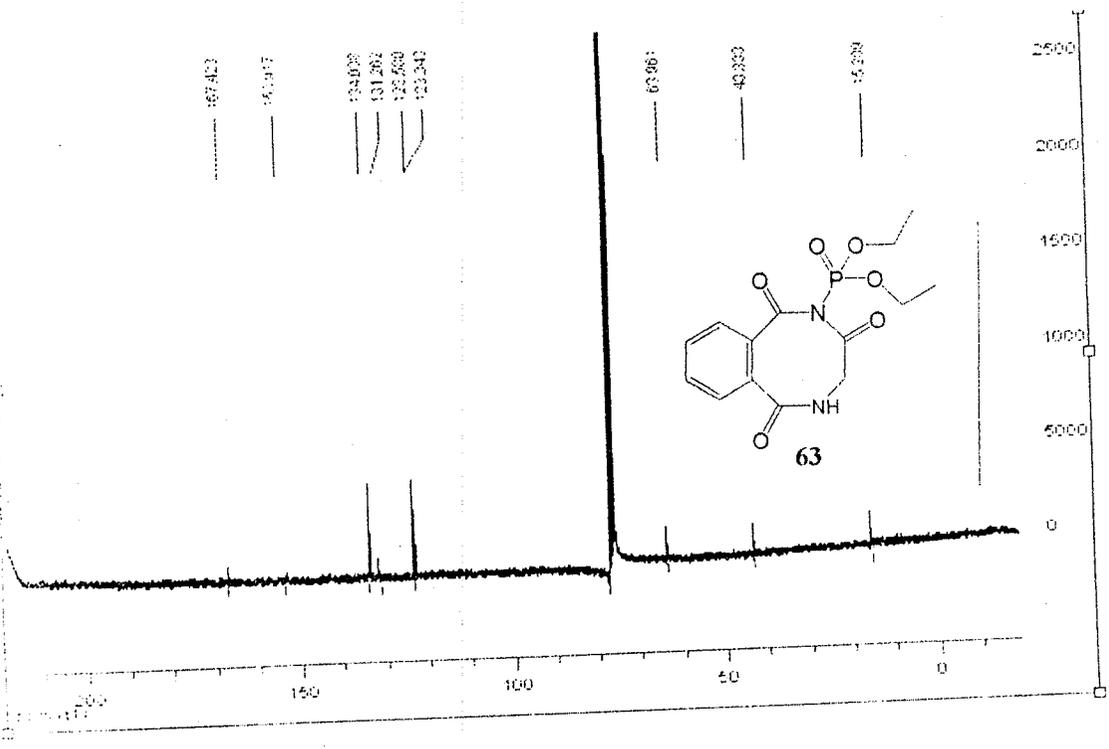
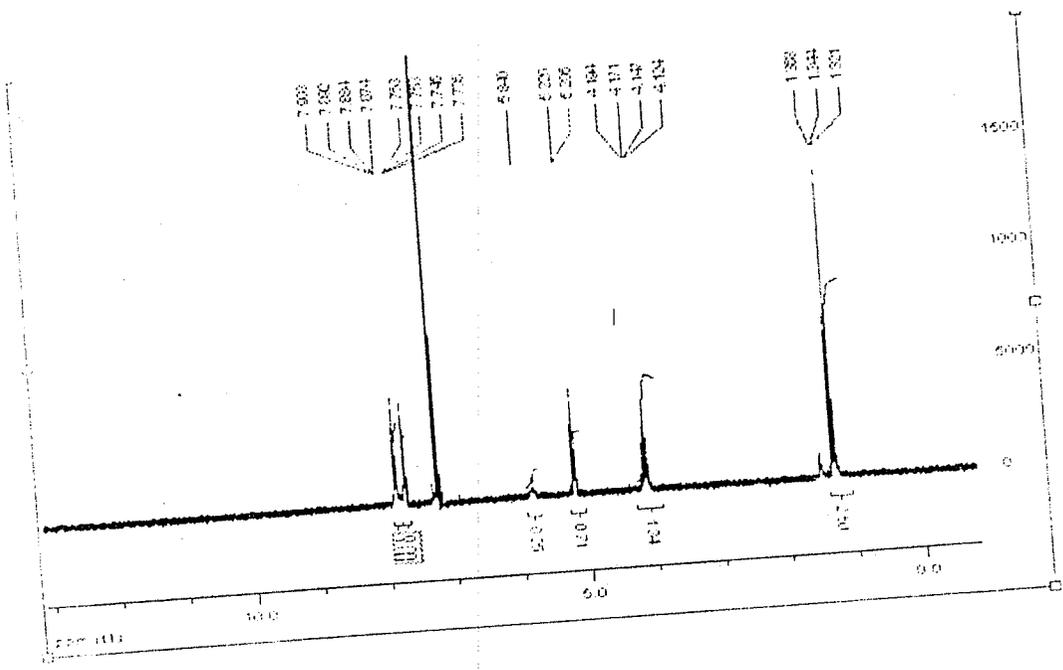
- (166) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 10827-10852. (Curtius, T. *Ber. Deutsch. Chem. Gesellschaft*. **1902**, *35*, 3226-3228.
- (167) Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.
- (168) Dale, D. J.; Draper, J.; Dunn, P. J.; Hughes, M. L.; Hussain, F.; Levett, P. C.; Ward, G. B.; Wood, A. S. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 767-772.
- (169) Mikolajczyk, M.; Kielbasinski, P. *Tetrahedron*. **1981**, *37*, 233-284.
- (170) Wittenberger, S. J.; McLaughlin, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7175-7178.
- (171) Chu, W.; Tu, Z.; McElveen, E.; Xu, J.; Taylor, M.; Luedtke, R. R.; Mach, R. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 77-78.
- (172) Chakrabarti, J. K.; Hotten, T. M.; Pullar, I. A.; Tye, N. C. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 257362582.
- (173) Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.
- (174) Oyama, K. *Chirality in Industry*; Collins, A. N.; Sheldrake, G. N.; Crosby, J.; Eds.; Wiley: Chichester, **1992**, 237-247.
- (175) Staab, H. A.; Lueking, M.; Duerr, F. H. *Chem. Ber.* **1962**, *95*, 1275-1283.
- (176) Applegate, H.; Cimarwsti, C. M.; Dolfini, J. E.; Funke, P. T.; Roster, W. H.; Puar, M. S. Slusarlye, W. A.; Young, M. G. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 8.
- (177) Nisato, D.; Frigerio, M. *J. Heterocycl. Chem.* **1985**, *22*, 961.
- (178) Cardillo, G.; Gentiluccu, L.; Tolomelli, A.; Tomasini, C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6953.
- (179) Cardillo, G.; Gentiluccu, L.; Tolomelli, A. *Tetrahedron*. **1999**, *55*, 15151.
- (180) Rahal, S. *Chimie des produits naturels et des êtres vivants (OPU)*. **2004**, 127.
- (181) Bremner, J. B.; Keller, P. A.; Pyne, S. G.; Robertson, A. D.; Skelton, B. W.; White, A. H.; Witchard, H. M. *Aust. J. Chem.*, **2000**, *53*, 535-540.
- (182) Deboves, H. J. C.; Grabowska, U.; Rizzo, A.; Jackson, R. F. W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*. **2000**, 4284-4292.
- (183) Belivisi, L.; Bernedi, A.; Manzoni, L.; Potenza, D.; Scolastico, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2563-2569.
- (184) De la Figuera, N.; Martin-Martinez, M.; Herranz, R.; García-Lopez, T.; Lattore, M.; Cenarruzabeita, E.; Del Rio, J.; Gonzales-Muniz, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 43-48.
- (185) Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W.D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854.
- (186) Halab, L.; Gosselin, F.; Lubell, W.D. *Biopolym.* **2000**, *55*, 101-122.
- (187) Angiolini, M.; Araneo, S.; Belvisi, L.; Cesarotti, E.; Checchia, A.; Crippa, L.; Manzoni, L.; Scolastico C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2571-2581.
- (188) Gosselin, F.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2163-2171.
- (189) Guillena, G.; Najera, C. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7310-7322.

