

Université de Montréal

Conception et synthèse d'inhibiteurs de métalloprotéases

par

Cécile Gauchet

Département de chimie

Faculté des arts et sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Philosophiæ Doctor (Ph. D.)

en chimie

Janvier, 2004

© Cécile Gauchet, 2004



QD

3

U54

2004

v.006

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

Conception et synthèse d'inhibiteurs de métalloprotéases

présentée par :

Cécile Gauchet

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Prof. Richard Giasson (F. A. S. - Chimie)	Président du jury
Prof. Stephen Hanessian (F. A. S. - Chimie)	Directeur de recherche
Prof. Shawn Collins (F. A. S. - Chimie)	Membre du jury
Dr. Daniel Delorme	Examineur externe
Prof. Jean-Yves Lapointe	Représentant du doyen

Thèse acceptée le :

*“ Ne mesure jamais la hauteur d'une montagne avant d'en avoir atteint le sommet.
D'en haut, tu verras à quel point elle est basse.”*

Dag Hjalmar Agne Carl Hammarskjöld (1905-1961)

Prix Nobel de la Paix 1961

A mes parents
A Christian

Résumé

Les métalloprotéases matricielles (MPM) sont des endoprotéases à zinc, incluant les collagénases, les stromélysines et les gélatinases. Elles sont impliquées dans la protéolyse des membranes et des composants de la matrice extracellulaire. Elles jouent un rôle clé dans le renouvellement normal d'un grand nombre de tissus de l'organisme. Un dérèglement de l'activité des MPM est associé à une grande variété de maladies parmi lesquelles les affections neuro-inflammatoires, les arthroses, la polyarthrite rhumatoïde, les lésions vasculaires et surtout l'apparition et la progression du cancer. L'enjeu pharmaceutique qu'elles représentent a permis de développer depuis une vingtaine d'années plusieurs types d'inhibiteurs dont certains ont été ou sont encore en phase clinique.

Grâce aux études par spectroscopie et à l'analyse aux rayons-X des complexes inhibiteurs/MPM, le procédé d'inhibition a pu être mieux compris et des composés encore plus performants ont été conçus. Une molécule cible a été synthétisée dans notre laboratoire et s'est révélée active contre plusieurs MPM. La première partie de cette thèse est une étude de Relation-Structure-Activité (SAR) à partir de la molécule cible de type acide hydroxamique. Deux sites ont donc été modifiés (S1 et S1') afin de voir si la sélectivité par rapport à une MPM peut être augmentée et afin également de moduler l'hydrophilie de la molécule. Deux familles d'acides hydroxamiques ont ainsi été créées, l'une est une série dont le groupe sulfonamide varie et l'autre, une série de composés avec différents substituants thioalkylés.

Des résultats biologiques de l'ordre du nanomolaire ont été déduits les groupes fonctionnels à conserver pour avoir la meilleure inhibition. Une étude de modélisation nous a permis de concevoir une molécule encore plus élaborée. Une synthèse asymétrique exploitant l'auxiliaire d'Oppolzer, la camphorsultame, a été effectuée et donne accès en dix étapes à deux inhibiteurs de seconde génération, sans utilisation de groupe protecteur.

La seconde partie de cette thèse porte sur le développement d'inhibiteurs des ECE.

Les endothélines (ET) sont de très puissants peptides vasoconstricteurs. Elles sont impliquées dans la pathogénèse de plusieurs maladies cardiovasculaires comme l'hypertension, l'infarctus du myocarde, les défaillances cardiaques, *etc.* Les ECE ou enzymes de conversion de l'endothéline interviennent dans la dernière étape de biosynthèse des endothélines. Elles catalysent la transformation de la proendothéline, peptide inactif, en endothéline. Inhiber ces enzymes revient à empêcher la formation d'un agent de vasoconstriction et peut donc avoir des effets bénéfiques pour le traitement de ces maladies. A ce jour, un certain nombre d'inhibiteurs sélectifs ou non pour ECE ont été identifiés et leurs capacités pharmacologiques sont en cours d'étude sur des modèles animaux. Les premiers essais cliniques commencent à apparaître.

Une des difficultés dans la conception d'inhibiteurs de ECE est que jusqu'à ce jour aucune donnée cristallographique n'existe sur le site actif de ECE. Nous nous sommes donc intéressés à développer une série d'inhibiteurs cycliques sur une base de pyrrolidine à partir de laquelle toutes les positions ont été substituées, de manière contrôlée. De cette étude doit ressortir la tolérance ou non par l'enzyme de la contrainte imposée, le choix des substituants ainsi que leurs stéréochimies. Nous espérons par cette stratégie avoir de plus amples informations sur les exigences spatiales et électroniques du site actif de l'enzyme et ainsi concevoir des inhibiteurs conçus spécialement pour ECE et donc plus sélectifs.

Mots-Clés : métalloprotéases, inhibiteurs, MPM, ECE, acide hydroxamique, acide phosphonique, acide pyroglutamique.

Abstract

Matrix metalloproteinases are zinc endoproteinases (MMPs) that play a central role in the breakdown of extracellular matrix proteins. At least 26 enzymes have been identified among which are collagenases, stromelysins, gelatinases. They are associated with both normal tissue remodelling and pathologic conditions. Loss of control of MMP expression has been associated with several diseases including rheumatoid and osteo-arthritis, tumour growth and tumour angiogenesis, neuro-inflammatory diseases and ulcers. Pharmaceutical companies have been interested for the last twenty years to develop new potent inhibitors, some of which have been, or still are in clinical trials.

X-ray structures of enzymes-inhibitors complexes helped in understanding inhibition process and therefore in designing potential inhibitors. Previous to this work a lead inhibitor compound has been found in our laboratory with nanomolar activity against some metalloproteinases.

The first aim of the project was to establish a SAR around the lead hydroxamic acid inhibitor. Two sites (S1 and S1') were studied in order to see the possible selectivity among several MMPs. A series of *N*-arylsulfonyl *S*-alkyl homocysteine hydroxamic acids were therefore synthesized with variations in two subsites corresponding to P1 and P1'. Biological tests with a variety of MMPs revealed nanomolar activity.

A second generation of inhibitors emerged from the modeling of the lead compound resulting from the SAR study. An asymmetric synthesis using Oppolzer's camphorsultam chiral auxiliary, allowed us to synthesize two designed inhibitors in ten steps.

In a second phase of this work, we focused on the synthesis of constrained inhibitors of Endothelin-Converting-Enzymes (ECEs). Endothelins (ETs) are a family of the most potent peptidic vasoconstrictors and bronchoconstrictors discovered to date. They have been implicated in the pathogenesis of many cardiovascular disorders such as hypertension, myocardial infarction, congestive heart failure, arteriosclerosis and restenosis. ECEs are involved in the final step of post-translational processing of Ets. Therefore, suppression of

the production of these ETs by inhibitors of ECEs may have beneficial effects for the treatment of these disorders. A number of non-selective and selective ECE-1 inhibitors have been identified and evaluated in animal models and clinical trials to date.

The lack of structural information from X-ray crystallography is one of the major problems in designing new ECEs inhibitors. The plan was to synthesize new constrained inhibitors based on a pyrrolidine core starting from (*S*)-pyroglutamic acid as a template. The five-membered heterocycle offers the substitution on the four positions in a stereoc controlled manner. Biological tests on the obtained analogs provided information about the positions of potential pharmacophores. These results will be used to design selective ECE inhibitors.

Key words: metalloproteinases, inhibitors, MMP, ECE, hydroxamic acid, phosphonic acid, pyroglutamic acid.

Table des matières

Résumé.....	v
Abstract	vii
Table des matières.....	ix
Liste des figures	xxiii
Liste des schémas.....	xxvi
Liste des tableaux.....	xxix
Liste des sigles et abréviations.....	xxx
Remerciements.....	xxxiv
Chapitre 1 Les Métalloprotéases de la Matrice (MPM).....	1
1. 1. Introduction	2
1. 2. Présentation des MPM	3
1. 3. Les MPM et les maladies	6
1. 4. Comment inhiber les MPM ?	8
1. 4. 1. Nomenclature des interactions protéase-substrat	8
1. 4. 2. Comment concevoir des inhibiteurs des MPM ?	9
1. 4. 3. Conception à partir de la structure du substrat.....	10
1. 4. 4. Inhibiteurs de type succinique.....	11
1. 4. 5. Inhibiteurs de type sulfonamide	14
1. 4. 6. Pourquoi les acides hydroxamiques semblent être de meilleurs inhibiteurs....	16
1. 5. La chimie de l'acide hydroxamique	18
1. 5. 1. Historique.....	18
1. 5. 2. Caractéristiques analytiques.....	19

1. 5. 3. Préparation	19
1. 5. 4. Réactivité.....	20
1. 5. 5. Intérêt	22
1. 5. 6. Composés naturels	22
Chapitre 2 Variations des sites P1 et P1' d'un inhibiteur de MPM	23
2. 1. Modélisation moléculaire et conception.....	24
2. 2. Synthèse.....	26
2. 2. 1. Modification des substituants au niveau de P1	26
2. 2. 2. Modification des substituants au niveau de P1'	31
2. 3. Tests biologiques	33
2. 4. Conclusion.....	36
Chapitre 3 Vers un inhibiteur de seconde génération	37
3. 1. Conception d'un inhibiteur de seconde génération	38
3. 1. 1. Conception d'un inhibiteur basée sur des résultats de modélisation.....	38
3. 1. 2. Choix de la méthode pour la synthèse asymétrique d'acides aminés	39
3. 2. Synthèse.....	41
3. 2. 1. Approche rétrosynthétique	41
3. 2. 2. Synthèse de l'auxiliaire chiral	42
3. 2. 3. Synthèse de l'inhibiteur.....	43
3. 2. 3. 1. Explication sur la discrimination faciale observée lors de l'allylation	45
3. 2. 3. 2. Suite de la synthèse	46
3. 2. 3. 3. Iodolactonisation : littérature	47
3. 2. 3. 4. Réalisation de l'étape clé de la synthèse	50
3. 2. 3. 5. Rationnalisation de la préférence pour la lactonisation <i>cis</i>	52
3. 2. 3. 6. Attribution de la stéréochimie des γ -butyrolactones par RMN.....	54
3. 2. 3. 7. Suite et fin de la synthèse.....	55
3. 3. Alkylation énantiosélective par un catalyseur en conditions de transfert de phase (CTP)	57

3. 4. Résultats biologiques.....	62
3. 4. 1. Analyse des résultats.....	63
3. 4. 2. Conclusion sur les inhibiteurs de seconde génération pour MPM-3.....	64
3. 4. 3. Importance de l'hydroxyle.....	64
3. 4. 4. Importance de la stéréochimie de l'hydroxyle.....	64
3. 4. 5. Influence de l'hydroxyle sur la sélectivité entre les MPM-1, -2, -9, -13.....	65
3. 5. Conclusion.....	65
Chapitre 4 Les enzymes de conversion de l'endothéline.....	67
4. 1. Les endothélines et leurs enzymes de conversion (ECE).....	68
4. 1. 1. Localisation.....	68
4. 1. 2. Structure et biosynthèse.....	69
4. 1. 3. Mécanisme d'action des endothélines.....	71
4. 1. 4. ECE/EPN/ECA.....	71
4. 1. 5. Implications thérapeutiques.....	72
4. 2. Les inhibiteurs de ECE.....	73
4. 2. 1. Comment contrôler la surproduction des ECE ?.....	73
4. 2. 2. Conception d'inhibiteurs.....	74
4. 2. 2. 1. Inhibiteurs doubles de ECE/EPN.....	74
4. 2. 2. 2. Mode de liaison présumé des inhibiteurs dans le site actif de EPN.....	75
4. 2. 2. 3. Inhibiteurs triples de ECE/EPN/ECA.....	76
4. 2. 2. 4. Inhibiteurs sélectifs des ECE.....	77
4. 2. 3. Conclusion.....	78
Chapitre 5 Conception et synthèse de molécules inhibitrices de ECE, possédant un acide phosphonique comme groupe chélatant.....	79
5. 1. Objectifs.....	80
5. 2. Les acides phosphoniques.....	81
5. 2. 1. Généralités chimiques.....	81
5. 2. 2. Les phosphonates en tant qu'analogues d'état de transition.....	82

5. 3. Rétrosynthèse.....	84
5. 4. Synthèse des analoges monosubstitués.....	87
5. 4. 1. Série (<i>S</i>)- substituée en C4 par un groupe allyl (ou propyl)-naphtalényle.....	87
5. 4. 1. 1. Synthèse chimique	87
5. 4. 1. 2. Résultats biologiques	93
5. 4. 2. Série (<i>S</i>)- substituée en C4 par un groupe naphtalimidoéthyle.....	94
5. 4. 2. 1. Préparation des intermédiaires phosphonates avec un substituant dérivable de type allyle ou cinnamyle	94
5. 4. 2. 2. Étude sur les deux dernières étapes d'hydrolyse.....	100
5. 4. 2. 3. Introduction de la diversité au niveau du substituant en C4 et au niveau de l'acide aminé	102
5. 4. 2. 4. Accès à l'analogue (<i>2S</i> , <i>4S</i> , <i>5R</i>)	106
5. 4. 3. Série (<i>S</i>)- substituée en C4 par un groupe isobutyle	107
5. 4. 4. Etude du comportement de chacun des diastéréoisomères face à l'hydrolyse de l'ester méthylique en C2	109
5. 5. Conclusion.....	115
 Chapitre 6 Synthèse de molécules à visée inhibitrice de ECE, possédant un acide carboxylique ou un acide hydroxamique comme groupe chélatant.....	 116
6. 1. Inhibiteurs des ECE de type acide carboxylique ou acide hydroxamique	117
6. 2. Approche envisagée pour former un lien C-C à partir d'un ion N-acyliminium	118
6. 3. Synthèse du dérivé acide carboxylique	119
6. 3. 1. Formation du lien C-C	119
6. 3. 2. Accès à l'acide carboxylique	121
6. 3. 3. Détermination de la stéréochimie du composé final	122
6. 4. Synthèse du dérivé acide hydroxamique.....	122
6. 5. Conclusion.....	125
 Chapitre 7 Résultats et analyse des tests biologiques	 126

7. 1. Résultats des tests biologiques des séries (S)- et (R)-	127
7. 2. Analyse des résultats	130
7. 2. 1. Choix de l'acide aminé.....	131
7. 2. 2. Choix du substituant en C3	131
7. 2. 3. Choix du substituant en C4	132
7. 2. 4. Importance du GCZ	133
7. 2. 5. Stéréochimie.....	134
7. 2. 5. 1. Au niveau de C2.....	134
7. 2. 5. 2. Au niveau de C3.....	135
7. 2. 5. 3. Au niveau de C4.....	136
7. 2. 5. 4. Au niveau de C5.....	136
7. 2. 6. Mode de liaison hypothétique de l'analogue de l'entrée 9	137
7. 3. Analogues importants à synthétiser	139
7. 4. Conclusion	141
Chapitre 8 Section expérimentale : notes générales.....	142
8. 1. Analyse des composés synthétisés	143
8. 2. Purification des produits	145
8. 3. Purification des solvants et réactifs	146
8. 4. Généralités	147
8. 5. Modélisation moléculaire	147
8. 6. Tests biologiques	147
Chapitre 9 Section expérimentale : préparation des produits du chapitre 2..	149
D,L-Dihydro-3-isobutylamino-thiophèn-2-one (2.2).....	150

9. 1. Procédure de formation du sulfonamide.....	151
D,L- <i>N</i> -Isobutyl-4-méthoxy- <i>N</i> -(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yle)-	151
benzènesulfonamide (2.3)	151
9. 2. Procédure générale pour la préparation de 2.4a-f.....	152
4-Benzylsulfanyl-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyrate de	
méthyle (2.4a)	152
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-phénylméthanesulfonyl-	
butyrate de méthyle (2.4b)	153
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(3-méthoxy-benzylsulfanyl)-	
butyrate de méthyle (2.4c).....	154
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-	
butyrate de méthyle (2.4d)	155
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]	
-4-(thiophèn-3-ylméthylsulfanyl)-butyrate de méthyle (2.4e)	156
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-	
pentafluorophénylméthylsulfanyl-butyrate de méthyle (2.4f)	157
9. 3. Procédure générale pour la préparation de 2.1 et 2.7b-f.....	158
9. 3. 1. Méthode A.....	158
9. 3. 2. Méthode B.....	158
<i>N</i> -Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(3-méthoxy-	
benzylsulfanyl)-butyramide (2.7c)	161
Acide 2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-	
ylméthylsulfanyl)-butyrique (2.5d).....	162
2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-	
<i>N</i> -trityloxybutyramide (2.6d)	163
<i>N</i> -Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-	
ylméthylsulfanyl)-butyramide (2.7d)	164
<i>N</i> -Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(thiophèn-3-	
ylméthylsulfanyl)-butyramide (2.7e)	165

<i>N</i> -Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-pentafluorophénylméthylsulfanylbutyramide (2.7f)	166
9. 4. Préparation des produits 2.3j-k ; 2.4j-k et 2.7j-k	167
9. 4. 1. Préparation des sulfonamides 2.3j et 2.3k	167
4-Bromo- <i>N</i> -isobutyl- <i>N</i> -(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yl)-benzènesulfonamide (2.3j)	167
<i>N</i> -Isobutyl- <i>N</i> -(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yl)-4-phénoxy-benzènesulfonamide (2.3k)	168
9. 4. 2. Formation des thioéthers 2.4j et 2.4k	168
4-Benzylsulfanyl-2-[(4-bromo-benzènesulfonyl)-isobutyl-amino]-butyrate de méthyle (2.4j)	169
4-Benzylsulfanyl-2-[isobutyl-(4-phénoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyrate de méthyle (2.4k)	170
9. 4. 3. Formation des acides hydroxamiques 2.7j et 2.7k	171
4-Benzylsulfanyl-2-[(4-bromo-benzènesulfonyl)-isobutyl-amino]- <i>N</i> -hydroxybutyramide (2.7j)	171
4-Benzylsulfanyl- <i>N</i> -hydroxy-2-[isobutyl-(4-phénoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyramide (2.7k)	172

Chapitre 10 Section expérimentale :

préparation des produits du chapitre 3	174
(Benzhydrylidène-amino)-acétate de méthyle (3.13)	175
2-(Benzhydrylidène-amino)-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-azatricyclo[5.2.1.0 ^{1,5}]dec-4-yl)-éthanone (3.18)	176
(2 <i>R</i>)-(Benzhydrylidène-amino)-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-azatricyclo[5.2.1.0 ^{1,5}]dec-4-yl)-pent-4-én-1-one (3.19)	177
(2 <i>R</i>)-Amino-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-azatricyclo[5.2.1.0 ^{1,5}]dec-4-yl)-pent-4-én-1-one (3.12)	178
1-(10,10-Diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-azatricyclo[5.2.1.0 ^{1,5}]dec-4-yl)-(2 <i>R</i>)-isobutylamino-pent-4-én-1-one (3.20)	179

<i>N</i> -[(1 <i>R</i>)-(10,10-Diméthyl-3,3-dioxo- λ^6 thia-4-aza-tricyclo[5.2.1.0 ^{1,5}]décane-4-carbonyl)-but-3-ényl]- <i>N</i> -isobutyl-4-méthoxy-benzènesulfonamide (3.21)	180
Acide (2 <i>R</i>)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-pent-4-énoïque (3.22).....	181
<i>N</i> -(5-Iodométhyl-2-oxo-tétrahydro-furan-(3 <i>R</i>)-yl)- <i>N</i> -isobutyle-4-méthoxy-benzènesulfonamide (3. 11)	182
<i>N</i> -Isobutyl-4-méthoxy- <i>N</i> -(2-oxo-5-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3 <i>R</i>)-yle)-benzènesulfonamide (3.23).....	183
<i>N</i> -Isobutyl-4-méthoxy- <i>N</i> -(2-oxo-(5 <i>R</i>)-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3 <i>R</i>)-yle)-benzènesulfonamide (3.23 (2 <i>R</i> , 4 <i>R</i>))	184
<i>N</i> -Isobutyl-4-méthoxy- <i>N</i> -(2-oxo-(5 <i>S</i>)-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3 <i>R</i>)-yle)-benzènesulfonamide (3.23 (2 <i>R</i> , 4 <i>S</i>)).....	184
Acide (4 <i>R</i>)-hydroxy-(2 <i>R</i>)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-5-phénylsulfanyl-pentanoxyamique (3.3 (2 <i>R</i> , 4 <i>R</i>))	185
Acide (4 <i>S</i>)-hydroxy-(2 <i>R</i>)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-5-phénylsulfanyl-pentanoxyamique (3.3 (2 <i>R</i> , 4 <i>S</i>)).....	186

Chapitre 11 Section expérimentale :

préparation des produits du chapitre 5.....	188
11. 1. Procédures générales	188
11. 1. Procédures générales	189
11. 1. 1. Procédure A : alkylation de l'ester pyroglutamique	189
11. 1. 2. Procédure B : formation du phosphonate.....	189
11. 1. 3. Procédure C : hydrolyse de l'ester méthylique	190
11. 1. 4. Procédure D : couplage peptidique	191
11. 1. 5. Procédure E : hydrolyse des groupements protecteurs et obtention de l'acide phosphonique sous forme de mono sel de Na.....	191
11. 1. 6. Procédure F : ozonolyse et réduction de l'oléfine.....	192
11. 1. 7. Procédure G : substitution de l'alcool.....	193
11. 2. Données expérimentales de la série témoin.....	194

1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyle-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyle-(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-5-oxopyrrolidine (5.2)	194
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-5-oxopyrrolidine (5.9).....	195
2- {[(4 <i>R</i>)-(3-Naphthalèn-1-yl-allyl)-5-oxo-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino }-(3 <i>S</i>)-phénylpropionate de <i>tert</i> -butyle (5.10)	196
Acide 2- {[(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyl)-5-oxo-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino }-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (5.11).....	197
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(4 <i>R</i>)-allyle-5-oxopyrrolidine (5.12)	198
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-(4 <i>R</i>)-allyle-5-oxopyrrolidine (5.14).....	199
2- [((4 <i>R</i>)-Allyl-5-oxo-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl)-amino]-(3 <i>S</i>)-phénylpropionate de <i>tert</i> -butyle (5.15)	200
Acide 2- [((4 <i>R</i>)-allyl-5-oxo-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl)-amino]-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (5.16).....	201

11. 3. Données expérimentales de la série substituée en C4

par un allyl-naphthalényle.....	202
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.3 α).....	202
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.3 β)	203
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)- (4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.4 α).....	204
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl) (4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.4 β)	205
(5 <i>S</i>)-((3 <i>S</i>)- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-4-phényl-éthylcarbamoyle)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.5 α)	206

(5 <i>S</i>)-((3 <i>S</i>)- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-4-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle) -pyrrolidine (5.5β).....	207
Acide (2 <i>S</i>)-benzyl-(4 <i>S</i>)-[(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyl)-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidin-2-yl]-4-oxobutyrique (5.6α)	208
Acide (2 <i>S</i>)-benzyl-(4 <i>S</i>)-[(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-allyl)-(5 <i>S</i>)-phosphono-pyrrolidin-2-yl]-4-oxobutyrique (5.6β).....	209
(5 <i>S</i>)-((3 <i>S</i>)- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyle-(2 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl) -propylpyrrolidine (5.7α)	210
Acide (2 <i>S</i>)-{(4 <i>S</i>)-[(4 <i>R</i>)-(3-naphthalèn-1-yl-propyl)-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidin-2-carbonyl]-amino}-3-phénylpropionique (5.8α)	211

11. 4. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un

naphthalimidoéthyle.....	212
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-5-oxo-(4 <i>R</i>)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.17).....	212
(4 <i>R</i>)-Allyl-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.18α).....	213
(4 <i>R</i>)-Allyl-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.18β).....	214
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.19α)	215
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.19β).....	216
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-(2-hydroxy-éthyle)-pyrrolidine (5.20β)	217
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl--(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl) -(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.21α).....	218

1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.21β)	219
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.22α)	220
(2 <i>S</i>)-Acide carboxylique-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.22β)	221
(5 <i>S</i>)-(1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyle)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.23β)	223
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-[5 <i>S</i>]-[2-(1H-indol-3-yl)-1-méthoxycarbonyl-éthylcarbamoyle]-pyrrolidine (5.25β)	224
Acide 2-({(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-[5 <i>R</i>]-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl}-amino)-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (5.24α)	225
Acide 2-({(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-Dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-[5 <i>S</i>]-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl}-amino)-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (5.24β)	226
Acide 2-({(4 <i>R</i>)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-[5 <i>S</i>]-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl}-amino)-(3 <i>S</i>)-(1H-indol-3-yle)-propionique (5.26β)	227

11. 5. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un naphthalimidoéthyle *cis* par rapport au substituant en C2..... 228

(4 <i>S</i>)-allyl-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyle-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-5-oxopyrrolidine (5.13)	228
(4 <i>S</i>)-Allyl-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-5-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.27)	229

1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-5-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>S</i>)-[2-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.28)	230
(5 <i>S</i>)-(1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyle)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>S</i>)-[2-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.29)	231
Acide 2-({(4 <i>S</i>)-[2-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl}-amino)-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (5.30)	232
11. 6. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un isobutyle.....	233
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(4 <i>R</i>)-(2-méthyl-allyl)-5-oxopyrrolidine (5.31)	233
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl (4 <i>R</i>)-isobutyl-5-oxopyrrolidine (5.32)	234
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.33α).....	235
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.33β)	236
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-acide carboxylique-(5 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)- (4 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.34α).....	237
1-Carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-acide carboxylique-(5 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)- (4 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.34β)	238
(5 <i>S</i>)-((3 <i>S</i>)- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-4-phényl-butyryl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>R</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.35α).....	239
(5 <i>S</i>)-((3 <i>S</i>)- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-4-phényl-butyryl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3 <i>R</i>)-isobutylpyrrolidine (5.35β)	240
Acide (2 <i>S</i>)-[[(4 <i>R</i>)-isobutyl-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino]-3-phénylpropionique (5.36α)	241
Acide (2 <i>S</i>)-[[(4 <i>R</i>)-isobutyl-(5 <i>S</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino]-3-phénylpropionique (5.36β)	242

11. 7. Données expérimentales des composés finaux substitués en C3 par un isobutyle et en C4 par un groupe variable.....	243
Acide 2-({(4 <i>S</i>)-[2-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(3 <i>S</i>)-isobutyl-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl}-amino)-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (7.1).....	243
Acide-2-{{(3 <i>S</i>)-Isobutyl-(4 <i>S</i>)-(3-phényl-allyl)-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino}-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (7.2).....	246
Acide 2-{{(3 <i>S</i>)-Isobutyl-(4 <i>S</i>)-(3-phényl-propyl)-(5 <i>R</i>)-phosphono-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino}-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (7.3).....	245
11. 8. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN de la cinétique de l'hydrolyse de l'ester méthylique des intermédiaires phosphonates 5.19α et 5.18β	246
11. 8. 1. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de 5.19 α	246
11. 8. 2. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de 5.18 β	247
11. 8. 3. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de l'hydrolyse de 5.18 β	247
Chapitre 12 Section expérimentale :	
préparation des produits du chapitre 6	249
12. 1. Données expérimentales des analogues possédant un acide carboxylique comme groupe chélatant.....	250
1-Carboxylate de tert-butyl-(2 <i>S</i>)-carboxylate de méthyl-(4 <i>R</i>)-(3-phényl-propyl)-5-propénylpyrrolidine (6.3).....	250
(5 <i>S</i>)-(1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyle)-1-carboxylate de tert-butyl-(3 <i>R</i>)-(3-phényl-propyl)-2-propénylpyrrolidine (6.4).....	251

2-Acide carboxylique-(5 <i>S</i>)-(1- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl)-(3 <i>R</i>)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.5).....	252
(2 <i>S</i>)-acide carboxylique-(3 <i>R</i>)-(5 <i>S</i>)-(1-carboxy-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyl)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.6)	253
12. 2. Données expérimentales des analogues possédant un acide hydroxamique comme groupe chélatant.....	254
(5 <i>S</i>)-(1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-(2 <i>S</i>)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyl-(2 <i>S</i>)-hydroxycarbamoyl-(3 <i>R</i>)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.7)	254
Acide 2- {[(5 <i>S</i>)-hydroxycarbamoyl-(4 <i>R</i>)-(3-phényl-propyl)-pyrrolidine-(2 <i>S</i>)-carbonyl]-amino }-(3 <i>S</i>)-phénylpropionique (6.8).....	255
Références	257
Annexe I Spectres RMN ¹ H et ¹³ C de 3.3 (2 <i>R</i> , 4 <i>S</i>) et 3.3 (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>).....	I-1
Annexe II Rapport de cristallographie de 3.18α.....	II-1
Annexe III Rapport de cristallographie de 3.18β	III-1
Annexe IV Exemple de spectre RMN ¹ H et ¹³ C d'un inhibiteur de type acide phosphorique (5.24α).....	IV-1

Liste des figures

Figure 1.1 Mécanisme de protéolyse des MPM d'après Lovejoy.....	5
Figure 1.2 Représentation des interactions protéases-substrats	9
Figure 1.3 Structures générales des différentes générations d'inhibiteurs des MPM.....	9
Figure 1.4 Conception basée sur la séquence du site de clivage du substrat, d'après Brown et Wittaker.....	10
Figure 1.5 Inhibiteurs des MPM de type succinique.....	11
Figure 1.6 Structure cristallographique du Batimastat cocristallisé dans MPM-3.....	13
Figure 1.7 Quelques inhibiteurs des MPM de type sulfonamide.....	15
Figure 1.8 Modélisation de CGS 27023A dans MPM-3 d'après des études RMN	15
Figure 1.9 Mode de liaison des acides hydroxamiques avec un métal, importance des liaisons H.....	17
Figure 1.10 Nomenclature autour des hydroxamates.....	18
Figure 1.11 Quelques composés naturels présentant un acide hydroxamique.....	22
Figure 2.1 Activité du composé 2.1 et modèle proposé du composé dans le site actif de la MPM-3 d'après des études de docking.....	25
Figure 3.1 Conception d'inhibiteur contraint à partir d'un "lead" acyclique	38
Figure 3.2 Modélisation du composé 3.3 (2R,4R) dérivé de 2.1 et présentant un hydroxyle pouvant interagir avec le carbonyle de Ala-165 environnant	39
Figure 3.3 Auxiliaires chiraux les plus utilisés	40
Figure 3.4 Intermédiaire réactionnel selon Oppolzer.....	46
Figure 3.5 Exemples de catalyseurs les plus utilisés.....	58
Figure 4.1 Production de peptides vasoactifs dans la paroi vasculaire	68

Figure 4.2 Biosynthèse et formation de ET-1 à partir de prépro ET-1. ECE catalyse la conversion de big ET-1 en ET-1 d'après un article de Goto.....	70
Figure 4.3 Quelques inhibiteurs doubles ECE/EPN et leurs activités	75
Figure 4.4 Mode de liaison du Phosphoramidon dans le site actif de EPN proposé par Roques et coll. Les résidus du site actif identifiés par mutagenèse dirigée sont indiqués...	76
Figure 4.5 Un inhibiteur triple de ECE/EPN/ECA	76
Figure 4. 6. Inhibiteurs sélectifs des ECE	77
Figure 5.1 Conception de molécules cycliques à partir d'inhibiteurs connus	81
Figure 5.2 (a) Intermédiaire tétraédrique lors de l'hydrolyse d'une liaison amide, mimé par (b) un inhibiteur contenant un phosphore	83
Figure 5.3 Chemin rétrosynthétique à deux voies, l'une menant aux composés monosubstitués et l'autre aux composés disubstitués	84
Figure 5.4 a) Tensions allyliques 1,3 et 1,2 ($TA^{1,3}$ et $TA^{1,2}$) sur les dérivés de l'acide pyroglutamique b) Minimisation énergétique de l'ion iminium par Chem 3D pro7	86
Figure 5.5 Représentation des structures cristallines des intermédiaires phosphonates 5.18 α et 5.18 β en mode bâtonnets (Mercury 1.1.2.)	97
Figure 5.6 Cheminement des manipulations après réaction avec TMSBr	101
Figure 5.7 Suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de phosphonates α et β où I représente l'intermédiaire, P le produit et S le substrat de la réaction ; les flèches indiquent les déplacements chimiques en ppm ; t représentent les temps d'hydrolyse auquel un spectre RMN est enregistré	112
Figure 6.1 Exemple d'inhibiteurs de ECE de type acide carboxylique et acide hydroxamique.....	117
Figure 6.2 Chemin rétrosynthétique permettant d'accéder à un acide carboxylique ou hydroxamique.....	118

Figure 6.3 a) Formation de l'espèce organocuvivre réactive par action d'un Grignard sur CuBr b) Préférence faciale d'addition du cuprate sur l'ion <i>N</i> -acyliminium	120
Figure 6.4 Détermination de la stéréochimie du dérivé 6.6 par effet NOESY	122
Figure 7.1 Importance du choix de l'acide aminé.....	131
Figure 7.2 Choix du groupe en C3	132
Figure 7.3 Choix du groupe en C4	133
Figure 7.4 Choix du groupe chélateur de zinc	134
Figure 7.5 Stéréochimie en C2.....	134
Figure 7.6 Stéréochimie en C3.....	135
Figure 7.7 Stéréochimie en C4.....	136
Figure 7.8 Stéréochimie en C5.....	137
Figure 7.9 Mode de chélation pour des acides α -phosphoaminés selon Sigel	138
Figure 7.10 Mode de liaison hypothétique de l'analogue 5.26b (en bleu). Analogie avec big ET-1 dont le site de clivage est en rouge	139
Figure 7.11 a) Analogues à synthétiser pour compléter l'étude b) Analogues à synthétiser en gardant le cœur de l'analogue le plus actif obtenu.....	140
Figure 7.12 Nouveau type d'inhibiteur cyclique des ECE.....	141

Liste des schémas

Schéma 1.1 Synthèse de CGS 27023A à partir d'une résine de type hydroxylamine <i>N</i> -liée	20
Schéma 1.2 a) Réarrangement de Lossen habituel b) Réarrangement de Lossen spontané dans le cas d'intermédiaire plus réactif.....	21
Schéma 2.1 Voie générale de synthèse des composés avec différents substituants en P1...	27
Schéma 2.2 Différentes méthodes utilisées pour former l'acide hydroxamique	29
Schéma 2.3 Voie générale de synthèse des composés avec différents substituants en P1' .	31
Schéma 3.1 Approche rétrosynthétique	41
Schéma 3.2 Synthèse de l'auxiliaire chiral	42
Schéma 3.3 Accès possibles à l'imine chirale 3.18 dérivée de la glycine	43
Schéma 3.4 Alkylation sélective de l'imine chirale.....	44
Schéma 3.5 Alkylation et formation du sulfonamide.....	47
Schéma 3.6 Mécanisme d'iodolactonisation d'acides carboxyliques α -substitués γ,δ - insaturés selon Amaral et Melo ¹⁰⁵	49
Schéma 3.7 Etape clé de iodolactonisation.....	51
Schéma 3.8 Mécanisme de iodolactonisation des acides α -amino γ,δ -insaturés	52
Schéma 3.9 Formation préférentielle de la lactone cis d'après Ohfuné ¹¹⁰	53
Schéma 3.10 Mécanisme de sulphényl-lactonisation	56
Schéma 3.11 Ouverture de la lactone par l'hydroxylamine, cas de l'isomère 3.23 (2R, 4R)	57
Schéma 3.12 Alkylation de benzophénone imine au moyen d'un catalyseur par transfert de phase	58

Schéma 3.13 Synthèse du catalyseur	60
Schéma 3.14 Synthèse de l'imine	60
Schéma 3.15 Alkylation sélective catalysée	61
Schéma 5.1 Formation de phosphonates à partir d'ion iminium	82
Schéma 5.2 Alkylation sélective <i>anti</i>	87
Schéma 5.3 Formation des phosphonates en passant par l'intermédiaire acyliminium.....	88
Schéma 5.4 Suite et fin de la synthèse des analogues de la série allyl-naphtalényle.....	90
Schéma 5.5 Réduction de l'allyl-naphtalényle.....	91
Schéma 5.6 Réaction d'ouverture de la lactame lors de l'hydrolyse de l'ester	92
Schéma 5.7 Synthèse du composé témoin avec un groupe allyl-naphtalényle.....	92
Schéma 5.8 Synthèse du composé témoin avec un allyle en C4.....	93
Schéma 5.9 Dérivatisations possibles à partir d'un précurseur commun.....	95
Schéma 5.10 Accès aux intermédiaires dérivatisables.....	96
Schéma 5.11 Dérivatisation avec le naphtylimide, par réaction de substitution ; accès à l'analogue (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>).....	103
Schéma 5.12 Essais de substitution directe de l'alcool dans les conditions de Mitsunobu.	104
Schéma 5.14 Accès à l'isomère (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> , 5 <i>R</i>).....	105
Schéma 5.15 Synthèse du dérivé naphtalimidoéthyle (2 <i>S</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>).....	106
Schéma 5.16 Accès aux phosphonates avec un isobutyle en C4	108
Schéma 5.17 Accès aux analogues avec un isobutyle en C4	109
Schéma 6.1 Formation de la liaison C-C par addition d'un organocuprate sur un ion <i>N</i> -acyliminium	119
Schéma 6.2 Fonctionnalisation à partir de l'oléfine.....	121

Schéma 6.3 Formation de l'acide hydroxamique et clivage des groupements protecteurs 124

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Les différentes enzymes MPM et leurs substrats, d'après une classification récente de Whittaker et Ayscough.	3
Tableau 2.1 Variations des substituants en P1	28
Tableau 2.2 Accès aux acides hydroxamiques avec différents substituants en P1	30
Tableau 2.3 Variations des substituants en P1'	32
Tableau 2.4 Accès aux acides hydroxamiques avec différents substituants en P1'	33
Tableau 2.5 Variations en P1 et résultat des tests biologiques	34
Tableau 2.6 Variations en P1' et résultat des tests biologiques	35
Tableau 3.1 Conditions essayées pour l'iodolactonisation	50
Tableau 3.2 Etude RMN des γ -butyrolactones 3.23	55
Tableau 3.3 Comparaison de l'allylation énantiosélective par différents catalyseurs dans les conditions de transfert de phase	59
Tableau 3.4 Résultats d'inhibition des diastéréoisomères sur plusieurs MPM, comparaison avec l'inhibiteur de première génération.....	62
Tableau 4.1 Implications physiologiques possibles des ECE et effets bénéfiques	73
Tableau 5.1 Angles de torsions sélectionnés, calcul de la déviation moyenne d'un plan donné à partir de structures cristallines ; déplacements chimiques observés par RMN ^{13}C	99
Tableau 6.1 Conditions essayées pour la formation de l'acide hydroxamique.....	123

Liste des sigles et abréviations

$[\alpha]_D$	Pouvoir rotatoire à la raie du sodium (589 nm) à la température de 25°C (Chapitre 10 et 11) et 20°C (Chapitre 12)
δ	Déplacement chimique
μL	Microlitre
μM	Micromolaire
Ac	Acétyle
AcOEt	Acétate d'éthyle
Ala	Alanine
Ar	Aromatique
Bn	Benzyle
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
BR	Basse résolution
Bt	Benzothiazole
Bu	<i>n</i> -Butyle
^t Bu	<i>tert</i> -Butyle
<i>c</i>	Concentration en g / 100 mL
°C	Degré Celsius
calc.	Calculé(e)
coll.	Collaborateur(s)
COSY	Correlated Spectroscopy
d	Doublet
dd	Doublet dédoublé
ddd	Doublet de doublet dédoublé
de %	% excès diastéréoisomérique
DEAD	Azodicarboxylate de diéthyle
DIAD	Azodicarboxylate de diisopropyle
DIBAL-H	Hydruure de diisobutyl aluminium

DIEA	Diisopropyléthylamine
DMAP	4-(Diméthylamino)pyridine
DMF	<i>N, N'</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthyl sulfoxyde
dt	doublet de triplet
EDC	1-(3-Diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide.HCl
EDCI	1-(3-Diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide méthiodide
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ECE	Enzyme de conversion de l'endothéline
ee %	% Excès énantiomérique
EPN	Endopeptidase neutre
eq.	Equivalent
Et	Ethyle
ET	Endothéline
FAB	Fast atom bombardment
GCZ	Groupe chélateur de zinc
h	Heure
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HPLC	High performance liquid chromatography
HR	Haute résolution
IC ₅₀	Concentration d'inhibiteur (50%)
IR	Infrarouge
<i>J</i>	Constante de couplage
K _i	Constante d'inhibition
K _M	Constante de Michaelis
L	Litre
LAH	Hydruure de lithium et d'aluminium
Liaison H	Liaison hydrogène
LIHMDS	Hexaméthylidisilazide de lithium
m	Multiplet

M	Métal
Me	Méthyle
MHz	Mégahertz
mL	Millilitre
MPM	Métalloprotéase de la matrice
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
nM	Nanomolaire
NMM	4-Méthylmorpholine
obt.	Obtenu(e)
PCC	Chlorochromate de pyridinium
PF	Point de fusion
pH	Potentiel hydrogène
PMB	<i>p</i> -Méthoxybenzyle
PMP	<i>p</i> -Méthoxyphényle
PNA	peptide neutriurétique atrial
PPTS	<i>p</i> -Toluène sulfonate de pyridinium
psi	Livre par pouce carré
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
PyBrOP	Bromotripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
pyr.	Pyridine
q	Quadruplet
Rdt	Rendement
<i>R_f</i>	Mobilité relative
RMN	Résonance magnétique nucléaire
rmsd	Root-Mean-Square Deviation
s	Singulet
SAR	Relation-Structure-Activité
sat.	Solution aqueuse saturée
SM	Spectroscopie de masse

t	Triplet
TA	Tension allylique
TCT	Trochlorotriazine ou chlorure de cyanure
TBAF	Fluorure de tétrabutyl ammonium
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphénylsilyle
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Triméthylsilyle
tol.	Toluène
Tp	Température de la pièce
TPC	Catalyse par transfert de phase
Tr	Trityle
Ts	Tosyle
UV	Ultra violet
)))	Ultrasons

Remerciements

Dilemme, qui remercier en premier ?

Mes parents, pour m'avoir constamment soutenue depuis plus de vingt-huit ans ou mon directeur de recherche, le professeur Stephen Hanessian, pour m'avoir accueillie au sein de son groupe ? Les projets qu'il m'a confiés m'ont permis de découvrir le développement de molécules d'intérêt biologique et surtout de réaliser les enjeux de la chimie médicinale. Grâce à la diversité de ses intérêts de recherche, j'ai pu côtoyer, à travers les membres du groupe, la chimie des sucres, les méthodologies en synthèse totale, la synthèse asymétrique, la synthèse peptidique, la synthèse en parallèle et la modélisation moléculaire. Je le remercie également pour la qualité de notre environnement et la richesse matérielle qui nous entoure.

C'est grâce au dévouement du professeur André Beauchamp que les échanges d'étudiants entre Toulouse et l'Université de Montréal sont possibles. J'aimerais lui exprimer toute ma gratitude et remercier aussi l'Université de Montréal, le cycle des études supérieures, qui m'a accordé une bourse d'Excellence.

Je voudrais remercier le professeur Jeffrey Keillor pour son écoute, sa disponibilité et sa prévenance. Merci également aux membres de son groupe, d'hier et d'aujourd'hui, pour leur bonne humeur et leur simplicité.

Un grand merci à ceux qui ont eu le courage de lire et corriger cette thèse. Je pense au Dr. Eric Doris, mon beau-frère et au Dr. Franck Raepffel, ancien post-doc du groupe et également ami. Merci à Christian pour tout.

Sans le soutien des Laboratoires Servier en France, ce travail n'existerait probablement pas. Je désire saluer la coopération des Docteurs Caignard et Renard ainsi que celle du laboratoire qui effectue les tests biologiques.

Je remercie le Dr. Nicolas Moitessier et Eric Terrien pour les travaux de modélisation moléculaire concernant les MPM. Merci aussi, Eric et Yan Ma, pour votre patience à régler les petits problèmes informatiques de chacun.

J'aimerais souligner l'aide du Dr. Olivier Rogel et désire remercier la Dre. Lucienne Juillerat, pathologiste à Lausanne, pour avoir partagé avec moi ses connaissances biologiques sur les MPM et les ECE.

Que les filles du groupe soient ici remerciées. D'abord, Mesdames Elaine Fournelle et Carol Major dont j'ai apprécié la complicité et les discussions. Merci d'être là et de nous faciliter le travail. Je désire remercier, ensuite, toutes celles avec qui j'ai partagé discussions (scientifiques) et bons moments. Je pense à Caroline dont le "schpâ" est maintenant célèbre outre-Atlantique, merci aussi pour tes conseils sur la nomenclature, à Saskia, *die oft die Wahrheit ausspricht*, ainsi qu'à Laïla, Lijie et Vévéro. J'ai une pensée spéciale pour Roselyne, membre du groupe Keillor, avec qui, j'espère, il y aura un « après la thèse ».

La richesse de ce groupe réside également dans les échanges culturels entre des personnes venant de Chine, d'Inde, du Canada, d'Italie, du Royaume-Uni, du Maroc, d'Afrique du Sud ou de Russie. En quatre années, des liens particuliers se sont noués. J'aimerais saluer, par ordre chronologique, Willem et Lara, Alex K. et Kristen, Helen, Clément, Gianluca P., Van, Kamal, Stéphane, Philippe, Marco y Mara, Mauro, Jayakumar, Daniel, Maxime.

Je n'oublie pas non plus les autres membres du laboratoire, anciens et présents. Un merci particulier à Guillaume et à Janek pour les injections MS de dernière minute.

Je souhaite aussi remercier de nombreuses personnes qui travaillent à l'Université de Montréal. Je pense à Sylvie Bilodeau, pour la réalisation des spectres sur le 600 MHz, Robert Mayer, Dr. Cédric Malveau, et au Dr. Tan Phan Viet qui a réalisé les expériences de températures variables. Merci à Michael Evans du service de masse pour avoir répondu à mes questions. Merci à Michel Simard pour la résolution des structures aux rayons-X et pour son enthousiasme communicatif. Merci à Dalbir pour la purification LCMS. Merci aux membres de l'atelier électronique et à Cédric Ginart, le souffleur de verre. Merci à

Ginette Lacoursière Gignac de la bibliothèque pour les recherches bibliographiques parfois ardues. Merci à l'ensemble des membres du service administratif.

Une pensée reconnaissante, enfin, pour Robert Cailliau, ingénieur belge, et le physicien Tim Berners-Lee, les pères du Web, outil si précieux dans le travail du chercheur.

Je finirai en remerciant l'ensemble de ma famille, y compris celle d'Angleterre, pour son soutien à travers courriels, appels téléphoniques, correspondance. Un dernier hommage à ma merveilleuse sœur. Merci, Isa, pour tout.

Chapitre 1

Les Métalloprotéases de la Matrice (MPM)

1. 1. Introduction

Les enzymes sont divisées en familles selon la réaction chimique qu'elles catalysent. Ainsi, une de ces familles est celle des protéases dont le rôle est d'hydrolyser une ou plusieurs liaisons peptidiques.¹ Il existe deux grandes classes de protéases selon que la rupture de la liaison peptidique se fait au centre ou aux extrémités de la chaîne peptidique. On distingue ainsi les endopeptidases, qui catalysent l'hydrolyse spécifique d'une liaison peptidique à l'intérieur de la chaîne, des exopeptidases, qui catalysent de façon récurrente la coupure de la chaîne à partir des extrémités *N* ou *C* terminales de la protéine.

Face à l'immense diversité des protéases, un sous-classement plus précis et plus rationnel a été adopté en fonction des résidus essentiels au site actif de l'enzyme.² L'hydrolyse peptidique se déroule toujours selon une séquence réactionnelle classique d'addition sur le peptide d'un nucléophile interne au site actif suivi du relargage des composantes acide et amine du peptide hydrolysé. Le site catalytique est donc responsable de la transformation du substrat et permet également de définir la classe à laquelle appartient une protéase. Quatre mécanismes catalytiques distincts ont ainsi pu être mis en évidence, correspondant à autant de sous-groupes enzymatiques et sont les suivants :

- les protéases à sérines, ex : la plasmine
- les protéases à cystéines, ex : les cathepsines, les caspases
- les aspartyl-protéases, ex : la rénine, la protéase du VIH
- les métalloprotéases, ex : les métalloprotéases de la matrice.

Ce sont ces dernières sur lesquelles nos efforts vont se concentrer pour chercher de nouveaux inhibiteurs. Après une présentation générale des métalloprotéases, nous passerons en revue les différents types d'inhibiteurs connus à ce jour ainsi que la chimie des acides hydroxamiques, spécifique à notre type d'inhibiteurs proposés.

1. 2. Présentation des MPM

Chez les mammifères, la plupart des cellules des tissus sont entourées par une grande variété de protéines et de glycoprotéines qui constituent la matrice extracellulaire. Durant la croissance, le développement embryonnaire³ ou après une blessure,⁴ la matrice extracellulaire subit de profondes modifications. Les protéines sont alors clivées en fragments plus petits par une famille d'enzymes à zinc appelée les métalloprotéases de la matrice (MPM). Ce processus sert à mettre en place la reconstruction des tissus. Il existe 26 MPM⁵ distinctes découvertes à ce jour (Tableau 1.1), qui ont une séquence commune en aminoacides ainsi qu'un ion zinc(II) dans leur site actif. De plus, ces enzymes sont Ca-dépendantes.

Tableau 1.1 Les différentes enzymes MPM et leurs substrats, d'après une classification récente de Whittaker et Ayscough.⁶

MPM	Enzyme	Principaux substrats
MPM-1	collagénase fibroblaste	fibrilles, collagènes (type I, II, III, VI, X), gélatines
MPM-2	gélatinase A	collagènes (type IV, V, VII, X), fibronectine, élastine
MPM-3	stromélysine-1	protéoglycans, laminine, fibronectine, collagènes (type III, IV, V, IX), gélatines, pro-MPM-1
MPM-7	matrilysine	fibronectine, gélatines, protéoglycans, pro-MPM-1
MPM-8	collagénase neutrophile	collagènes (type I, II, III)
MPM-9	gélatinase B	collagène (type IV, V),

		gélatines
MPM-10	stromélysine-2	fibronectine, collagènes (type III, IV), gélatines, pro-MPM-1
MPM-11	stromélysine-3	serpine
MPM-12	métalloélastase	élastine
MPM-13	collagénase-3	collagène (type I, II, III), gélatine
MPM-14	membrane- type 1 (MT1-MPM)	pro-72 kDa gélatinase
MPM-15	membrane- type 2 (MT2-MPM)	-
MPM-16	membrane- type 3 (MT3-MPM)	pro-72 kDa gélatinase
MPM-17	membrane- type 4 (MT4-MPM)	-
MPM-18	collagénase-4	-
MPM-19	nouvelle MPM	gélatine
MPM-20	enamelysine	amélogénine, gélatine
MPM-21 à -26	identifiées sur des chromosomes	-

Les MPM-1 à -13 sont capables de dégrader les composants protéiniques de la matrice extracellulaire et ont en commun de nombreux substrats.⁷ Il reste encore des substrats à déterminer en particulier pour les derniers membres de cette famille. Les MPM membranaires sont liées à la membrane extracellulaire plutôt que secrétées par la cellule.

Le substrat le plus courant des MPM est le collagène. C'est la protéine la plus abondante dans le corps humain qui constitue les tissus et les organes.⁸ Le collagène se

présente sous la forme d'une hélice triple brins, capable de s'assembler en polymères ordonnés appelés les fibrilles. Il est trouvé dans la peau, les tendons, les vaisseaux sanguins et le cœur. Lorsqu'il est associé au calcium, il confère la structure rigide des os. En revanche, certains tissus comme les vaisseaux sanguins, les poumons ou la peau requièrent une certaine élasticité. Cette dernière provient de l'élastine, dont la structure ressemble à un ressort, ce qui lui donne sa souplesse.⁹ Au contraire, les cartilages que l'on retrouve au niveau de l'articulation sont constitués de collagène et de protéoglycanes. Ces derniers possèdent un cœur de protéine auquel de nombreux carbohydrates sont attachés. La fibronectine est une glycoprotéine largement distribuée dans les tissus cellulaires et le sang où elle favorise l'adhésion cellulaire entre cellules et collagène. La laminine ainsi que le collagène de type IV sont les principaux constituants des feuilles de tissu qui servent de barrière entre les différents organes.

Un mécanisme de protéolyse des MPM a été rapporté par Lovejoy et coll.,¹⁰ basé sur la détermination du domaine catalytique de MPM-1 par des structures cristallines.

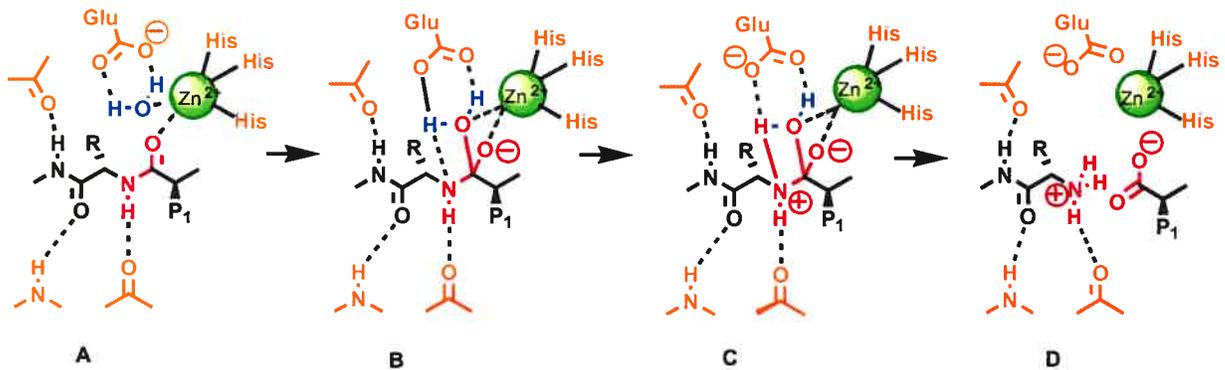


Figure 1.1 Mécanisme de protéolyse des MPM d'après Lovejoy¹⁰

Les MPM requièrent un ion zinc(II) pour effectuer l'hydrolyse de la liaison peptidique. Cet atome de zinc est pentacoordiné avec trois histidines, une molécule d'eau et la fonction carbonyle de l'amide de la liaison scissile (Figure 1.1, A).⁵ La fonction

carbonyle rendue plus électrocléophile par l'ion Zn^{2+} subit une attaque nucléophile de la molécule d'eau qui établit des liaisons H à la fois avec un acide glutamique environnant et avec le peptide lui-même (Figure 1.1, B). L'eau transfère un proton au résidu Glu du site actif qui à son tour le transfère à l'azote de l'amide scissile (Figure 1.1, C). Il s'en suit la fragmentation de l'intermédiaire tétraédrique pour conduire à la coupure de la liaison amide (Figure 1.1, D).¹

Malgré le rôle destructeur des MPM, un contrôle de la production et de l'activité enzymatique est maintenu afin de conserver un équilibre à l'intérieur des tissus. La transcription du gène codant pour les MPM est hautement régulée. Une fois synthétisées, les enzymes sont secrétées hors de la cellule (sauf les MT-MPM) sous forme de pro-enzymes latentes qui doivent être activées.¹¹ Ce processus d'activation implique la modification ou le clivage d'une partie *N*-terminale. L'activité des MPM peut également être régulée par des inhibiteurs naturels spécifiques : les ITMP (Inhibiteurs Tissulaires des Métalloprotéines).¹²

1. 3. Les MPM et pathologies associées

Les MPM sont impliquées dans des processus physiologiques normaux tels que le développement embryonnaire, la croissance nerveuse, le remodelage osseux, le cycle ovarien, la guérison des plaies, l'angiogénèse, l'inflammation, *etc.* De fâcheuses conséquences apparaissent lorsque l'activité de ces enzymes n'est plus contrôlée et ces aberrations d'expression sont associées à plusieurs maladies. Certaines pathologies sont caractérisées par un déséquilibre entre les MPM et leurs inhibiteurs naturels (les ITMP). Lorsque le niveau de ces derniers est insuffisant, la matrice extracellulaire commence progressivement à se dégrader. Ainsi, les rhumatismes et l'ostéoartrite se traduisent par une diminution du cartilage,¹³ l'ostéoporose par une détérioration des os.¹⁴ De même une défaillance cardiaque peut être due à une dégradation rapide de la matrice.¹⁵ Les MPM semblent être également impliquées dans les fibroses, les maladies dégénératives, les lésions vasculaires, *etc.*

De nombreuses études semblent montrer que les MPM sont impliquées dans le développement de tumeurs.¹⁶ Ces dernières seraient capables de forcer les métalloprotéases à remodeler de façon plus active encore la matrice extracellulaire.¹⁷ Pour les métastases, les MPM sont impliquées dans la destruction de la matrice extracellulaire permettant ainsi aux tumeurs cancéreuses primaires d'envahir les vaisseaux sanguins voisins et d'être transportées par le sang jusqu'aux différents organes qu'elles vont coloniser. L'envahisseur de ces sites secondaires a besoin de place et a donc recours aux MPM pour détruire une fois encore les tissus et permettre à la tumeur de se développer. C'est ce que l'on appelle l'invasion locale. Les MPM contribuent enfin à la création de nouveaux vaisseaux sanguins qui viennent alimenter la tumeur et donc lui permettent de grossir, c'est l'angiogénèse. Actuellement, deux enzymes, MPM-2 et MPM-9 semblent être impliquées dans ce processus.

Un des problèmes majeurs associé aux traitements contre le cancer est que même si une tumeur primaire peut être traitée par chirurgie, chimiothérapie ou radiothérapie, les risques demeurent. En effet, lorsque le cancer est diagnostiqué, les métastases se sont déjà installées dans les tissus.¹⁷ Ainsi, pour certaines maladies comme l'arthrite et/ou certains cancers, inhiber les enzymes responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire pourrait représenter une solution thérapeutique profitable.¹⁸ Une des difficultés est de savoir quelle MPM est impliquée dans une maladie donnée et donc laquelle il faut cibler pour l'inhibition. Pour l'instant, on n'a pas encore déterminé pour chaque maladie quelle MPM a un taux anormal. De plus, une augmentation de la transcription du gène ou un taux anormalement élevé d'enzymes ne doit pas être systématiquement relié à l'activité enzymatique. Cette dernière dépend de l'activation de la pro-enzyme et de l'équilibre entre l'enzyme active et ses inhibiteurs naturels. Dans un certain nombre de maladies impliquant une modification de la matrice extracellulaire, des taux anormaux de MPM sont détectés et en général plusieurs sont concernés.¹⁹ Dans le cas des cancers, il ne faut pas seulement examiner quelle cellule excrète quelle MPM mais aussi quel est le tissu hôte qu'il faut cibler puisque c'est ce dernier qui exploite le potentiel destructeur des MPM en encourageant par exemple la formation de nouveaux vaisseaux sanguins.^{16, 19} Par

conséquent, trouver des inhibiteurs aussi sélectifs que possible permettrait de connaître le rôle de chaque MPM pour une maladie précise.

1. 4. Comment inhiber les MPM ?

Les ITMP sont généralement des protéines et donc ne peuvent représenter un moyen thérapeutique pratique pour inhiber les MPM. Les produire coûterait trop cher et de plus, leur biodisponibilité serait limitée. C'est pour éviter ces obstacles que de nombreuses compagnies pharmaceutiques et groupes de recherche concentrent leurs efforts depuis les années 80 pour trouver des inhibiteurs synthétiques.²⁰

1. 4. 1. Nomenclature des interactions protéase-substrat

Berger et Schechter²¹ ont défini une nomenclature permettant de schématiser les multiples interactions possibles entre une protéase et son substrat au niveau de son site de liaison. Cette nomenclature est commune à l'ensemble des protéases. Le site actif de l'enzyme peut se subdiviser en de nombreux sous-sites S et S' (S pour sous-site) de part et d'autre de la liaison amide à cliver (Figure 1.2). A chacun de ces sous-sites correspond un résidu P et P' (P pour Protéine) du substrat. Par les interactions diverses (ioniques, hydrophobes, *etc.*) et spécifiques qui peuvent exister entre le site actif enzymatique et le substrat, il se crée des affinités propres à chaque système qui définissent une spécificité plus ou moins grande.

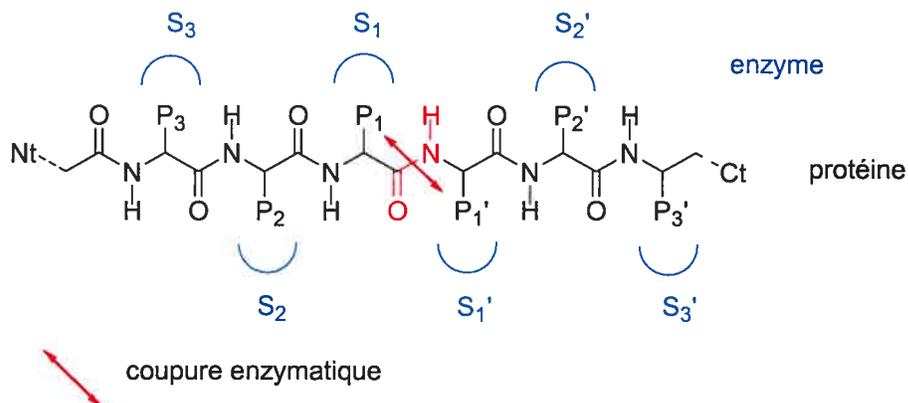


Figure 1.2 Représentation des interactions protéases-substrats

1. 4. 2. Comment concevoir des inhibiteurs des MPM ?

Les inhibiteurs des MPM ont été découverts par trois stratégies différentes :

- par une approche de type analogue du substrat, ce qui a donné naissance à la première génération d'inhibiteurs,
- par criblage de produits naturels et de banque de composés,
- et plus récemment par conception basée sur la structure du site actif de l'enzyme.

Des structures générales des différentes générations d'inhibiteurs ressortent et sont représentées à la figure 1.3.

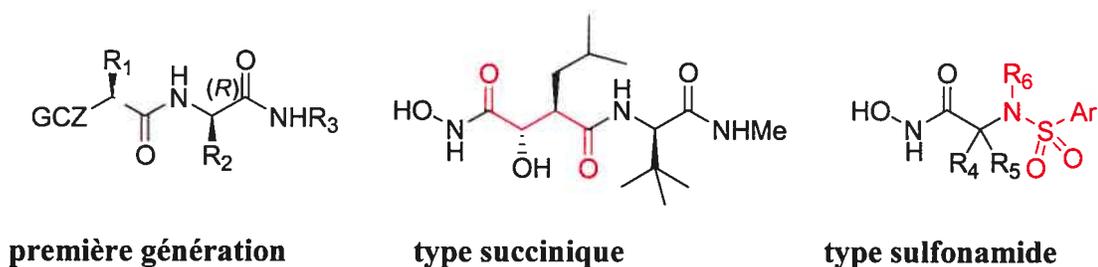


Figure 1.3 Structures générales des différentes générations d'inhibiteurs des MPM

Ces trois techniques permirent d'identifier des composés assez actifs possédant tous un groupe qui chélate l'ion zinc(II) du site actif. De nombreux groupes chélatants (GCZ) furent essayés mais ceux qui ont conduit aux meilleures activités sont l'acide

hydroxamique, l'acide carboxylique et les groupes sulphydriques. Castelhana et coll. ont ainsi pu classer les entités suivantes par ordre décroissant d'affinité pour MPM-1, en faisant varier les GCZ d'inhibiteurs de structure identique : hydroxamate > formylhydroxylamine > sulfhydryl > phosphinate > aminocarboxylate > carboxylate.²²

1. 4. 3. Conception à partir de la structure du substrat

Cette approche est basée sur la séquence des acides aminés du collagène situé au niveau du site de clivage par la collagénase. Les dérivés peptidiques synthétisés copient une partie de cette séquence et possèdent un GCZ au point de coupure (Figure 1.4). Les composés qui incorporent un acide hydroxamique en lieu et place de la liaison peptidique scissile dans le substrat et se lient aux sites de la partie droite de l'enzyme par des chaînes et des fonctions complémentaires, sont des inhibiteurs puissants.

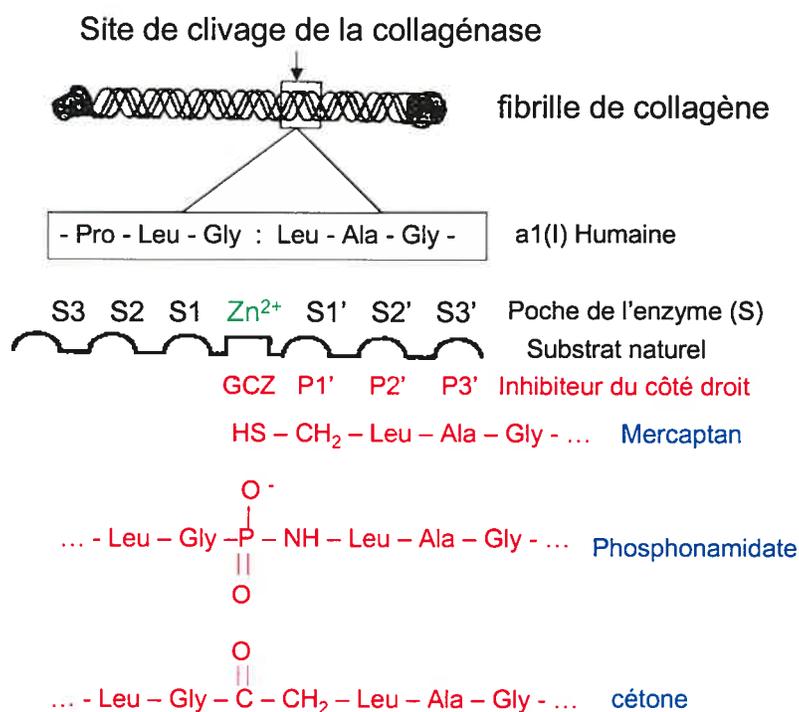


Figure 1.4 Conception basée sur la séquence du site de clivage du substrat, d'après Brown et Wittaker²³

1. 4. 4. Inhibiteurs de type succinique

Une seconde génération incorpore un motif succinique, ce qui crée une augmentation de l'activité enzymatique. C'est seulement depuis peu que des inhibiteurs biodisponibles oralement ont été découverts et sont susceptibles d'être développés. Une dizaine de composés ont été ou sont encore en essais cliniques mais aucun n'a été approuvé pour le marché. Quelques structures chimiques ont été révélées et sont indiquées à la figure 1.5.

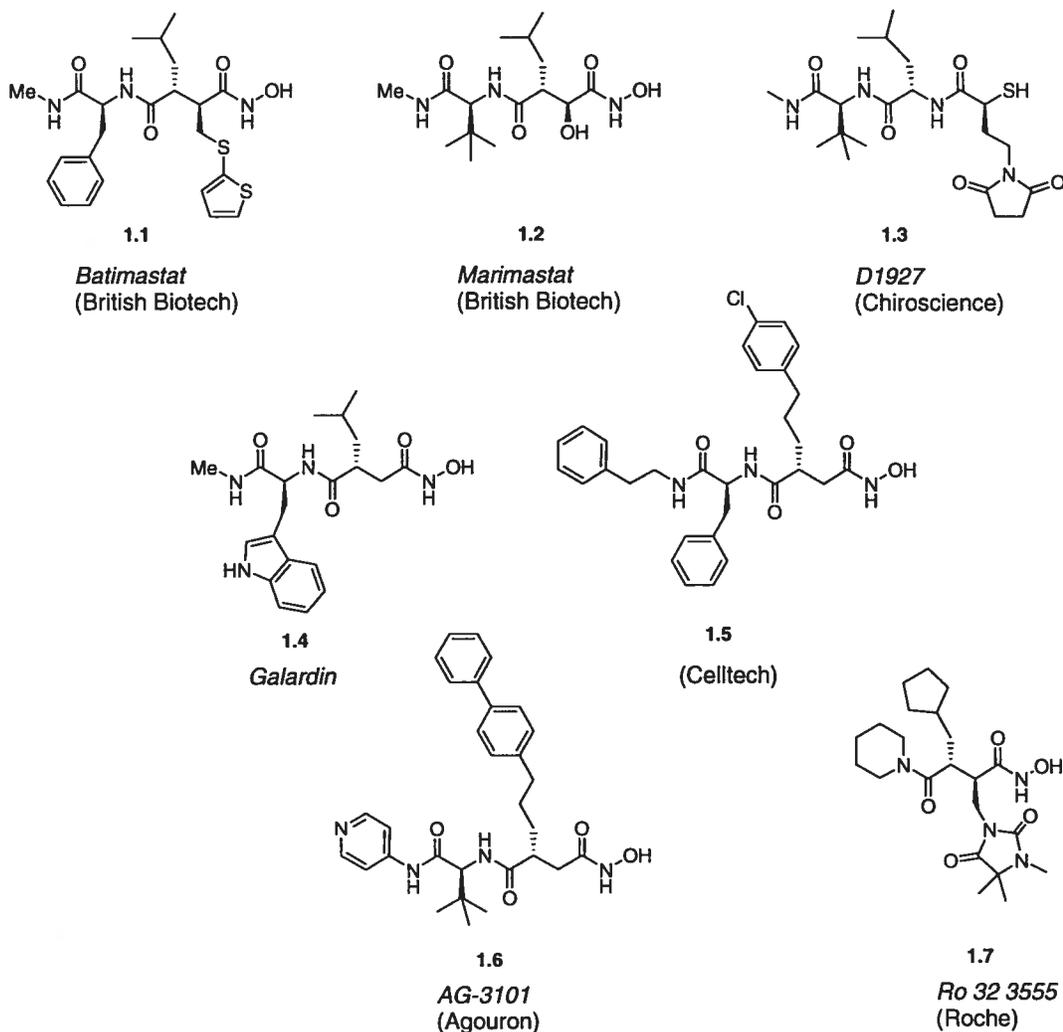


Figure 1.5 Inhibiteurs des MPM de type succinique

Grâce à cette approche furent identifiés *Batimastat* de British Biotech²⁴ et *Galardin* de Glycomed.²⁵ Ces composés ont été évalués chez des animaux porteurs de maladies humaines et ont donné des résultats encourageants. Ce sont également les premiers inhibiteurs de MPM à avoir été testés en phase clinique, *Galardin* comme traitement contre les ulcères de la cornée et *Batimastat* en formule injectable pour traiter l'accumulation de fluide malin dans le cancer des ovaires. Ces deux composés inhibent les MPM-1, MPM-2 et MPM-3 avec des constantes d'inhibition (IC_{50}) de l'ordre du nanomolaire. Les chercheurs de Celltech ont découvert qu'en remplaçant l'isobutyle en position P1' dans une série d'hydroxamates succiniques, composé **1.4** (Figure 1.5), par un groupe 3-phénylpropyle, composé **1.5**, ils obtenaient un inhibiteur sélectif de MPM-2 par rapport à MPM-1.²⁶

Malheureusement, aucun de ces trois produits n'est actif par voie orale, ce qui pose un problème quant à leur développement en vue d'une utilisation thérapeutique. Des chercheurs de British Biotech ont trouvé qu'en remplaçant le thiénylthiométhylène α du *Batimastat* (Figure 1.5, composé **1.1**) par un hydroxyle en position α , comme dans *Marimastat* (composé **1.2**), la biodisponibilité augmentait.²⁰ D'autres chercheurs, à Chiroscience, ont identifié une série de composés analogues au substrat qui possède un groupement chélatant de type mercaptoamide. Un analogue parmi ces structures, *D1927* (composé **1.3**) est en phase de développement clinique dans le traitement contre l'arthrite.²⁷

Grâce aux rayons X, des structures cristallines des complexes inhibiteurs-enzymes ont été obtenues pour les sites actifs des MPM-1, MPM-3, MPM-7 et MPM-8.^{10, 28} Le mode de liaison du *Batimastat*^{28f} a été confirmé ainsi que celui de nombreux inhibiteurs de type acide hydroxamique conçus par analogie au substrat. Cette méthode a également permis de mettre en évidence des différences au sein des sites actifs des différentes MPM. La figure 1.6 révèle le mode de liaison du *Batimastat* au sein de l'enzyme MPM-3.

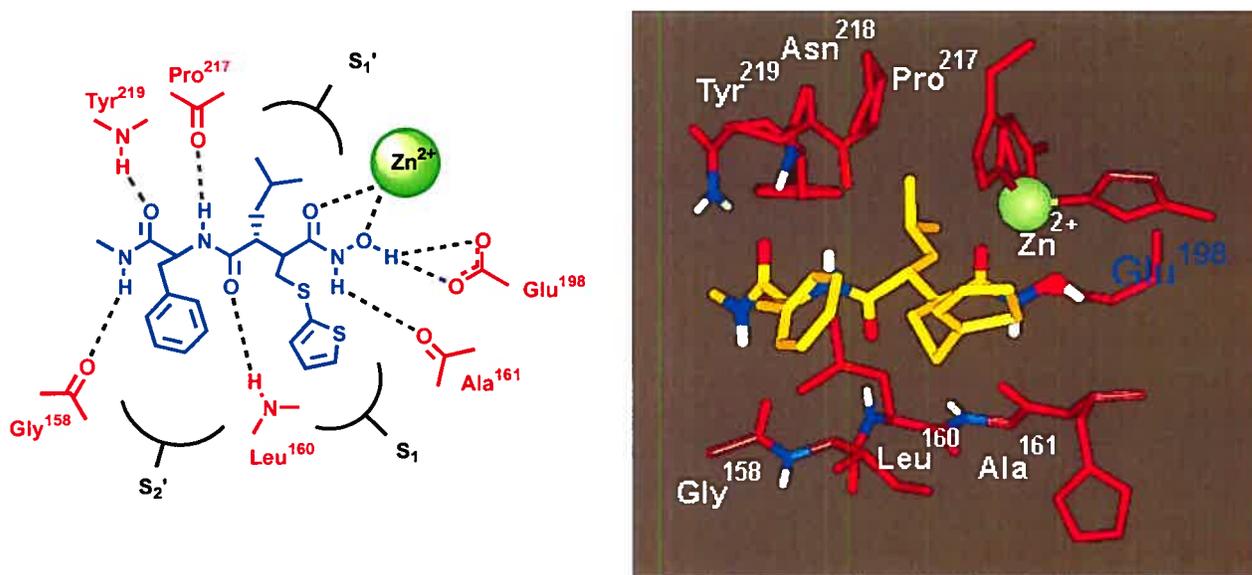


Figure 1.6 Structure cristallographique du Batimastat cocrystallisé dans MPM-3

La différence la plus marquante entre les différentes enzymes MPM concerne la taille et la forme de la poche S1'. Par rapport aux poches S1, S2' et S3' assez ouvertes vers l'extérieur, la poche S1' pénètre au cœur de l'enzyme. Elle est assez petite chez MPM-1 et MPM-7 mais bien plus profonde pour les MPM-3 et MPM-8. La modélisation moléculaire suggère que cette poche forme un tunnel à travers l'enzyme pour les MPM-2 et MPM-9.²⁹ C'est donc la différence au niveau du site de liaison entre les MPM-1 et MPM-2 qui pourrait expliquer la sélectivité que Celltech a pu obtenir en incorporant des groupes volumineux en P1' pour inhiber MPM-2. La conception d'inhibiteurs basée sur la structure d'après les données cristallographiques a permis aux chercheurs de Sterling-Winthrop³⁰ et à ceux de Syntex/Agouron³¹ de découvrir que la sélectivité pour MPM-2 et MPM-3 par rapport à MPM-1 pouvait être atteinte si des groupes encore plus volumineux en P1' étaient incorporés. Ainsi des groupes biphénylés comme dans *AG-3101* (Figure 1.5, composé 1.6) peuvent être utilisés.³¹

Les chercheurs de Roche ont découvert une autre façon d'être sélectif et ceci d'après les informations données par les rayons X. Partant de la structure de l'hydroxamate peptidique *Galardin* (Figure 1.5, composé 1.4), ils ont remplacé l'acide aminé en position

P2' par un groupe pipéridinyle. Ils ont incorporé un groupe hydantoïne méthylène en position α et le composé obtenu est alors devenu sélectif pour la MPM-1 par rapport aux MPM-2 et MPM-3. Un de leurs composés, *Ro 32-3255* (Figure 1.5, composé 1.7), est en essai de phase clinique III pour le traitement de l'arthrite rhumatoïde et possède, comme on pourrait s'y attendre pour des inhibiteurs non peptidiques, une bonne biodisponibilité.³²

De nombreux inhibiteurs des MPM sont allés en phase clinique et ont montré que l'inhibition des MPM pouvait affecter la progression des tumeurs pour les cancers ovarien, pancréatique et prostatique. Les études montrent une diminution de la vitesse de la progression des antigènes (indicateurs de la progression tumorale) proportionnelle à la dose d'inhibiteur.³³

1. 4. 5. Inhibiteurs de type sulfonamide

La technique du criblage de molécules avec des groupes chélateurs de zinc contre la MPM-3 a permis aux chercheurs de Novartis de trouver un dérivé d'acide hydroxamique de type sulfonamide qui a conduit à *CGS 27023A* (Figure 1.7, composé 1.8).³⁴ Ce composé aux résultats d'inhibition prometteurs, fut le premier de sa catégorie à entrer en phase de développement. *AG3340* (composé 1.9) dérivé de *CGS 27023A*, fut sélectionné pour entrer en phase de développement en raison de son efficacité pour diminuer la progression des métastases chez un modèle murin.⁵ Il présentait également un profil pharmacocinétique favorable. Roche Bioscience a développé *RS130830* (composé 1.10), un analogue oralement actif et possédant une demi-vie prometteuse.⁵

Selon Pikul *et coll.*, la conception d'inhibiteurs de MPM peut être simplifiée si un plan de symétrie est introduit au niveau du squelette des analogues.³⁵ De ce concept est née une série de composés symétriques achiraux très actifs *in vitro*. La molécule 1.11 (Figure 1.7) est dans cette famille celle qui exhibe l'activité biologique la plus étendue contre différentes MPM.

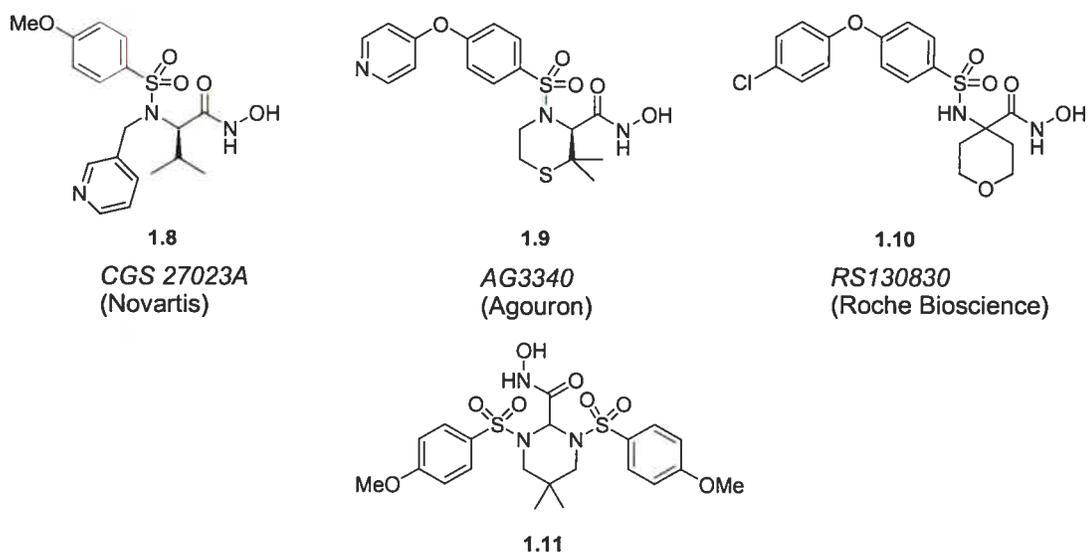


Figure 1.7 Quelques inhibiteurs des MPM de type sulfonamide

Le présumé mode de liaison de *CGS 27023A* dans le site actif d'une MPM a été étudié par RMN. Les résultats ont permis de modéliser le composé dans le site actif de la MPM-3³⁶ et sont représentés à travers les images de la figure 1.8 :

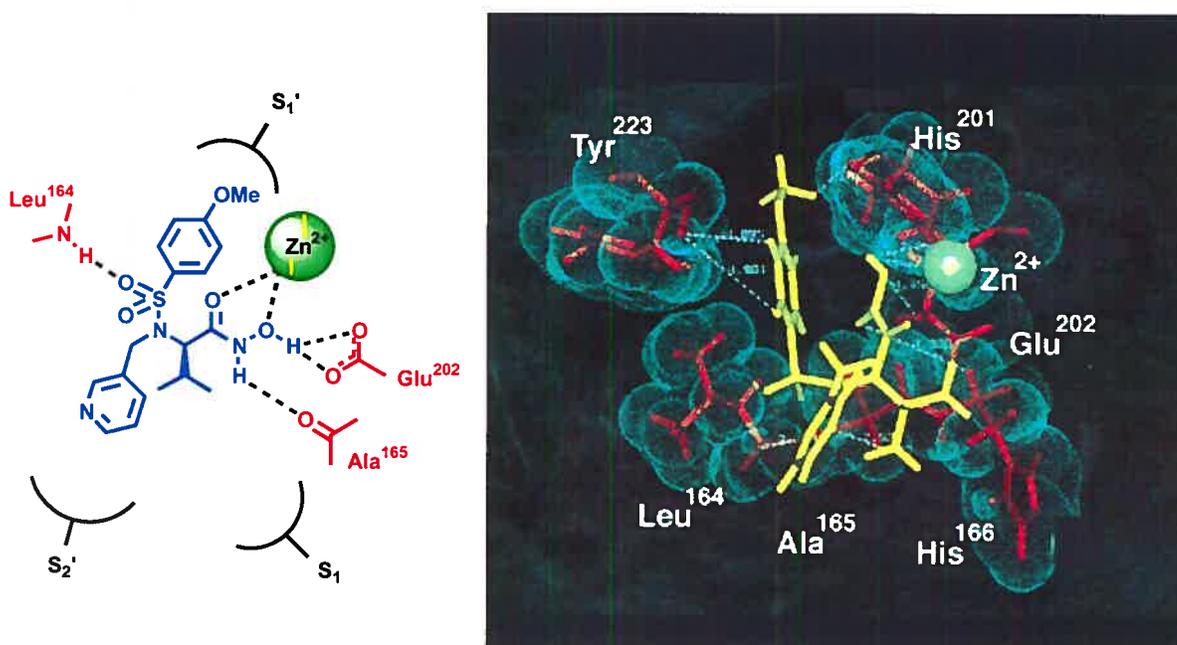


Figure 1.8 Modélisation de *CGS 27023A* dans MPM-3 d'après des études RMN

Le groupe sulfonamide occupe la poche S1'. Le groupe pyridyl méthylénique basique vient se loger dans la poche S2'. L'isopropyle est cependant conservé. Il semble être de taille insuffisante pour pouvoir remplir l'espace de la poche S1 (Figure 1.8). Grâce au pK_a global de l'acide hydroxamique (autour de 8) les liaisons hydrogènes de ce dernier avec Glu-202 sont maintenues à pH physiologique³⁷ et comme pour le *Batimastat*, il est coordonné avec l'ion Zn^{2+} du site actif.

De nombreux articles de périodiques³⁸ rapportent plus en détail les différents types d'inhibiteurs de MPM. Nous nous sommes restreints aux acides hydroxamiques, mais il existe aussi des inhibiteurs de type caprolactames, des phosphinamides, des pipérazines, des thiols, des acides carboxyliques, *etc.*³⁹

1. 4. 6. Pourquoi les acides hydroxamiques semblent être de meilleurs inhibiteurs

Une propriété fondamentale et spécifique de ces composés est leur mode de liaison avec le métal. Comme le montrent les nombreuses structures cristallographiques des complexes inhibiteurs/enzyme, les acides hydroxamiques forment un complexe bidentate avec le métal, l'oxygène du carbonyle et le motif *N*-hydroxyle chélatent le zinc (Figure 1.9).⁴⁰ Deux sites de coordination du zinc sont donc occupés, remplaçant ainsi le carbonyle du lien peptidique de la liaison scissile du substrat naturel.

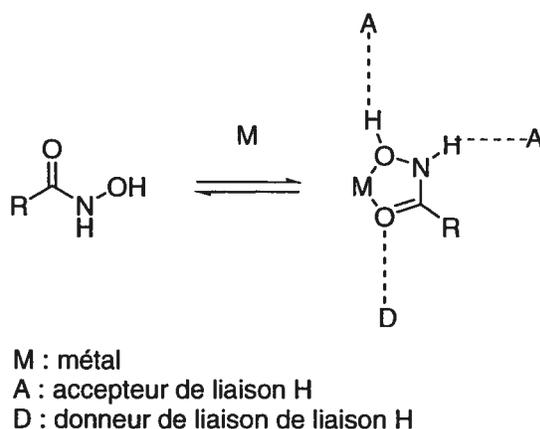


Figure 1.9 Mode de liaison des acides hydroxamiques avec un métal, importance des liaisons H

Une étude par rayons-X a permis de mesurer la distance entre les oxygènes du carbonyle et de l'hydroxyle par rapport au métal.^{28f} Pour le complexe *Batimastat-collagénase*, elle est de 2.1 Å dans le cas d'un acide hydroxamique et de 2.3 Å dans le cas d'un acide carboxylique. Par conséquent, les acides hydroxamiques s'approchent plus de la géométrie de bipyramide à base trigonale que les acides carboxyliques correspondants. Selon des études théoriques, c'est cette géométrie qui est requise pour avoir une chélation optimale avec le métal.⁴¹ De plus, de par leur valeur moyenne de pK_a, autour de 8, les acides hydroxamiques sont sous la forme d'une espèce neutre, donc non ionisée à pH physiologique contrairement aux acides phosphoniques et carboxyliques. Ils contribuent ainsi à maintenir des liaisons hydrogènes avec les acides aminés environnants en agissant en tant que donneurs (Figure 1.9). Par conséquent, la contribution de l'énergie libre de désolvatation de l'inhibiteur est plus favorable pour des espèces neutres que pour des espèces ioniques. C'est donc pour des raisons structurales mais aussi énergétiques que les propriétés de chélation avec le zinc sont si différentes avec les acides hydroxamiques, ce qui pourrait expliquer pourquoi ce sont des composés de choix en tant qu'inhibiteurs.

1. 5. La chimie de l'acide hydroxamique

1. 5. 1. Historique

C'est à la fin du XIX^{ième} siècle que H. et W. Lossen décrivent l'isolation des premiers acides hydroxamiques.⁴² Les problèmes de polymorphisme, de tautomérie et de stéréoisomérisation ont rendu difficiles l'élucidation de la structure de ces composés ainsi que l'interprétation de leur réactivité. Ce n'est qu'en 1943 que Yale a clarifié la nomenclature⁴³ et a rendu officielle la distinction entre acide hydroxamique **1.12** et sa forme tautomérique nommée acide hydroximique **1.13** (Figure 1.10).

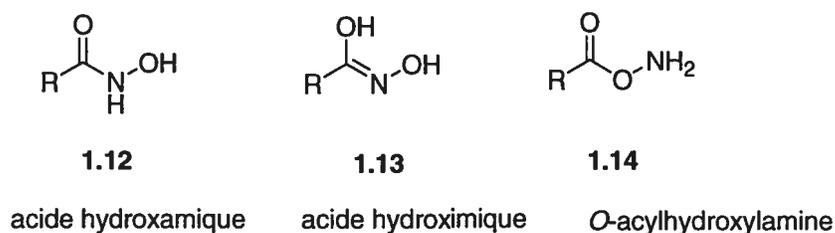


Figure 1.10 Nomenclature autour des hydroxamates

L'acylation d'hydroxylamines forme souvent le produit **1.14** résultant d'un contrôle cinétique. Ce dernier se réarrange rapidement pour former le produit le plus stable thermodynamiquement, l'acide hydroxamique **1.12**.

Les progrès réalisés dans les techniques spectrales permettent de mieux comprendre la chimie associée à l'hydroxylamine. Ainsi la création, la préparation, l'utilisation et le potentiel des acides hydroxamiques sont largement exploités depuis plusieurs décennies.

1. 5. 2. Caractéristiques analytiques

Les acides hydroxamiques sont facilement caractérisables par chromatographie sur couche mince car ils réagissent avec FeCl_3 par chélation avec les ions Fe^{3+} pour donner un complexe rouge brique-violet.

Par spectroscopie infrarouge (IR), il est possible de distinguer les *O*-acylhydroxylamines (Figure 1.10, 1.14) des *N*-acylhydroxylamines. La longueur d'onde du carbonyle des premières est entre 1760 et 1730 cm^{-1} et entre 1670 et 1640 cm^{-1} pour les secondes.

Le pK_a global de ces composés est voisin de 8 soit de six unités plus acide que les amides correspondants.

1. 5. 3. Préparation

Plusieurs façons de former ces composés existent et elles seront abordées plus en détail au cours du chapitre 2. Toutefois, de nombreuses méthodes de préparation ont déjà fait l'objet d'études au sein du groupe.⁴⁴

La synthèse sur surface solide est également devenue un outil important et de nombreux articles décrivent les techniques utilisées.⁴⁵ Le schéma 1.1 illustre la synthèse sur résine de l'inhibiteur des MPM, *CGS 27023A*, vu au point 1. 4. 5. Ngu et Patel ont développé une résine de type hydroxylamine sur laquelle l'azote est lié et l'alcool est protégé.

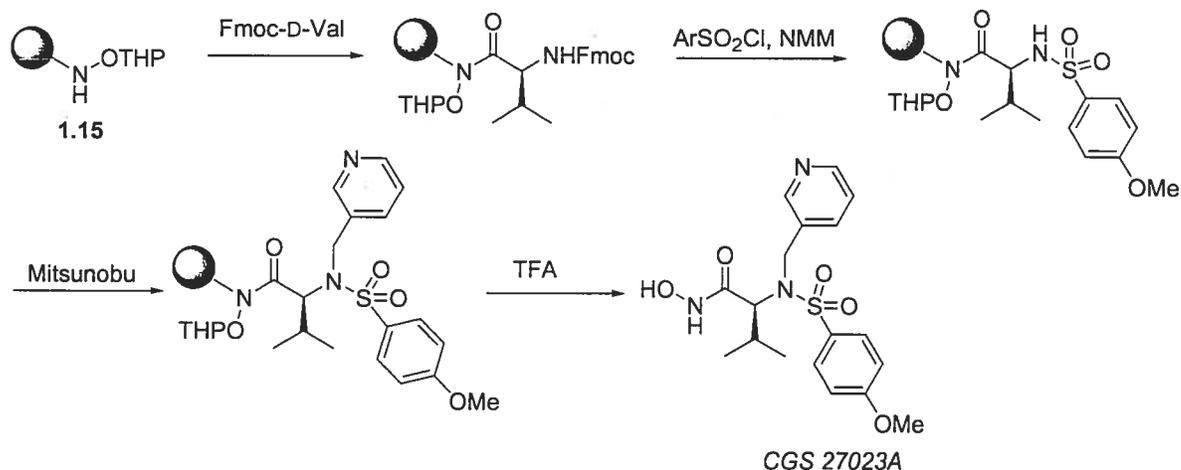


Schéma 1.1 Synthèse de CGS 27023A à partir d'une résine de type hydroxylamine N-liée

Dans ce cas, le groupe 1.15 sert à la fois de point d'ancrage de la molécule sur le support solide et comme groupement protecteur de l'azote de la fonction hydroxamate.

1. 5. 4. Réactivité

L'hydrolyse des acides hydroxamiques peut être catalysée par une base ou par un acide et mène à l'acide carboxylique correspondant et à l'hydroxylamine. En général, l'hydrolyse est plus rapide que celle de l'amide correspondant et le mécanisme suggéré par les études cinétiques est analogue à celui proposé pour l'hydrolyse des amides.

L'effet α dirige la réactivité des acides hydroxamiques face à l'alkylation. Cet effet caractérise un effet structurel important qui communique une nucléophilicité accrue.ⁱ Ainsi des atomes directement liés à un atome porteur d'une ou plusieurs paires d'électrons libres tendent à être des nucléophile plus forts que ce à quoi on pourrait s'attendre.

ⁱ (a) Carey, F. A. ; Sundberg, R. J. Chimie Organique Avancée. 1996, 3^{ième} Ed., Tome 2, De Boeck Université, Paris, Bruxelles, 288-289.

(b) Fleming, I. Frontiers Orbitals and Organic Chemical Reactions. 1996, John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 77-78.