- (190) Myers, A. G.; Gleason, J. L.; Yoon, T.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 656-673.
- (191) Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.
- (192) Wolf, L. B.; Sonke, T.; Tjen, K. C. M. F.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B.; Schoemaker, H. E.; Rutjes, F. P. J. *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 662-674.
- (193) Gaudry, R.; Berlinguet, L.; Langis, A.; Paris, G. *Can. J. Chem.* **1956**, *34*, 502-514.
- (194) Black, S.; Wright, N. G. *J. Biol. Chem.* **1955**, *213*, 39-45.
- (195) Cox, R. J.; Sherwin, W. A.; Lam, L. K. P.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7449-7460.
- (196) Brüchner, H.; Wittner, R.; Goder, H. *J. Chromatogr. A* **1989**, *476*, 73-82.
- (197) Vermeij, T. A. C.; Edelbroek, P. M. *J. Chromatogr. B* **1998**, *716*, 233-238.
- (198) Kaul, R.; Surprenant, S.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3838-3844.
- (199) Baussanne, I.; Chiaroni, A.; Husson, H.-P.; Riche, C.; Royer, J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3931-3934.
- (200) Grigg, R.; Gunaratna, H. Q. N.; Sridkaran V. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1985**, *17*, 1183-1984.
- (201) Allin, S. M.; Hodgkinson, C. C.; Taj, N. *Synlett* **1996**, 781-782.
- (202) Baussanne, I.; Dudot, B.; Pérard-Viret, J.; Planas, L.; Royer, J. *Arkivoc* **2006**, 57-66.
- (203) Bienz, S.; Busacca, C.; Meyers, A.I. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1905-1907.
- (204) de Koning, H.; Speckamp, W. N. *Houben-Weyl* **1995**, *E21b*, 1953-2010.
- (205) Speckamp, W. N.; M. J. Moolenaar, M. J. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3817-3856.
- (206) Daub, G. W.; Dirt A. Heerding, D. A.; Overman, L. E. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 3919-3930.
- (207) Clauss, K.; Grimm, D.; Prossel, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 539-560.
- (208) Kurihara, H.; Mishima, H. *Heterocycles* **1982**, *17*, 191-192.
- (209) Schoemaker, H. E.; Dijkink, J.; Speckamp, W.N. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 163-172.
- (210) Veenstra S.J.; Hauser, K.; Schilling, W.; Betschart, C.; Ofner, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 3029-3034.
- (211) Hart, D.J.; Yeun-Min Tsai Y.-M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1567-1570.
- (212) Esch, P. M.; Boska, I. M.; Hiemstra, H.; Speckamp, W. N. *Synlett* **1989**, 38-40.
- (213) Rutjes, F.P.J.T.; Veerman, J.J.N.; Meester, W.J.N.; Hiemstra, H.; Schoemaker, H.E. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, *5*, 1127-1135.
- (214) Feenstra, R.W.; Stokkingreef, E.H.M.; Nivard, R.J.F. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 5583-5595.
- (215) Iso, Y.; Iroe, T.; Iwaki, T.; Kii, M.; Sando, Y. *J. Antibiot.*, **1996**, *49*, 478-484.
- (216) Voigt, B.; Schmidt, J.; Adam, G. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 1997-2004.
- (217) Carda, M.; Murga, J.; Falomir, E.; Gonzalez, F.; Marco, J.A. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 677-683.
- (218) Chênevert, R.; Dickman, M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3322-3341.
- (219) Tremmel, P.; Brand, J.; Knapp, V.; Geyer, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 878-884.