C'est ainsi que lorsqu'on examine le comportement des acides hydroxamiques face à un agent alkylant, on s'aperçoit que trois sites possibles d'alkylation existent : l'azote, l'oxygène du carbonyle et celui de l'hydroxyle. L'identification de leurs sites de déprotonation n'a pas encore été clairement résolue car le ratio des produits d'alkylation observés dépend de la nature du solvant, de la nature du contre-ion et de l'électrophilicité de l'agent alkylant. Toutefois il est possible d'affirmer que comme l'oxygène en α de l'azote est le site le plus nucléophile et stériquement le moins encombré, alors le produit de *O*-alkylation est majoritaire.⁴⁷

L'acylation se fait avec des halogénures d'acides ou des anhydrides.⁴⁸ Pour les halogénures les plus réactifs, la réaction conduit au réarrangement de Lossen de manière spontanée (Schéma 1.2).

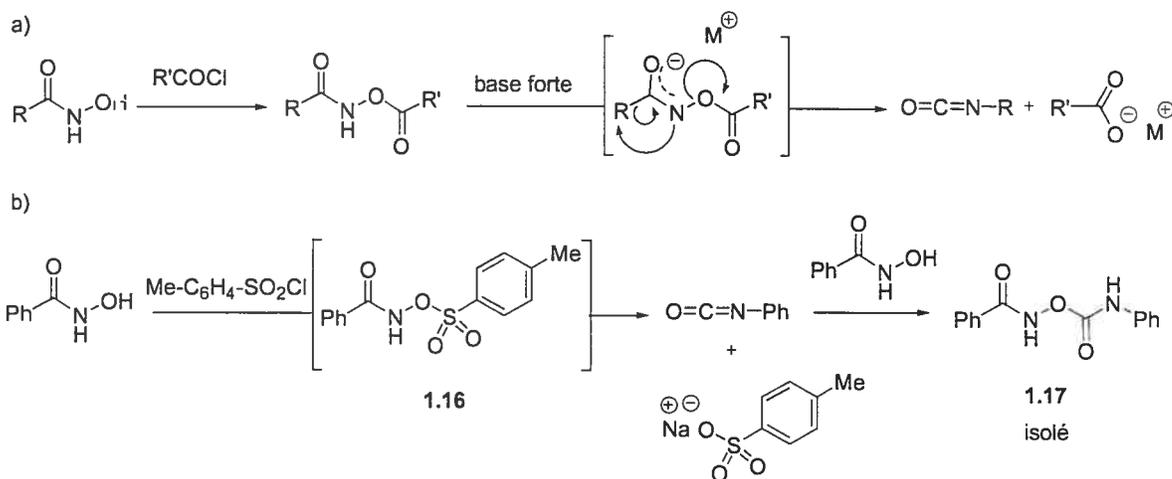


Schéma 1.2 a) Réarrangement de Lossen habituel b) Réarrangement de Lossen spontané dans le cas d'intermédiaire plus réactif

La réaction de l'acide benzohydroxamique avec le chlorure de benzènesulfonate n'a pas conduit au produit acylé 1.16 attendu mais à l'isolation de 1.17. Le produit obtenu résulterait d'un réarrangement de Lossen spontané de l'intermédiaire 1.16, bien plus acide que l'acide benzohydroxamique de départ.⁴⁹

1. 5. 6. Composés naturels

De nombreuses molécules naturelles biologiquement actives incorporent cette fonction. Citons les plus connues, les antibiotiques comme la cyclosérine⁶² et l'acide aspergillique⁶³ dont les structures sont représentées à la figure suivante.

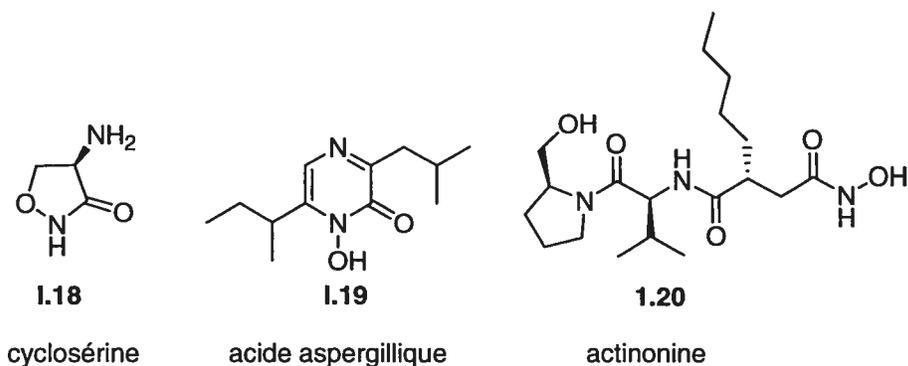


Figure 1.11 Quelques composés naturels présentant un acide hydroxamique

Pour notre domaine d'étude, l'actinonine⁶⁴ (**1.20**) isolée d'une souche d'*Actinomyces* fut le premier inhibiteur de métalloprotéinases.⁶⁵

Chapitre 2

Variations des sites P1 et P1' d'un inhibiteur de MPM

2. 1. Modélisation moléculaire et conception

Parmi les études faites dans le groupe concernant la conception et la synthèse d'inhibiteurs de MPM,⁶⁶ l'acide hydroxamique *N*-substitué **2.1** possède une activité enzymatique potentielle contre plusieurs MPM (Figure 2.1). Ce résultat encourageant est le point de départ d'une étude Relation-Structure-Activité (SAR) dans laquelle différentes fonctions chimiques aux sites P1 et P1' de l'inhibiteur sont variées, afin d'évaluer leurs interactions avec les poches S1 et S1' de la stromélysine et des autres MPM. Le but de ce travail est de voir si une modification chimique sur l'inhibiteur se répercute au niveau de l'activité enzymatique en général et surtout si une sélectivité peut être atteinte pour une MPM donnée. La variation du site P2' a également été étudiée et les premiers résultats obtenus semblent montrer que la poche S2' accommode un groupe isobutyle.^{66a} Lors de notre étude, les variations en P1 et P1' se font indépendamment les unes des autres en gardant P2' constant et égal à cet isobutyle.

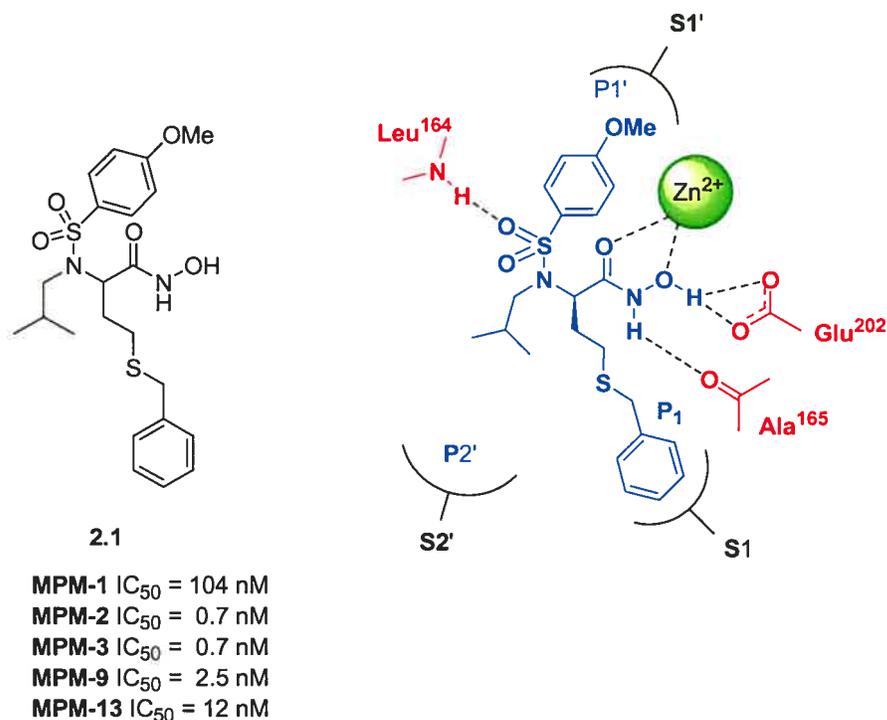


Figure 2.1 Activité du composé **2.1** et modèle proposé du composé dans le site actif de la MPM-3 d'après des études de docking

Avant de commencer une étude SAR, il paraissait judicieux de valider les interactions importantes entre notre composé et la stromélysine 1 (MPM-3), et ceci d'après des informations tirées de la littérature.⁵ Grâce au programme GRID,⁶⁷ il a été possible de localiser la poche hydrophobe S1 (Figure 2.1). Ce résultat combiné avec ceux rapportés pour des complexes MPM/inhibiteurs de type sulfonamide⁶⁸ a permis d'émettre une hypothèse quant au mode de liaison.

Le docking représente la simulation de la conformation bioactive d'une molécule au sein du site actif d'une enzyme, par une méthode automatique de calculs basée sur la dynamique moléculaire.

Le docking du composé **2.1** dans le site de liaison de la MPM-3 résulte en un modèle schématique représenté à la figure 2.1 : la poche S1 est occupée par le groupe thiobenzyle. Afin de valider le modèle proposé, un docking avec AutoDock,⁶⁹ un autre programme déjà utilisé pour des systèmes MPM et qui s'est avéré fiable, a été utilisé. La

meilleure activité enzymatique observée pour notre composé **2.1**, comparativement au composé *CGS 27023A*⁷⁰, serait probablement due à une meilleure interaction P1/S1. Cette découverte nous a incités à rechercher d'autres substituants autour de cette région hydrophobe. De plus, la *p*-méthoxysulfone qui occupe la région P1' sera, elle aussi, remplacée par d'autres sulfones afin de mieux cerner son rôle.

2. 2. Synthèse

2. 2. 1. Modification des substituants au niveau de P1

Pour des raisons pratiques, nous avons choisi de mener les études de SAR sur un produit racémique.

Nous avons suivi le même schéma synthétique que celui utilisé pour l'analogue **2.1**^{66a} et qui a l'avantage d'utiliser un précurseur commun pouvant conduire à trois groupes de composés selon la partie que l'on fait varier (Schéma 2.1).

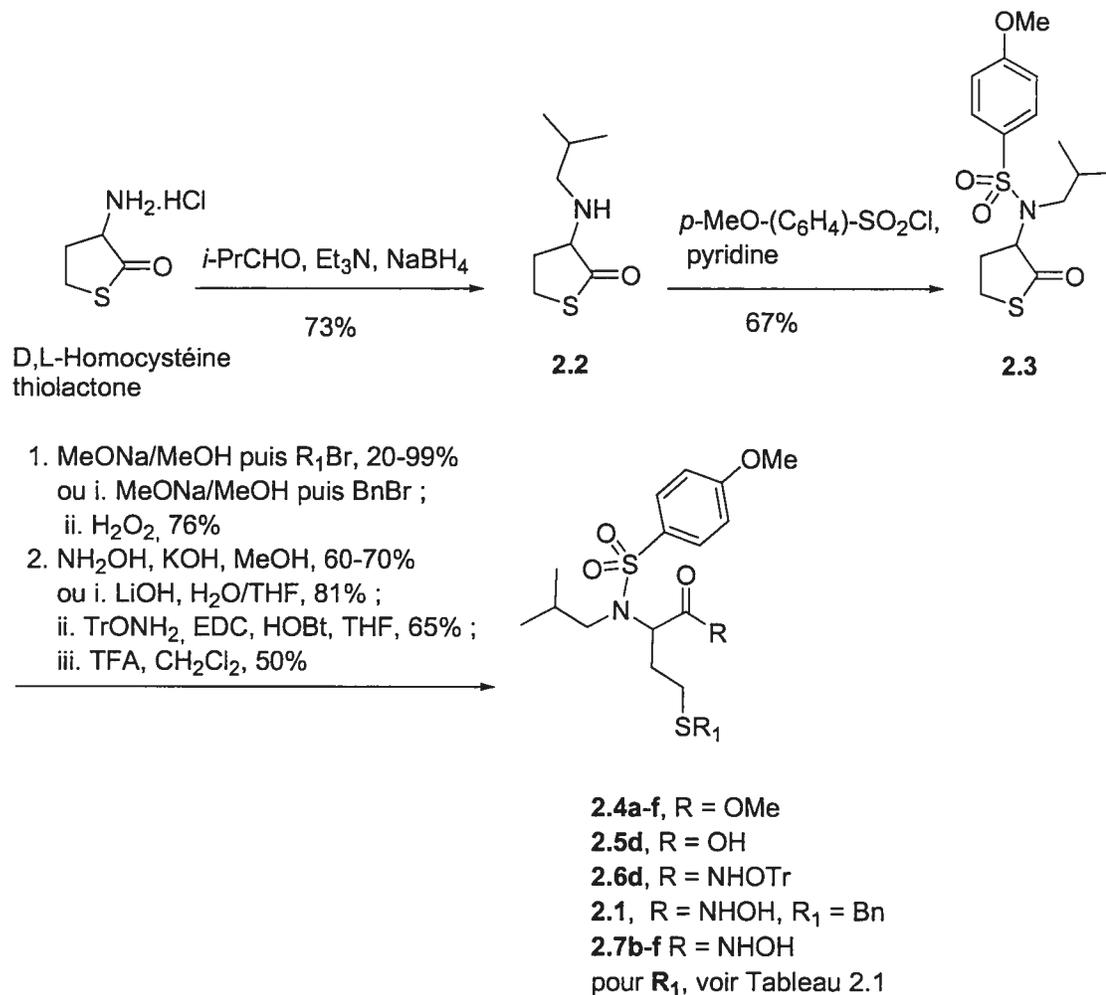
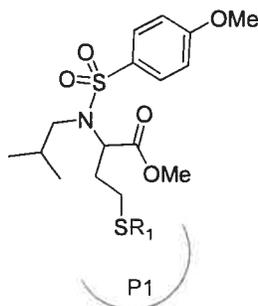


Schéma 2.1 Voie générale de synthèse des composés avec différents substituants en P1

La D,L-homocystéine thiolactone est d'abord monoalkylée selon une amination réductrice. Cette réaction s'est avérée capricieuse à mettre en œuvre. Il est nécessaire de distiller l'isobutyraldéhyde pour que l'amination se fasse avec un bon rendement. L'amine **2.2** est ensuite transformée en sulfonamide. La thiolactone **2.3** (Schéma 2.1) est ensuite ouverte dans des conditions basiques avec le méthanolate de sodium. Le thiolate résultant est immédiatement piégé par différents électrophiles. La variété des électrophiles utilisés permet de préparer une série d'esters *S*-alkylés **2.4a-f** détaillés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 Variations des substituants en P1



Composé	R ₁	Rdt (%)	Composé	R ₁	Rdt (%)
2.4a		75	2.4e		quantitatif
2.4c		60	2.4f		53
2.4d		20	*		45

* analogue non rapporté dans la partie expérimentale

L'étape suivante consiste à déplacer le groupe ester pour conduire à l'acide hydroxamique correspondant. Plusieurs méthodes ont été essayées (Schéma 2.2) et l'application de chacune dépend du substrat utilisé.

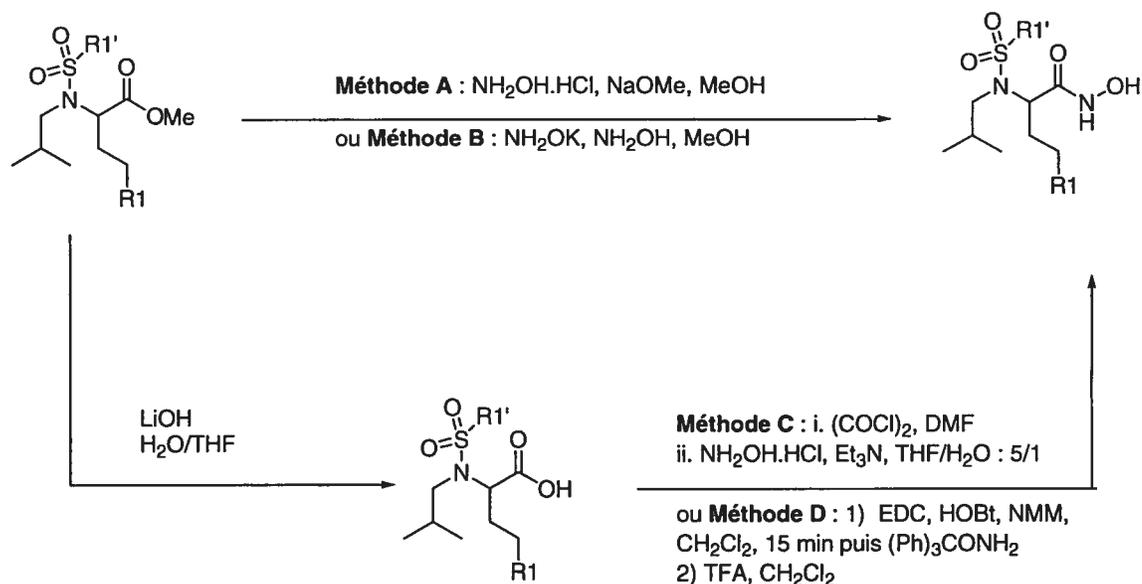
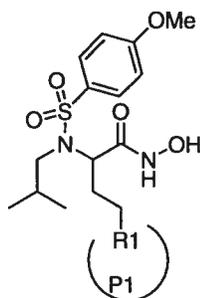


Schéma 2.2 Différentes méthodes utilisées pour former l'acide hydroxamique

Dans la publication originale,^{66a} l'ester **2.4a** (Schéma 2.1) est directement mis à réagir avec le sel de l'hydroxylamine en présence de méthanolate de sodium.⁷¹ Cette réaction n'a pas donné satisfaction sur les différents substrats essayés (Tableau 2.2). Une autre méthode s'est avérée plus efficace et a fonctionné pour de multiples substrats. Il s'agit de traiter l'ester de méthyle avec un mélange d'hydroxylamine et de potasse afin d'obtenir directement l'acide hydroxamique correspondant.⁷² Un produit secondaire est observé, il s'agit probablement du produit résultant d'une attaque de l'oxygène mais il n'a jamais été caractérisé.

Tableau 2.2 Accès aux acides hydroxamiques avec différents substituants en P1



Composé	R1	Méthode de formation de l'acide hydroxamique	Rdt	Composé	R1	Méthode de formation de l'acide hydroxamique	Rdt
2.1		A	50	2.7 d		D	27*
2.7 b		B	60	2.7 e		B	60
2.7 c		B	65	2.7 f		B	65

* Rdt après 2 étapes, depuis l'ester

Pour l'un des substrats (Tableau 2.2, 2.7d) il a fallu synthétiser l'hydroxamate *O*-tritylé par couplage du substrat sous forme d'acide carboxylique avec l'hydroxylamine *O*-tritylée, en présence des agents de couplages EDC, HOBT (Schéma 2.2).^{66b} L'hydrolyse du trityle par TFA a permis d'obtenir l'acide hydroxamique correspondant avec un rendement satisfaisant.

Par cette approche, une série d'acides hydroxamiques de type homocystéine *N*-arylsulfonylés *S*-alkylé a été préparée, dans laquelle le site P1 a pu être modifié par une variété de substituants *S*-benzylés.

2. 2. 2. Modification des substituants au niveau de P1'

Une autre série de composés de type sulfonamide a été préparée dans le but de faire varier le site P1'. La même voie de synthèse a été utilisée pour tous les analogues indépendamment des groupes en P1 ou en P1'.

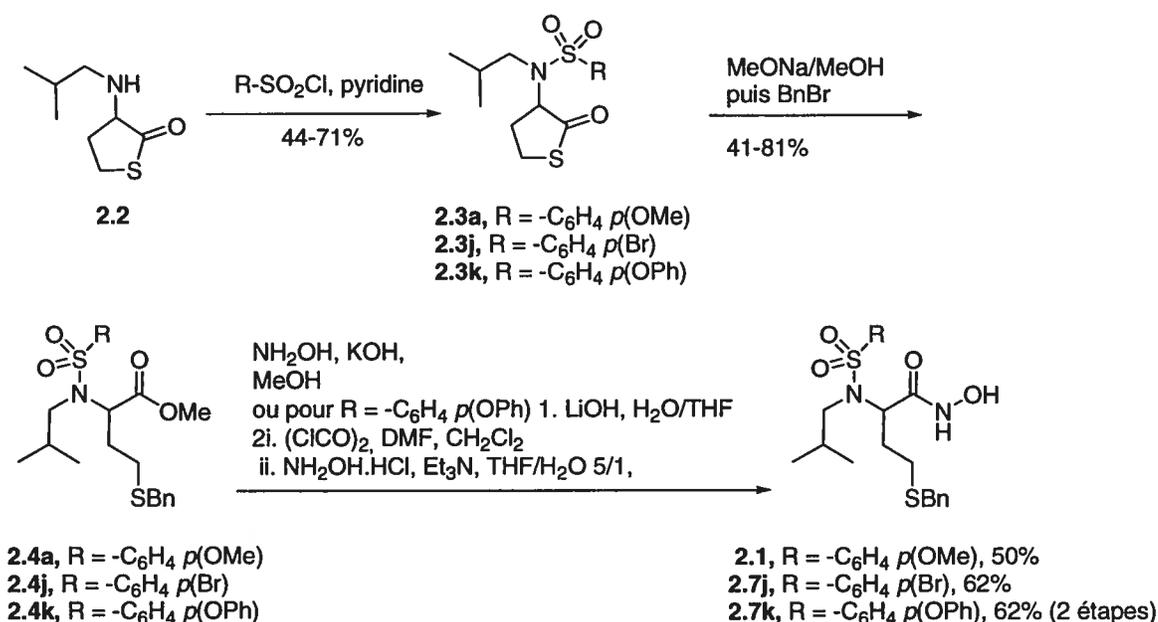
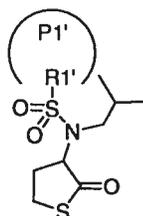


Schéma 2.3 Voie générale de synthèse des composés avec différents substituants en P1'

Différents sulfonamides ont été synthétisés avec des rendements dans l'ensemble satisfaisants (Tableau 2.3). Les chlorures de sulfonamides utilisés sont disponibles commercialement ou préparés selon des méthodes rapportées dans la littérature (voir Chapitre 8 pour les détails).

Tableau 2.3 Variations des substituants en P1'

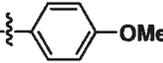
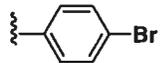
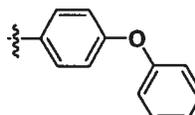


Composé	R1'	Rdt (%)	Composé	R1'	Rdt (%)
2.3 a		80	2.3 j		71
*		70	2.3 k		45
*		50	*		20

* Analogues non rapportés dans la partie expérimentale

L'ouverture de la thiolactone par le méthanolate de sodium et le piégeage du thiolate *in situ* par le bromure de benzyle permettent d'obtenir les esters méthyliques **2.4a**, **2.4j** et **2.4k** (schéma 2.3) avec des rendements acceptables. Ces derniers peuvent être convertis directement en acides hydroxamiques **2.1** et **2.7j** (Tableau 2.4) par les méthodes décrites au schéma 2.2.

Tableau 2.4 Accès aux acides hydroxamiques avec différents substituants en P1'

Composé	R1'	Méthode de formation de l'acide hydroxamique	Rdt
2.1		A	50
2.7 j		B	62
2.7 k		C	62*

* Rdt après 2 étapes depuis l'ester

L'analogue **2.7k** a été formé à partir de l'acide carboxylique correspondant. Ce dernier est activé sous forme de chlorure de *N,N*-diméthylchlorométhaniminium avec du DMF et du chlorure d'oxalyle puis couplé directement avec l'hydroxylamine (Schéma 2.2 et tableau 2.4).⁷³

2. 3. Tests biologiques

Tous les composés furent testés *in vitro* sous forme de mélange racémique chez Servier (France) pour l'inhibition de la stromélysine 1 (MPM-3), gélatinase-A (MMP-2), gélatinase-B (MPM-9), collagénase 1 (MPM-1) et collagénase 3 (MPM-13). Les résultats sont résumés dans le tableau 2.5 pour les variations au niveau de la poche P1 et dans le tableau 2.6 pour les variations au niveau de la poche P1'.

La valeur de IC₅₀ est définie comme étant la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer de 50% la vitesse initiale d'une réaction enzymatique sans inhibiteur. Ces valeurs ne donnent aucune information sur le type d'inhibition et ne peuvent en aucun cas être corrélées à un mécanisme particulier.⁷⁴ Les valeurs ne peuvent être comparées entre

elles que si les tests biologiques ont été réalisés dans les mêmes conditions sur chacun des inhibiteurs testés.

Tableau 2.5 Variations en P1 et résultat des tests biologiques

Composé	R1	IC ₅₀ (nM)				
		MPM-1	MPM-2	MPM-3	MPM-9	MPM-13
2.1		104	0.7	0.7	< 0.1	12
2.7 b		396	4.22	10.3	0.9	11.8
2.7 c		297	3.78	5.7	3.2	5.3
2.7 d		126	6.3	6.2	3.0	16.2
2.7 e		188	3.2	5.4	1.0	5.1
2.7 f		19610	1810	705	149	407

Comme précédemment signalé dans le premier paragraphe de ce chapitre, la région hydrophobe de la poche S1 est éloignée de quelques angströms et a besoin de groupes exposés au solvant jouant le rôle d'espaceur sur l'inhibiteur.

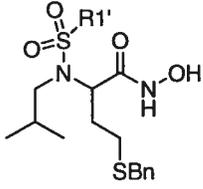
Les résultats d'inhibition sont à comparer avec ceux de l'analogie 2.1, inhibiteur à partir duquel se base notre étude de SAR. Les MPM-2, -3, -9 et -13 évoluent de la même

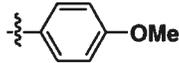
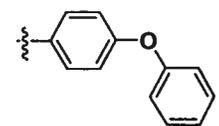
façon dans la plupart des cas avec des IC_{50} de l'ordre du nanomolaire, sauf pour l'analogue **2.7f** (Tableau 2.5). La MPM-1 est la plus difficile à inhiber avec en général une baisse d'activité des analogues d'un facteur cent.

Le modèle proposé par AutoDock pour la MPM-3 indique que la poche S1 se présente sous forme d'une demi-sphère occupée par le groupe *S*-benzyle. Le rallongement de la chaîne comme pour le composé **2.7c** se traduit par une perte d'activité (Tableau 2.5). La nature de ce site exposé au solvant a ensuite été étudiée en remplaçant le groupe *S*-benzylé par des groupements capables d'interagir avec un environnement polaire. Les composés avec un groupement sulfone (**2.7b**), pyridyle (**2.7d**) et thiophène (**2.7e**) sont moins actifs, alors que le dérivé pentafluoré (**2.7f**) est dénué de toute activité.

Le tableau 2.6 indique les résultats d'inhibition pour la seconde série dans laquelle différents groupes aryles furent choisis pour leurs formes et leurs propriétés électroniques.

Tableau 2.6 Variations en $R1'$ et résultat des tests biologiques



Composé	$R1'$	IC_{50} (nM)				
		MPM-1	MPM-2	MPM-3	MPM-9	MPM-13
2.1		104	0.7	0.7	< 0.1	12
2.7 j		164	16	151	4.3	14
2.7 k		1450	1.6	4.2	0.5	3.2

Comme pour la première série, la MPM-1 est la plus difficile à inhiber alors que les autres évoluent parallèlement. L'analogue 4-phénoxyphényle (**2.7k**) est plus actif que

l'analogue 4-diphényle^{66a} étudié antérieurement. Ceci pourrait s'expliquer par une flexibilité du sulfonamide de l'analogue **2.7k** plus grande que pour le composé 4-diphényle. Ceci corrobore les résultats précédents qui ont montré que des groupes flexibles se logeaient mieux dans la poche S1'.⁷⁵ De plus, des analogues à courte chaîne comme dans **2.1** et **2.7j** inhibent les MPM de manière assez large (Tableau 2.6) alors que lorsque la longueur de la chaîne est plus longue comme pour **2.7k**, la sélectivité entre les différentes MPM augmente (MPM-1 *versus* MPM-2, -3, -9, -13).

2. 4. Conclusion

Une série de composés acycliques de type homocystéine hydroxamate *N*-arylsulfonylé a été synthétisée afin d'étudier les exigences spatiales et électroniques des différents sous-sites. Plusieurs composés ont des IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire voire subnanomolaire et font actuellement l'objet d'autres évaluations : en particulier, leur biodisponibilité est testée. Les variations des sites P1 et P1' ont conduit dans chaque cas à une inhibition plus efficace de MPM-9 que pour les autres MPM testées.

Ces résultats ont fait l'objet d'une publication scientifique⁷⁶ et d'un brevet avec la compagnie pharmaceutique Servier (France).⁷⁷

Comme ces composés sont testés sous forme d'un mélange racémique, il serait intéressant de tester chacun des énantiomères de l'un d'entre eux, par exemple ceux de **2.1**. Une synthèse énantiomériquement pure est actuellement en cours pour accéder au composé **2.1** de stéréochimie *R*. La voie de synthèse est différente de celle empruntée pour les composés racémiques et débute par la D-homocystine.

Chapitre 3

Vers un inhibiteur de seconde génération

3. 1. Conception d'un inhibiteur de seconde génération

3. 1. 1. Conception d'un inhibiteur basée sur des résultats de modélisation

Parallèlement à notre recherche sur des inhibiteurs de MPM acycliques, une étude portait sur des analogues cycliques.⁷⁸

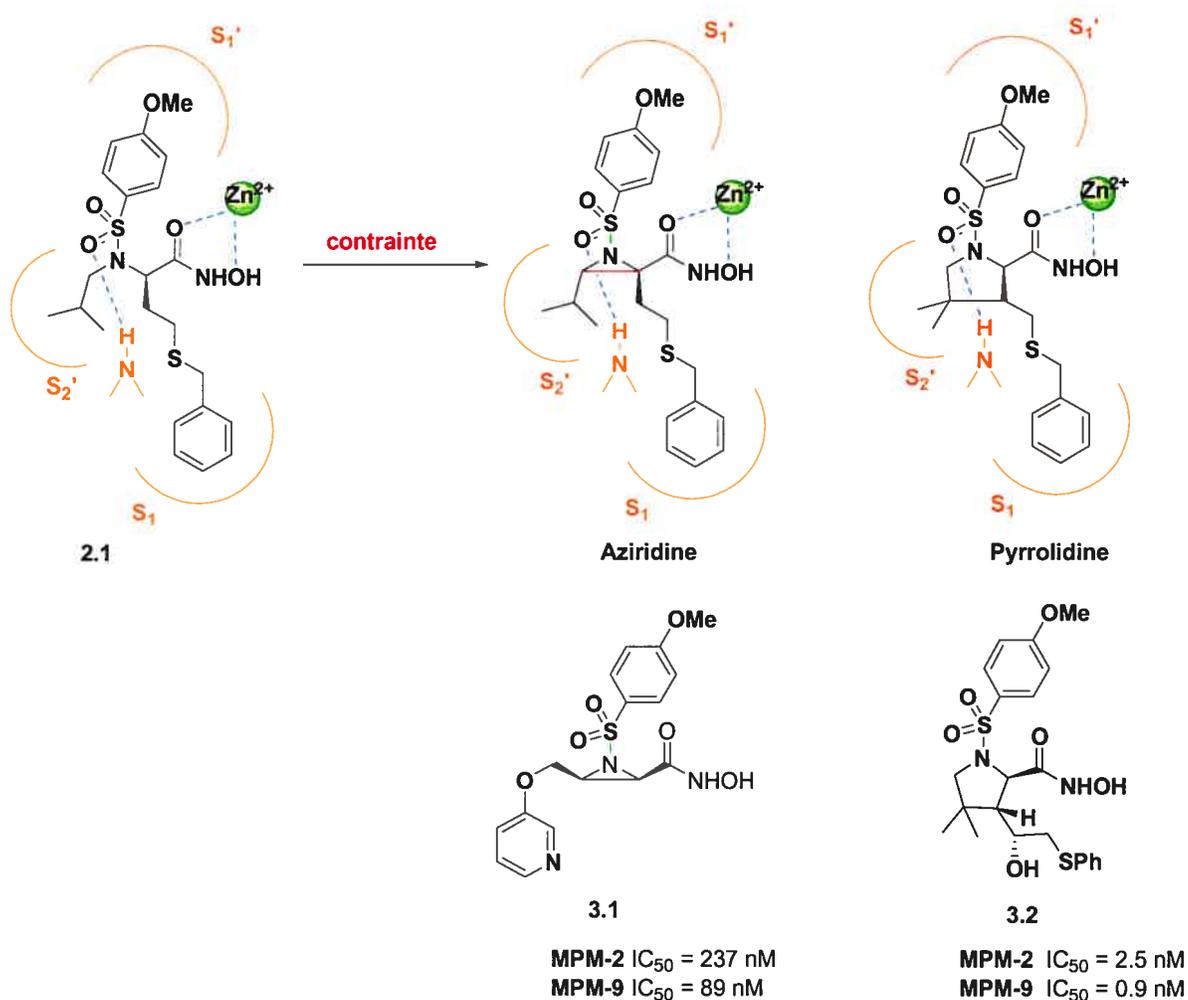


Figure 3.1 Conception d'inhibiteur contraint à partir d'un "lead" acyclique

Parmi tous les composés synthétisés et testés dans le cadre de cette étude,⁷⁶ l'un en particulier (**3.2**) montrait une activité enzymatique intéressante. Une étude par modélisation moléculaire dans le site actif de la MPM-3 semble montrer une liaison hydrogène entre l'hydroxyle et l'oxygène du carbonyle de Ala-165 de la chaîne. Par analogie, notre composé acyclique **2.1** a fait l'objet de la même modélisation. Il apparaît qu'en ajoutant un hydroxyle sur la chaîne phénylthioéthyle, une liaison hydrogène supplémentaire entre l'inhibiteur et le carbonyle du résidu Ala-165 de l'enzyme serait créée. Il est alors envisageable de concevoir notre composé avec une fonction hydroxyle sur la chaîne éthylthioéthylrique, en espérant que cette fonction supplémentaire accroît l'activité enzymatique de la même manière que pour les analogues cycliques.

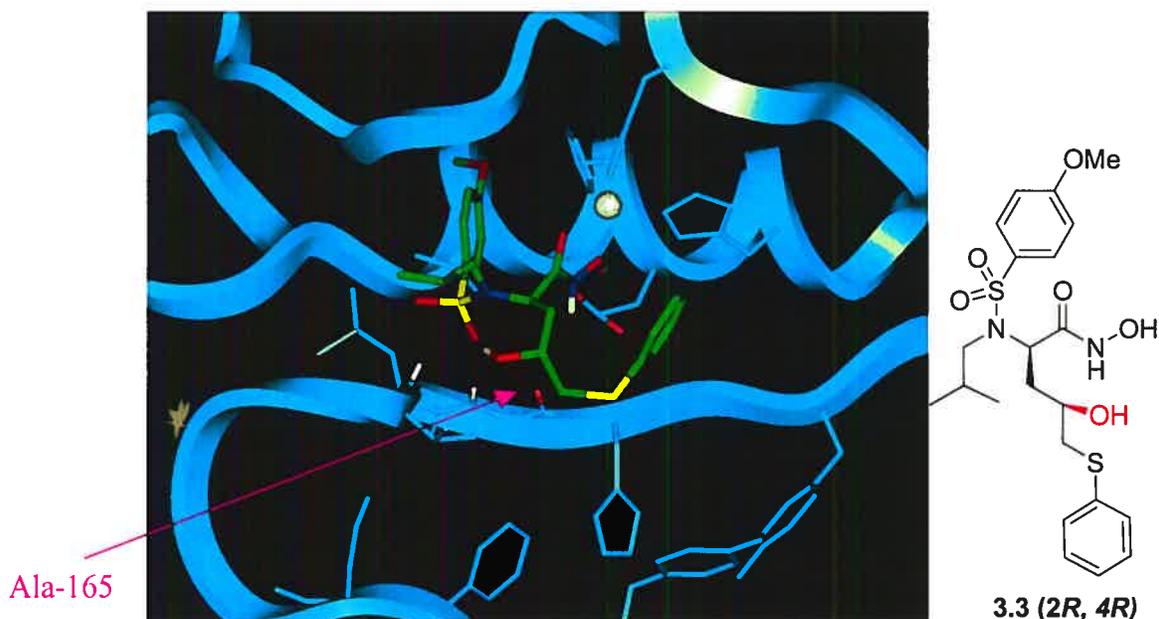


Figure 3.2 Modélisation du composé **3.3 (2R,4R)** dérivé de **2.1** et présentant un hydroxyle pouvant interagir avec le carbonyle de Ala-165 environnant

3. 1. 2. Choix de la méthode pour la synthèse asymétrique d'acides aminés

De nombreuses revues sur la synthèse asymétrique d'acides aminés ont été publiées depuis les dix dernières années,⁷⁹ cinq méthodes générales en ressortent :

- la voie enzymatique,⁸⁰
- l'hydrogénation ou cycloaddition de dérivés d'acides aminés didéhydroaminés,
- les synthèses de type Strecker,
- les aminations électrophiles ou nucléophiles,
- les alkylations électrophiles ou nucléophiles.

De toutes les méthodes, la plus exploitée est probablement l'alkylation d'énolates de dérivés de glycine ou d'alanine. Depuis les vingt dernières années, différents réactifs de structure cyclique ou acyclique ont été développés. Parmi les dérivés cycliques les plus efficaces et les plus exploités, citons les bis(lactames) éthers (3.4) de Schöllkopf,⁸¹ les oxazolidinones (3.5) de Evans⁸² et imidazolidinones (3.6) de Seebach⁸³ et les morpholinones (3.7) de Williams.⁸⁴ Pour les systèmes acycliques, signalons les complexes de nickel (3.8) de Belokon,⁸⁵ les dérivés sultame (3.9) d'Oppolzer⁸⁶ et les pseudoéphédrines glycinamides (3.10) de Meyers⁸⁷ (Figure 3.3).

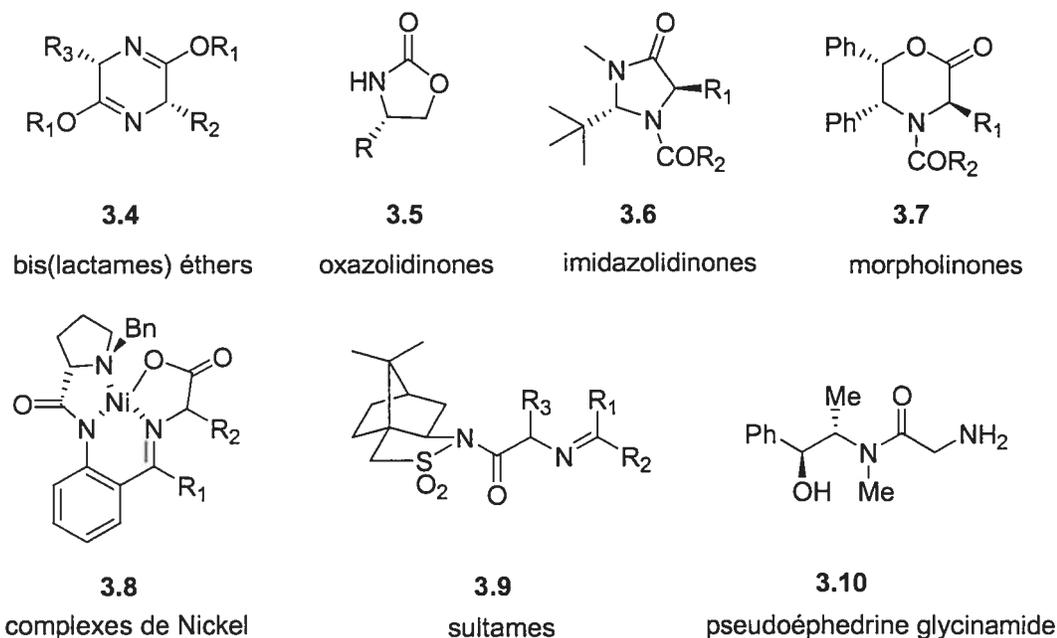


Figure 3.3 Auxiliaires chiraux les plus utilisés

Notre choix s'est porté sur un dérivé de la glycine rendu chiral par la présence de l'auxiliaire d'Oppolzer. L'utilisation d'une imine sert à la fois de groupement protecteur et également de groupe activateur de l'amine. Ce type de composé peut être alkylé dans des conditions assez douces, par catalyse de transfert de phase. De plus, ces composés sont ensuite facilement hydrolysés.

3. 2. Synthèse

3. 2. 1. Approche rétrosynthétique

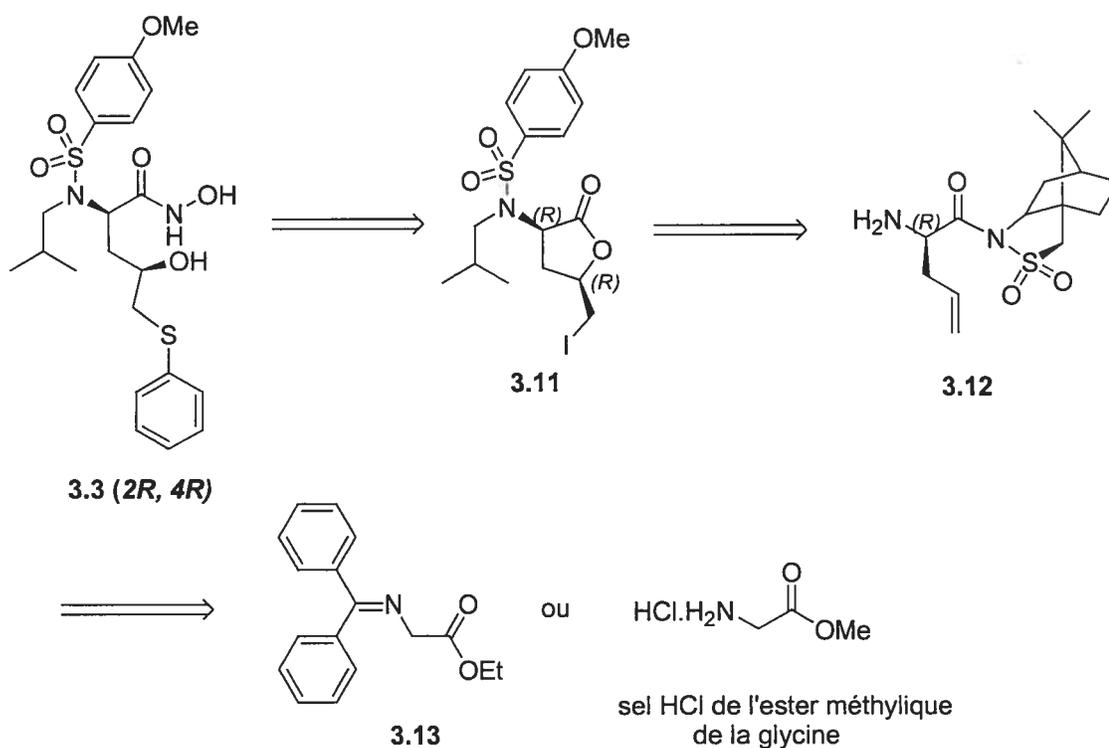


Schéma 3.1 Approche rétrosynthétique

Le composé désiré peut provenir de l'ouverture par l'hydroxylamine d'une lactone portant un groupement thiophényle. Ce groupement proviendrait d'une substitution nucléophile d'un iodure (3.11) (Schéma 3.1). Ce dernier résulterait d'une iodolactonisation.

Le groupement allyle avec une stéréochimie fixée proviendrait de l'alkylation stéréocontrôlée par l'auxiliaire chiral sur la dibenzophénone imine (3.13).

3. 2. 2. Synthèse de l'auxiliaire chiral

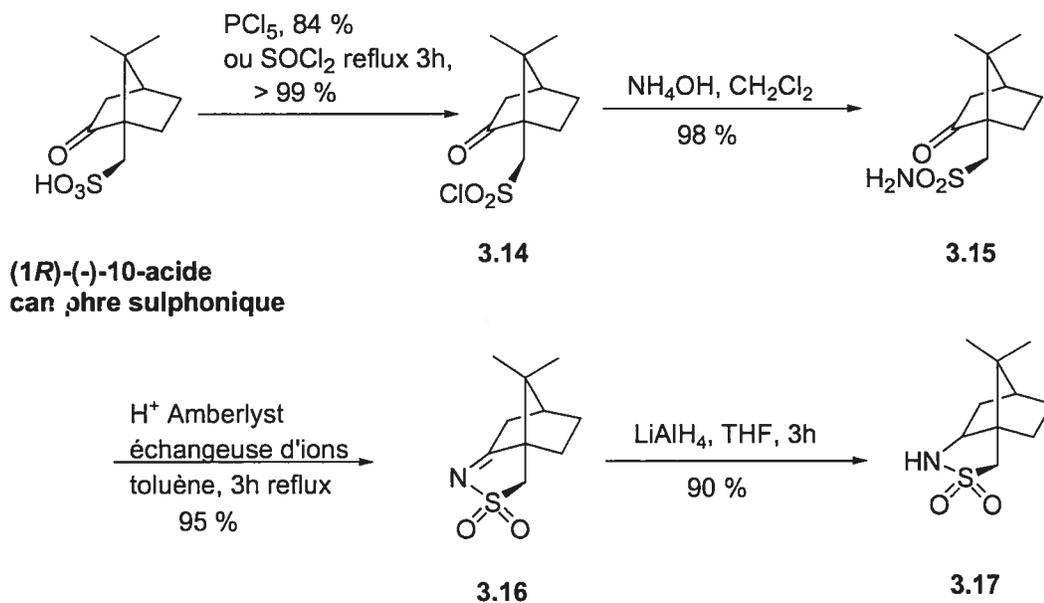


Schéma 3.2 Synthèse de l'auxiliaire chiral

L'auxiliaire chiral utilisé est celui développé par Oppolzer.⁸⁸ Même s'il est disponible commercialement, il a fallu le synthétiser afin de disposer de plusieurs dizaines de grammes à portée de main et à un coût réduit. La synthèse⁸⁹ a été effectuée sur 20 grammes d'acide (*R*)-sulphonique.

L'acide (*1R*)-(-)-10 sulphonique disponible commercialement est transformé en chlorure de sulfonyle (3.14) soit par traitement avec PCl_5 (cette réaction très exothermique est très violente sur grosse échelle), soit avec le chlorure de thionyle à reflux (Schéma 3.2). Le produit est immédiatement mis à réagir avec l'ammoniaque pour former le sulfonamide (3.15). L'amine primaire réagit en milieu acide dans le toluène à reflux avec le carbonyle pour donner l'imine cyclisée (3.16). Cette dernière est ensuite réduite pour donner l'acide (*1R*)-2, 10-camphorsultame (3.17) avec un rendement global de 85 % pour quatre étapes.

3. 2. 3. Synthèse de l'inhibiteur

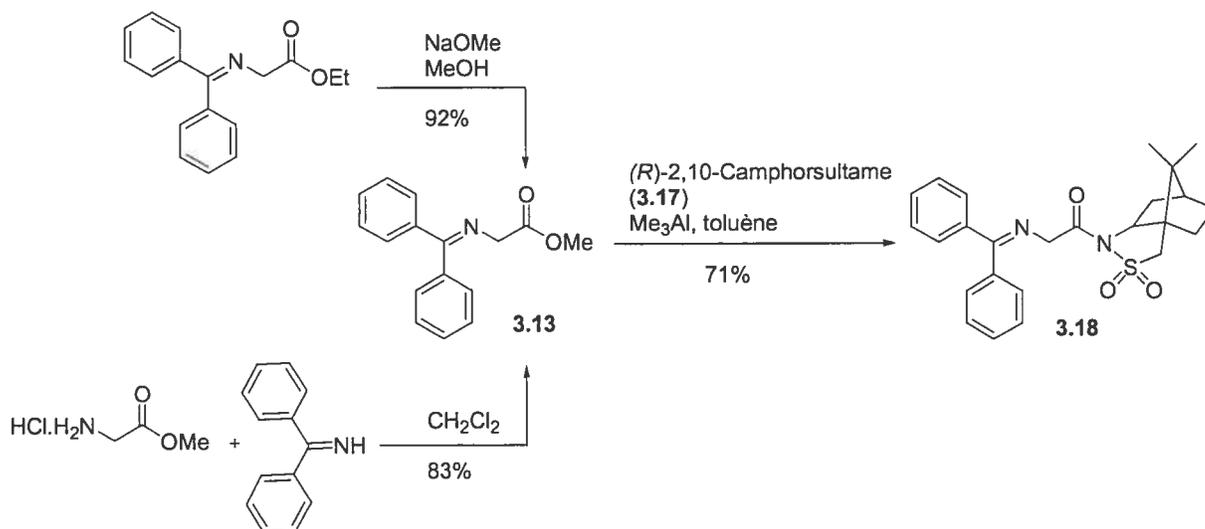


Schéma 3.3 Accès possibles à l'imine chirale 3.18 dérivée de la glycine

La synthèse commence avec l'ester éthylique de la benzophénone imine commerciale qui est convertie en l'ester méthylique (**3.13**) par une réaction de *trans* estérification avec le méthanolate de sodium (Schéma 3.3). Il a été rapporté que la condensation de l'auxiliaire chiral avec un ester méthylique était plus efficace.^{86a} Cette observation a été vérifiée et effectivement, la condensation fonctionne à 40% avec un ester éthylique et à 70% avec un ester méthylique. Il est aussi possible de former la dibenzoyl nène imine **3.13** directement par transimination de la benzophénone avec le sel HCl de l'ester méthylique de la glycine.⁹⁰

La condensation de l'auxiliaire chiral (**3.17**) avec l'imine (**3.13**) se fait en présence d'un acide de Lewis, le triméthylaluminium (Schéma 3.3). La réaction requiert deux jours de chauffage à 50°C dans le toluène pour obtenir un bon rendement.

Le schéma 3.4 suivant illustre l'étape d'allylation sélective.

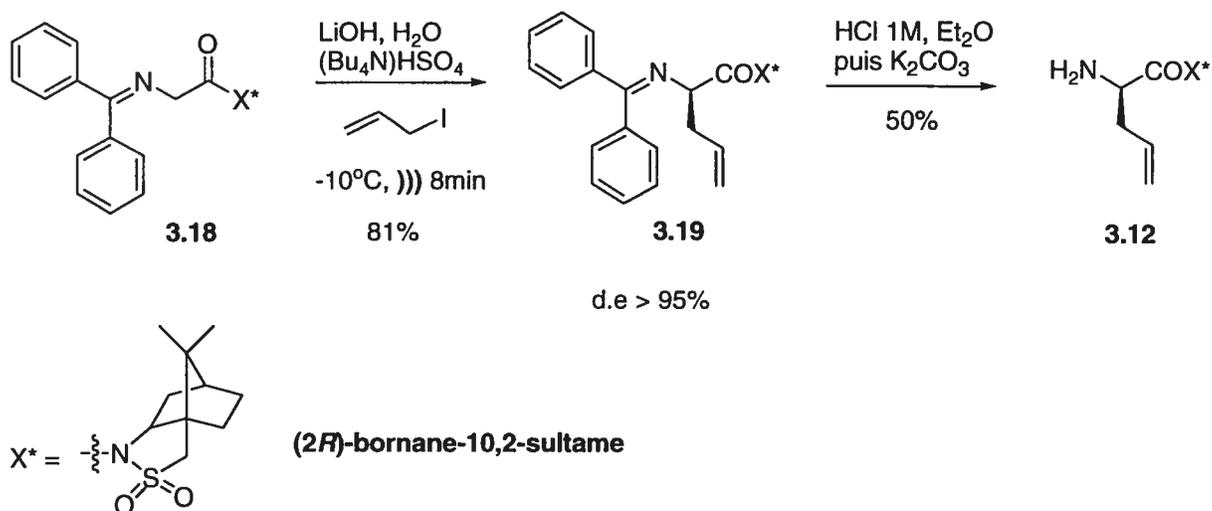


Schéma 3.4 Alkylation sélective de l'imine chirale

L'alkylation par l'iodure d'allyle peut se faire de plusieurs façons. La manière la plus courante⁹¹ est la déprotonation de la base de Schiff par une base très forte telle que BuLi^{87b} ou LiHMDS⁹² à -78°C dans des conditions strictement anhydres pour générer l'énolate et piéger ce dernier par un halogénure d'alkyle en présence ou non d'hexaméthylphosphoramide (HMPA) à température ambiante. La réaction peut alors prendre de plusieurs heures à plusieurs jours⁹³ selon la réactivité de l'électrophile. Cette méthode utilisant des conditions extrêmes de réaction n'est pas toujours compatible avec une synthèse sur grosse échelle et à moindre coût. Ainsi, de nouveaux réactifs et de nouvelles réactions permettent de rendre plus pratique la synthèse asymétrique d' α amino-acides.⁹¹

Une autre méthode a retenu notre attention.⁹⁴ Elle utilise un catalyseur de transfert de phase (TPC) solide-liquide en milieu aqueux. D'après les observations faites par les auteurs de la publication, l'alkylation prend de 24 à 48 h pour être complète et souffre d'une hydrolyse compétitive du groupe *N*-acyle. Leur problème a été résolu par l'emploi d'ultrasons, ce qui augmente considérablement la vitesse d'alkylation. La réaction se fait à -10°C et nécessite cinq minutes.

Nous avons appliqué cette méthode. L'alkylation se fait avec l'iodure d'allyle et son efficacité, sa rapidité (8 min) et sa haute reproductibilité en ont fait une réaction de choix (Schéma 3.4). Comme rapporté dans de nombreux articles d'Oppolzer, la réaction est extrêmement stéréosélective puisqu'un seul diastéréoisomère est visible par RMN.⁹⁵

L'imine alkylée (Schéma 3.4, 3.19) est ensuite hydrolysée en milieu acide dans des conditions assez douces.⁹⁵ C'est à partir de cette étape qu'un choix s'est imposé. Le plus souvent l'auxiliaire est hydrolysé une fois qu'il a joué son rôle, à savoir lorsqu'il a servi à diriger dans notre cas l'allylation. Si tel avait été le cas, il aurait fallu protéger l'acide carboxylique correspondant avant de travailler sur la fonction amine primaire et par conséquent, le déprotéger ensuite avant l'étape de iodolactonisation. Afin de limiter le nombre de réactions et également dans un souci d'esthétique, l'auxiliaire a été conservé comme groupement protecteur de l'acide carboxylique. Ainsi, l'amine primaire reste seule comme site réactionnel (Schéma 3.4, 3.12).

3. 2. 3. 1. Explication sur la discrimination faciale observée lors de l'allylation

L'explication donnée par Oppolzer⁹⁵ est que la glycylysultame est déprotonnée à l'interface des solvants et que l'énolate est alors transporté dans la phase organique comme une paire d'ions avec le cation Bu_4N^+ (provenant de l'agent de transfert de phase Bu_4NHSO_4). L'alkylation se fait alors dans la phase organique et constitue l'étape déterminant la vitesse. Des études⁹⁶ faites sur des solutions $(\text{Bu}_4\text{N})^+\text{BH}_4^-$ laissent penser que la paire d'ions est étroitement associée (Figure 3.4). Ainsi, à partir des études cristallographiques faites sur des molécules similaires, l'intermédiaire réactionnel suivant est envisageable. Les orbitales π oléfiniques et le doublet libre de l'azote sont placés en dehors du plan ce qui évite les répulsions entre l'oxygène de l'énolate rendu encombré par la présence du cation et l'auxiliaire chiral.

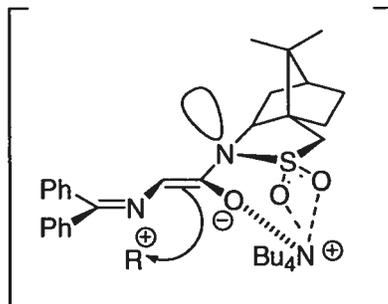


Figure 3.4 Intermédiaire réactionnel selon Oppolzer⁹⁵

L'énolate (*Z*) attaque l'agent d'alkylation du côté opposé à la paire électronique libre portée par l'atome d'azote. Ce qui explique la quasi-sélectivité de l'attaque sur la face *Ré*.

Un autre avantage de l'alkylation dans les conditions modérées de TPC est la formation sélective du produit monoalkylé (Schéma 3.4, **3.19**) sans production d'un dérivé non désirable de dialkylation.⁹⁷ Ceci provient du fait que le produit résultant de la monoalkylation est beaucoup moins acide que le produit de départ. Cette diminution de l'acidité est donc la clé pour contrôler l'alkylation de manière stéréosélective puisqu'il est possible de déprotonner la base de Schiff par une base assez douce telle que celle-ci ne puisse pas à nouveau déprotonner le produit de monoalkylation et donc épimériser le nouveau centre stéréogénique formé.⁹⁸

3. 2. 3. 2. Suite de la synthèse

Le schéma 3.5 suivant illustre l'alkylation de l'amine primaire pour incorporer l'isobutyle et la formation du sulfonamide, groupement essentiel à l'activité enzymatique (Chapitre 2).

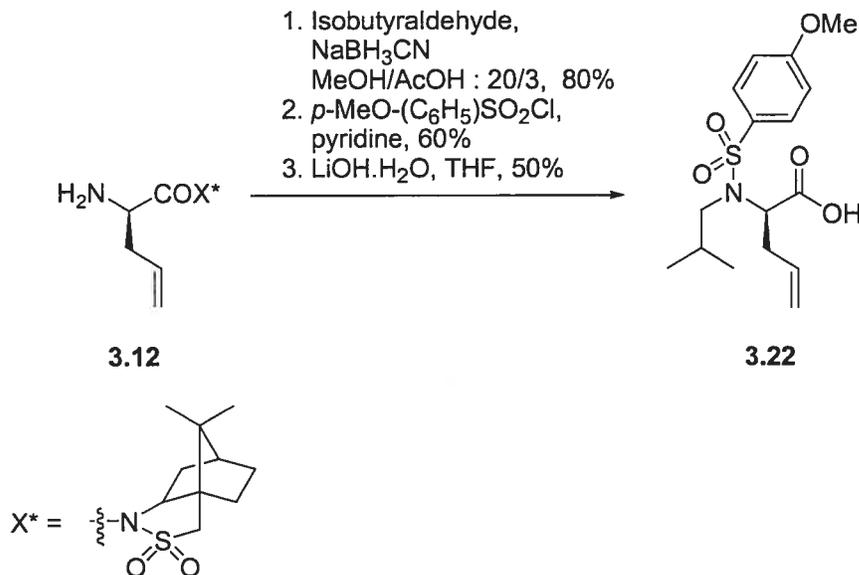


Schéma 3.5 Alkylation et formation du sulfonamide

L'amination réductrice et la formation du sulfonamide sont identiques à la première partie (Chapitre 2). La seule légère modification est que l'amination réductrice doit se faire à pH acide (pH 5). Il a donc fallu ajouter de l'acide acétique alors que dans la première partie, l'amine de départ étant sous forme de sel hydrochlorique, l'acide était généré *in situ*. L'hydrolyse de l'auxiliaire suit celle rapportée dans la littérature (Schéma 3.5).⁷² Il est à remarquer qu'il est très difficile de recycler entièrement l'auxiliaire chiral. Ceci provient en partie du fait que la séparation sur colonne de silice est difficile, le produit final et l'auxiliaire ont un temps de rétention quasi-identique. Cet inconvénient peut expliquer pourquoi les méthodes avec catalyseurs chiraux sont préférées. Ceci sera abordé par la suite.

3. 2. 3. 3. Iodolactonisation : littérature

L'étape suivante est l'iodolactonisation. Cette étape clé qui mène à la formation d'un centre chiral doit être examinée avec attention.

La conversion d'acides β,γ - ou γ,δ - insaturés en iodolactones fut développée et rapportée en premier par Bougault.⁹⁹ La procédure générale consistait à dissoudre les acides dans une solution aqueuse de bicarbonate de sodium, à ajouter une solution d'iode dans de l'iodure de potassium aqueux et ainsi, l'iodolactone formée se séparait du milieu réactionnel. La procédure standard est toujours celle rapportée par Bougault mais de nombreuses autres conditions ont été ajoutées depuis, utilisant des solvants organiques.¹⁰⁰

La iodolactonisation est une réaction régio- et stéréosélective. Dans le cas de l'iodolactonisation d'acides carboxyliques γ,δ -insaturés, les cycles à cinq se forment préférentiellement par rapport aux cycles à six, ceci en accord avec les règles de Baldwin¹⁰¹ : une cyclisation *5 exo tet* est plus favorable qu'une cyclisation *6 endo tet*. Selon les conditions expérimentales utilisées, le contrôle peut être cinétique et conduire à des lactones *cis*, ou thermodynamique et conduire à des lactones *trans*. Les conditions de contrôle cinétique impliquent de l'iode, une solution aqueuse de bicarbonate de sodium dans l'éther¹⁰² ou encore la *N*-iodosuccinimide dans le chloroforme. Le contrôle thermodynamique de la stéréochimie se fait par réaction de l'acide dans un mélange acétonitrile/eau en absence de base.

Le mécanisme communément accepté est celui proposé par van Tamelen et Shamma.¹⁰³ La formation rapide d'un complexe entre la première molécule d'iode et la double liaison conduit à la formation d'un ion iodonium qui est alors déplacé intramoléculairement par le carboxylate pour donner deux produits halogénés possibles. La seconde molécule d'iode est là pour aider à la dispersion de la charge négative qui apparaît lors de la cyclisation, en formant une molécule d'ion triiodure. Par conséquent, le rendement de la iodolactonisation est réduit à un maximum de seulement 50% si des quantités équimolaires de réactifs sont utilisées. La position d'attaque de l'iodonium par le carboxylate est contrôlée par des facteurs électroniques et stéréochimiques. Ainsi, un acide γ,δ -insaturé peut en principe conduire à une γ -lactone ou à une δ -lactone mais par respect des règles de Baldwin (*5 exo tet* vs *6 endo tet*), la γ -lactone est formée de manière quasi exclusive.

Le schéma 3.6 suivant détaille le mécanisme d'iodolactonisation d'acides carboxyliques γ,δ -insaturés α -substitués selon Amaral et Melo.¹⁰⁴

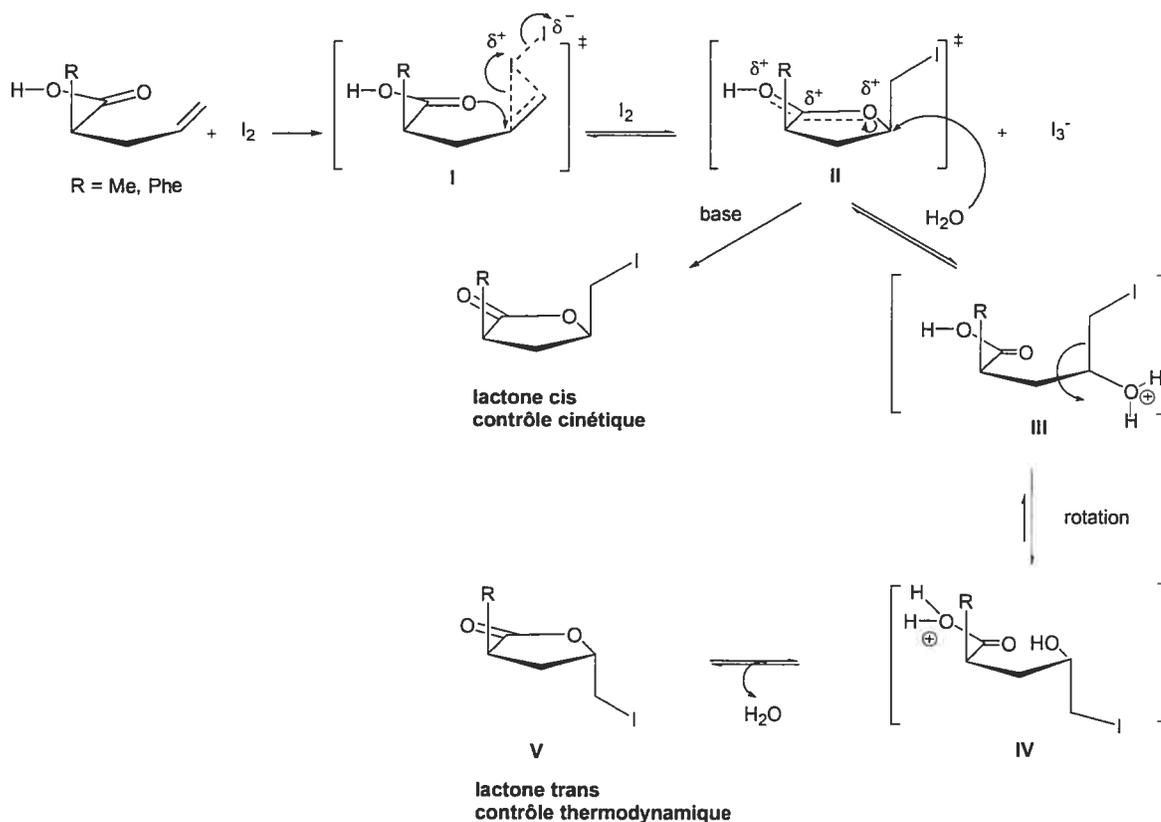


Schéma 3.6 Mécanisme d'iodolactonisation d'acides carboxyliques α -substitués γ,δ -insaturés selon Amaral et Melo¹⁰⁴

Selon Amaral et Melo, dans des solvants organiques non polaires dans lesquels peu d'espèces carboxylates existent, la cyclisation passe par une espèce positivement chargée (Schéma 3.6, intermédiaire **II**). La réaction est favorisée par la formation de l'intermédiaire **II** dont la charge positive peut se disperser par résonance. En cas d'un contrôle cinétique (présence d'une base dans le milieu), l'intermédiaire **II** est immédiatement piégé et mène à la lactone *cis* avec une induction asymétrique modérée. La forme **III** (Schéma 3.6) est certainement l'espèce par laquelle passe l'équilibration *cis* (**II**)-*trans* (**V**). Dans des conditions de contrôle thermodynamiques, l'isomère le plus stable est formé préférentiellement, ainsi la lactone *trans* est formée avec une très haute sélectivité et avec de bons rendements.¹⁰⁵

3. 2. 3. 4. Réalisation de l'étape clé de la synthèse

Plusieurs conditions ont été essayées. Il est possible selon les conditions réactionnelles de former préférentiellement l'un ou l'autre des diastéréoisomères selon que l'on se place dans les conditions cinétiques ou thermodynamiques. Notre but étant de tester chacun des diastéréoisomères et de voir leur influence respective sur l'activité enzymatique, les conditions standards sont utilisées afin d'avoir un mélange où les deux isomères sont présents en quantité équivalente. Le tableau 3.1 suivant détaille les différentes conditions essayées pour l'iodolactonisation.

Tableau 3.1 Conditions essayées pour l'iodolactonisation

Entrée	Conditions	Résultat	Rdt
1	I ₂ , CH ₃ CN, 0 °C, 1h30	mélange de produits	nd*
2	I ₂ , NaHCO ₃ solide, H ₂ O:DME/1:1 dans le noir	mélange de produits	42% non reproductible
3	I ₂ , NaHCO ₃ sol. saturée aqueuse(3 eq), DME, dans le noir	mélange de diastéréoisomères	87 %

* nd : non déterminé

La réaction doit mener à la formation de deux diastéréoisomères afin d'obtenir deux analogues à tester. La meilleure approche est celle utilisant une solution saturée aqueuse de NaHCO₃. Elle conduit à un mélange de diastéréoisomères (3.11) (Schéma 3.7) reconnaissables sur CCM. Les réactions ont été réalisées à l'abri de la lumière car les produits de iodolactonisation peuvent être sensibles à celle-ci.¹⁰⁶

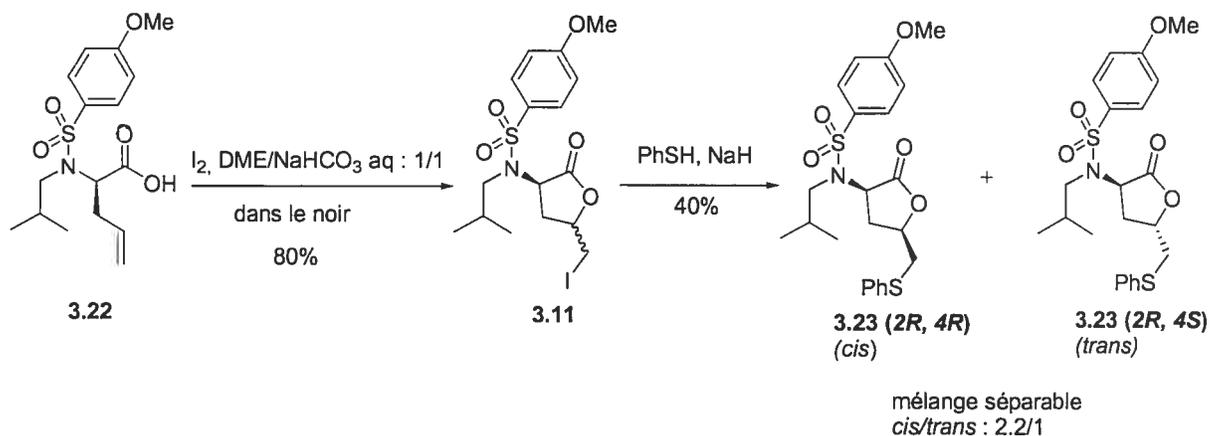


Schéma 3.7 Etape clé de iodolactonisation

Le mélange des γ -butyrolactones iodées (**3.11**) est mis à réagir avec le thiolate de phényle (Schéma 3.7) dont le sel de sodium est préalablement formé par action de l'hydrure de sodium sur le thiophénol.¹⁰⁷ C'est seulement à ce stade que les deux diastéréoisomères ont pu être séparés par chromatographie sur silice et que leur ratio a été déterminé. Deux composés **3.23 (2R, 4R)** et **3.23 (2R, 4S)** (Schéma 3.7) sont obtenus en quantité suffisante pour pouvoir continuer la synthèse sur chacun des diastéréoisomères, en parallèle.

3. 2. 3. 5. Rationnalisation de la préférence pour la lactonisation *cis*

Le mécanisme de iodolactonisation des acides 4-penténoïques α -substitués a été étudié en détail par Amaral et Melo.¹⁰⁵ Dans le cas où le substituant en α est un groupe phényle, peu de stéréosélectivité est obtenue.

L'iodolactonisation d'acides α -amino γ,δ -insaturés a également fait l'objet d'études (Schéma 3.8). En particulier, l'iodolactonisation d'allylglycines α -substituées a été décrite par Whitesides et coll.¹⁰⁸ La réaction sur l'acide D-aminobutyrique dans des conditions de contrôle cinétique conduit à la formation des lactones *cis/trans* dans un ratio 7-8/1.



Schéma 3.8 Mécanisme de iodolactonisation des acides α -amino γ,δ -insaturés

La cyclisation d'acides δ -penténoïques α -substitués a été étudiée en fonction de l'encombrement stérique et de l'électronégativité des substituants en α par Ohfuné et coll.¹⁰⁹ Des conditions de contrôle thermodynamique conduisent à la lactonisation *cis* de façon hautement sélective dans le cas où un groupe en α est polaire comme une amine mono- ou di-substituée alors que pour un groupe non polaire (alkyle ou phényle), peu de sélectivité est observée.

Un schéma réactionnel (Schéma 3.9) est proposé dans lequel l'amine sert à stabiliser stéréosélectivement l'espèce halonium.

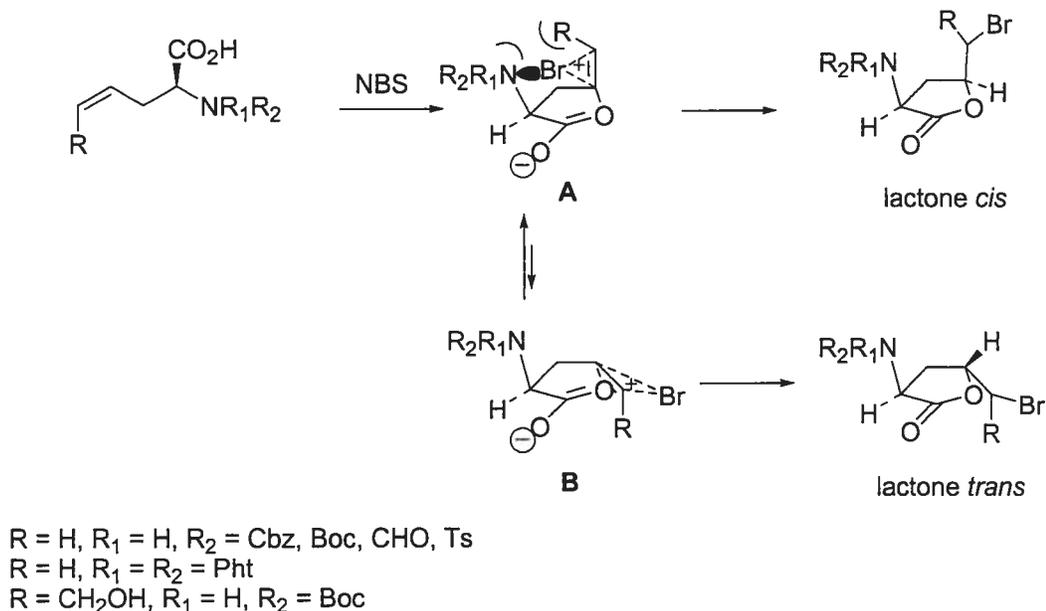


Schéma 3.9 Formation préférentielle de la lactone *cis* d'après Ohfuné¹⁰⁹

Même si la répulsion stérique dans **A** (Schéma 3.9) entre le groupe aminé et le substituant en δ ne semble pas favoriser cet intermédiaire réactionnel, l'interaction stéréoelectronique entre le doublet de l'azote et l'ion bromonium favorise cet état. Ceci n'est pas possible dans l'état **B** (Schéma 3.9). Ohfuné a décrit le cas des bromolactonisations mais il étend ses remarques aux halolactonisations en général.

La iodolactonisation des *N*-Boc (*S*)-crotylglycines a été étudiée par Guillerm et coll.¹¹⁰ Une préférence pour le processus conduisant à la lactone *cis* a également été observée, en accord avec les résultats de Ohfuné et de Whitesides.

Dans notre cas, le composé *cis*, **3.23 (2R, 4R)** (Schéma 3.7) est majoritaire (*cis/trans* 2.2/1). Cette diastéréosélectivité a lieu lors de l'étape de iodolactonisation et peut être expliquée de la même manière que Ohfuné.¹⁰⁹ Une stabilisation entre le doublet de l'azote et l'iodonium positif peut favoriser la formation de la lactone *cis*. Cependant, le groupe sulfonamide sur l'azote étant électroattracteur, il désactive le doublet de l'azote qui participerait alors moins à la stabilisation de l'iodonium. Il est raisonnable de penser que l'isobutyle peut gêner stériquement et interférer avec l'espèce iodonium lorsque celui-ci et

l'amine sont *cis* l'un par rapport à l'autre, un iode étant plus volumineux qu'un brome. Deux effets, stérique et électronique, pourraient expliquer la diminution de la proportion en isomère *cis* par rapport à ce qui est normalement attendu dans le cas d'iodolactonisation d'acides γ,δ -insaturés α -aminés.

3. 2. 3. 6. Attribution de la stéréochimie des γ -butyrolactones par RMN

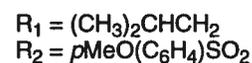
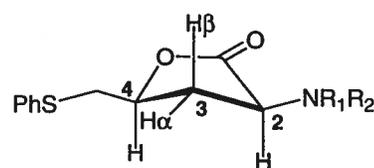
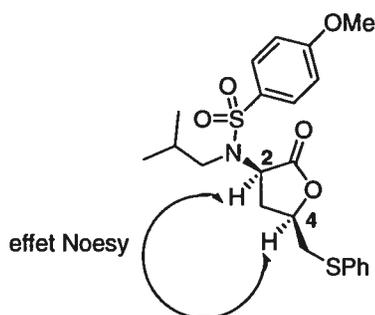
Les lactones ont été étudiées séparément par RMN à deux dimensions (NOESY). Ces expériences ont permis d'établir de façon non ambiguë la stéréochimie relative des centres C2 et C4.

De plus, la stéréochimie des γ -butyrolactones *cis* et *trans* a pu être assignée d'après les études RMN ^1H (Tableau 3.2). Nous avons comparé nos résultats avec ceux rapportés par Ohfuné pour les α -amino γ -butyrolactones substituées en C4.¹¹⁰ Il établit la différence entre les isomères au niveau des signaux des protons en C3. Pour l'isomère *cis*, les signaux des protons 3α et 3β apparaissent comme deux groupes de doublets de doublets dédoublés séparés de 0.5 à 1 ppm alors que pour l'isomère *trans*, les signaux de ces mêmes protons se recouvrent.

Le tableau suivant rapporte les résultats d'une étude RMN ^1H à une et deux dimensions des γ -butyrolactones **3.23** (*2R, 4R*) et **3.23** (*2R, 4S*) et sont comparables à ceux obtenus par Ohfuné.¹¹⁰

Tableau 3.2 Etude RMN des γ butyrolactones 3.23

Isomère	Proton	δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)	J (Hz)	Effet Noesy
3.23 (2<i>R</i>, 4<i>R</i>) <i>cis</i>	H3 α (ddd)	2.76	0.4	H3 α -H4 = 5.9 Hz	entre H2 et H4
	H3 β (ddd)	2.36		H3 α -H2 = 9.0 Hz	
3.23 (2<i>R</i>, 4<i>S</i>) <i>trans</i>	H3 α (ddd)	2.55	0.17	H3 β -H4 = 10.1 Hz	aucun effet entre H2 et H4
	H3 β (ddd)	2.72		H3 α -H2 = 10.4 Hz	
				H3 β -H4 = 9.0 Hz	
				H3 β -H2 = 9.0 Hz	

conformation de **3.23 (2*R*, 4*R*)**

La conformation de l'isomère **3.23 (2*R*, 4*R*)** est proposée d'après les valeurs des constantes de couplage obtenues et les conclusions de Kagan sur la détermination de la conformation au moyen de la RMN.¹¹¹ Hoye et coll. ont également étudié la stéréochimie des centres C2 et C4 de butyrolactones par des études RMN ^1H .¹¹²

3. 2. 3. 7. Suite et fin de la synthèse

Les deux dernières étapes (iodolactonisation et substitution nucléophile) auraient pu être combinées en une seule, en traitant l'oléfine par le chlorure de sulphényle, selon une

réaction de phénylsulphényl-lactonisation. Cette réaction fut reportée par Nicolaou¹¹³ pour le traitement de l'acide 2-carboxylique *endo*-norborn-5-ène avec la triéthylamine, suivi de l'addition de chlorure de phénylthiolate. La réaction a été également décrite par Marcello de Moura Campos sur les acides γ,δ -insaturés.¹¹⁴ Mais cette réaction de sulphényl-lactonisation est bien moins développée que celle des électrophiles sélénium sur des alcènes. Ceci est en partie dû à la moins bonne stabilité des chlorures de sulphényle comparativement aux chlorures de sélénényle. Néanmoins, Fallis et coll.¹¹⁵ peuvent lactoniser un acide γ,δ -insaturé en traitant ce dernier avec du chlorure de phénylsulfényle dans l'acétonitrile. Un ion épisulfonium intermédiaire est formé (Schéma 3.10), lequel après ajout de *N,N*-diisopropyléthylamine est déplacé intramoléculairement par l'oxygène nucléophile.

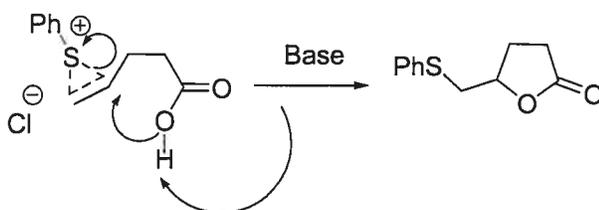


Schéma 3.10 Mécanisme de sulphényl-lactonisation

Un essai de sulphényl-lactonisation a été tenté. Le chlorure de sulfényle a été préparé selon une procédure rapportée par Tupper,¹¹⁶ à partir de *N*-chlorosuccinimide et de phénylthiole dans le benzène. Le produit obtenu est mis à réagir sur l'acide carboxylique γ,δ -insaturé **3.22**, mais aucun produit désiré ne s'est formé. Devant ce manque de réussite, aucun autre essai n'a été tenté.

La dernière étape est l'ouverture de chaque lactone **3.23** par l'hydroxylamine (Schéma 3.11).

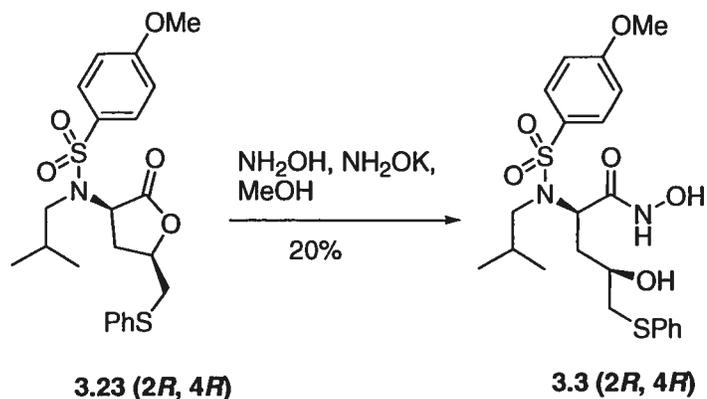


Schéma 3.11 Ouverture de la lactone par l'hydroxylamine, cas de l'isomère 3.23 (2R, 4R)

L'ouverture de l'anhydride itaconique par l'hydroxylamine a été rapportée par Akiyama et coll.¹¹⁷ La réaction est menée en parallèle sur chaque isomère séparé, dans les mêmes conditions que celles décrites dans le second chapitre. Les acides hydroxamiques sont obtenus avec des rendements similaires pour les deux isomères.

3. 3. Alkylation énantiosélective par un catalyseur en condition de transfert de phase (CTP)

L'alkylation énantiosélective par un catalyseur chiral (Schéma 3.12) a fait l'objet de nombreuses études depuis les dix dernières années. L'utilisation d'un catalyseur par rapport à un auxiliaire chiral présente de multiples avantages, dont l'économie de matières premières et la possibilité de recycler l'outil de chiralité supérieure à celle permise par un auxiliaire.

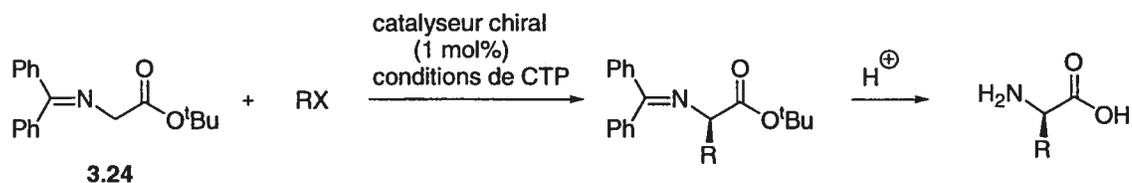


Schéma 3.12 Alkylation de benzophénone imine au moyen d'un catalyseur par transfert de phase

Le travail pionnier de O'Donnell et coll.¹¹⁸ en 1989 a ouvert une voie séduisante pour la synthèse asymétrique d' α -amino-acides par alkylation en transfert de phase d'une glycine prochirale protégée en utilisant un catalyseur chiral. Citons également les travaux des groupes de Corey¹¹⁹ et de Lygo.¹²⁰ La figure suivante illustre les catalyseurs les plus utilisés pour les alkylations énantiosélectives.

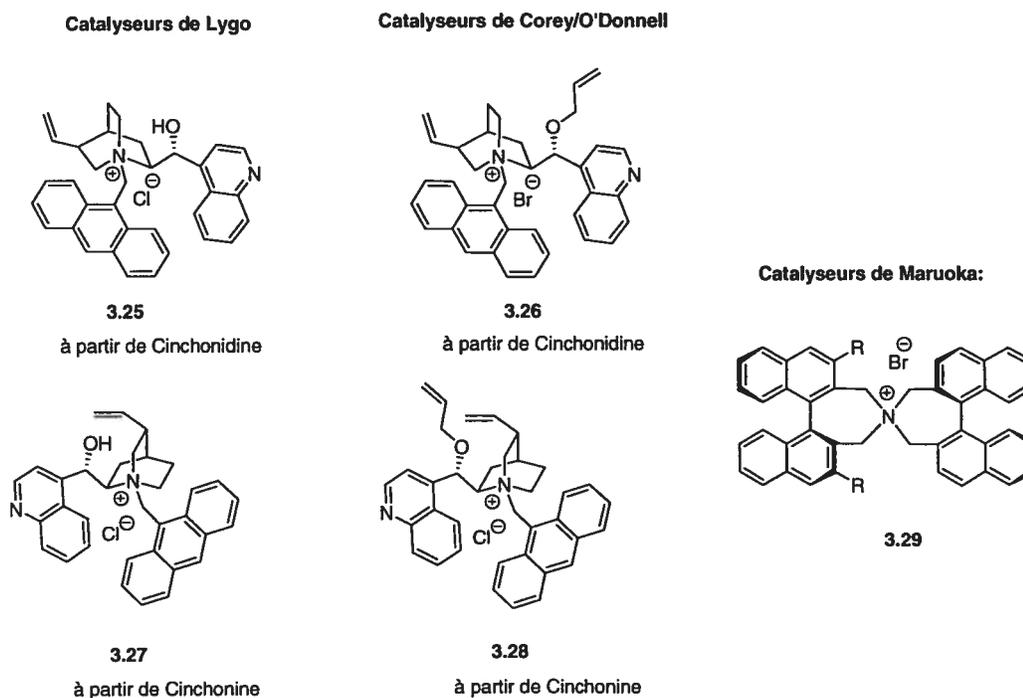
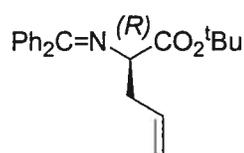


Figure 3.5 Exemples de catalyseurs les plus utilisés

O'Donnell¹²¹ a comparé les excès énantiomériques obtenus pour l'allylation d'une imine en utilisant des catalyseurs chiraux. Le tableau 3.3 résume les principaux résultats.

Tableau 3.3 Comparaison de l'allylation énantiosélective par différents catalyseurs dans les conditions de transfert de phase



catalyseur développé par	rdt %	ee %
Maruoka	84	94 (<i>R</i>)
Lygo	62	88 (<i>R</i>)
Corey	89	97 (<i>S</i>)

Pour obtenir notre analogue 3.3, l'allylation doit mener à l'énantiomère (*R*). Corey^{119a} obtient 97% ee en faveur de l'énantiomère (*S*) dans le cas de l'allylation énantiosélective en utilisant un catalyseur dérivé de la cinchonidine. Nous avons pensé utiliser l'énantiomère de la cinchonidine pour synthétiser un catalyseur qui devrait mener à une allylation sélective en faveur de l'énantiomère (*R*). L'énantiomère de la cinchonidine n'étant pas disponible, nous avons eu recours au composé qui s'en rapproche le plus, soit la cinchonine. Nous souhaitons nous appuyer sur les travaux de Corey car la synthèse du catalyseur est courte, comparativement à celle du catalyseur de Maruoka qui nécessite cinq étapes. La synthèse du catalyseur décrite au schéma 3.13 suit la procédure décrite pour la cinchonidine.¹¹⁹

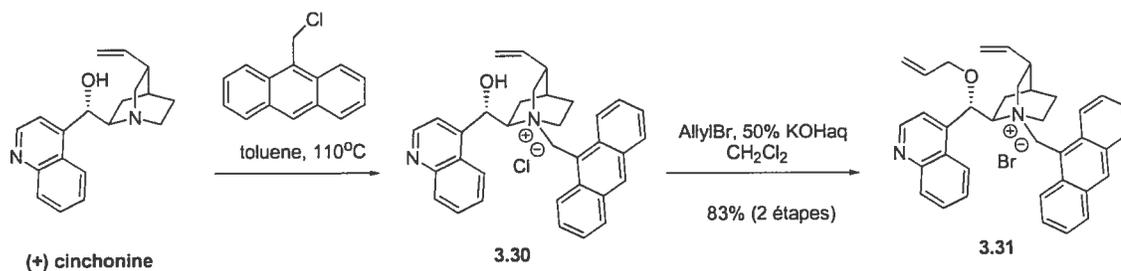


Schéma 3.13 Synthèse du catalyseur

Le catalyseur est synthétisé en deux étapes à partir de la cinchonine avec un rendement global avant recristallisation de 83%. Il a été recristallisé plusieurs fois avec un mélange méthanol/éther avant d'être impliqué dans la catalyse de l'allylation.

L'allylation est toujours réalisée sur une glycine sous forme de *tert*-butyl ester dont l'amine est protégée sous forme d'imine par un diphényle. Le substrat est préparé en deux étapes à partir du bromure de *tert*-butyl acétate, illustrées au schéma suivant.

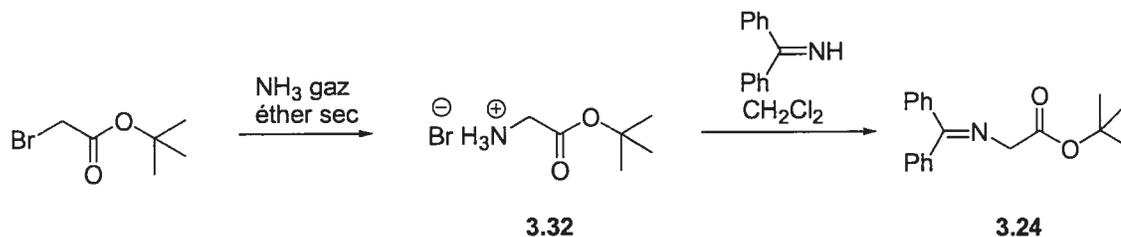


Schéma 3.14 Synthèse de l'imine

La formation de l'amine suit une procédure rapportée par Hoarau et coll¹²² dans laquelle l'ammoniac condensé vient directement substituer le bromure. La formation de la base de Schiff suit celle rapportée précédemment à savoir condensation de l'amine avec la dibenzophénone.¹²³ Le substrat a été recristallisé avec un mélange hexane/éther avant utilisation.

L'allylation suit la procédure de Corey ¹²⁰ de catalyse en condition de transfert de phase et est illustrée au schéma suivant.

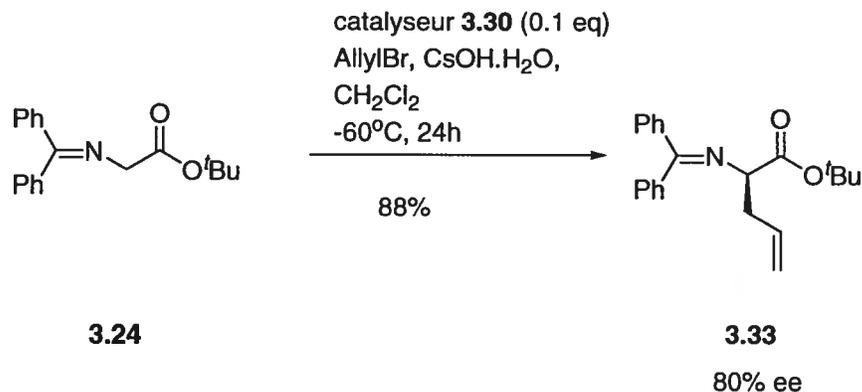


Schéma 3.15 Alkylation sélective catalysée

La réaction est très longue par rapport à l'allylation avec les ultrasons rapportée dans le paragraphe 3. 2. 3. (Schéma 3.4) mais efficace en terme de rendement. L'excès énantiomérique a été mesuré par HPLC chirale en utilisant les mêmes conditions que Corey. L'excès mesuré de 80% n'a pas été jugé suffisant pour poursuivre la synthèse, puisqu'en utilisant l'auxiliaire chiral, un seul diastéréoisomère est visible par RMN, ce qui signifie un excès diastéréoisomérique de plus de 95%.