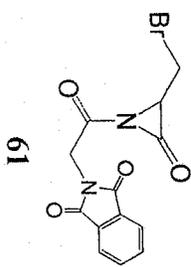
- (220) F.Z. Baba Ahmed « *Contribution à l'étude des effets des N-acyl-2-hydroxyméthylaziridines : - in vivo : essais de toxicité aigüe. - in vitro : modulation du système immunitaire* ». Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaid. 23.11.2008
- (221) a) Han, I.; Kohn, H. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4648.
b) Skibo, E. B.; Islam, I.; Heileman, M. J.; Schulz, W. G. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 78.
- (222) Nikolaos, P.; Evans, A. C.; Blank, T. J.; Scott Miller, J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2879.
- (223) a) Tomasz, M.; Lipman, R.; Chowdary, D.; Pawlak, J.; Verdine, G.; Nakanishi, K. *Science.* **1987**, *235*, 1204.
b) Gargiulo, D.; Musser, S. S.; Yang, L.; Fukuyama, T.; Tomasz, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9388.
- (224) Rayner, C. M. *Synlett.* **1997**, 11.
- (225) Ince, J.; Shipman, M. D.; Ennis, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5887.
- (226) Dunehoo, A.L.; Anderson, M.; Majumdar, S.; Kobayashi, N.; Berkland, C.; Siahaan, T.J. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2006**, *95*, 1856-1872.