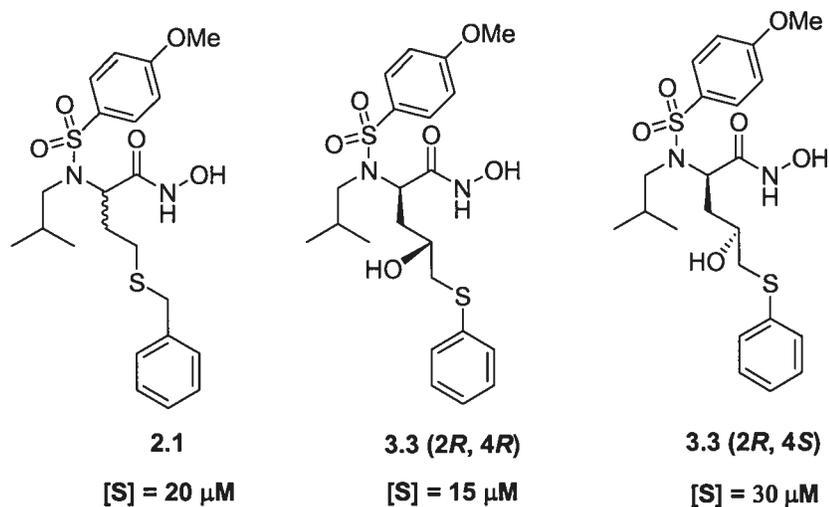
Cet excès de 80% peut s'expliquer de la manière suivante : Corey obtient 97% ee pour l'énantiomère (*S*) avec un dérivé de la cinchonidine comme catalyseur. L'énantiomère de cet alcaloïde devrait donner le produit d'allylation (*R*) avec un excès énantiomérique d'au moins 95%. Or nous n'avons pas accès à cet énantiomère. Nous avons utilisé un catalyseur dérivé de la cinchonine dont la structure est assez proche de celle de l'énantiomère désiré. Comme la cinchonine n'est pas l'énantiomère de la cinchonidine, le catalyseur qui en dérive ne peut pas mener à un excès énantiomérique aussi bon que celui que l'on aurait eu avec l'énantiomère de la cinchonidine. Cette voie a donc été écartée au profit de l'utilisation de l'auxiliaire chiral.

3. 4. Résultats biologiques

Les diastéréoisomères ont été testés sur les MPM-1, -2, -3, -9 et -13 par Novartis (Suisse).

[S] désigne la concentration en substrat (un substrat reconnu par plusieurs MPM) à laquelle les tests sont faits. Le substrat pour MPM-1, -2, -9, -13 est identique (même valeur de K_M) mais celui pour MPM-3 est différent. Le tableau suivant rapporte les IC_{50} obtenus pour les trois analogues **2.1**, **3.3 (2R, 4R)** et **3.3 (2R, 4S)** synthétisés.

Tableau 3.4 Résultats d'inhibition des diastéréoisomères sur plusieurs MPM, comparaison avec l'inhibiteur de première génération



	IC_{50} (nM)		
MPM-1	104	400	110
MPM-2	0.7	1.5	0.695
MPM-3	0.7	13	22.5
MPM-9	< 0.1	0.74	0.8
MPM-13	12	0.127	0.35

3. 4. 1. Analyse des résultats

Chaque test sur les MPM-1, -2, -9 et -13 utilise une concentration fixe d'un substrat mais pour MPM-3, un autre substrat est utilisé. Donc, il n'est pas rigoureux de comparer les valeurs des IC_{50} pour MPM-3 avec celles obtenues pour les quatre autres enzymes.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Si l'on considère que ces inhibiteurs sont de structure assez proche à celle du substrat naturel des MPM, le type d'inhibition peut être supposé compétitif. Une équation mathématique relie l' IC_{50} et le K_i en tenant compte de la concentration en substrat et de la valeur K_M pour chaque substrat. On peut donc accéder au K_i pour chaque inhibiteur, en considérant une enzyme donnée. Dans ce cas, on peut comparer les K_i de chaque inhibiteur entre eux et savoir lequel est le meilleur.

Exemple de calcul du K_i pour chacun des inhibiteurs testés contre MPM-3.

Si l'inhibition est supposée compétitive, alors

$$IC_{50} = K_i \left(1 + \frac{[S]}{K_M} \right)$$

$$K_i = \frac{IC_{50} \times K_M}{K_M + [S]}$$

Pour MPM-3, le substrat utilisé étant (7-méthoxycoumarin-4-yl)acétyl-Arg-Pro-Lys-Pro-Tyr-Ala-norvaline-Trp-Met-Lys(2,4-dinitrophényl)-NH₂, Homo sapiens :

$$K_M = 0.06 \text{ mM}$$

On peut ainsi déterminer pour MPM-3 les valeurs de K_i correspondantes aux trois inhibiteurs.

$$K_i(2.1) = 0.525 \text{ nM}$$

$$K_i(3.3 (2R, 4R)) = 10.4 \text{ nM}$$

$$K_i(3.3 (2R, 4S)) = 15 \text{ nM}$$

Les mêmes calculs peuvent être faits pour chaque MPM, à partir des valeurs de K_M que l'on trouve dans des banques de données.¹²⁴ A partir des valeurs de K_i ainsi obtenues, on peut comparer quantitativement l'efficacité de chaque inhibiteur. Comme nous n'avons pas accès aux valeurs des K_M pour les MPM-1, -2, -9, -13 correspondantes aux substrats utilisés dans les conditions des tests (raisons de confidentialité de la compagnie pharmaceutique), nous ne pouvons pas calculer les valeurs de K_i . Par conséquent, les résultats des tests biologiques seront discutés de manière qualitative seulement.

3. 4. 2. Conclusion sur les inhibiteurs de seconde génération pour MPM-3

L'inhibiteur **3.3 (2*R*, 4*R*)** est une fois et demie plus efficace que son analogue **3.3 (2*R*, 4*S*)**. Il n'y a donc pas de différence entre les deux en terme d'efficacité. Un facteur vingt a même été perdu par rapport à l'inhibiteur de départ **2.1**, racémique.

3. 4. 3. Importance de l'hydroxyle

L'ajout d'un hydroxyle sur la chaîne augmente l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme MPM-13 et permet d'obtenir une meilleure inhibition uniquement pour MPM-13. L'inhibiteur **3.3 (2*R*, 4*R*)**, inhibe au moins soixante-dix fois mieux MPM-13 que l'inhibiteur **2.1** et **3.3 (2*R*, 4*S*)** est plus puissant que **2.1** d'au moins trente fois.

3. 4. 4. Importance de la stéréochimie de l'hydroxyle

Pour les MPM-1 et -2, l'inhibiteur **3.3 (2*R*, 4*S*)** est meilleur que son diastéréoisomère **3.3 (2*R*, 4*R*)** d'environ cinq fois. Pour ces deux enzymes, la stéréochimie (*S*) est donc préférable.

Pour les MPM-3, -9 et -13, il n'y a pas de réelle différence entre les deux diastéréoisomères.

La différence de stéréochimie au niveau de l'hydroxyle n'a donc pas d'effet important sur l'inhibition, exception peut-être de MPM-1 et-2.

3. 4. 5. Influence de l'hydroxyle sur la sélectivité entre les MPM-1, -2, -9 et -13

L'inhibition de MPM-13 est trois mille fois plus grande que celle de MPM-1 lorsque **3.3 (2R, 4R)** est l'inhibiteur et trois cents fois plus grande lorsque **3.3 (2R, 4S)** est utilisé. Pour les autres MPM, le facteur de sélectivité est moindre. Alors que l'inhibiteur **2.1** est seulement huit fois plus sélectif pour MPM-13 vs MPM-1. Par conséquent, si pour une maladie donnée, on veut inhiber sélectivement MPM-13 par rapport à MPM-1, il est préférable d'utiliser les inhibiteurs **3.3**, ceux qui possèdent une fonction hydroxyle sur la chaîne latérale.

3. 5. Conclusion

Un inhibiteur de seconde génération a été développé à partir des résultats biologiques des inhibiteurs de première génération mais aussi grâce à la modélisation moléculaire. Les IC_{50} obtenus sont de l'ordre du nanomolaire voire inférieures. Même si les résultats ne corroborent pas les prévisions de la modélisation au sujet de l'importance de la stéréochimie de l'hydroxyle pour MPM-3, ils ont permis d'ouvrir une nouvelle porte concernant la sélectivité entre MPM-1 et MPM-13. Il serait judicieux de modéliser les interactions entre les inhibiteurs **3.3** et MPM-1 ou MPM-13 afin de voir s'il existe une différence au niveau du site actif de ces deux enzymes. Plus précisément, il faudrait vérifier s'il n'existe pas d'interaction entre un résidu d'acide aminé de MPM-13 qui ne serait pas présent dans MPM-1. Les variations pourraient être à l'origine de la sélectivité observée.

Les travaux présentés dans les chapitres 2 et 3 ont été réalisés entre 2000 et 2001. Des conclusions intéressantes sont apparues dans la littérature depuis les deux dernières années. Ainsi, les inhibiteurs des MPM de type acide hydroxamique, efficaces chez les

animaux dans les traitements contre les cancers se sont révélés être très modestes¹²⁵ et parfois même être des agents pro-tumoraux.⁶

Ces inhibiteurs de type acide hydroxamique peuvent être toxiques pour plusieurs raisons. L'une d'entre elles pourrait être que la fonction hydroxamique est hydrolysée dans l'organisme, ce qui libèrerait l'inhibiteur sous forme d'acide carboxylique et l'hydroxylamine. Cette dernière est connue pour être très toxique pour l'organisme.¹²⁶ C'est sans doute pour cela que tous les essais cliniques de ces types d'inhibiteurs ont été arrêtés, du moins sur les cancers. Seuls ceux utilisés dans les traitements contre l'arthrite continuent d'être développés.

Chapitre 4

Les enzymes de conversion de l'endothéline

4. 1. Les endothélines et leurs enzymes de conversion (ECE)

4. 1. 1. Localisation

L'endothélium vasculaire, situé à l'interface du sang et des tissus, capte et décode les différents messages sanguins, hémodynamiques, chimiques et biochimiques. Il les traduit et transmet les informations à la paroi vasculaire sur laquelle il exerce des effets à plus ou moins long terme.¹²⁷ Les peptides vasoactifs jouent un rôle important au niveau des cellules endothéliales et agissent par différents mécanismes pour contrôler le flux sanguin. Certains de ces peptides comme l'angiotensine II, la vasopressine, le neuropeptide Y et l'endothéline sont de puissants vasoconstricteurs agissant sur les muscles lisses et sur le système nerveux central (Figure 4.1).¹²⁸

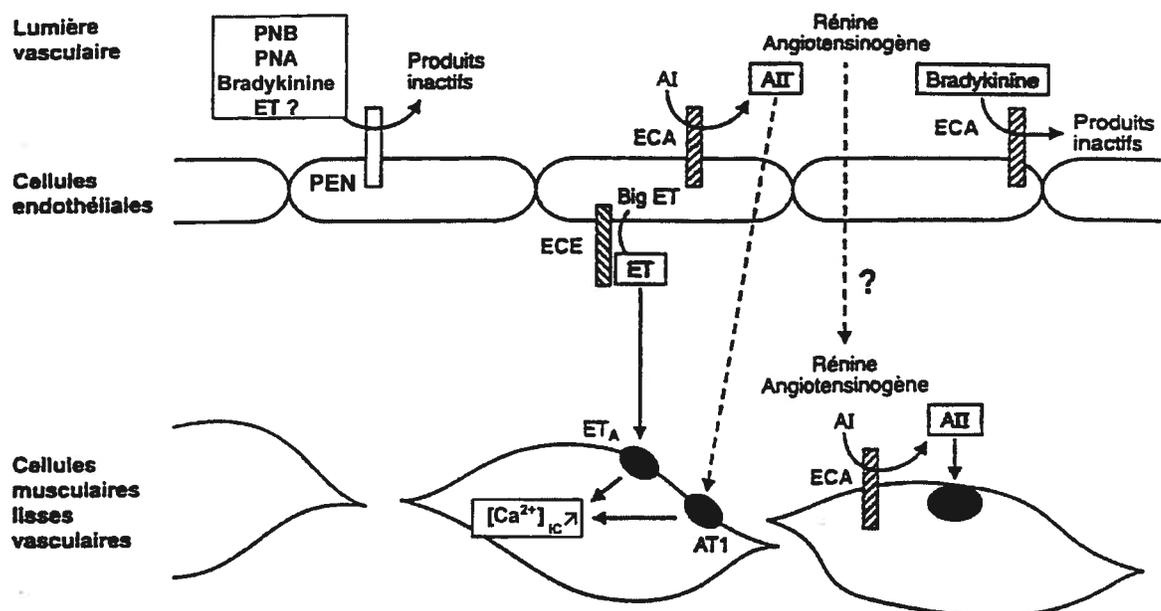


Figure 4.1 Production de peptides vasoactifs dans la paroi vasculaire

Les endothélines se retrouvent dans les tissus extra-vasculaires, incluant les poumons, le pancréas et la rate, où elles ont divers effets.¹²⁹ Ces peptides sont aussi synthétisés dans le système nerveux central où ils agissent sur les cellules gliales et les neurones.¹³⁰ Mais ce sont surtout les effets cardiovasculaires qui ont été le plus étudiés.

4. 1. 2. Structure et biosynthèse

L'endothéline est un peptide de 21 acides aminés qui a été découvert, à l'origine, dans le surnageant de culture de cellules endothéliales aortiques de bœuf puis isolé des cellules endothéliales aortiques de porc.¹³¹ C'est le vasoconstricteur à action locale le plus puissant découvert à ce jour.¹³² Chez l'humain, il existe trois isoformes des endothélines (ET-1, ET-2, ET-3), qui sont codées par trois gènes distincts mais qui ne diffèrent seulement que de 2 ou 6 acides aminés.¹³³ Ils interagissent avec deux types distincts de récepteurs, ET_A et ET_B.¹³⁴ Comme tout peptide bioactif, ET-1 est initialement produite sous la forme d'un prépropeptide inactif de 203 acides aminés, la préproendothéline (Figure 4.2), qui est clivée par des endopeptidases pour donner un peptide mature nommé proendothéline ou big ET. L'étape finale de ce processus post-translational est la conversion de big ET-1 en ET-1 par les enzymes de conversion de l'endothéline (ECE), une nouvelle famille de métalloprotéinases. L'hydrolyse se fait entre le tryptophane-21 et la valine-22 du big ET-1 (Figure 4.2).

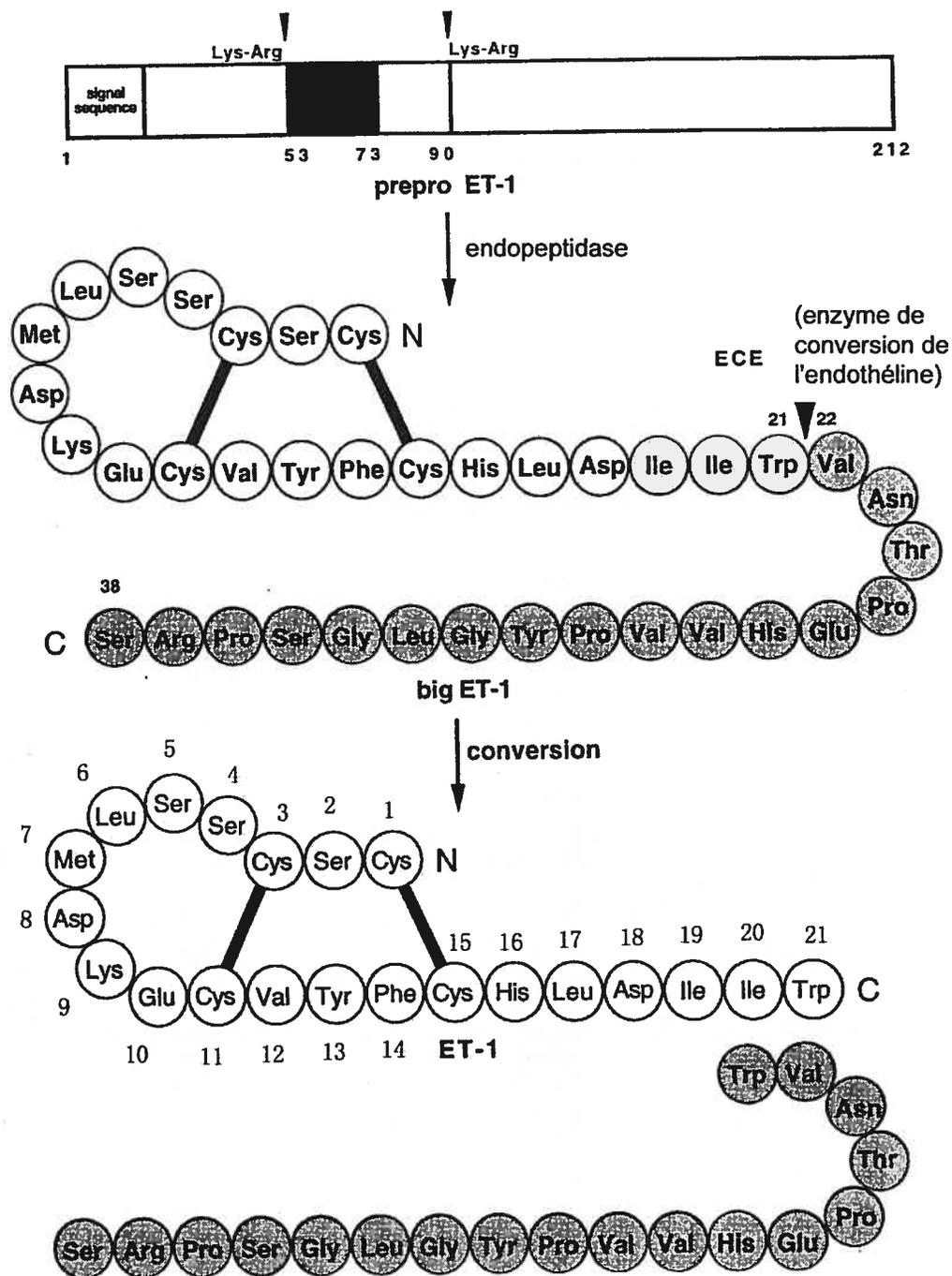


Figure 4.2 Biosynthèse et formation de ET-1 à partir de prépro ET-1. ECE catalyse la conversion de big ET-1 en ET-1, d'après un article de Goto¹³⁵

A ce jour, sept isoformes ont été identifiées, ECE-1a, ECE-1b, ECE-1c, ECE-1d, ECE-2a, ECE-2b et ECE-3.¹³⁶ Les quatre ECE-1 dérivent du même gène et diffèrent seulement dans la composition en acides aminés de leurs régions *N*-terminales. Chacune des isoenzymes ECE-1 et ECE-2 hydrolyse big ET-1 plus efficacement que big ET-2 et big ET-3. ECE-3, quant à lui, montre plus d'affinité pour big ET-3.

L'ET-1 présente un résidu tryptophane *N*-terminal indispensable à son activité et deux ponts disulfures entre les cystéines 1-15 et 3-11. Entre les positions 8 et 11, les résidus sont chargés et à partir de la position 16, le fragment hexapeptidique est hydrophobe.

Les isoformes de ET-1 sont très similaires. Pour ET-2, la leucine-6 est substituée par le tryptophane et la leucine remplace la méthionine-7.

En ce qui concerne l'ET-3, les acides aminés des positions 2, 4, 5, 6, 7, 14 sont permutés. Ainsi on retrouve successivement la thréonine, la phénylalanine, la thréonine, la tyrosine, la lysine et la tyrosine.

4. 1. 3. Mécanisme d'action des endothélines

L'ET-1 se lie au récepteur de la protéine-G pour activer la phospholipase C. Il en résulte une augmentation de la formation des inositols tris- et bisphosphonates et *1,2-O*-diacylglycérol, avec une stimulation de la protéine kinase C. Cette cascade est impliquée dans l'élévation de la concentration en calcium intracellulaire et dans la phosphorylation des chaînes légères de la myosine, ce qui conduit à des contractions au niveau des vaisseaux sanguins.

4. 1. 4. ECE/EPN/ECA

L'ECE-1 humaine partage 37 % d'homologie dans la séquence en acides aminés avec l'endopeptidase neutre, EC 3.4.24.11 (EPN), une autre métalloprotéinase appelée aussi néprilysine.¹³⁷ Cette dernière est responsable de la dégradation protéolytique du peptide natriurétique atrial (PNA), un puissant agent vasorelaxant et natriurétique¹³⁸ ainsi

que de celle de la bradykinine, un autre peptide vasoactif (Figure 4.1).¹³⁹ Une autre enzyme impliquée dans le métabolisme des neuropeptides est ECA, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (EC 3.4.15.1). Cette dernière est impliquée dans l'activation et l'inactivation de peptides vasoactifs en transformant l'angiotensine I en angiotensine II et en dégradant la bradykinine (Figure 4.1). Dans la recherche d'inhibiteurs dirigés contre ECE, des tests biologiques sont également effectués sur EPN et /ou ECA afin d'étudier la sélectivité des composés.

4. 1. 5. Implications thérapeutiques

Depuis une quinzaine d'années, les rôles physiologiques et pathologiques des endothélines ont fait l'objet d'une recherche intensive.¹⁴⁰ Les ET, par leur fort pouvoir de vasoconstriction, jouent un rôle clef dans l'organisme. Cependant, leur surproduction peut engendrer à long terme une hypertension soutenue que le corps ne peut supporter. Ainsi, de nombreux organes traversés par le sang qui véhicule l'ET peuvent ressentir les effets vasoconstricteurs et être perturbés. Le tableau suivant indique les effets physiologiques des endothélines et leurs implications thérapeutiques possibles¹⁴¹ :

Tableau 4.1 Implications physiologiques possibles des ECE et effets bénéfiques

Rôles pathophysiologiques pour lesquels les endothélines peuvent être impliquées	
Actions bénéfiques	régulation de la pression sanguine, fermeture des vaisseaux ombilicaux, cicatrisation des blessures, contrôle des menstruations
Système cardiovasculaire	infarctus du myocarde, défaillance cardiaque, arythmie, angine instable, hypertension
Bronchoconstriction	hypertension pulmonaire, asthme
Action neuronale	vasospasmes cérébraux
Action sur le système endocrine	
Maladies rénales	défaillance rénale
Désordre vasculaire	Athérosclérose, complications diabétiques, <i>etc.</i>
Cancer des poumons	
Domage de la muqueuse gastrique	
Désordre gastrointestinaux	
Désordre du système reproducteur féminin	

4. 2. Les inhibiteurs de ECE

4. 2. 1. Comment contrôler la surproduction des ECE ?

L'implication des endothélines dans un certain nombre de troubles physiologiques a poussé la recherche à concevoir des moyens pour contrôler les effets de ces peptides. Le développement d'antagonistes sélectifs des récepteurs de l'endothéline et/ou l'extension d'inhibiteurs peut constituer une solution thérapeutique pour le traitement de certaines maladies humaines. D'ores et déjà, un nombre considérable d'antagonistes sélectifs ou non ont été synthétisés par plusieurs compagnies pharmaceutiques.¹⁴² Cette approche agit en aval de la production.

Une autre stratégie consiste à agir en amont et donc à inhiber directement la biosynthèse de ET-1. Une des difficultés principales est que plusieurs enzymes sont

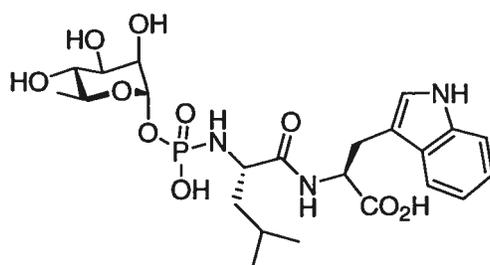
capables de convertir big ET en ET *in vitro*, en particulier la pepsine et la cathepsine D.¹⁴³ Il n'existe cependant aucune preuve d'une activité similaire *in vivo*.

4. 2. 2. Conception d'inhibiteurs

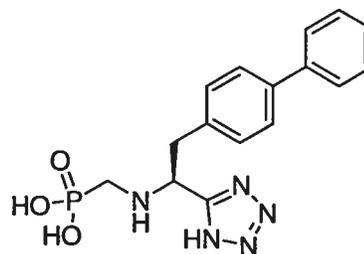
En raison de la grande homologie entre ECE et EPN, des inhibiteurs dits doubles ont été synthétisés par des industries pharmaceutiques.¹⁴⁴ Ces inhibiteurs non sélectifs inhibent ECE-1, ce qui supprime la biosynthèse de ET-1, et inhibent EPN, ce qui augmente le taux de PNA. Il s'ensuit des effets antihypertensifs, natriurétiques et diurétiques bénéfiques dans le traitement des dysfonctionnements cardiovasculaires et rénaux. Ce concept peut être étendu à une inhibition triple de ECE-1, EPN et ECA. En effet, ces trois enzymes sont des métalloprotéines à zinc dont l'activité peut être inhibée simultanément par un groupe chélateur du zinc (GLZ). Ce groupe remplacerait la liaison peptidique P1-P1' clivable.

4. 2. 2. 1. Inhibiteurs doubles de ECE/EPN

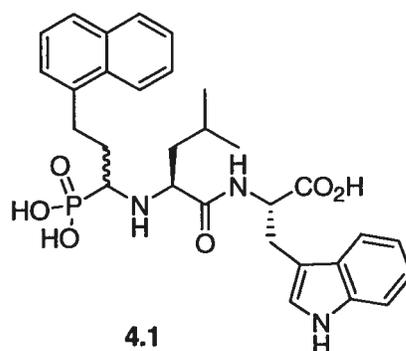
Un des inhibiteurs les plus connus est le *Phosphoramidon* (Figure 4.3), disponible commercialement. De fortes concentrations de ce composé bloquent l'action de ECE sur big ET *in vitro* et *in vivo*.¹⁴⁵ Mais la liaison acido-labile P-N le rend inapproprié pour le développement d'un médicament actif par voie orale. D'autres dérivés ont été préparés en se basant sur la structure de cet inhibiteur.¹⁴⁶ Pour pallier le problème de la fragilité de la liaison I-N, un groupe méthylène a été incorporé entre P et N comme dans *CGS 26303* (Figure 4.3).¹⁴⁷ Des acides aminophosphoniques dipeptidiques ont également été synthétisés, comme par exemple les produits de Banyu¹⁴⁸ (**4.1**), testés sous forme d'un mélange de diastéréoisomères, et de GlaxoSmithKline (**4.2**), comme seul diastéréoisomère de stéréochimie inconnue (Figure 4.3).¹⁴⁹

**Phosphoramidon**

ECE IC₅₀ = 1-4 μM
EPN IC₅₀ = 4-30 nM

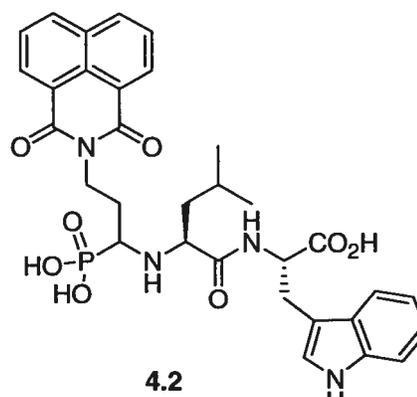
**CGS 26303**

(Novartis)
ECE IC₅₀ = 410 nM
EPN IC₅₀ = 0.9 nM

**4.1**

(Banyu)

ECE IC₅₀ = 260 nM
EPN IC₅₀ = 140 nM

**4.2**

(GlaxoSmithKline)

ECE IC₅₀ = 52 nM
EPN IC₅₀ = 1 μM

Figure 4.3 Quelques inhibiteurs doubles ECE/EPN et leurs activités

4. 2. 2. 2. Mode de liaison présumé des inhibiteurs dans le site actif de EPN

Comme il a déjà été mentionné dans le paragraphe 4. 1. 4., EPN peut constituer un bon modèle pour étudier les inhibiteurs de ECE en raison de l'homologie de séquence entre les deux enzymes. De plus, ECE et EPN sont inhibées par le phosphoramidon. La figure 4.4 présente le mode de liaison présumé de ce dernier avec le site actif de EPN. Il est raisonnable de penser que l'inhibiteur interagit de manière similaire avec le site de ECE.

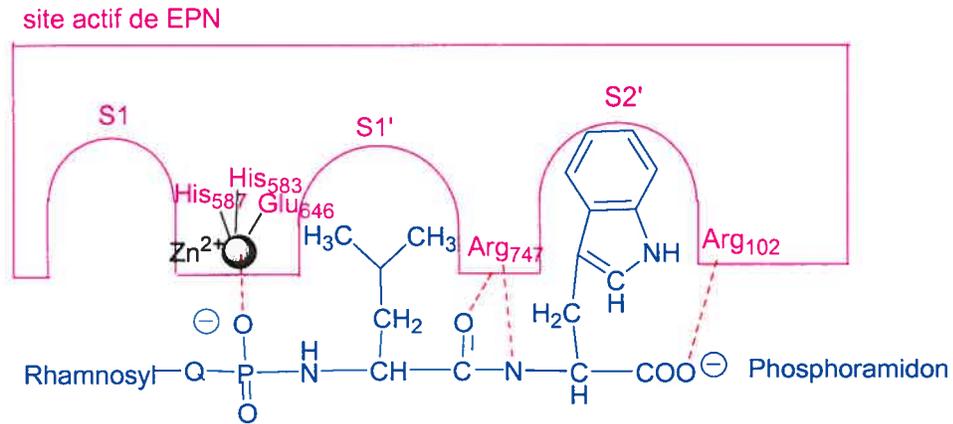
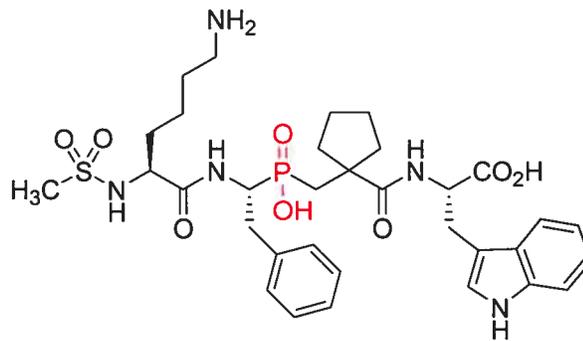


Figure 4.4 Mode de liaison du Phosphoramidon dans le site actif de EPN proposé par Roques et coll.¹⁵⁰ Les résidus du site actif identifiés par mutagenèse dirigée sont indiqués.

4. 2. 2. 3. Inhibiteurs triples de ECE/EPN/ECA

En général, de tels composés sont de puissants inhibiteurs vis à vis de EPN mais sont relativement modestes contre ECE. Le plus puissant inhibiteur de cette série est *SCH 54470* (Figure 4.5), un acide phosphinique.¹⁵¹



SCH 54470
(Schering)

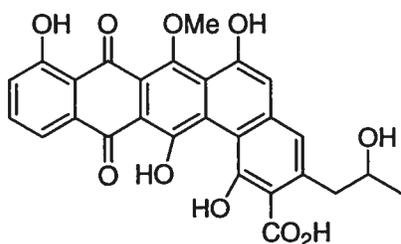
ECE IC₅₀ = 70 nM
EPN IC₅₀ = 90 nM
ECA IC₅₀ = 2.5nM

Figure 4.5 Un inhibiteur triple de ECE/EPN/ECA

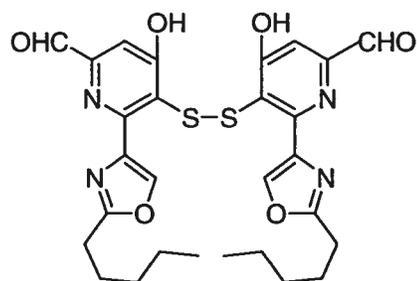
4. 2. 2. 4. Inhibiteurs sélectifs des ECE

Un certain nombre d'inhibiteurs sélectifs des ECE ont été découverts. Certains sont des produits naturels comme *FR 901532*¹⁵² et *B 90063*¹⁵³ (Figure 4.6) isolés respectivement, de cultures de *Stretosporangium* et de *Blastobacter*. D'autres furent découverts après un criblage systématique des banques de produits synthétiques comme par exemple *SM-19712*¹⁵⁴ et *PD 069185* (Figure 4.6).¹⁵⁵

produits naturels :

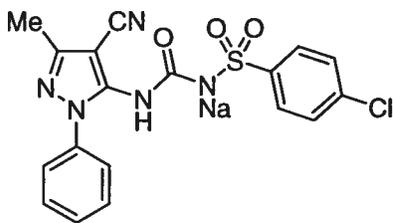


FR 901532
(Fujisawa)
ECE IC₅₀ = 140 nM
EPN IC₅₀ > 100 μM

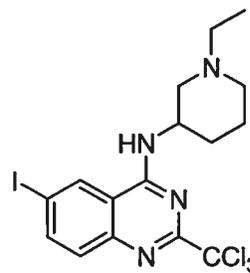


B 90063
(Sankyo)
ECE IC₅₀ = 900 nM
EPN IC₅₀ = 70 μM

produits synthétiques :



SM-19712
(Sumitomo)
ECE IC₅₀ = 42 nM
EPN inactif



PD 069185
(Pfizer)
ECE IC₅₀ = 900nM
EPN inactif

Figure 4. 6. Inhibiteurs sélectifs des ECE

4. 2. 3. Conclusion

Le rôle des endothélines dans le corps humain est capital. Ainsi, un dérèglement de leur biosynthèse peut avoir de graves répercussions sur la santé. Par conséquent, la découverte d'agents thérapeutiques capables de bloquer leur production ou d'empêcher leur fixation sur les récepteurs peut constituer une solution thérapeutique. D'ores et déjà, les résultats pré-cliniques et cliniques obtenus semblent conforter cette hypothèse. Certains des inhibiteurs présentés sont entrés en phase préclinique et ont démontré des effets bénéfiques pour le traitement de certaines maladies cardiovasculaires comme l'hypertension ou l'infarctus du myocarde....¹⁵⁶ Bien que le développement des antagonistes des récepteurs ET_A ou ET_A/ET_B soit plus avancé que celui des inhibiteurs, il est important de continuer à développer les deux modes d'inhibition car le choix de l'une ou l'autre approche thérapeutique dépendra de la maladie et/ou du patient lui-même.¹⁵⁷ A notre connaissance, le marché actuel ne comporte pas de produits concernant l'inhibition des ECE.

Chapitre 5

**Conception et synthèse de molécules inhibitrices de ECE,
possédant un acide phosphonique
comme groupe chélatant**

5. 1. Objectifs

A partir des inhibiteurs décrits dans la littérature, nous avons envisagé la même approche que pour les inhibiteurs des MPM,¹⁵⁸ à savoir une augmentation des contraintes sur des molécules acycliques. Ce concept, efficace dans le cas des MPM, repose sur le fait qu'en limitant les degrés de liberté du substrat, on espère le fixer dans sa conformation bioactive, soit celle reconnue par l'enzyme, et ainsi augmenter son efficacité en tant qu'inhibiteur.¹⁵⁹ La littérature est riche de nombreux exemples dans lesquels des inhibiteurs acycliques de type peptidique ont été modifiés en inhibiteurs non peptidiques à base hétérocyclique comme une lactame.¹⁶⁰

Autre difficulté liée à la conception d'inhibiteurs, il n'existe à ce jour aucune donnée cristallographique concernant les ECE. Notre travail repose donc sur des structures d'inhibiteurs déjà connues. Ainsi, les ECE étant des enzymes dépendantes du zinc, il n'est pas surprenant de retrouver des groupes chélateurs du zinc (GCZ) dans la structure de leurs inhibiteurs. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des acides phosphoniques. Ces derniers sont d'importants pharmacophores en chimie médicinale,¹⁶¹ en agrochimie¹⁶² et dans bien d'autres domaines d'intérêt chimique.¹⁶³ Ils sont connus pour leur activité antivirale,¹⁶⁴ fongique¹⁶⁵ mais aussi pour leurs propriétés antibactériennes.¹⁶⁶ Ils sont souvent préférés à leurs analogues acides carboxyliques¹⁶⁷ ou phosphates,¹⁶⁸ afin d'éviter les problèmes d'instabilité métabolique.

En se basant sur la structure d'un inhibiteur sélectif acyclique rapporté dans la littérature,¹²⁷ il est possible de concevoir des molécules cycliques analogues. Ainsi les composés suivants peuvent être obtenus :

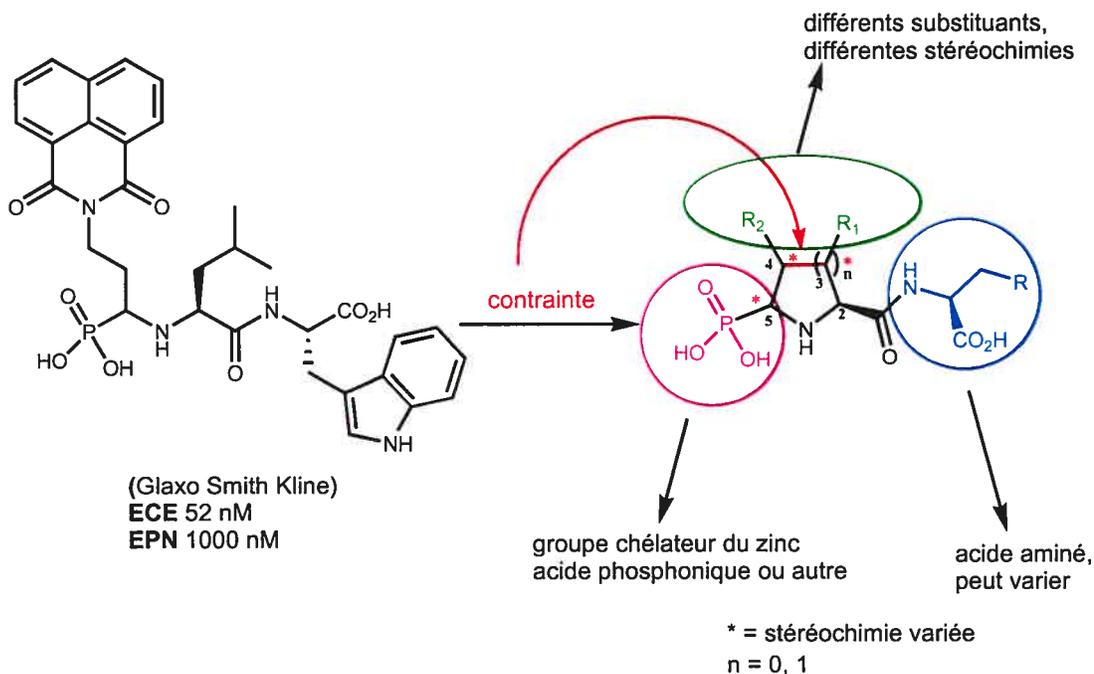


Figure 5.1 Conception de molécules cycliques à partir d'inhibiteurs connus

Le but de ce travail est de synthétiser des dérivés de la proline et de l'acide pipécolique présentant un acide aminé latéral, un acide phosphonique comme groupe chélateur du zinc et de substituer chacun des centres du cycle par des groupements fonctionnels variables et de stéréochimie connue. Cette étude a été jugée nécessaire car les conformations bioactives des molécules acycliques ne sont pas connues. Tester chaque diastéréoisomère synthétisé permettrait d'avoir plus d'informations sur les exigences du site actif et donc d'établir une SAR.

5. 2. Les acides phosphoniques

5. 2. 1. Généralités chimiques

L'étape clé de cette synthèse est la création d'une liaison P-C à partir d'un ion *N*-acyliminium, c'est-à-dire l'addition d'un composé organophosphoré sur un électrophile de

type iminium. Ceci n'est pas sans rappeler la réaction d'Arbuzov¹⁶⁹ impliquant la réaction de trialkyles phosphites sur des dérivés halogénés. Une autre réaction, connue sous le nom d'Abramov, est l'addition de phosphites dialkyles $(RO)_2P(O)H$ sur des aldéhydes, avec l'aide d'une base, pour préparer des α -hydroxyphosphonates.¹⁷⁰

L'addition de phosphites sur des ions iminiums fut pour la première fois rapportée par Shono et coll. en 1981 (Schéma 5.1).¹⁷¹

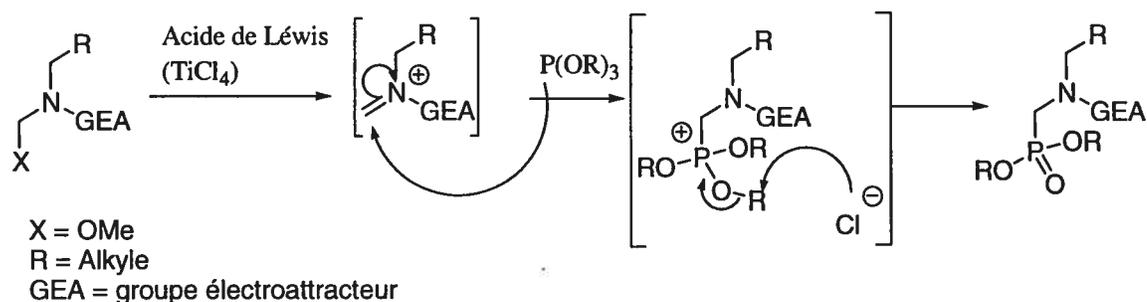


Schéma 5.1 Formation de phosphonates à partir d'ion iminium

La réaction de carbamates α -méthoxy méthylés avec des trialkyles phosphites, en présence de $BF_3 \cdot OEt_2$ ou $TiCl_4$ dans le dichlorométhane pendant 2 à 18 heures à température ambiante, conduit à des dérivés d'acides aminoalkylphosphoniques avec de bons rendements.

5. 2. 2. Les phosphonates en tant qu'analogues d'état de transition

Dans le concept des analogues d'état de transition, la stratégie adoptée consiste à substituer la liaison amide hydrolysable par un groupement susceptible de réagir avec un nucléophile du site actif de l'enzyme, et de générer ainsi un adduit stable qui ressemblerait à l'intermédiaire tétraédrique de la protéolyse. Selon une hypothèse émise par Pauling,¹⁷² une molécule stable qui mimerait la structure du substrat dans son état de transition aurait une bien meilleure affinité pour l'enzyme que le substrat lui-même dans son état fondamental.

L'enzyme développe en effet une affinité accrue mais fugitive pour le substrat dans son état de transition, le site actif étant modelé pour accommoder cet état. S'il existe un intermédiaire instable au cours du cycle réactionnel, l'état de transition ressemblera à cet intermédiaire (postulat de Hammond), en l'occurrence à l'intermédiaire tétraédrique correspondant à la réhybridation $sp^2 \rightarrow sp^3$ du carbone central.

Un inhibiteur qui ressemblerait au substrat dans son état fondamental ne pourrait espérer se lier avec l'enzyme qu'avec une affinité voisine de celle du substrat.

La conception d'un inhibiteur analogue de l'état de transition repose sur une compréhension mécanistique détaillée de la machinerie catalytique afin de concevoir des molécules stables qui ressemblent aux intermédiaires labiles. Les phosphonates sont de bons mimes de l'état de transition et ont été largement utilisés en tant qu'haptènes dans les études concernant les anticorps catalytiques.¹⁷³ Ils ont été incorporés dans des peptides pour mimer l'intermédiaire tétraédrique lors de l'hydrolyse d'un lien amide. Non seulement la géométrie autour du phosphore ressemble à celle de l'intermédiaire mais la longueur de liaison P-O est proche de la longueur d'une liaison C-O lorsque l'état d'hybridation du carbone passe de sp^2 à sp^3 (Figure 5.2).¹⁷⁴

La charge qui se développe durant l'état de transition est aussi égale à la charge portée par un phosphonate.

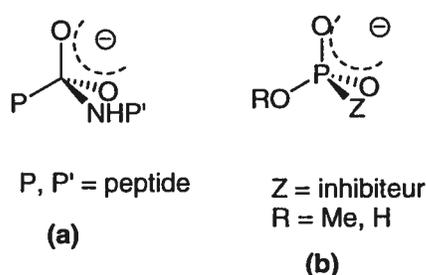


Figure 5.2 (a) Intermédiaire tétraédrique lors de l'hydrolyse d'une liaison amide, mimé par (b) un inhibiteur contenant un phosphore

Notre recherche d'inhibiteurs d'ECE nous a conduit à choisir les acides phosphoniques, non seulement pour leur capacité de chélation avec le zinc du site actif

mais aussi parce qu'ils peuvent être de bons mimes de l'état de transition qui se développe lors de l'hydrolyse de la liaison peptidique.

5.3. Rétrosynthèse

Deux chemins rétrosynthétiques (Figure 5.3) sont envisageables selon que l'inhibiteur incorpore un (R_2) ou deux substituants (R_1 et R_2).

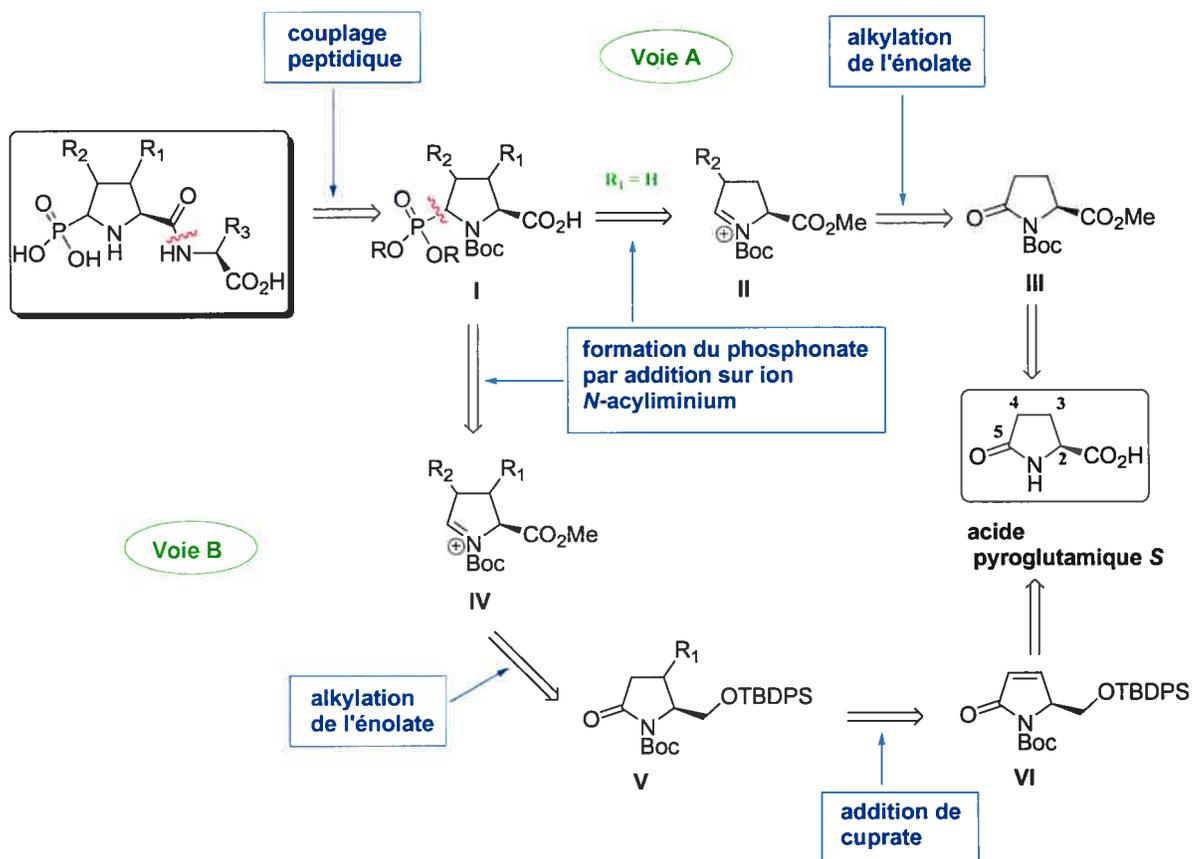


Figure 5.3 Chemin rétrosynthétique à deux voies, l'une menant aux composés monosubstitués et l'autre aux composés disubstitués

Dans le cas d'une monosubstitution sur le cycle de type pyrrolidine, la voie A (Figure 5.3) est utilisée. Les produits cibles résultent d'un couplage entre un acide aminé et l'intermédiaire **I**. Le phosphonate sur C5 provient de l'addition d'un phosphite sur l'ion acyliminium **II** qui provient de la réduction sélective du carbonyle de la lactame. Le substituant sur C4 (R_2) provient de l'alkylation asymétrique de l'ester pyroglutamique **III** via un énolate de lithium. La synthèse débute à partir du chiron¹⁷⁵ acide pyroglutamique de stéréochimie fixée, *S* dans ce cas.¹⁷⁶ Le même type d'approche peut être envisagé sur l'énantiomère *R* pour conduire à une série image dans laquelle le centre C2 est inversé. Cette série a été synthétisée peu de temps après par Guillaume Charron, membre du groupe du Prof. Stephen Hanessian, dans le cadre de sa maîtrise.

Dans le cas où le cycle est disubstitué, la voie B (Figure 5.3) est utilisée. Elle diffère pour les premières étapes puisqu'il faut d'abord former le cycle insaturé **VI** pour pouvoir additionner via un cuprate le premier groupe alkyle (R_1) en C3 (Figure 5.3, V). Pour la suite, la synthèse reste identique à la première voie de synthèse. Cette méthodologie consistant à greffer deux substituants a été développée par Dr Philippe Nakache dans le cadre de son année post-doctorale et ne sera pas rapportée dans ce mémoire.

Une particularité de l'acide pyroglutamique et de ses dérivés est que son centre C2 est difficilement épimérisable. Un tel système peut développer une tension allylique 1,2 et 1,3.¹⁷⁷ Ces tensions sont représentées sur les structures de la figure 5.4.

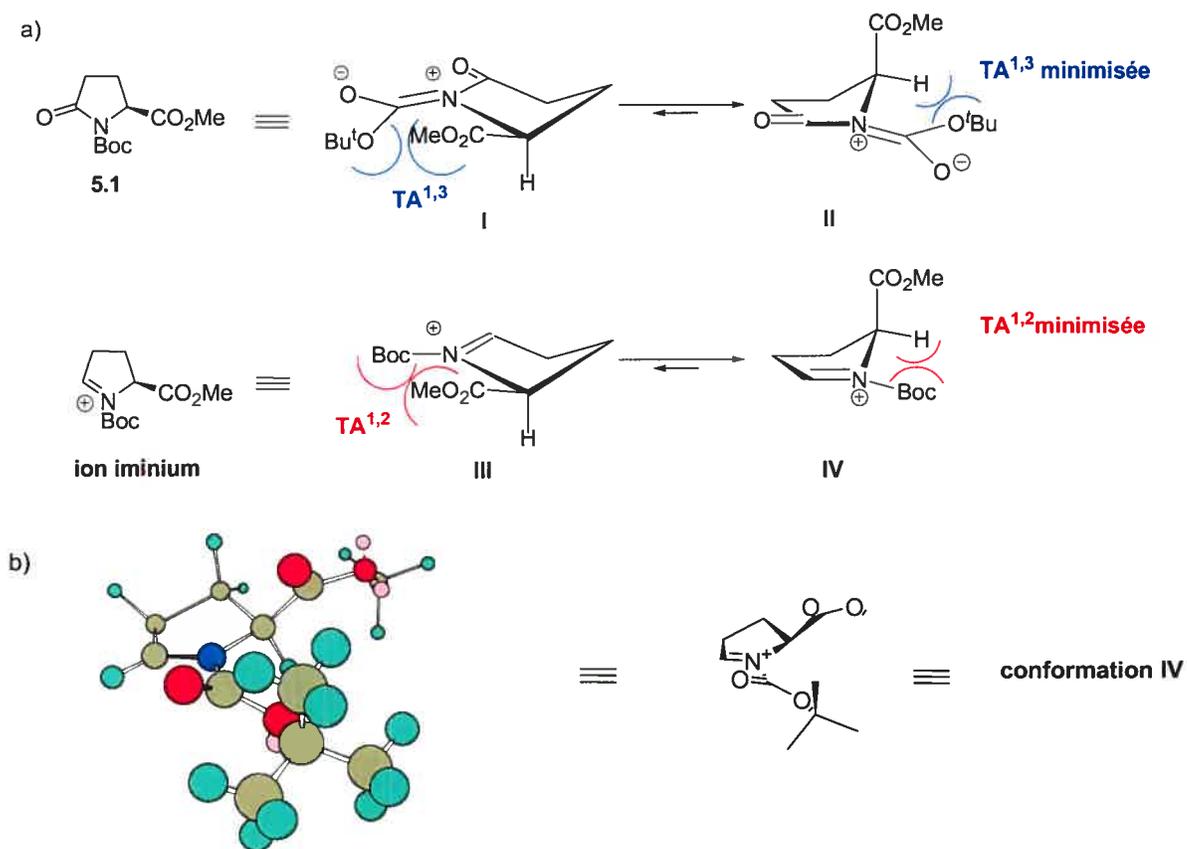


Figure 5.4 a) Tensions allyliques 1,3 et 1,2 ($TA^{1,3}$ et $TA^{1,2}$) sur les dérivés de l'acide pyroglutamique b) Minimisation énergétique de l'ion iminium par Chem 3D pro7

Le substituant en C2, par exemple un ester dans le cas de l'analogue 5.1, se place de telle sorte que la tension allylique 1,3 ($TA^{1,3}$) soit minimisée (Figure 5.4, II). On peut dire que le substituant en C2 est en position pseudo-axiale.

Lorsqu'un ion iminium est impliqué comme un état intermédiaire lors d'une réaction, on parle alors de la minimisation de la tension allylique 1,2 ($TA^{1,2}$) qui place aussi le substituant en C2 en position pseudo-axiale (Figure 5.4).

5. 4. Synthèse des analogues monosubstitués

5. 4. 1. Série (*S*)- substituée en C4 par un groupe allyl (ou propyl)-naphtalényle

5. 4. 1. 1. Synthèse chimique

L'ester méthylique de l'acide (*S*)-pyroglutamique, protégé par un Boc, **5.1** (Schéma 5.2), est préparé sur plusieurs dizaines de grammes à partir de la voie habituelle utilisée dans le laboratoire, à savoir réaction avec le diazométhane pour former l'ester méthylique et protection avec le dicarbonate de di-*tert*-butyle.

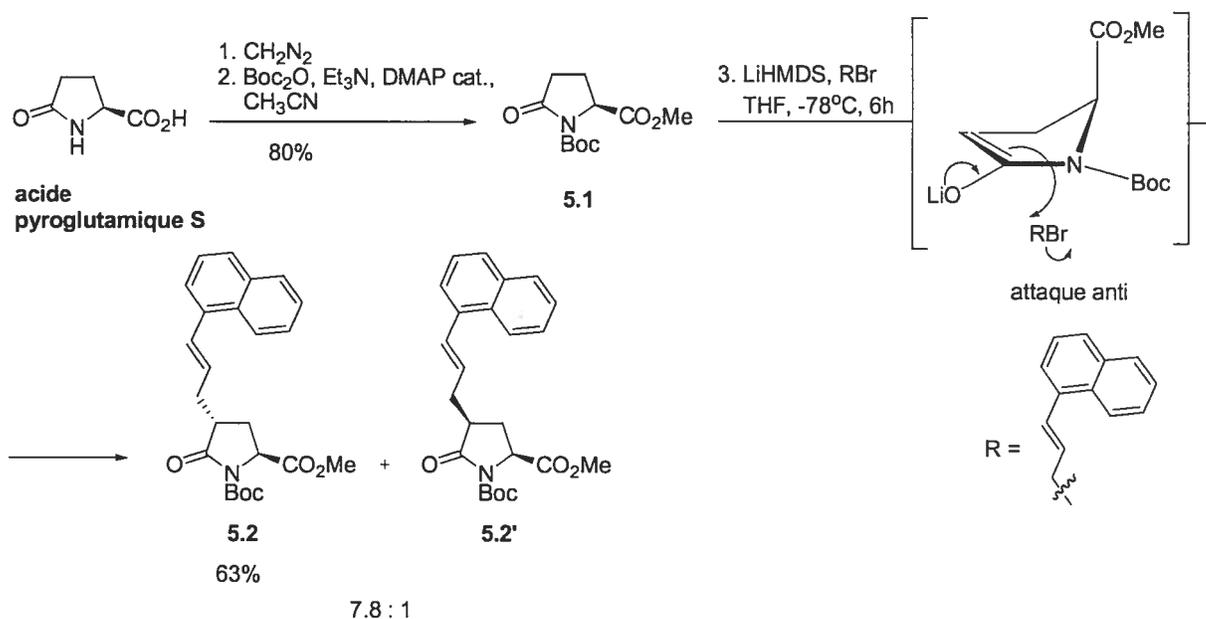


Schéma 5.2 Alkylation sélective anti

Lorsque l'azote de l'acide pyroglutamique est protégé par un groupe électroattracteur comme un Boc, le caractère du carbonyle de la lactame ressemble plus à celui d'une cétone. Il devient alors possible d'alkyler en position α du carbonyle de la lactame en utilisant une base forte comme l'hexaméthylidisilylamide de lithium. Il est admis

que l'électrophile préfère attaquer par la face opposée au groupe carboxyméthyle (Schéma 5.2).¹⁷⁸ La sélectivité obtenue dépend de la taille de l'alkylant. Ainsi, avec un groupe assez volumineux comme l'allyle naphthalényle, la sélectivité observée est assez bonne puisque le produit dans **5.2** est obtenu dans un ratio de 7.8 : 1. Signalons que le réactif, le bromopropényl naphthalène est préparé en trois étapes à partir du 1-naphtaldéhyde selon une procédure déjà utilisée dans le groupe.¹⁷⁹

Le carbonyle de la lactame **5.2** est ensuite réduit sélectivement par le triéthyl borohydrure de lithium,¹⁸⁰ acétylé puis traité avec le triméthylphosphite pour générer un couple de diastéréoisomères **5.3α** et **5.3β** (Schéma 5.3).

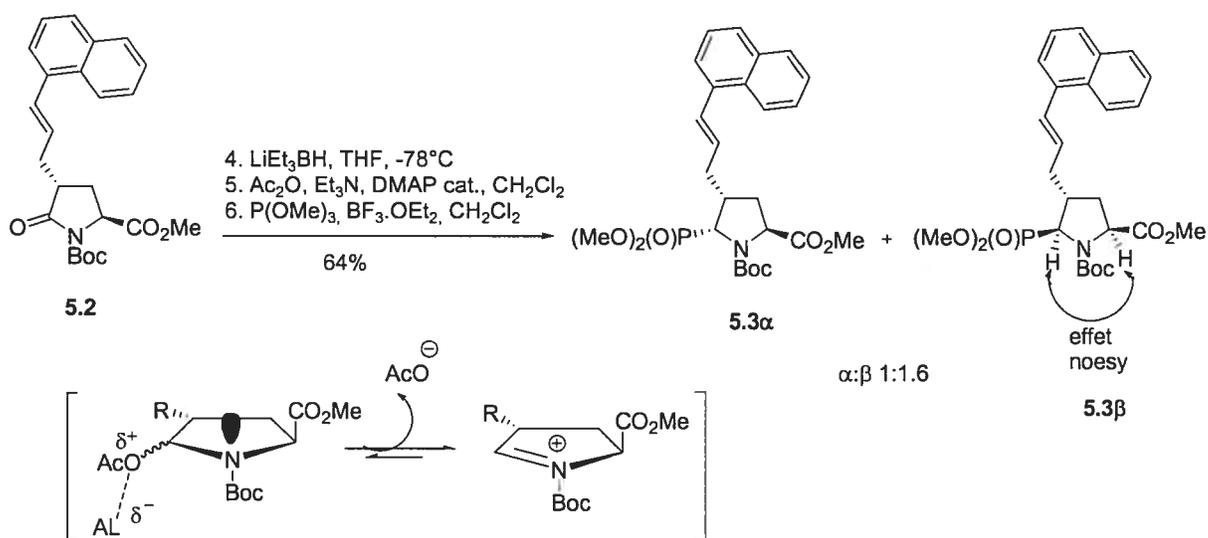


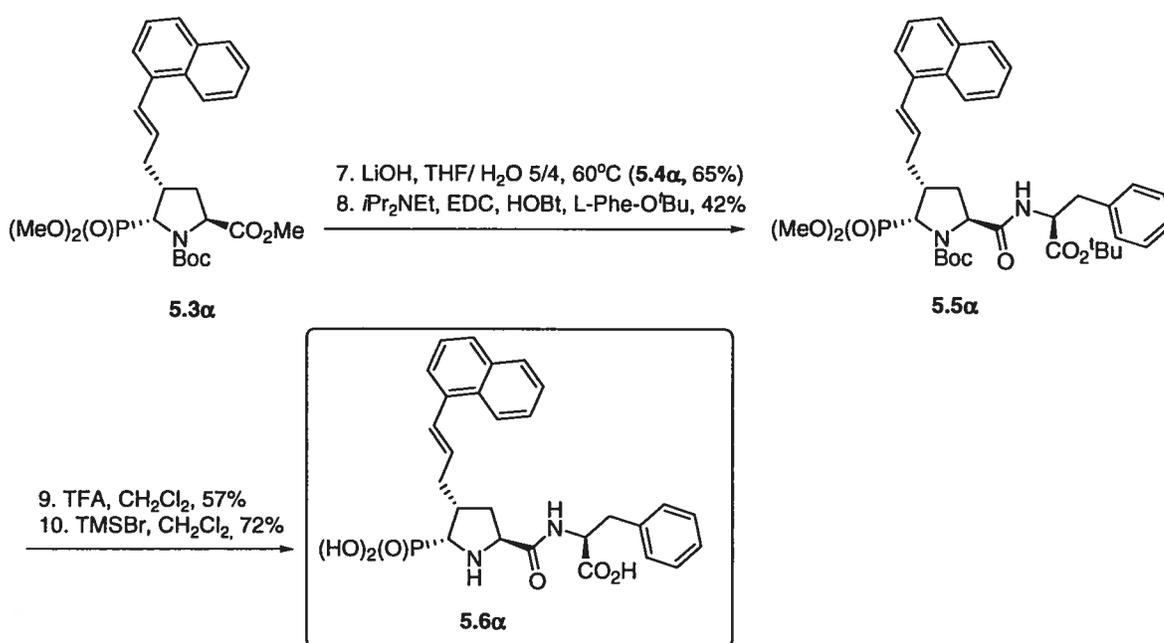
Schéma 5.3 Formation des phosphonates en passant par l'intermédiaire acyliminium

Le produit de la réduction, un hémiaminal, est assez instable et est prompt à une β -élimination pour former un ène-carbamate. L'hémiaminal brut est donc immédiatement acétylé avec de l'anhydride acétique. L'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ participe alors à la formation de l'ion acyliminium en venant chélater le groupe acétyle et donc en favorisant l'expulsion de l'acétate (Schéma 5.3). L'espèce résultante formée *in situ* est très

épimères phosphonates diméthylés **5.3 α** et **5.3 β** . La même réaction a été tentée en utilisant TiCl_4 comme acide de Lewis mais dans ce cas le groupe protecteur Boc a été clivé. Les deux phosphonates sont séparés par une chromatographie et la stéréochimie de chaque isomère a pu être attribuée par RMN du proton, en observant les effets NOESY entre les protons sur C2 et C5.

Signalons également que la signature en RMN ^1H de chaque isomère est caractéristique et ce quel que soit le substituant en C3 et/ou C4. Les groupes méthoxy- du phosphore apparaissent toujours comme deux doublets distincts dans le cas de l'isomère β et comme un multiplet pour l'isomère α .

Dans les étapes suivantes, la synthèse est conduite en parallèle sur chacun des diastéréoisomères **5.3 α** et **5.3 β** (Schéma 5.4) :



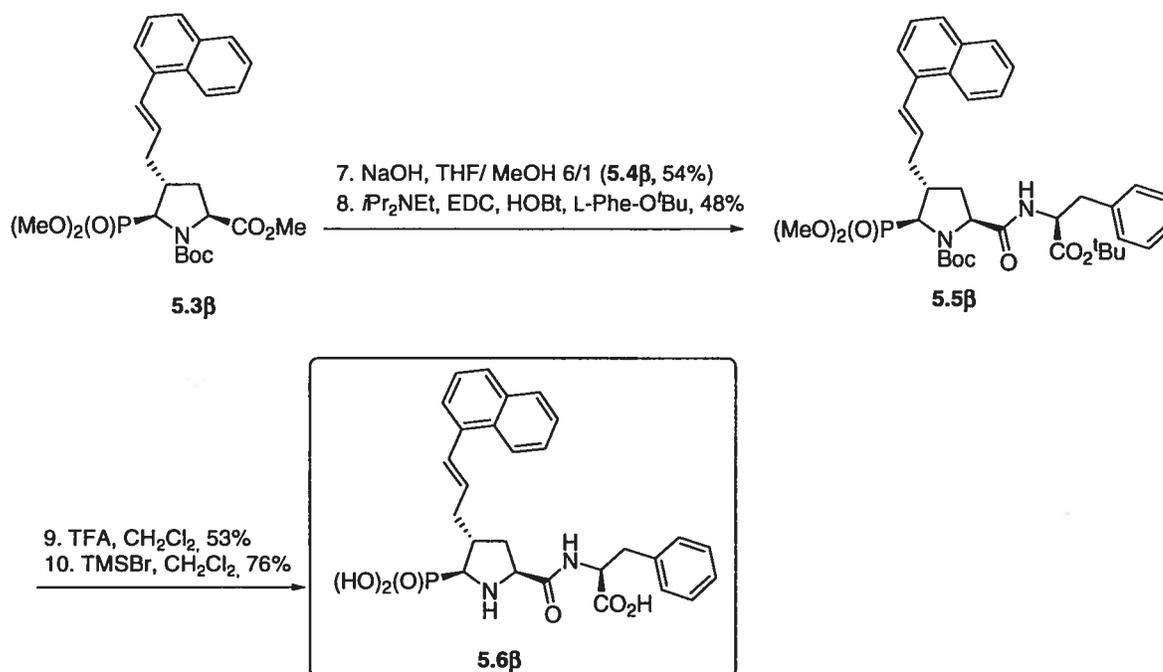


Schéma 5.4 Suite et fin de la synthèse des analogues de la série allyl-naphtalényle

L'ester méthylique en C2 est hydrolysé. Une différence de comportement face à l'hydrolyse est observée. Le composé β s'hydrolyse avec NaOH 1N en 16 heures tandis que l'hydrolyse de l'isomère α nécessite LiOH, en chauffant à 60°C pendant deux jours. Cette particularité sera étudiée et discutée dans un autre paragraphe. Notons toutefois que les méthyles du phosphonate ne sont pas touchés dans ces conditions. L'acide obtenu **5.4** (Schéma 5.4) est directement mis à réagir dans le couplage peptidique suivant avec la phénylalanine protégée sous la forme d'un ester *tert*-butylique. Cette première réaction de couplage se fait dans les conditions classiques avec EDC, HOBT et DIEA. Le rendement est satisfaisant mais diffère d'un diastéréoisomère à l'autre. Les groupements protecteurs sont clivés par TFA et le phosphonate est hydrolysé avec le bromure de triméthylsilyle.¹⁸¹ Il est à noter que les produits finaux obtenus **5.6α** et **5.6β** (Schéma 5.4) sont extrêmement polaires, difficilement manipulables. Ils seront utilisés tels quels sans purification supplémentaire.

A partir de l'intermédiaire **5.5 α** , il est possible d'obtenir l'analogue **5.8 α** (Schéma 5.5) en hydrogénant l'oléfine. Dans le méthanol, l'hydrogénation n'est pas complète mais ce problème est résolu en utilisant l'acétate d'éthyle. Les dernières étapes de déprotection restent inchangées.

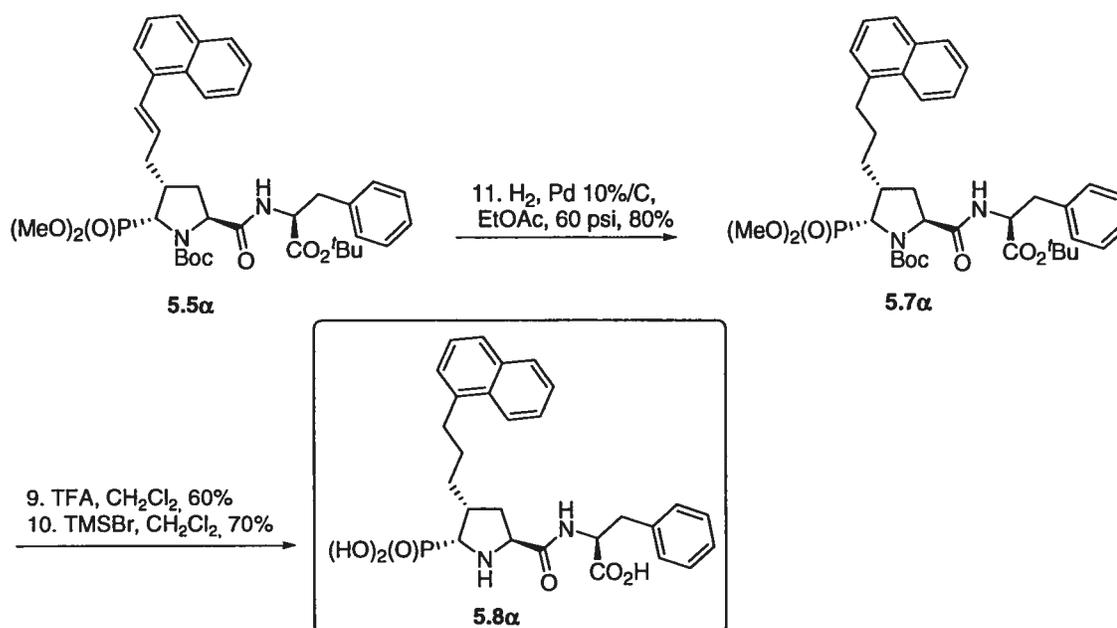


Schéma 5.5 Réduction de l'allyl-naphtalényle

Afin de vérifier l'efficacité des acides phosphoniques en tant que groupes chélateurs de Zn²⁺, deux composés témoins **5.11** (Schéma 5.7) et **5.16** (Schéma 5.8) n'incorporant pas cette fonction sont synthétisés. Donc en principe, ce genre de composés dépourvus de groupes chélateurs ne devrait donner aucune activité biologique.

A partir de l'intermédiaire **5.2** décrit précédemment, nous voulions, après avoir hydrolysé l'ester, coupler l'acide aminé. Mais il est impossible d'hydrolyser l'ester en présence du Boc car le carboxylate généré vient directement cycliser sur le carbonyle de la lactame et ainsi ouvrir cette dernière (Schéma 5.6) pour former l'anhydride de l'acide glutamique. Cette même constatation a été rapportée par le groupe de Pedregal.¹⁸²

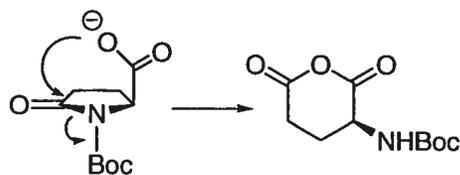


Schéma 5.6 Réaction d'ouverture de la lactame lors de l'hydrolyse de l'ester

Par conséquent, il faut d'abord enlever le Boc avec du TFA, hydrolyser l'ester et remettre le groupe protecteur sur l'amine de la lactame pour réaliser le couplage avec la *S*-phénylalanine-*O*'Bu et obtenir l'acide **5.9** (Schéma 5.7).

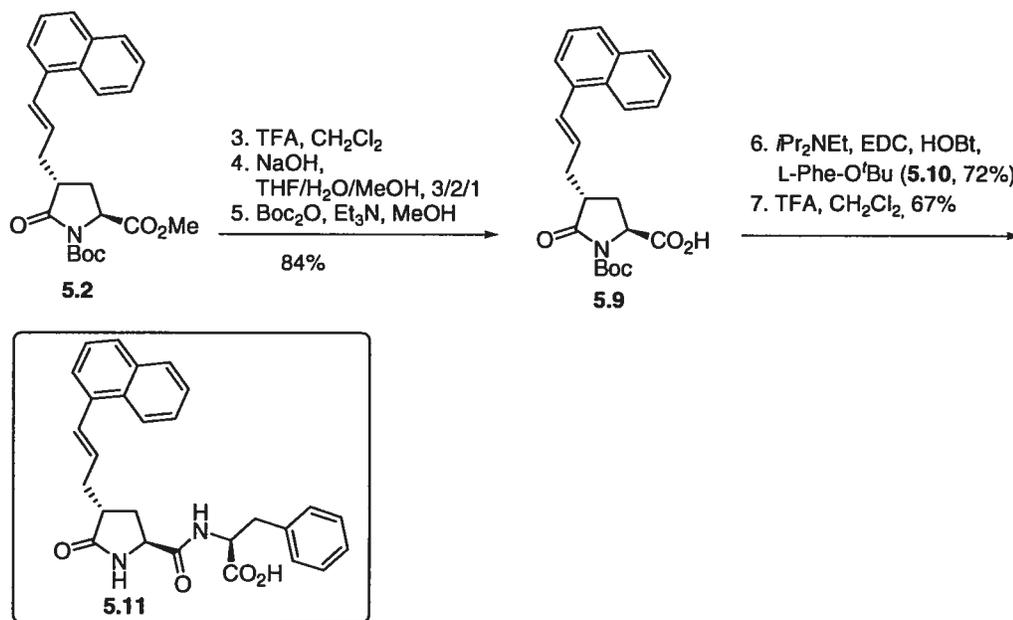


Schéma 5.7 Synthèse du composé témoin avec un groupe allyl-naphtalényle

L'acide **5.9** donne, après couplage et déprotection des groupes *tert*-butyle et Boc par du TFA, le premier témoin **5.11** (Schéma 5.7).

Un second analogue témoin (**5.16**), ne comportant pas de groupe chélateur de zinc, a été synthétisé (Schéma 5.8). Ce composé possède un groupement allyle en C4 et son activité biologique sera comparée à celle de l'analogue **5.11**.

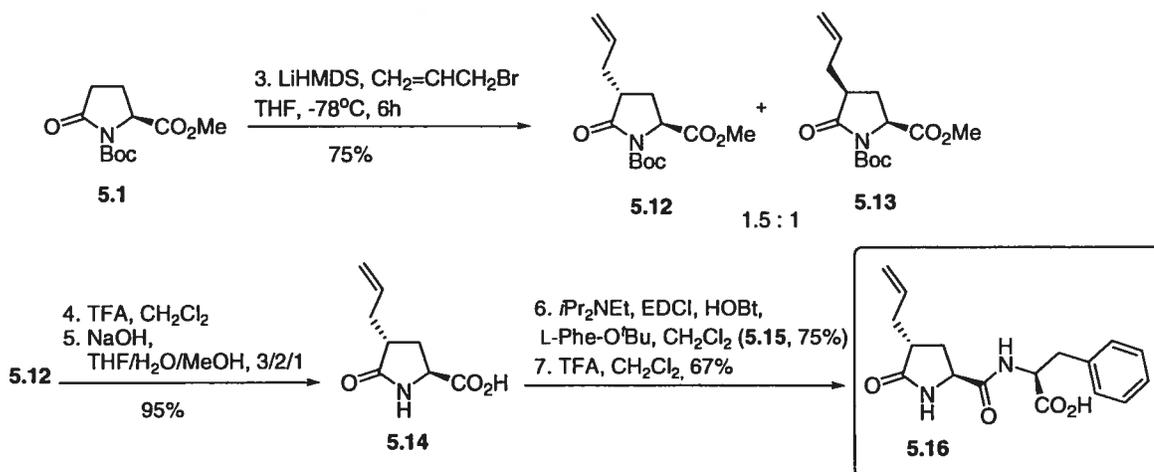


Schéma 5.8 Synthèse du composé témoin avec un allyle en C4.

L'alkylation de **5.1** (Schéma 5.8) avec le bromure d'allyle permet d'obtenir les deux diastéréoisomères **5.12** et **5.13** sous forme d'un mélange quasi-égal et séparable. Ceci permet d'avoir accès à deux précurseurs facilement fonctionnalisables grâce à l'oléfine terminale.

Après hydrolyse de l'ester méthylique de **5.12** (Schéma 5.8), il n'a jamais été possible de reprotéger l'azote de la lactame sous forme d'un groupe Boc. Ceci n'a pas eu de conséquence sur le couplage et les mêmes séquences réactionnelles ont conduit au composé témoin **5.16** (Schéma 5.8). Les résultats biologiques de ce dernier sont rapportés et discutés dans le chapitre 7.

5.4.1.2. Résultats biologiques

Les résultats des tests enzymatiques des composés **5.6β**, **5.6α**, **5.8α** et **5.11** ont été décevants, aucune activité biologique n'ayant pu être décelée. Ceci nous a obligé à revoir

notre voie de synthèse en fonction de la nature des substituants. Il est possible que le choix du groupe en C4 ne soit pas favorable. De plus, la manipulation physique des produits finaux est problématique. Une plus grande attention doit être portée à leur purification et à leur solubilité. Ces problèmes seront étudiés sur des composés modèles.

5. 4. 2. Série (S)- substituée en C4 par un groupe naphtalimidoéthyle

L'inventaire des inhibiteurs de ECE cités dans la littérature semble montrer l'importance d'une chaîne portant un groupe aromatique volumineux en α de l'acide phosphonique (Figure 4.3, analogues 4.1 et 4.2). Après avoir obtenu une famille d'analogues avec un groupe naphtalényle, il semblait intéressant de synthétiser une famille avec un groupe naphtalimide comme dans 4.2, et ainsi de voir l'influence d'une fonction imide sur l'activité biologique.

5. 4. 2. 1. Préparation des intermédiaires phosphonates avec un substituant dérivatisable de type allyle ou cinnamyle

L'objectif est de synthétiser des dérivés possédant en C4 un groupe dérivatisable. Cette approche permettra d'accéder facilement à divers analogues à partir du même intermédiaire avancé dont la stéréochimie des trois centres asymétriques est établie et connue. Le schéma 5.9 illustre les différentes transformations chimiques réalisables à partir d'un précurseur commun.

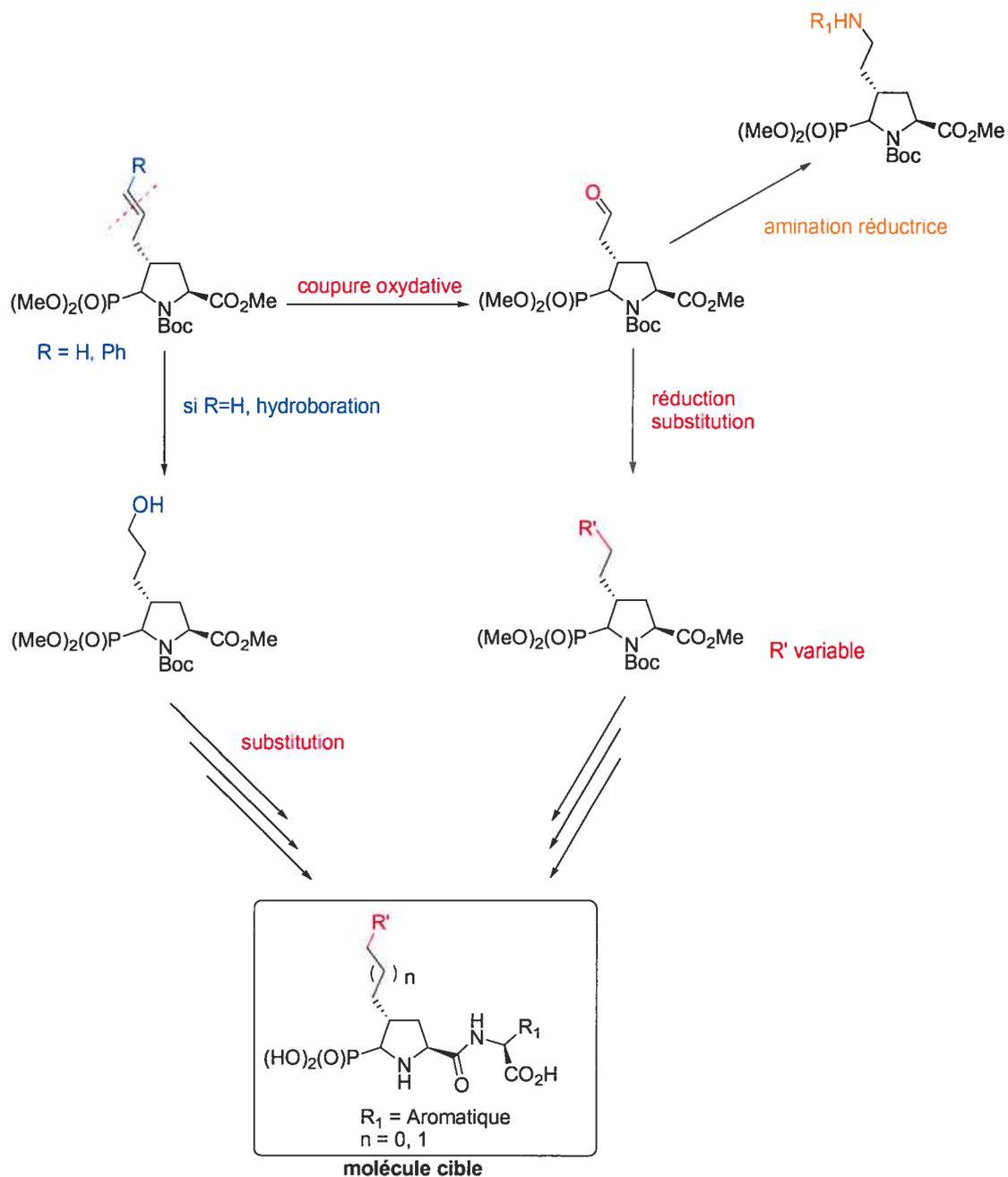


Schéma 5.9 Dérivatisations possibles à partir d'un précurseur commun

Le premier substituant dérivatisable auquel nous avons pensé est le groupement allyle. En effet ce dernier peut, après coupure oxydante de l'oléfine, permettre l'incorporation de différents groupements fonctionnels. En revanche, le faible

encombrement stérique de l'allyle ne permet pas d'avoir une sélectivité lors de l'étape d'alkylation (Schéma 5.10).

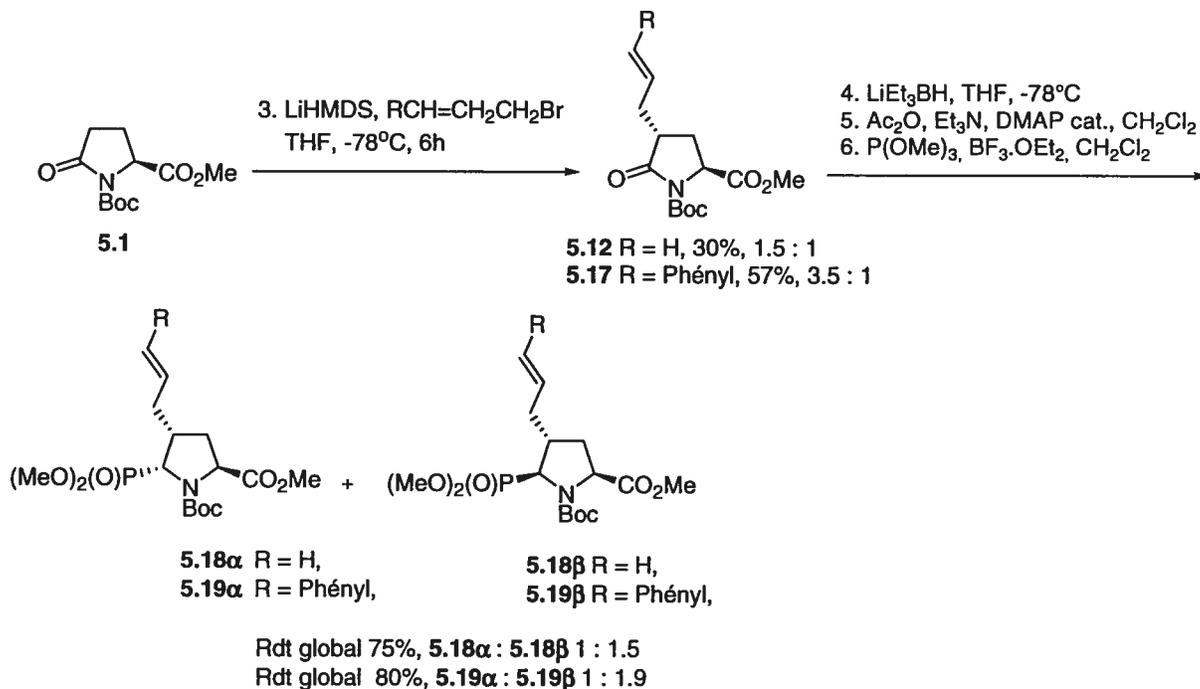
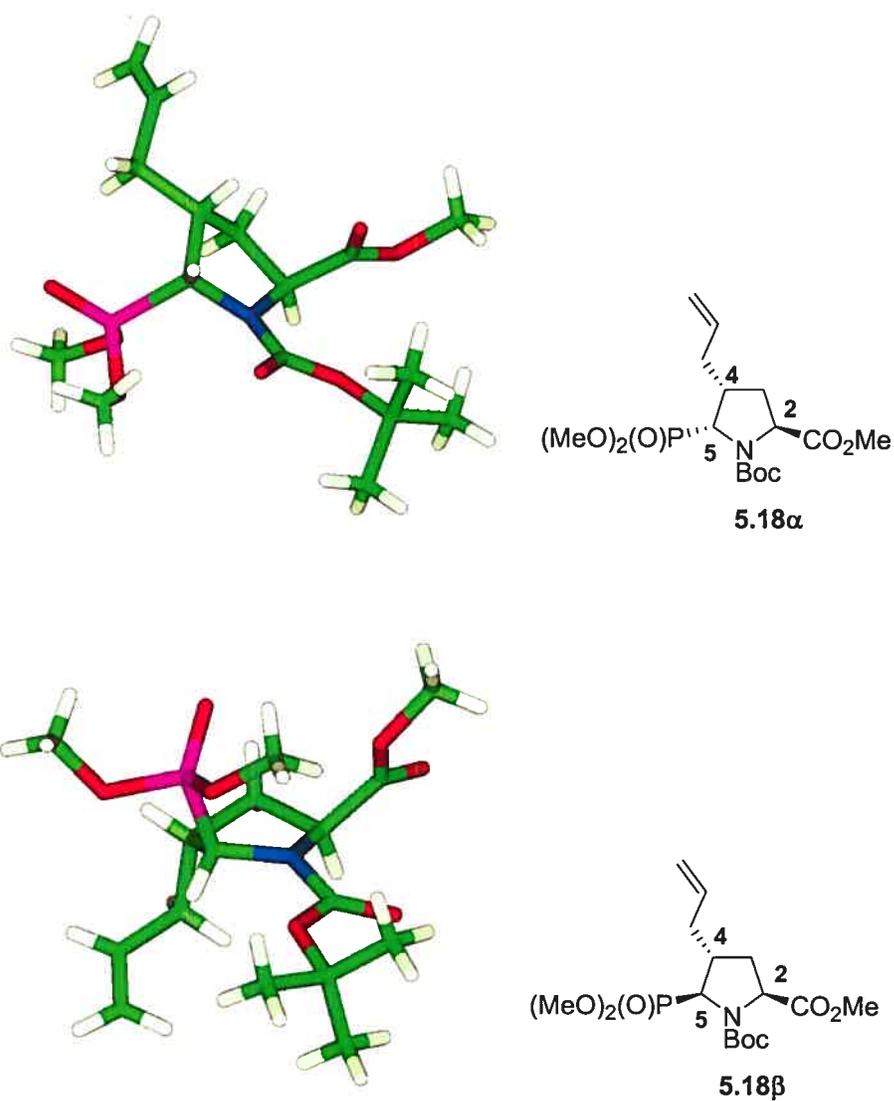


Schéma 5.10 Accès aux intermédiaires dérivatisables

Ainsi deux isomères en quantité quasi-égale et séparables sont obtenus (5.12 et 5.13), ce qui permet d'accéder à l'analogue avec le groupement allyle en C4 *cis* par rapport à l'ester méthylique en C2 (schéma 5.8, 5.13).

Il est donc possible d'arriver aux mêmes intermédiaires dérivatisables en greffant un cinnamyle (Schéma 5.10, 5.17). L'alkylation, dans ce cas là, est plus sélective (*trans* : *cis* 3.5 : 1).

La stéréochimie absolue des phosphonates dans la série allyle a été confirmée par une étude de diffraction des rayons-X des deux diastéréoisomères (Figure 5.5). La représentation ORTEP des structures se trouve en annexe.



C, H, O, N, P

Figure 5.5 Représentation des structures cristallines des intermédiaires phosphonates 5.18 α et 5.18 β en mode bâtonnets (Mercury 1.1.2.)

Ces structures cristallines obtenues sont représentatives de la conformation des deux diastéréoisomères à l'état solide. La situation en solution peut varier.

L'analogue **5.18 α** semble assez ouvert, puisque les quatre groupes (Boc, ester, allyle et phosphonate) semblent se diriger selon quatre orientations différentes. Le carbonyle du

groupement Boc se dirige vers l'extérieur du pseudo plan formé par C2-N1-Boc. L'ester méthylique est en position pseudo-axiale par rapport à l'hydrogène en C2, plus dans le plan du groupement Boc. La tension allylique 1,3 est ainsi minimisée.

Pour l'analogie **5.18 β** , le groupe Boc est positionné de telle sorte que son carbonyle minimise les interactions avec les substituants en C2 et pointe vers l'intérieur de la molécule, le groupe *tert*-butyle vient pointer vers l'extérieur. Les méthoxyphosphonates semblent se déployer pour protéger la face β du cycle.

Le tableau 5.1 énumère les angles de torsions sélectionnés pour les deux diastéréoisomères et ceux trouvés pour *N*-Boc-L-proline¹⁸³ ainsi que le résultat des calculs de planéité du cycle pyrrolidine. Les déplacements chimiques observés par RMN ¹³C de certains carbones γ sont également rapportés. Les deux diastéréoisomères ont des planéités similaires, avec des déviations moyennes les plus faibles de 0.0505 Å du plan formé par les atomes N, C2, C3, C5 pour **5.18 α** et 0.0312 Å pour **5.18 β** , considérant le même plan. Les cycles pyrrolidine de deux analogues sont moins planaires que celui formé par les atomes C2, N, C5, C4 de *N*-Boc-L-proline (déviation moyenne minimale trouvée de 0.018 Å). L'atome sortant du plan considéré est le même pour les deux diastéréoisomères, il s'agit de C4 dont la distance d'éloignement est de 0.5740 Å pour **5.18 α** et de 0.5688 Å pour **5.18 β** (dans le cas de *N*-Boc-L-proline, C3 s'éloigne du plan C2, N, C5, C4 de 0.521 Å). Les longueurs de liaisons qui constituent le cycle pyrrolidine sont sensiblement identiques pour les deux diastéréoisomères.

La seule différence au niveau des déplacements chimiques observés par RMN ¹³C se situe au niveau des carbones C5 et des méthoxyphosphonates. C5 est plus déblindé pour l'analogie β que pour l'analogie α ($\delta(\text{C5})(\mathbf{5.18\beta}) = 58.9$ ppm, $\delta(\text{C5})(\mathbf{5.18\alpha}) = 53.2$ ppm).

Tableau 5.1 Angles de torsions sélectionnés, calcul de la déviation moyenne d'un plan donné à partir de structures cristallines ; déplacements chimiques observés par RMN ^{13}C

	N-Boc-L-proline	5.18α	5.18β
$\tau(\text{NC}_2)$	-17	-11.1	+167.5
$\tau(\text{C}_2\text{C}_3)$	+31	+30.9	-27.8
$\tau(\text{C}_3\text{C}_4)$	-35	-39.2	+37.8
$\tau(\text{C}_4\text{C}_5)$	+24	+32.04	-32.9
$t(\text{C}_5\text{N})$	-4	-13.2	+16.57
$t(\text{BocNC}_2\text{C}_{11})$	-72	-48.6	-70.7
déviati on moyenne par rapport au plan formé par les atomes fixés (rmsd)	0.018 C ₂ , N, C ₅ , C ₄	0.0505 N, C ₂ , C ₃ , C ₅	0.0312 N, C ₂ , C ₃ , C ₅
δ(rotamères)			
CO ₂ Me	-	173.4	173.4/173.1
NC=O	159.9/155.4	153.1	155.4/154.7
C ₂	58.8	58.9/58.5	59.2/58.2
C ₅	-	53.2 (d)	58.9 (d)
OCH ₃ (phosphonates)	-	56.1, 55.1	54.3, 52.9

5. 4. 2. 2. Étude sur les deux dernières étapes d'hydrolyse

Les deux dernières étapes de la synthèse ont nécessité une mise au point des conditions opératoires. En effet, l'hydrolyse par TFA peut perturber les essais biologiques en raison des sels pouvant apparaître. Par RMN ^{19}F , il apparaît deux pics, l'un correspondant à un excès de TFA et l'autre, à un sel d'amine. Différents essais pour éliminer les sels ont été testés mais aucune méthode n'a donné satisfaction. L'hydrolyse a également été essayée avec HCl gazeux dans l'acétate d'éthyle. La réaction n'est cependant jamais complète. L'utilisation de dioxane fournit une hydrolyse complète au bout de 24 h, avec chauffage ou pas selon les cas.

Des purifications par HPLC phase inverse ont également été tentées mais les rendements en condition préparative restent trop faibles. Plusieurs résines ont été testées, notamment une résine échangeuse d'ions¹⁸⁴ mais là encore, la perte de matériel demeure trop importante.