*RMN*¹*H* (CDCl₃, 300 MHz):





10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ppm



7.899
7.890
7.881
7.873
7.764
7.753
7.746
7.736

4.467
4.453

3.833
3.768

1.877

1.381
1.350

0.070

0.00

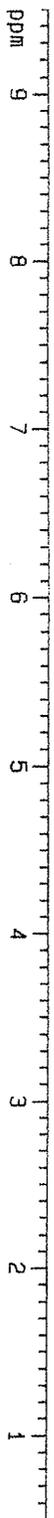
0.51

0.73

0.69

CH₂Br





Integral

4.818

5.877

0.889

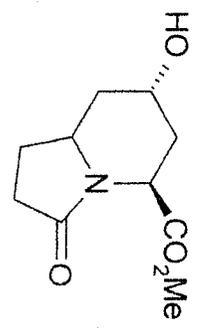
9.478

0.675

22.051

55.969

0.242



6.92122

6.04849

7.28807

5.30666

5.00610

4.99574

4.97681

4.95885

4.95012

4.94815

4.92814

4.91869

4.91030

4.90085

4.89144

4.88225

4.77097

4.76408

2.59295

2.49627

2.47890

2.45216

2.45442

2.43772

2.42982

2.31660

2.30799

2.29659

2.29068

2.28589

1.76894

1.75071

1.73614

1.71950

1.31436

1.26485

Current Data Parameters

NAME dk5782-85

EXPNO 1

PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20050113

Time 11.51

PROBHD 5 mm BBI 4H-

PULPROG zg30

TD 16384

SOLVENT D2O

NS 18

DS 0

SMH 5995.204 Hz

FIDRES 0.365918 Hz

AQ 1.3654796 sec

RG 456.1

CHW 83.400 usec

DE 6.50 usec

TE 300.0 K

D1 0.50000000 sec

CHANNEL f1

NUC1 1H

P1 7.50 usec

PL1 0.00 dB

SFO1 400.1317800 MHz

F2 - Processing parameters

SI 32768

SF 400.130080 MHz

SR 5.95 Hz

MDW EM

SSB 0

LB 0.30 Hz

GB 0

PC 1.00

ID NMR pint parameters

CX 20.00 cm

F1P 9.500 ppm

F1 3801.23 Hz

F2P 0.500 ppm

F2 200.06 Hz

CPMCK 0.45000 ppm/cm

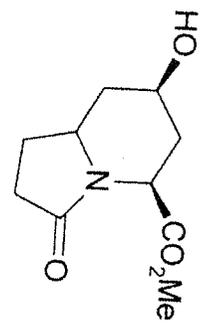
1ZDM 180.05850 Hz/cm

DMS

ppm 9
8
7
6
5
4
3
2
1

00000001

4.320
6.826
4.737
4.259
4.687
13.562
24.694
0.163
25.756
0.055
0.435



7.95272
7.29826

5.33083
4.83481
4.81712
4.04298
4.03410
4.02516
4.01692
4.00677
3.99550
3.98585
3.79401
2.66159
2.65771
2.62511
2.62438
2.62049
2.62081
2.49621
2.47164
2.45619
2.44854
2.43181
2.42531
2.30417
2.19031
2.16984
2.16527
1.69225
1.67990
1.43651