Aussi, la synthèse a été poursuivie jusqu'au produit final, entièrement déprotégé. Une résine spéciale de type CHP20@ gel décrite par S. A. Biller¹⁸⁵ pour purifier des acides phosphoniques, n'a pas non plus donné de meilleurs résultats. Le problème majeur réside non pas dans la réaction proprement dite avec le bromure de triméthylsilyle mais dans le traitement de la réaction. Un mode opératoire satisfaisant a finalement été mis au point et schématisé à la figure 5.6.

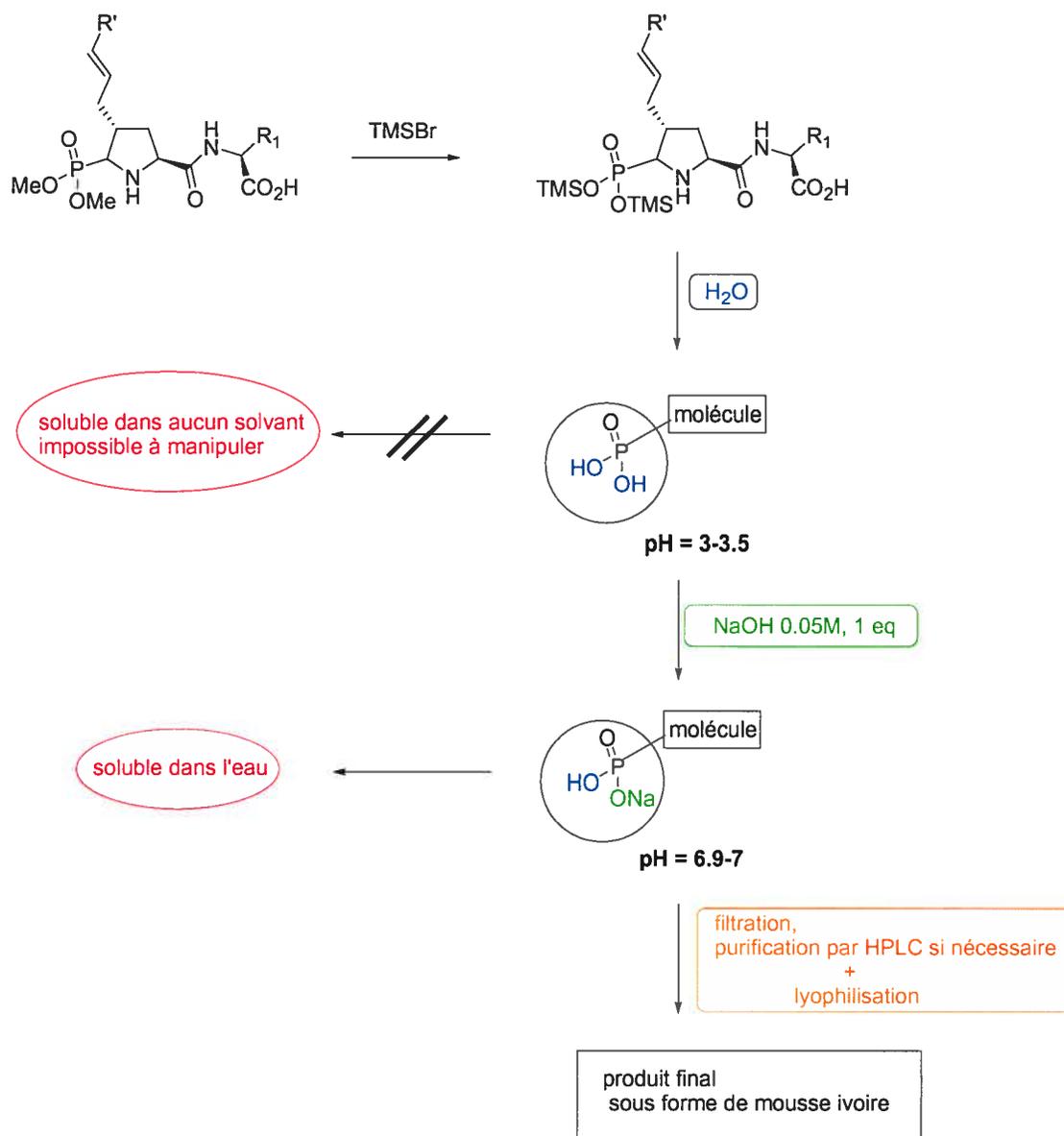


Figure 5.6 Cheminement des manipulations après réaction avec TMSBr

Après agitation dans l'eau pendant plusieurs heures à 4°C, la suspension obtenue après réaction avec TMSBr est centrifugée, le culot est repris et lavé à l'eau. Le pH initialement très acide (2-3 unités selon le composé) est ajusté à 6.8-6.9 avec une solution de NaOH 0.05M. La solution obtenue est filtrée sur micropores et le filtrat est lyophilisé pour conduire à une mousse de couleur ivoire, physiquement manipulable. Les problèmes

de solubilité des produits finaux ont donc été résolus. La purification, si nécessaire, s'opère par HPLC en mode préparatoire après analyse LCMS.

5. 4. 2. 3. Introduction de la diversité au niveau du substituant en C4 et au niveau de l'acide aminé

L'oléfine est clivée par ozonolyse suivie d'un traitement avec le sulfure de diméthyle (Schéma 5.11). L'aldéhyde obtenu est réduit sélectivement par le tétraborohydrure de sodium pour former un alcool primaire **5.20 β** (Schéma 5.11). Ce dernier est ensuite activé sous forme de tosylate qui est lui-même déplacé par du naphthalimidure de sodium. La réaction est lente, deux jours, mais le rendement est acceptable (40 %).

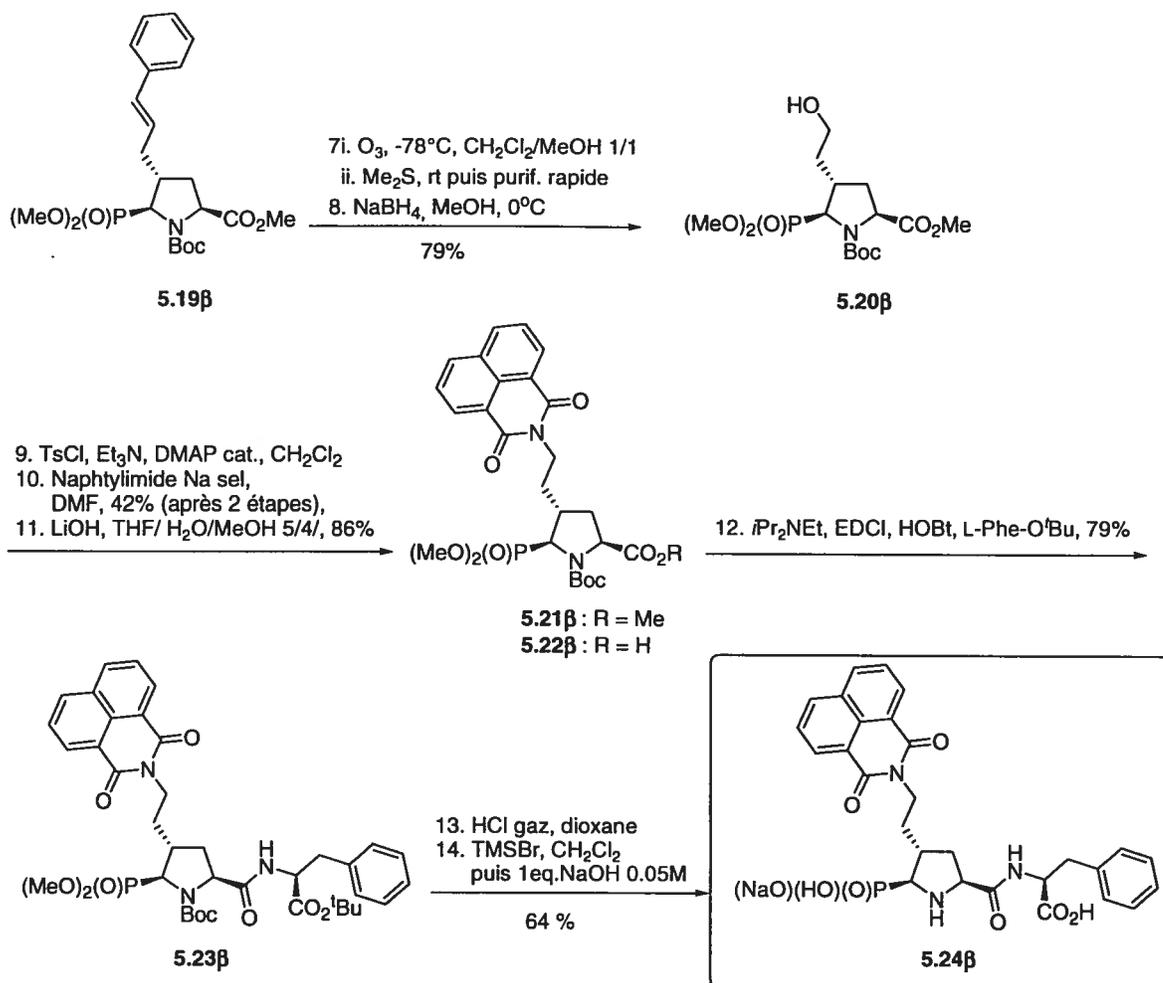


Schéma 5.11 Dérivatisation avec le naphthylimide, par réaction de substitution ; accès à l'analogue (2S, 4R, 5S)

Notons sur le schéma 5.11 que les conditions de couplage peptidique ont changé, de meilleurs rendements sont en effet obtenus avec EDCI comme agent de couplage.¹⁸⁶ Ce dernier sera conservé par la suite sauf exception.

Plusieurs essais de substitution directe de l'alcool par le naphthalimide ont été tentés dans les conditions de Mitsunobu,¹⁸⁷ sans succès (Schéma 5.12), alors que cette même réaction fonctionne sur le cyclohexylméthanol pris comme un composé modèle.

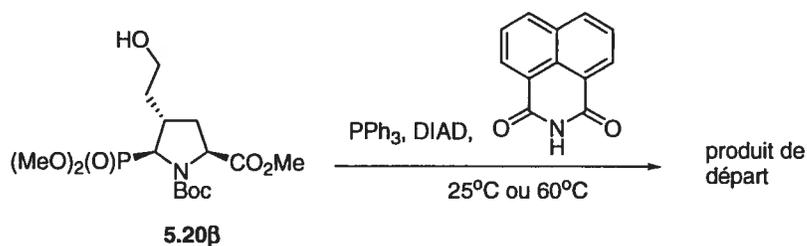


Schéma 5.12 Essais de substitution directe de l'alcool dans les conditions de Mitsunobu.

Le même intermédiaire **5.22β** a été couplé avec un autre acide aminé, le tryptophane, afin d'observer l'influence de l'acide aminé sur l'activité biologique (Schéma 5.13). De nombreux inhibiteurs connus pour les ECE incorporent cet acide aminé (Chapitre 4, figures 4.3 et 4.5). Il est peut-être un facteur essentiel à l'activité.

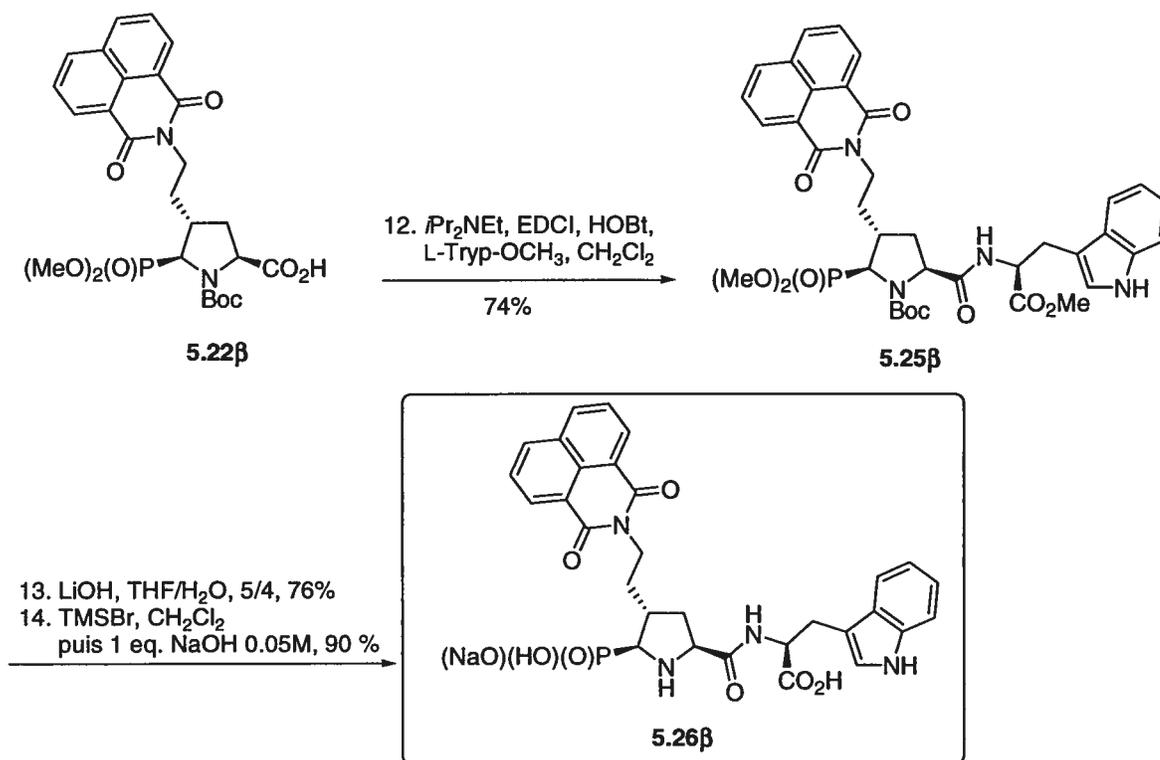


Schéma 5.13 Analogue (2*S*, 4*R*, 5*R*) avec le tryptophane comme acide aminé latéral

Les mêmes séquences réactionnelles sont appliquées sur le précurseur **5.18 α** (schéma 5.14) et aboutissent à la formation d'un autre isomère, l'analogue **5.24 α** .

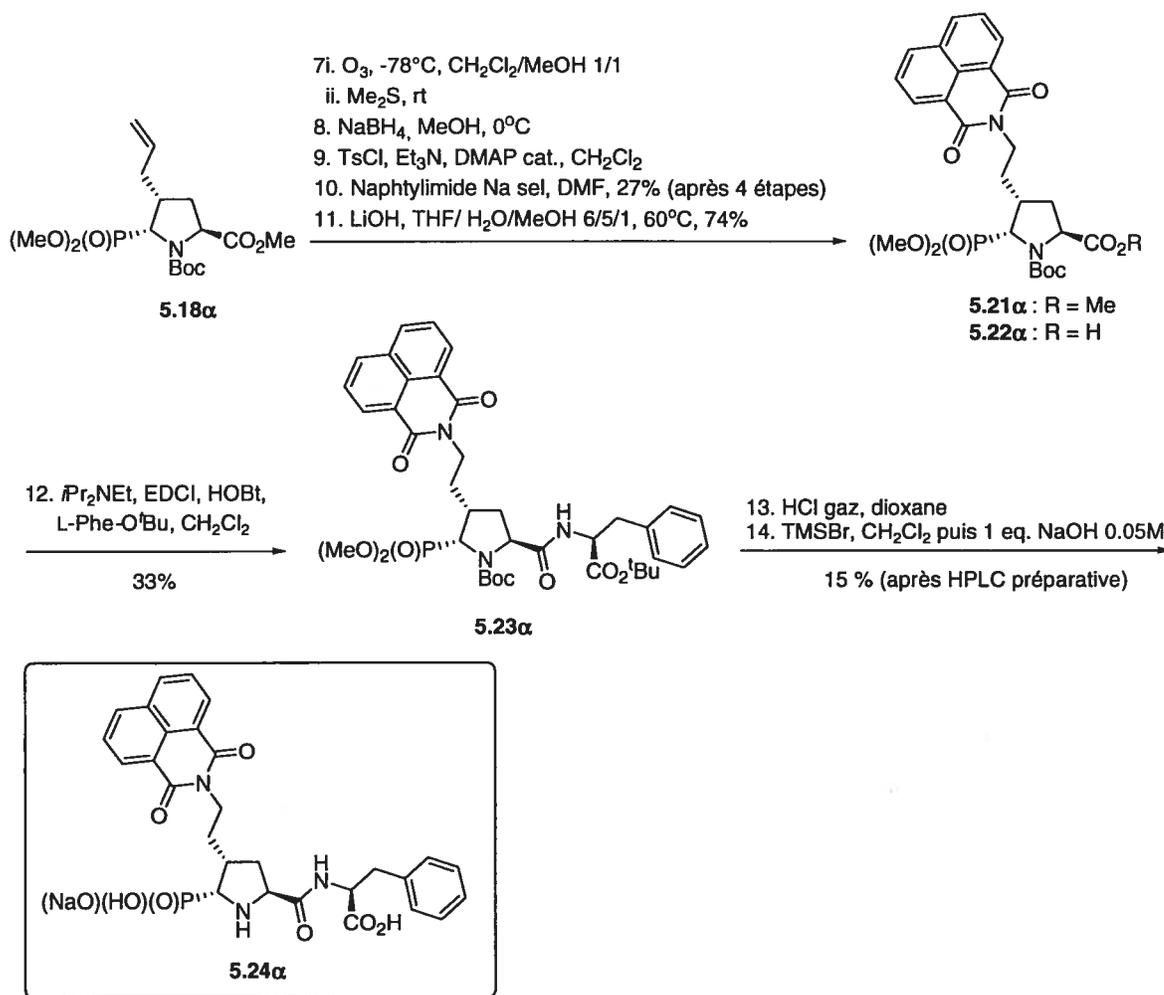


Schéma 5.14 Accès à l'isomère (2*S*, 4*R*, 5*R*)

L'hydrolyse de l'ester méthylique de **5.18 α** est plus difficile que pour celui de l'isomère **5.18 β** . Les dernières étapes sont inchangées. L'analogue **5.24 α** est obtenu dans un faible rendement ; ceci est dû à la purification nécessaire dans ce cas-ci, réalisée par HPLC préparative couplée au LCMS.

5. 4. 2. 4. Accès à l'analogue (2*S*, 4*S*, 5*R*)

L'allylation en C4 génère un couple de diastéréoisomères dans un ratio 1 : 1.5, ce qui rend possible l'isolation de l'isomère **5.13**, dont le substituant est *cis* avec l'ester méthylique (Schéma 5.8). Par conséquent, un isomère de **5.24α** (Schéma 5.14) avec la stéréochimie (*S*) sur le centre C4 est également synthétisé, ceci afin de voir si un changement de stéréochimie sur ce centre a des répercussions sur l'activité biologique. La synthèse est identique à celle de l'analogue **5.24α** (Schéma 5.14) mais la formation du phosphonate génère deux diastéréoisomères non séparables **5.27** (Schéma 5.15).

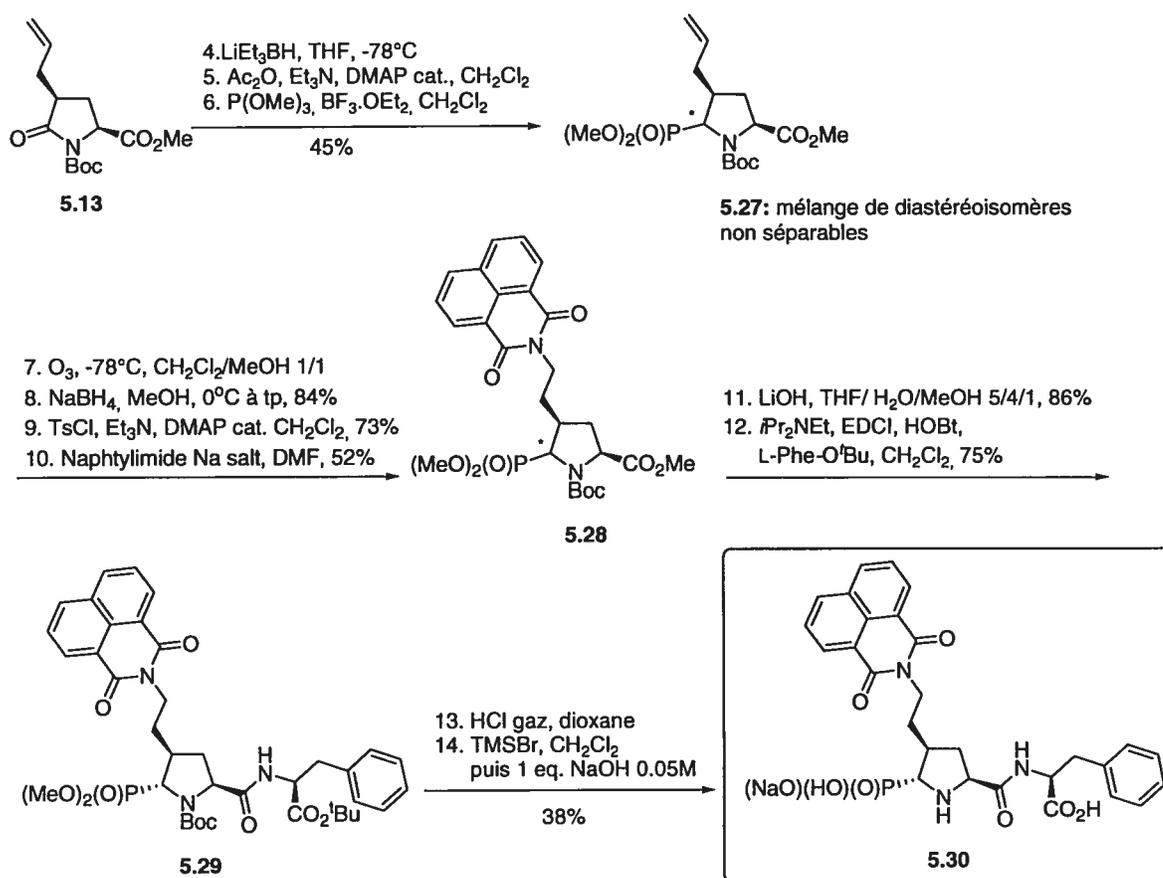


Schéma 5.15 Synthèse du dérivé naphthalimidoéthyle (2*S*, 4*S*, 5*R*)

La synthèse est poursuivie sur le mélange **5.27**. Lors de la purification qui suit le couplage peptidique, un seul des deux diastéréoisomères possibles est récupéré, il s'agit de **5.29** (Schéma 5.15). Il est possible que lors de l'étape de formation du phosphonate, un isomère se soit formé de façon majoritaire et qu'au fur et à mesure des purifications, l'isomère minoritaire se soit perdu. Les dernières étapes de synthèse restent identiques à celles utilisées pour la séparation des analogues précédemment décrits. Elles aboutissent à la formation de l'analogue **5.30** (Schéma 5.15) possédant le groupe naphthalimidoéthyle en C4 *cis* par rapport au substituant en C2.

5. 4. 3. Série (*S*)- substituée en C4 par un groupe isobutyle

Une série de deux diastéréoisomères est synthétisée avec un groupe isobutyle en C4, ceci afin de vérifier si l'activité biologique varie avec la taille du substituant en cette position. Cette série sera alors comparée avec celle possédant un groupement volumineux (un naphthalimidoéthyle) à la place de l'isobutyle.

L'intermédiaire commun **5.1** est alkylé avec le bromure de 2-méthyle-2-propène pour donner deux diastéréoisomères dans un ratio quasi identique (1.5 : 1 en faveur du *trans*) séparables par chromatographie. L'absence de sélectivité est attribuée au groupe alkylant qui n'est pas assez encombrant pour induire une différence lors de l'attaque. L'oléfine **5.31** est ensuite réduite pour former l'isobutyle de **5.32** (Schéma 5.16) par hydrogénation en utilisant le catalyseur de Pearlman. La formation du phosphonate est identique aux autres dérivés.

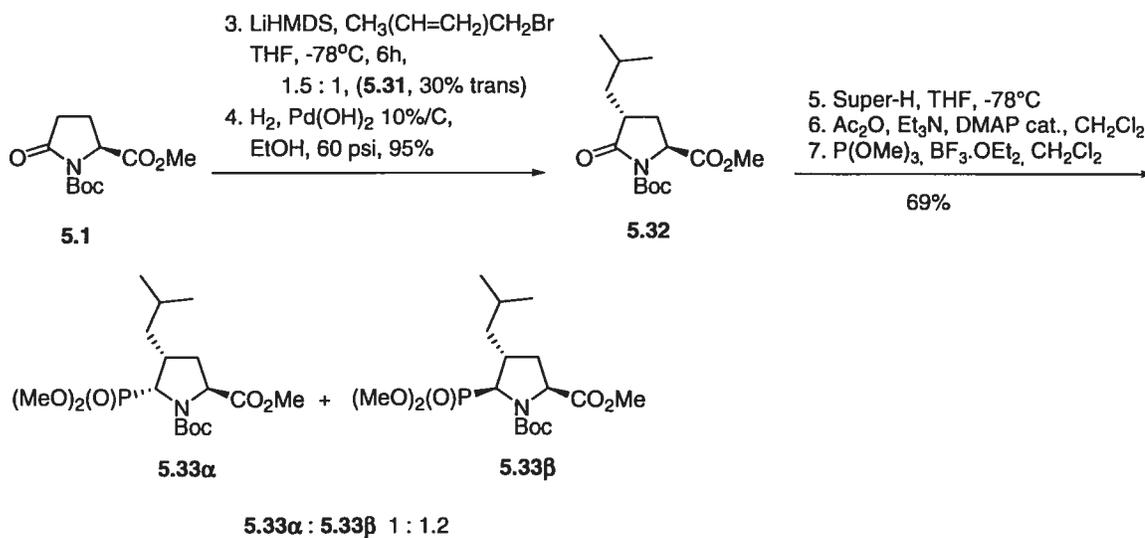


Schéma 5.16 Accès aux phosphonates avec un isobutyle en C4

Les deux diastéréoisomères phosphonates **5.33α** et **5.33β** sont séparés et leur stéréochimie est déterminée par RMN ¹H. Dans le cas de l'isomère **5.33β**, les protons portés par C2 et C5 présentent des effets NOESY, ce qui atteste d'une stéréochimie *cis* entre ces deux centres stéréogéniques.

La synthèse est poursuivie en parallèle sur chaque diastéréoisomère (Schéma 5.17).

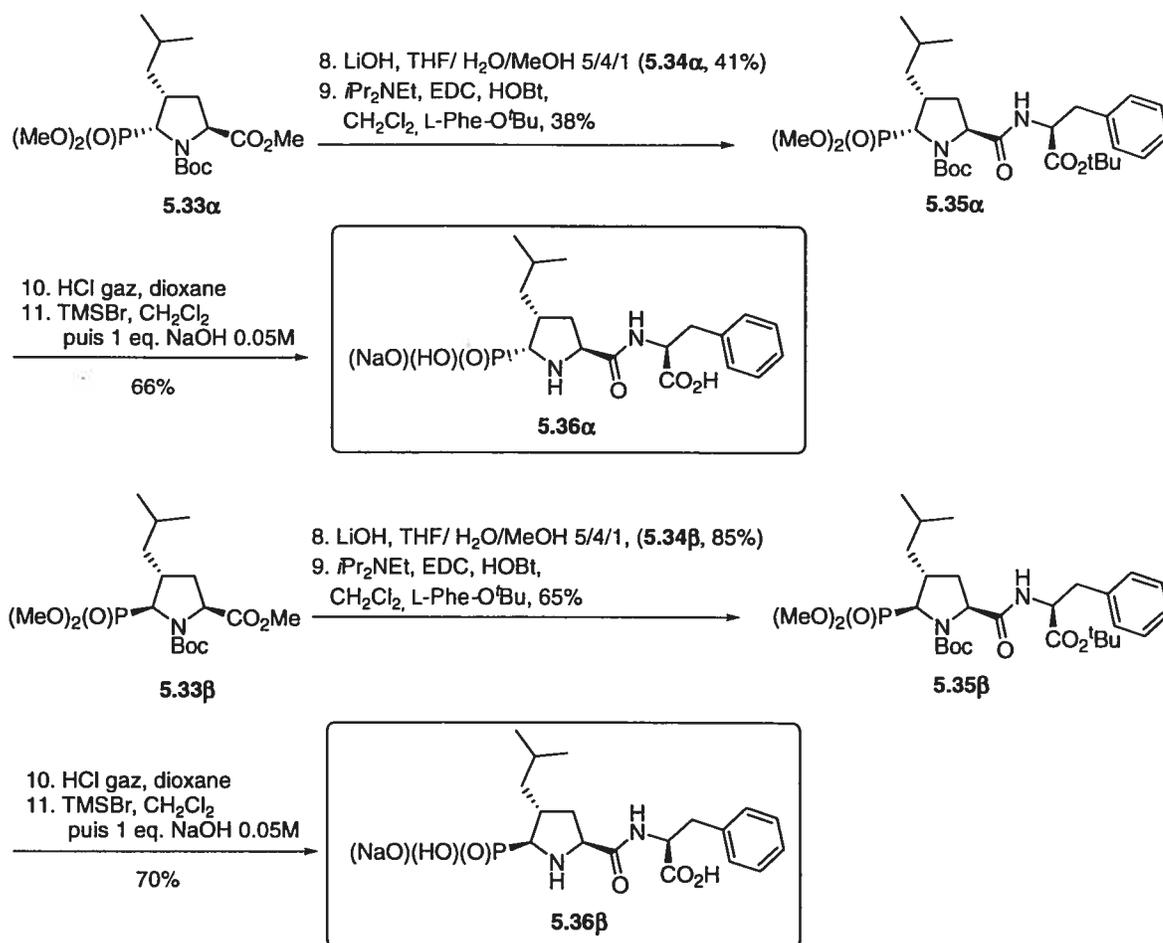


Schéma 5.17 Accès aux analogues avec un isobutyle en C4

Ainsi deux autres analogues **5.36 α** et **5.36 β** (Schéma 5.17) sont obtenus dans des rendements comparables et acceptables. Ils possèdent un groupe isobutyle en C4 et sont de stéréochimie opposée au niveau du centre C5.

5. 4. 4. Etude préliminaire du comportement de chacun des diastéréoisomères face à l'hydrolyse de l'ester méthylique en C2

Au cours de cette étude, une différence de comportement dans l'hydrolyse de l'ester en C2 entre les isomères phosphonates a été observée et ceci quel que soit le substituant en C4. Ainsi, il est apparu que l'isomère β au niveau du phosphonate s'hydrolyse plus

rapidement que son analogue α . Cette observation nous a conduits à suivre l'hydrolyse de deux composés témoins par RMN du phosphore (Figure 5.7).

Nous ne disposons pas pour faire cette étude cinétique d'isomères α et β possédant des groupes similaires en C4. Nous avons utilisé l'analogue **5.19 α** avec un cinnamyle en C4 comme modèle représentatif des isomères α et l'analogue **5.18 β** avec un allyle en C4 comme modèle représentatif des isomères β . Nous supposons alors que le substituant en C4 n'a pas d'influence sur l'hydrolyse des analogues. Ceci semble être justifié puisque nous avons vu au cours de notre recherche que tous les isomères α , quelque soit le substituant en C4, partageaient le même comportement face à l'hydrolyse.

La figure 5.7 illustre le suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de l'ester en C2, en fonction du temps pour chacun des composés. L'hydrolyse du composé **5.19 α** est sans surprise, l'intensité du pic à 26.05 ppm correspondant au phosphore de l'ester de départ diminue au fur et à mesure qu'un autre pic à 27.45 ppm correspondant au phosphore de l'acide carboxylique se forme (Figure 5.7A). L'hydrolyse de tous les analogues α est lente et nécessite deux jours, à 60°C pour être complète. L'hydrolyse de tous les analogues β semble être plus rapide, il n'est pas nécessaire de chauffer pour que la réaction soit complète en 52 h (d'après le suivi par CCM).

L'hydrolyse du composé **5.18 β** est différente de celle du composé **5.19 α** . L'intensité du pic du produit de départ à 26.91 ppm diminue au fur et à mesure qu'un groupe de deux signaux apparaît au bout de quinze minutes (Figure 5.7B). Au bout de 1 h 40, seuls sont observés les signaux à 28.06 et 27.73 ppm. Les deux signaux sont les seuls apparents sur le spectre pendant deux heures environ, temps au bout duquel ils diminuent au profit de deux pics se formant vers 25 ppm, correspondant à l'acide. Au bout de 5 h, environ 10% d'acide est formé. A 26 h correspond à 50% environ de conversion de l'intermédiaire en produit. A 52 h, les signaux de l'intermédiaire sont encore visibles mais en général, au bout de ce temps la réaction semble être complète par CCM. C'est seulement après trois jours de réaction que tous les signaux de l'intermédiaire ont complètement disparu et que seuls les pics de l'acide à 25.02 ppm sont visibles.

Les spectres indiqués sur la figure 5.7 sont ceux dont les changements d'intensité des signaux sont significatifs. Les signaux obtenus après 26 h ont été alignés manuellement

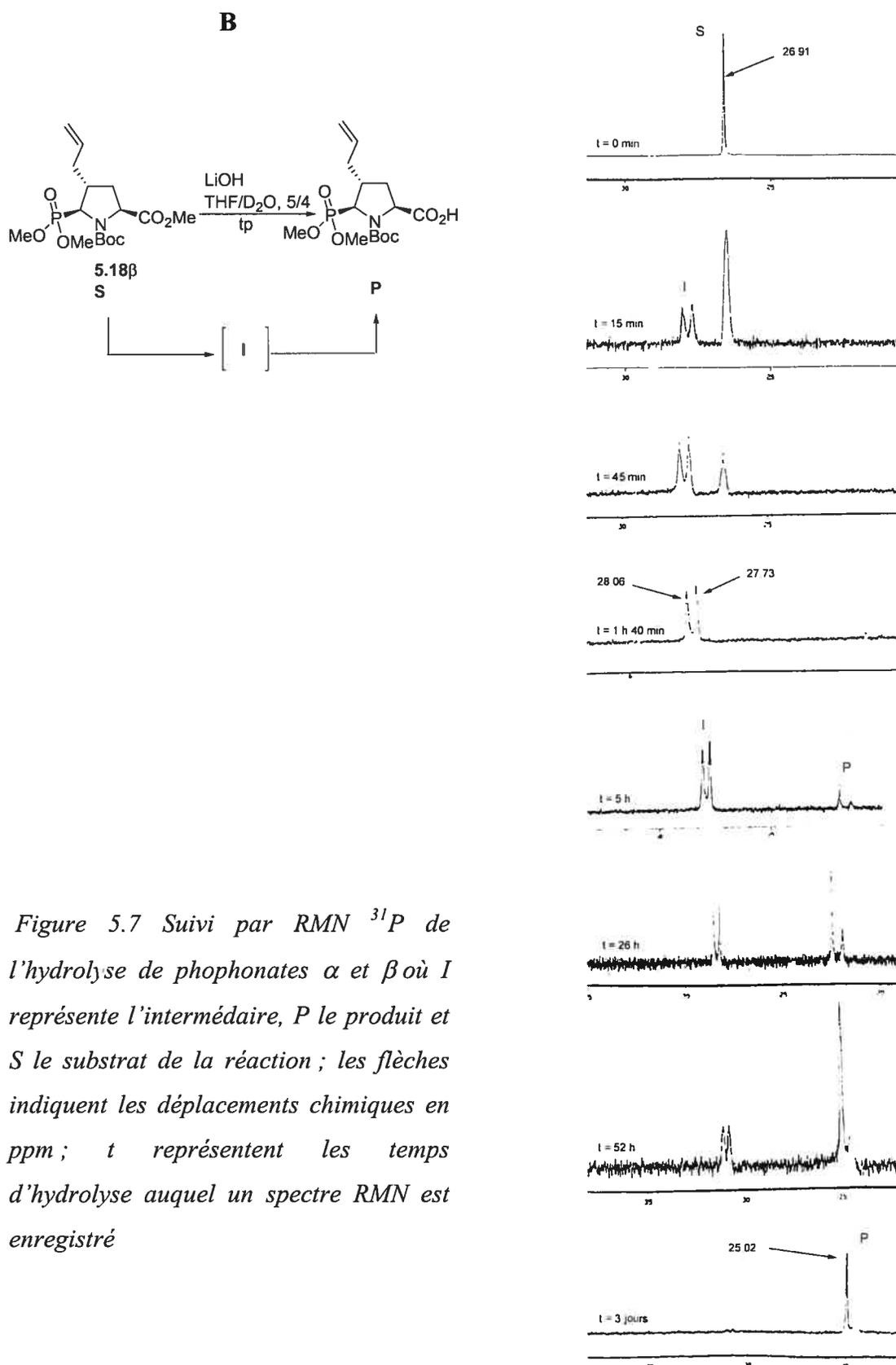
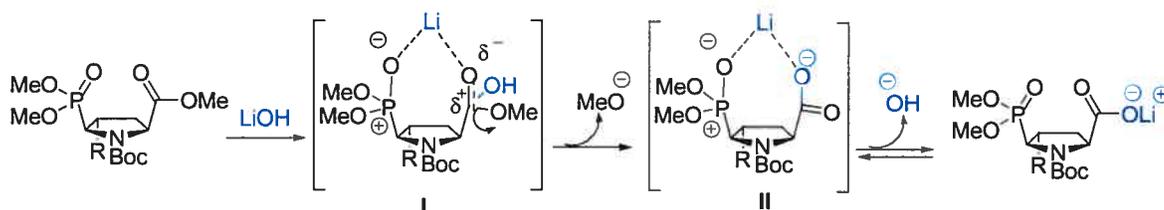


Figure 5.7 Suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de phosphonates α et β où I représente l'intermédiaire, P le produit et S le substrat de la réaction ; les flèches indiquent les déplacements chimiques en ppm ; t représentent les temps d'hydrolyse auquel un spectre RMN est enregistré

Les signaux attribuables au produit P sont doubles, ceci est probablement dû à l'existence des deux rotamères du produit.

Ce suivi de l'hydrolyse a entraîné une étude plus approfondie par RMN ^{31}P mais aussi par RMN ^1H et ^{13}C avec température variable. Il semblerait qu'il se forme un intermédiaire lors de l'hydrolyse. Des tentatives pour piéger ce dernier en abaissant la température ne nous ont néanmoins pas permis de lui attribuer une structure précise. Mais des hypothèses concernant le mécanisme peuvent être proposées (Schéma 5.18) :

Voie A



Voie B

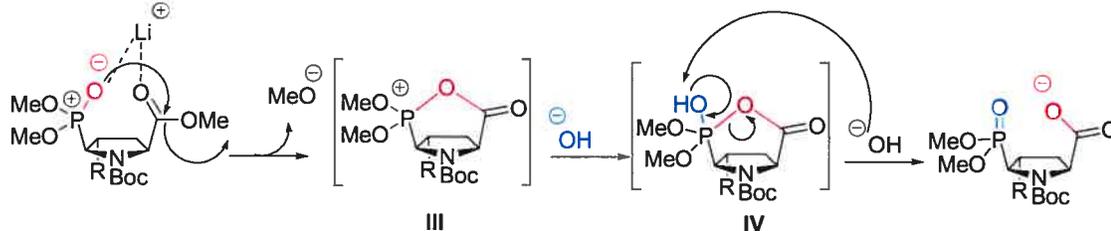


Schéma 5.18 Différents mécanismes possibles pour l'hydrolyse des phosphonates β

Des précédents dans le groupe concernant l'hydrolyse d'un ester méthylique en présence d'un phosphonate ont montré que le carbonyle de l'ester est le groupe le plus électrophile. C'est donc lui qui subit l'attaque de l'hydroxyle.¹⁸⁸

Sur le schéma 5.18, le cycle est représenté plan pour faciliter la visualisation des mécanismes. En réalité, un tel système n'existe pas sous cette forme.

La voie A présume une coordination d'un ou deux intermédiaires tétrahédriques par attaque externe de LiOH. La voie B présume une participation du phosphonate et la formation transitoire d'un anhydride mixte IV. Un anhydride mixte C-P pentacoordiné, de structure voisine à celle de l'intermédiaire IV suggérée, a récemment été rapporté par l'équipe du professeur Li, dans le cadre de la réaction d'acides *N*-phosphorylaminés par

Ala-OEt.¹⁸⁹ De plus, l'intermédiaire **III** suppose que l'oxygène de P=O et le carbone du carbonyle de l'ester soient suffisamment proches pour qu'une telle attaque intramoléculaire puisse se faire. D'après les structures obtenues par les rayons-X (Figure 5.5), cette distance semble trop importante. Mais, les structures ne sont pas figées de la sorte en solution. Une légère distorsion des liaisons P-C et C2-(C=O) pourrait rapprocher les groupes suffisamment pour conduire à une participation de l'oxygène du phosphonate à l'hydrolyse de l'ester. Il est connu que certains groupes voisins peuvent catalyser de manière intramoléculaire l'hydrolyse d'esters comme par exemple les carboxylates,¹⁹⁰ les hydroxyles,¹⁹¹ les cétones,¹⁹² les amides¹⁹³ et même les oximes.¹⁹⁴ Chaque cas rapporte un intermédiaire cyclique particulier au système.

L'apparition de deux groupes de signaux en RMN ³¹P pourrait correspondre au phosphore pentacoordonné de l'intermédiaire **IV**.

Des études plus approfondies ont été réalisées, en particulier des études RMN ¹³C découplé du phosphore. Il n'a jamais été possible d'observer un couplage entre le carbone du carbonyle de l'ester et le phosphore tel que l'on s'attendrait à le voir si on passait par l'intermédiaire **IV**, de la voie B (schéma 5.18). Le rôle du lithium semble important puisque des tentatives d'hydrolyse avec KOH ou NaOH n'ont jamais donné satisfaction. Seule la réaction avec LiOH fonctionne. Des expériences seraient à entreprendre pour prouver l'importance de la chélation avec Li⁺, en particulier refaire l'hydrolyse en ajoutant un éther couronne '12-4' qui coordine les ions lithium et une autre expérience en ajoutant LiCl, ceci pour augmenter l'effet de chélation s'il existe et donc augmenter la vitesse d'hydrolyse.

D'après les expériences ¹³C du suivi de la cinétique d'hydrolyse, le carbonyle du groupe Boc ne semble pas être perturbé. L'intervention du groupe protecteur dans le mécanisme apparaît peu probable.

Ces résultats sont les premiers concernant l'étude de la cinétique d'hydrolyse de l'ester méthylique d'isomères dont le phosphonate est β. Il semble qu'un phénomène se passe lors de cette réaction mais d'autres expériences doivent être réalisées afin de le clarifier et pourquoi pas de proposer un mécanisme spécifique à un tel système.

5. 5. Conclusion

Une série d'analogues contraints a été synthétisée. Un précurseur commun permet d'aboutir aisément à une diversité fonctionnelle. Les composés synthétisés incorporent les diverses variations stéréochimiques et fonctionnelles que peut présenter une pyrrolidine substituée. Leurs résultats biologiques sont présentés au chapitre 7.

Chapitre 6

**Synthèse de molécules à visée inhibitrice de ECE,
possédant un acide carboxylique ou un acide
hydroxamique comme groupe chélatant**

6. 1. Inhibiteurs des ECE de type acide carboxylique ou acide hydroxamique

Parmi les inhibiteurs de ECE décrits dans la littérature, ceux possédant un acide carboxylique sont largement représentés. Par exemple, *SA-687* est un inhibiteur qui appartient à la famille des inhibiteurs triples.¹⁹⁵ *SLV-306* est un inhibiteur double de ECE-1 et de EPN, oralement actif. Il est métabolisé *in vivo* pour générer un fragment aussi actif que le phosphoramidon peut l'être *in vitro*. Il a également été le premier inhibiteur synthétique à entrer en phase clinique. Actuellement, *SLV-306* est en phase clinique II pour les traitements contre l'hypertension et les défaillances cardiaques.¹⁹⁶

Les acides hydroxamiques sont moins représentés comme inhibiteurs des ECE, ce qui n'est pas le cas de leurs analogues phosphoniques. Retenons néanmoins l'exemple donné dans la figure 6.1 ci-dessous, le composé **6.1** synthétisé dans le cadre d'une SAR et qui est un inhibiteur d'ECE très performant et sélectif, ECE *versus* EPN.¹⁹⁷

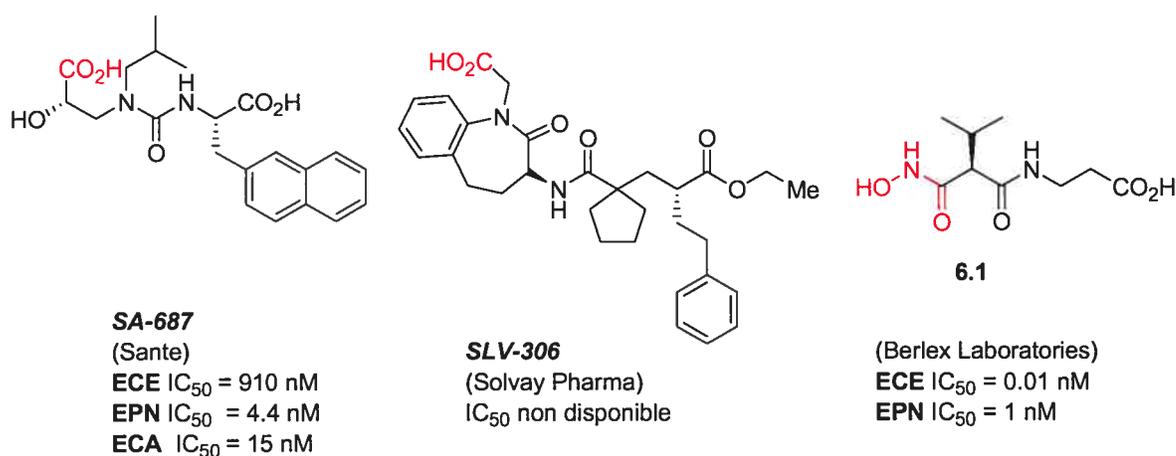


Figure 6.1 Exemple d'inhibiteurs de ECE de type acide carboxylique et acide hydroxamique

6. 2. Approche envisagée pour former un lien C-C à partir d'un ion *N*-acyliminium

Une autre série de composés synthétisés dans le but d'inhiber les ECE est celle comprenant comme groupement GCZ un acide carboxylique ou un acide hydroxamique. Ces deux fonctions sont souvent incorporées dans les inhibiteurs de métalloenzymes. La voie de synthèse de ces analogues est quelque peu différente puisque l'étape clé consiste en l'addition d'un organocuprate sur un ion iminium (Figure 6.2). Cette chimie a été largement développée dans notre groupe et a pu être appliquée à de nombreuses synthèses. Le cuprate permet de greffer une oléfine que nous pourrons dériver. La synthèse débute par l'intermédiaire **5.17** déjà décrit dans le chapitre 5.