Current Data Parameters
NAME dms166-442
EXPNO 1
PROCNO 1

DMS
166

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20050113
Time 11.57
PROBHD 5 mm BBI 1H-
PULPROG zg30
TD 16384
SOLVENT D2O
NS 16
DS 0
SWH 5995.204 Hz
FIDRES 0.365918 Hz
AQ 1.3864786 sec
RG 466.1
DM 93.400 usec
DE 6.50 usec
TE 300.0 K
D1 0.50000000 sec

CHANEL f1
NUC1 1H
P1 7.50 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 400.1317800 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 400.130050 MHz
SR 5.05 Hz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

1D NMR plot parameters
CX 20.00 cm
F1P 9.500 ppm
F1 3801.23 Hz
F2P 0.500 ppm
F2 200.08 Hz
PCHCM 0.45000 ppm/cm
HZCM 180.02850 Hz/cm

DW 11 F3-6

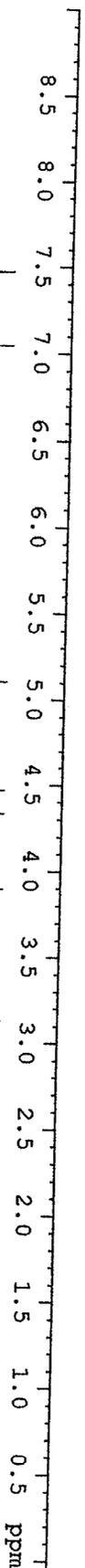
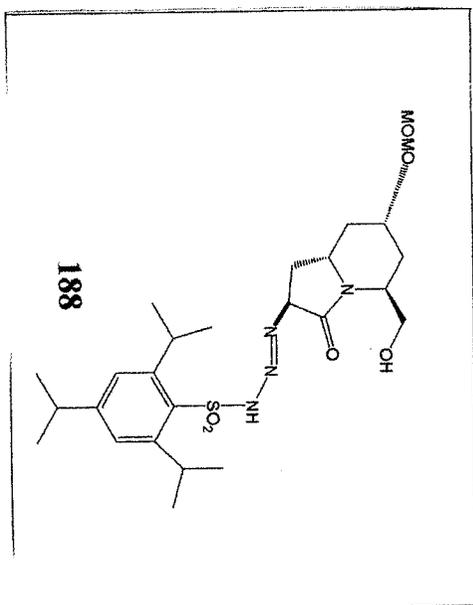
7.28
7.24
7.19

4.18
4.15
4.13
4.11
4.09
4.07

2.95
2.93

2.07

1.45
1.29
1.28
1.26
1.26



```

Current Data Parameter      dw11f3-
NAME                        F2 - Acquisition Param
EXPNO                        Date_      2005012
PROCNO                       Time_      14.1
INSTRUM                       INSTRUM   spec
PROBHD                        5 mm QNP 1H/1
PULPROG                       zg3
TD                             6553
SOLVENT                       CDCl3
NS                             DS
DS                             6172.83
SWH                             0.09419
FIDRES                       5.308466
AQ                             724.
RG                             81.001
DE                             9.51
TE                             300.1
D1                             1.00000000
TD0

===== CHANNEL f1 =====
NUC1                          1H
P1                             8.50
PL1                            -5.00
SFO1                          300.1321534

F2 - Processing Paramet
SI                             32766
SF                             300.1300000
WDW                             EM
SSB                             0
LB                             0.30
GB                             0
PC                             1.00
  
```