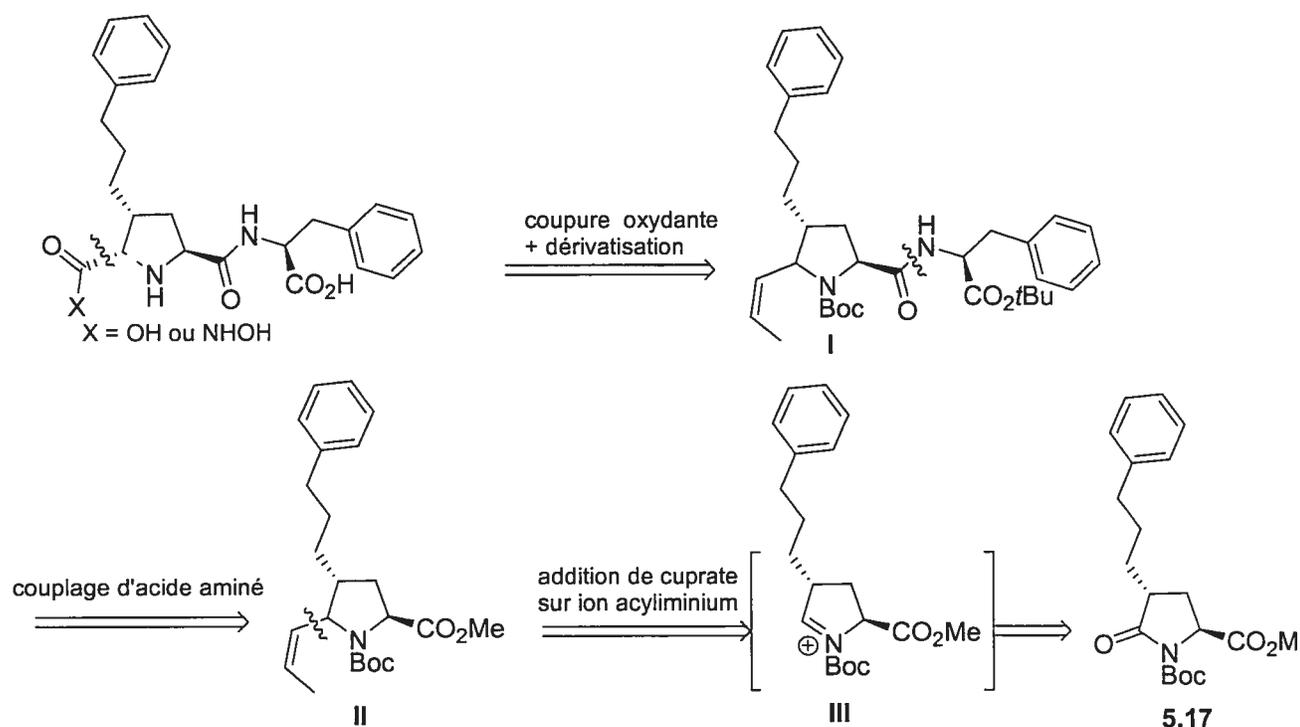


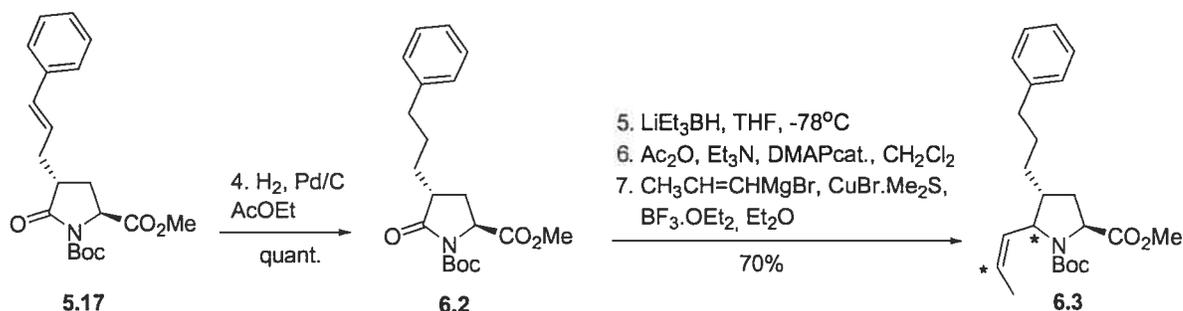
Figure 6.2 Chemin rétrosynthétique permettant d'accéder à un acide carboxylique ou hydroxamique

L'acide hydroxamique provient de l'acide carboxylique correspondant. Ce dernier peut provenir de la coupure oxydante d'une oléfine **I**. Un couplage peptidique peut être réalisé sur **II**. La formation de la liaison C-C peut provenir d'une addition de cuprate vinylique sur un ion acyliminium **III**. Ce dernier est obtenu à partir de la forme hémiaminale acétylée issue de la réduction sélective de l'intermédiaire **5.17**, tel que décrit dans le chapitre 5 précédent.

6. 3. Synthèse du dérivé acide carboxylique

6. 3. 1. Formation du lien C-C

A partir de l'intermédiaire **5.17**, l'oléfine est réduite pour donner le dérivé **6.2** (Schéma 6.1), avec un rendement quantitatif dans les mêmes conditions de réduction que celles utilisées pour l'allyl-naphtalényle. Le carbonyle de la lactame est réduit avec le triéthyl borohydrure de lithium et l'hémiacétal qui en résulte est acétylé. Un ion *N*-acyliminium est généré sur lequel est réalisée l'addition du cuprate qui conduit à l'analogue **6.3**.



* = stéréochimie non fixée

Schéma 6.1 Formation de la liaison C-C par addition d'un organocuprate sur un ion *N*-acyliminium

Divers essais effectués dans le groupe ont montré que le cuprate formé à partir du Grignard vinylique commercial ou préparé fraîchement ne donne pas de bons rendements. Mais de meilleurs résultats sont obtenus en utilisant le cuprate formé à partir du Grignard de méthyl-vinyle commercial. L'addition du cuprate est majoritairement *anti* par rapport à l'ester méthylique (Figure 6.3).

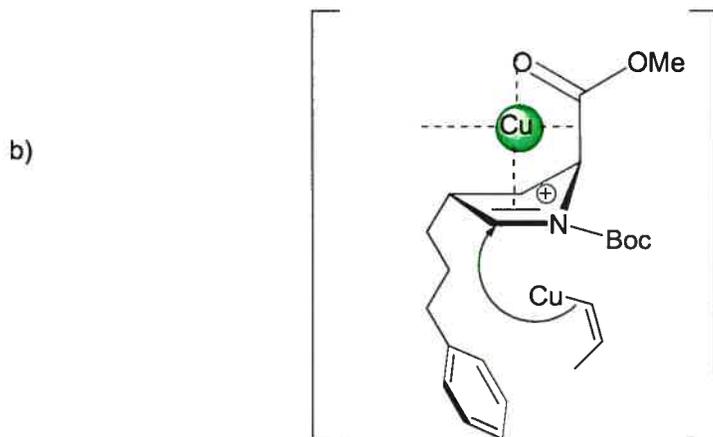


Figure 6.3 a) Formation de l'espèce organocuvivire réactive par action d'un Grignard sur CuBr b) Préférence faciale d'addition du cuprate sur l'ion N-acyliminium

Un premier équivalent d'organocuvivire(I) vient chélater le carbonyle de l'ester méthylique, et former un complexe entre l'ion N-acyliminium et l'espèce organocuvivire (π -RCu) ce qui bloque la face supérieure. Le second équivalent s'additionne donc du côté opposé (Figure 6.3), malgré l'encombrement stérique du groupe sur C4, de stéréochimie *R*.¹⁹⁸ Par conséquent, l'effet stérique induit par la formation du complexe π -RCu est responsable de la stéréosélectivité observée, prenant ainsi le dessus sur l'induction asymétrique-1,2 lorsque deux facteurs sont en compétition.

Il est difficile de déterminer le ratio des diastéréoisomères obtenus (Schéma 6.1, dérivé **6.3**) d'après les spectres RMN ^1H . L'oléfine est elle-même un mélange d'isomères ; le spectre obtenu est donc complexe à analyser.

6. 3. 2. Accès à l'acide carboxylique

La synthèse est poursuivie sur ce mélange avec l'hydrolyse de l'ester méthylique **6.3** dans les mêmes conditions que celles rapportées dans le chapitre précédent. L'acide carboxylique obtenu est directement couplé avec la (*S*) phénylalanine protégée sous forme d'ester *tert*-butylique (Schéma 6.2).

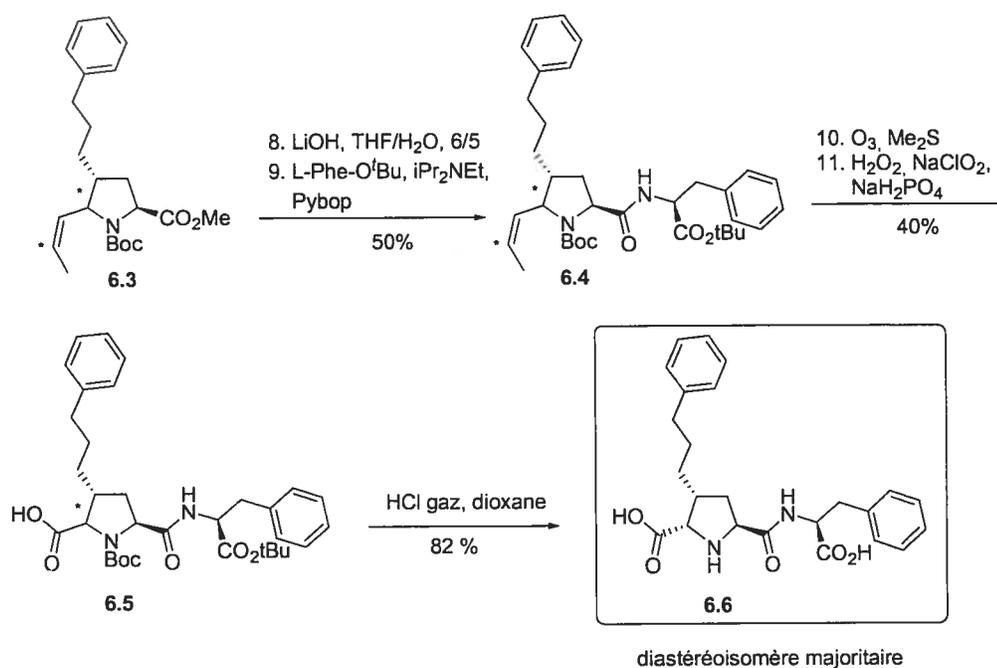


Schéma 6.2 Fonctionnalisation à partir de l'oléfine

L'oléfine de **6.4** est ensuite clivée par ozonolyse en aldéhyde. Ce dernier est alors oxydé par l'eau oxygénée,¹⁹⁹ en présence d'hypochlorite de sodium dans un milieu tamponné pour former l'acide carboxylique **6.5**. Une déprotection finale avec l'acide chlorhydrique gazeux permet de conduire à **6.6** (Schéma 6.2) avec un bon rendement. Ce dernier est le diastéréoisomère majoritaire isolé après purification par chromatographie.

6. 3. 3. Détermination de la stéréochimie du composé final

Une étude RMN ^1H 2D de type NOESY a montré une corrélation entre les protons H4 et H5 et l'absence de signal entre les protons H2 et H5 (Figure 6.4). Ces résultats se rapprochent de ceux rapportés par Pedregal et coll.^{198a} et permettent de déduire la stéréochimie des substituants sur la pyrrolidine : les substituants en positions 4 et 5 sont *cis*.

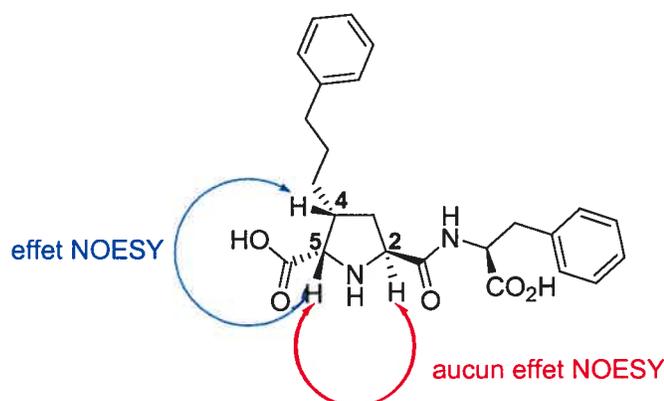


Figure 6.4 Détermination de la stéréochimie du dérivé 6.6 par effet NOESY

6. 4. Synthèse du dérivé acide hydroxamique

En partant de l'intermédiaire 6.5, plusieurs méthodes ont été essayées pour convertir l'acide carboxylique en acide hydroxamique. Un couplage peptidique avec l'hydroxylamine *O*-benzylée permettait d'isoler le produit désiré mais avec de faibles rendements. En effet, avec HOBt ou PyBOP comme agent de couplage, il est possible d'isoler la forme activée de l'acide avec un groupement benzotriazole (Tableau 6.1). Cette espèce semble être assez stable et ne réagit plus avec l'hydroxylamine. Avec PyBrOP, dont le contre-ion est un bromure, le rendement était acceptable.²⁰⁰ Une hydrogénolyse sur Pd/BaSO₄ et sous pression déprotège l'acide hydroxamique²⁰¹ et une dernière hydrolyse avec HCl gazeux en

condition anhydre permet de former le produit final désiré. Mais ce dernier semble être instable dans ces conditions opératoires.

Tableau 6.1 Conditions essayées pour la formation de l'acide hydroxamique

Conditions	Résultats
<p>R = Me : - NH₂OBn.HCl, Me₃Al - NH₂OH.HCl, Et₃N, MeOH</p> <p>R = H : 1. EDC, HOBT, NMM, H₂NOTr 2. acide formique</p> <p>1. EDC, HOBT, NMM, H₂NOBn ou PyBOP, iPr₂NEt, H₂NOBn ou PyBrOP, iPr₂NEt, H₂NOBn 2. H₂, 20 psi, Pd/BaSO₄ 3. HCl gaz, dioxane</p> <p>- TCT, NMM, DMAP, NH₂OBn.HCl</p>	<p>produit de départ 10 % du produit désiré</p> <p>rdt bas (30 %) déprotection non sélective problème de purification</p> <p>18 % du produit désiré } 21% du produit désiré } + produit 39% du produit désiré } secondaire isolé</p> <div style="text-align: center;"> </div> <p>produit de départ - ^tBu</p>
<p>TCT trichlorotriazine ou chlorure cyanurique</p> <p>PyBOP </p> <p>PyBrOP </p>	

Une méthode récemment décrite dans la littérature a été également utilisée.²⁰² Elle implique TCT et l'hydroxylamine *O*-benzylée mais ne permet pas cependant d'accéder au produit désiré.

Une méthode récemment décrite dans la littérature a été également utilisée.²⁰² Elle implique TCT et l'hydroxylamine *O*-benzylée mais ne permet pas cependant d'accéder au produit désiré.

Finalement l'acide hydroxamique a été synthétisé directement sans groupe protecteur en convertissant l'acide carboxylique en chlorure correspondant, sur lequel vient se coupler l'hydroxylamine libre (Schéma 6.3).

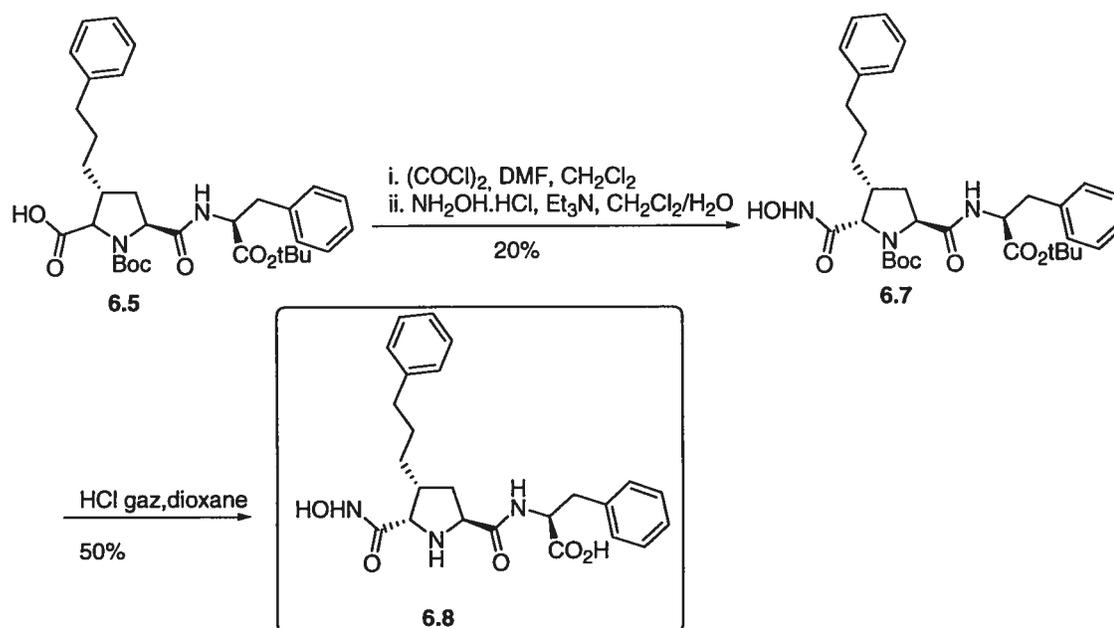


Schéma 6.3 Formation de l'acide hydroxamique et clivage des groupements protecteurs

La formation de l'acide hydroxamique a été effectuée dans des conditions douces à 0°C . Le produit désiré 6.7 (Schéma 6.3) est isolé et caractérisé. Aucun problème de stabilité n'est observé à ce stade. Seul l'isomère majoritaire résultant de l'addition de l'espèce organocuvrique est utilisée pour la dernière étape. Le clivage des groupements Boc et tert-butyle par HCl gazeux en conditions anhydres se fait en présence de l'acide hydroxamique libre. Cette méthode de déprotection a été choisie en raison de la simplicité de son traitement, puisqu'aucune extraction n'est nécessaire, une simple évaporation permet d'avoir en main le produit final 6.8 (Schéma 6.3).

6. 5. Conclusion

Deux analogues possédant un acide carboxylique (6.6) et un acide hydroxamique (6.8) comme groupes chélateurs du Zn^{2+} ont été synthétisés afin de mettre en évidence une inhibition potentielle des ECE.

Chapitre 7

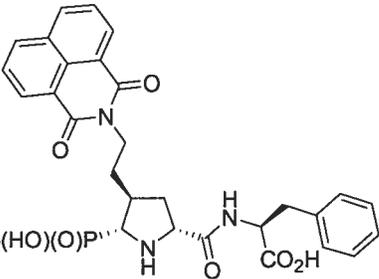
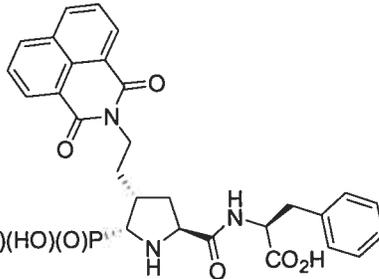
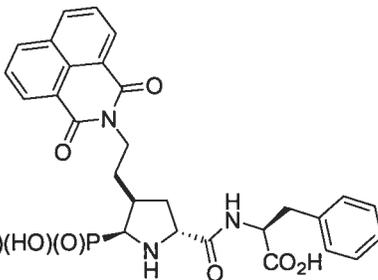
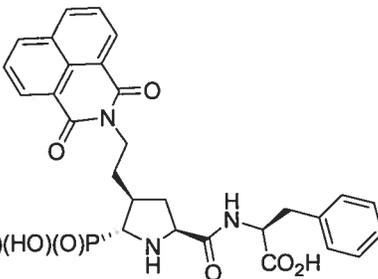
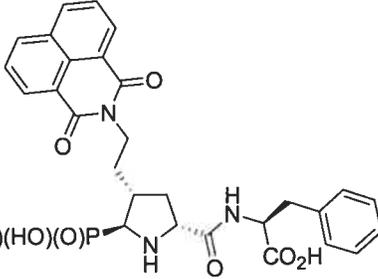
Résultats et analyse des tests biologiques

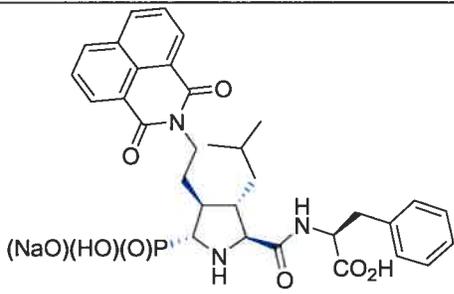
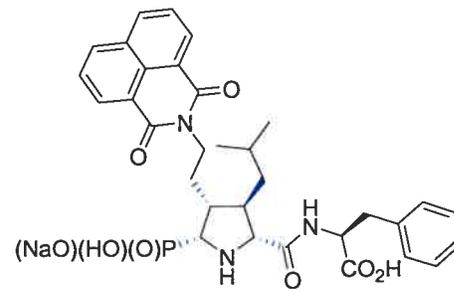
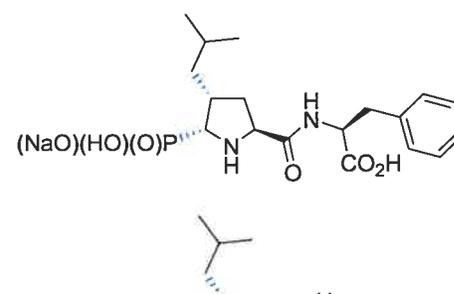
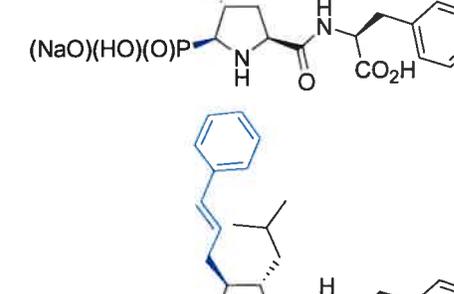
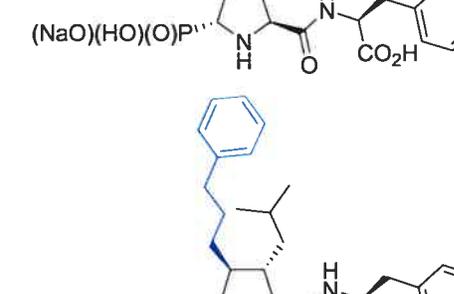
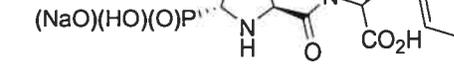
7. 1. Résultats des tests biologiques des séries (S)- et (R)-

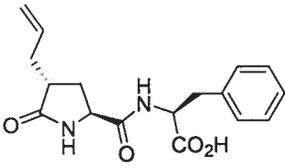
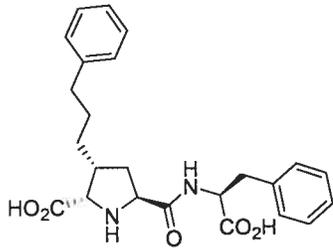
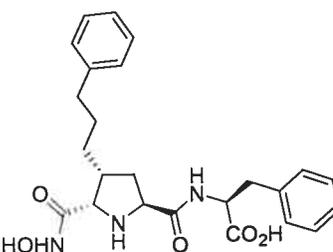
Les molécules dont la synthèse est décrite dans les deux précédents chapitres dérivent de l'acide (S)-pyroglutamique. Les mêmes analogues ont été synthétisés ultérieurement à partir de l'acide (R) pyroglutamique par Guillaume Charron et ceci afin d'étudier les conséquences sur l'activité biologique. De même, la voie qui permet l'incorporation de deux substituants, un en C3 et un en C4, a été étudiée par le Dr. Philippe Nakache dans le cadre de son stage post-doctoral. Les tests biologiques ont été effectués par les laboratoires Servier (France). Le tableau suivant dévoile les résultats d'inhibition (exprimés en %) contre les ECE lorsque les analogues sont testés comme inhibiteur à deux concentrations, 10^{-5} et 10^{-7} M. Pour pouvoir confronter tous les résultats et les analyser, il faut les présenter dans leur globalité, c'est-à-dire sur la totalité des analogues testés.

Tableau 7.1 Pourcentages de l'inhibition de ECE par les analogues synthétisés

Entrée	Configuration	Structure	Analogue	ECE % Inhibition	
				10^{-5} M	10^{-7} M
1	(2S, 4R, 5S)		5.26β	67.6	11
2	(2S, 4R, 5S)		5.24β	33.5	7.6

Entrée	Configuration	Structure	Analogue	ECE % Inhibition	
				10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁷ M
3	(2R, 4S, 5R)		G. Charron	28.7	7.8
4	(2S, 4R, 5R)		5.24 α	25.1	10.7
5	(2S, 4S, 5S)		G. Charron	17.6	12.3
6	(2S, 4S, 5R)		5.30	23.2	16.2
7	(2R, 4R, 5S)		G. Charron	38.8	4.7

Entrée	Configuration	Structure	Analogue	ECE % Inhibition	
				10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁷ M
8	(2S, 3S, 4S, 5R)		7.1	24.1	10.0
9	(2S, 3R, 4S, 5R)		G. Charron	91.0	38.2
10	(2S, 4R, 5R)		5.36 α	2.0	6.2
11	(2S, 4R, 5S)		5.36 β	9.6	7.0
12	(2S, 3S, 4S, 5R)		7.2	9.3	3.9
13	(2S, 3S, 4S, 5R)		7.3	11.1	10.7

Entrée	Configuration	Structure	Analogue	ECE % Inhibition	
				10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁷ M
14	(2S, 4R)		5.16	2.3	3.4
15	(2S, 4R, 5S)		6.6	4.8	1.2
16	(2S, 4R, 5S)		6.8	tests en cours	

* Les analogues finaux 7.1, 7.2, 7.3 sont décrits dans la partie expérimentale, chapitre 11.

Il reste à préciser que les IC₅₀ seront calculés uniquement pour les analogues prometteurs, c'est-à-dire ceux dont le pourcentage d'inhibition est supérieur à 50%.

7. 2. Analyse des résultats

Leux des composés testés ont une activité prometteuse, il s'agit des analogues 5.26β entrée 1 et celui de l'entrée 9 du tableau 7.1. Pour les autres composés, il est assez difficile d'établir une SAR mais certains points importants semblent se dégager. L'analyse se fait en observant chaque facteur de variation c'est-à-dire l'acide aminé, les substituants en C3 et C4 ainsi que leurs stéréochimies et le groupe chélateur du zinc.

7. 2. 1. Choix de l'acide aminé

Comparons les analogues **5.26 β** , entrée 1 et **5.24 β** , entrée 2, du tableau 7.1. Ils sont identiques en tout point, sauf en ce qui concerne le résidu acide aminé. L'inhibition augmente lorsque le phényle est remplacé par un groupe 3-indole. Il semble que le (*S*)-tryptophane soit donc un élément de choix. Ce résultat pourrait être confirmé en remplaçant la phénylalanine par un tryptophane dans le composé de l'entrée 9.

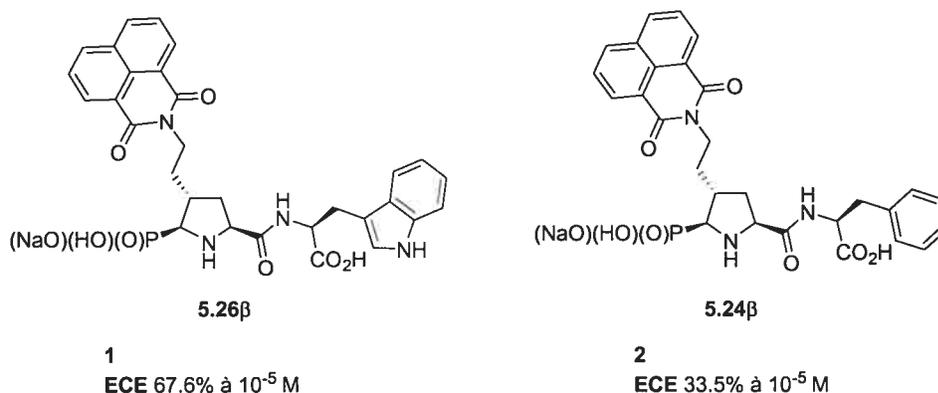


Figure 7.1 Importance du choix de l'acide aminé

7. 2. 2. Choix du substituant en C3

Il n'y a aucune différence d'activité observée entre le composé possédant un groupe isobutyle en C3 et ceux qui en sont dépourvus (entrée 6, **5.30**, et entrée 8, **7.1**). Cette constatation demande confirmation avec une structure analogue à celle de l'entrée 9 sans groupement isobutyle.

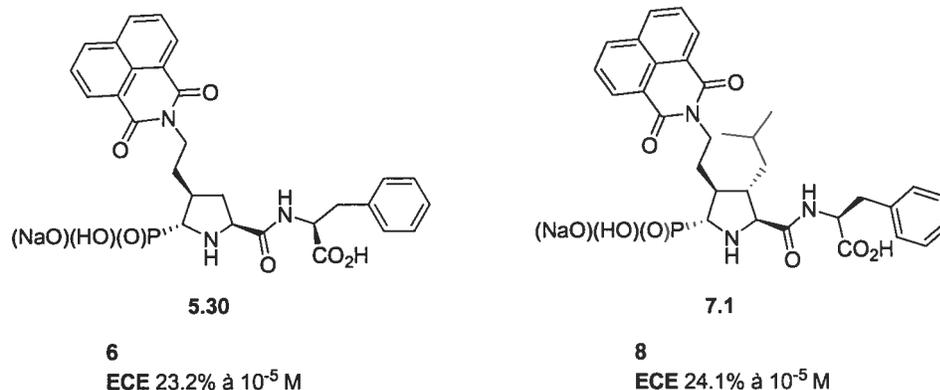


Figure 7.2 Choix du groupe en C3

7. 2. 3. Choix du substituant en C4

Comparons les analogues **5.36 α** (entrée 10) et **5.24 α** (entrée 4) du tableau 7.1. Ils sont rigoureusement semblables au niveau de la stéréochimie de chaque centre asymétrique, l'un présente un petit groupe alkyle et l'autre un substituant plus volumineux, aromatique. L'activité est complètement perdue dans le cas de l'isobutyle. Il est également possible de déduire des analogues **7.2** et **7.3**, des entrées 12 et 13, qu'un groupe propylphényle n'est pas le groupe de choix pour une bonne activité. Par conséquent, un groupe aromatique volumineux comme un naphthalimide est nécessaire à l'activité.

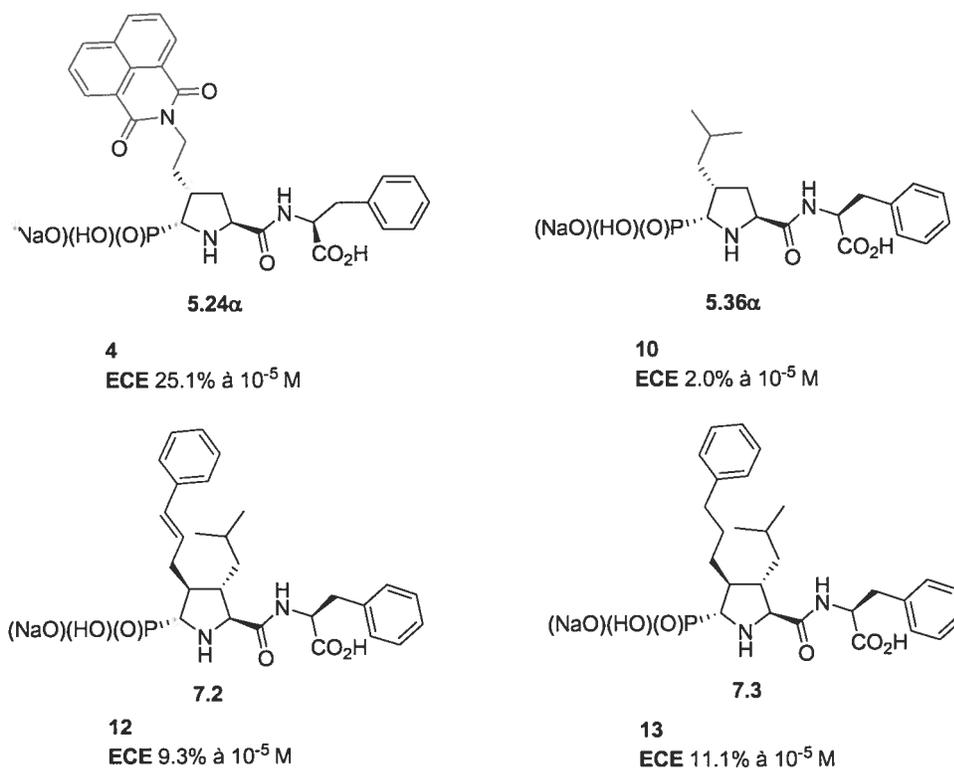


Figure 7.3 Choix du groupe en C4

7. 2. 4. Importance du GCZ

Le composé témoin sans acide phosphonique (tableau 7.1, analogue 5.16, entrée 14) est dénué de toute activité. Il est cependant difficile d'en déduire si les acides carboxyliques sont de bons GCZ ou non par rapport aux acides phosphoniques. En effet, lorsque l'inhibition est inférieure à 20%, il faut rester prudent quant aux conclusions. Il aurait fallu synthétiser l'analogue 6.6, entrée 15 avec en C4 le groupe naphthylimidoéthyle pour pouvoir le comparer avec les autres analogues de type acide phosphonique. Il est cependant possible d'affirmer que les acides phosphoniques sont bien reconnus par l'enzyme.

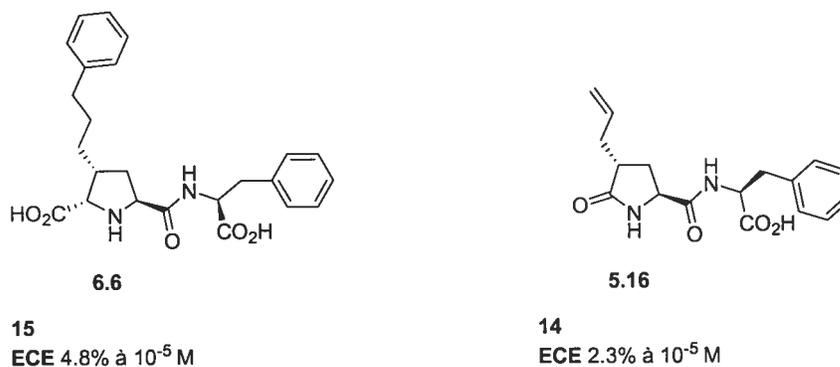


Figure 7.4 Choix du groupe chélateur de zinc

7. 2. 5. Stéréochimie

7. 2. 5. 1. Au niveau de C2

La stéréochimie au niveau de ce centre dépend de celle de l'acide pyroglutamique, molécule de départ de notre synthèse. Les analogues des entrées 3 et 6, **5.30** (tableau 7.1) ne diffèrent que par la stéréochimie du centre C2 et aucune différence significative n'est observée au niveau de l'activité. Par conséquent, la stéréochimie de C2 n'influe pas sur l'activité observée.

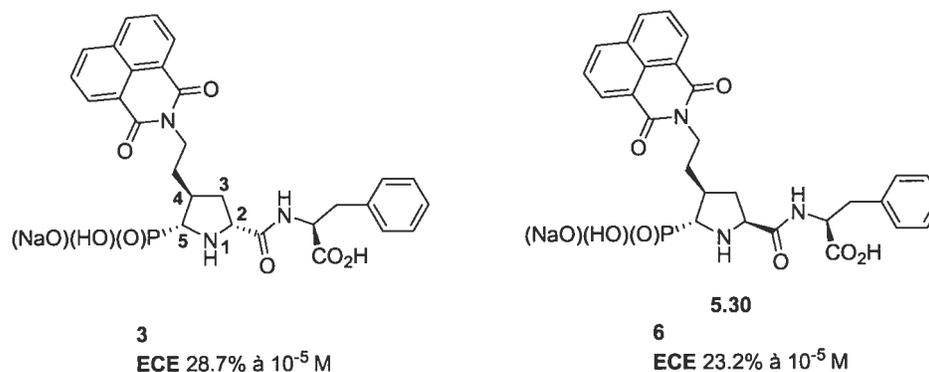


Figure 7.5 Stéréochimie en C2

7. 2. 5. 2. Au niveau de C3

Il est difficile de se prononcer pour l'instant avec certitude sur l'influence de la stéréochimie de C3. Les analogues 7.1 (entrée 8) et 7.3 (entrée 13) du tableau 7.1 ont tous les deux un carbone de configuration (*S*) à cette position et leurs activités correspondantes sont modestes. En revanche, l'analogue de l'entrée 9, préparé par Guillaume Charron, dont les centres C2, C3 et C4 sont opposés aux centres de l'analogue 7.1 présente une activité prometteuse. La stéréochimie au niveau de C2 est sans importance et celle au niveau de C4, comme nous le verrons dans le prochain sous-paragraphe, l'est également. Par conséquent, il semblerait que la forte différence d'activité observée provienne du groupe isobutyle en C3. Cette hypothèse demande néanmoins confirmation.

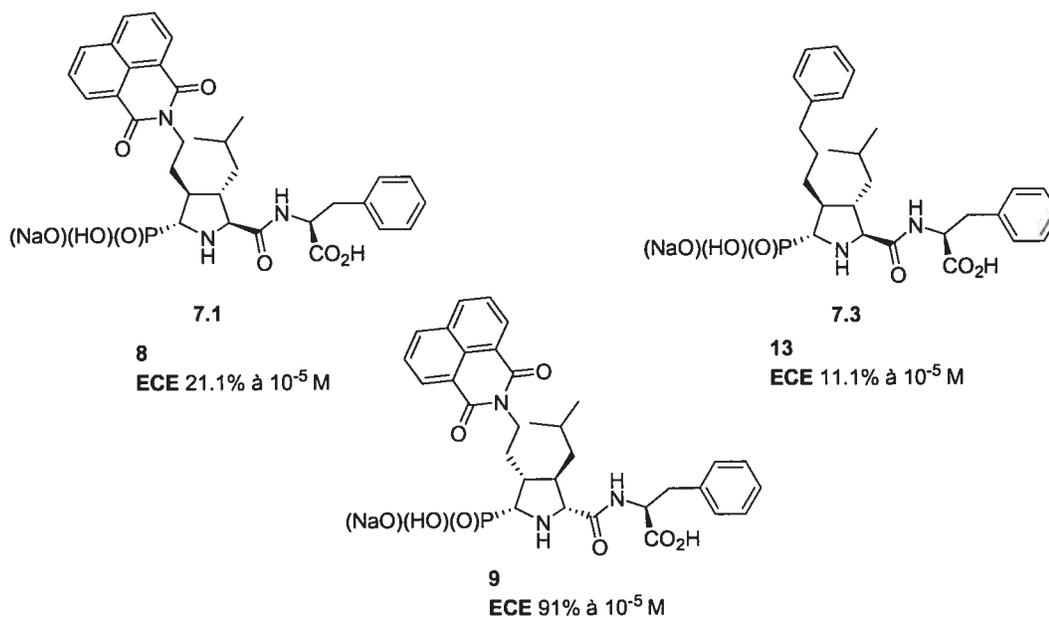


Figure 7.6 Stéréochimie en C3

7. 2. 5. 3. Au niveau de C4

Les analogues **5.24 α** , entrée 4 et **5.30**, entrée 6 du tableau 7.1 sont identiques sauf au niveau de la stéréochimie de C4. Aucune différence sur l'activité n'est observée. Par conséquent, la stéréochimie au niveau du centre C4 n'influence pas l'activité.

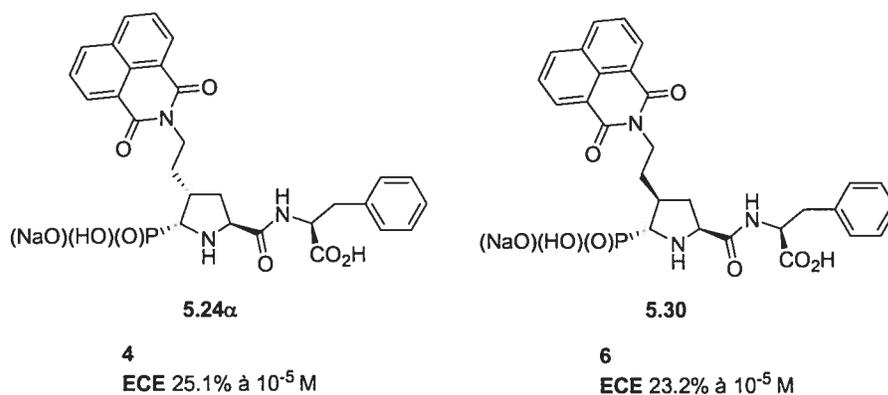


Figure 7.7 Stéréochimie en C4

7. 2. 5. 4. Au niveau de C5

Les analogues **5.24 β** , entrée 2 et **5.24 α** , entrée 4 du tableau 7.1 sont identiques sauf au niveau de la stéréochimie de C5. Aucune différence significative n'est relevée au niveau de l'activité. Les analogues **5.36 α** et **5.36 β** des entrées 10 et 11 partagent la même relation et aucune différence notable n'est observée, *idem* pour les analogues des entrées 3 et 5. Par conséquent, la stéréochimie au niveau du centre C5 est sans conséquence sur l'activité.

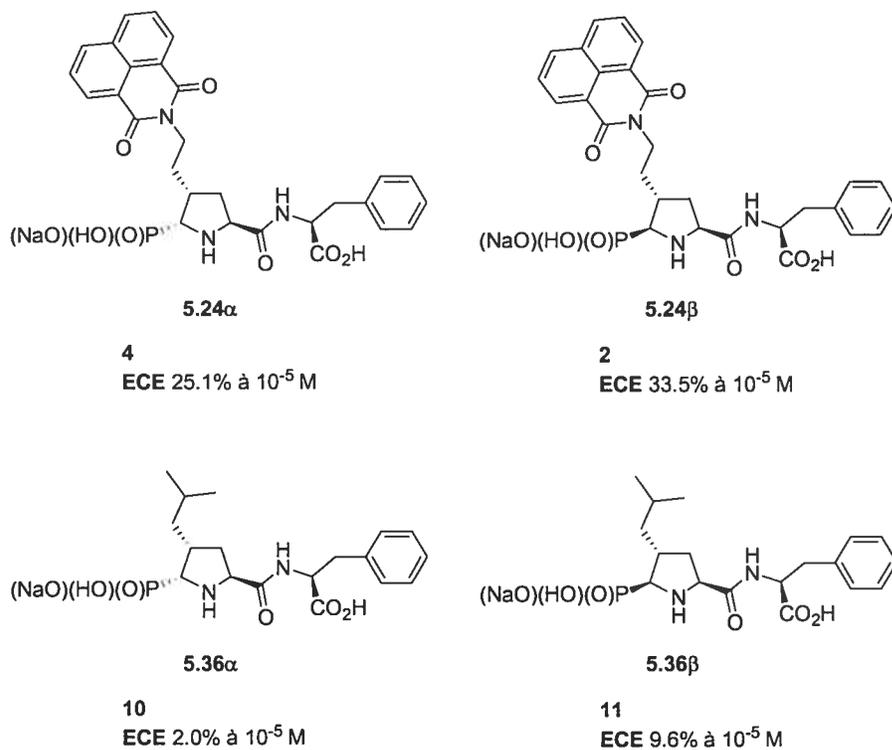


Figure 7.8 Stéréochimie en C5

7. 2. 6. Mode de liaison hypothétique de l'analogue 5.26 β

Une étude montre que l'acide (aminométhyl) phosphonique se chélate avec des ions métalliques en formant un cycle à cinq chaîons.²⁰³

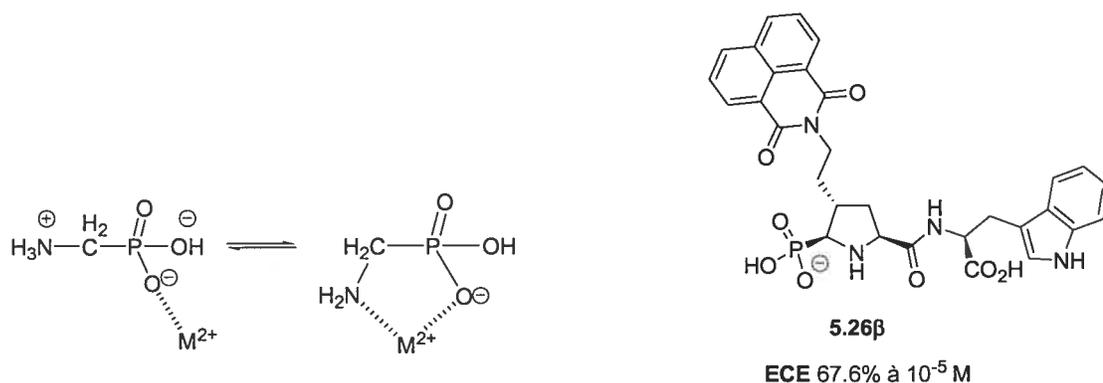


Figure 7.9 Mode de chélation pour des acides α -phosphoaminés selon Sigel²⁰⁴

Même si ce mode de liaison spécifique est à considérer, il faudrait faire une étude des pK_a de chaque fonction de l'analogue **5.26β** pour savoir si à pH physiologique, l'amine de la pyrrolidine peut aussi intervenir avec le phosphonate pour chélater le zinc.

Il semble être plus prudent de représenter un mode de liaison hypothétique ne faisant intervenir que l'acide phosphonique.

D'après la structure de big ET-1, il est possible de procéder par analogie et de concevoir que l'analogue **5.26β**, un des plus actifs, vienne occuper les poches de l'enzyme ECE comme indiqué sur la figure 7.10 ci-dessous. Cette hypothèse est inspirée du mode de liaison proposé par Novartis pour son inhibiteur *CGS 31447*.²⁰⁴ Les interactions entre le phosphonate de l'analogue et le zinc du site actif sont indiquées. Les positions P1, P2, P1' et P2' sont assignées selon la nomenclature de Schechter et Berger.²¹

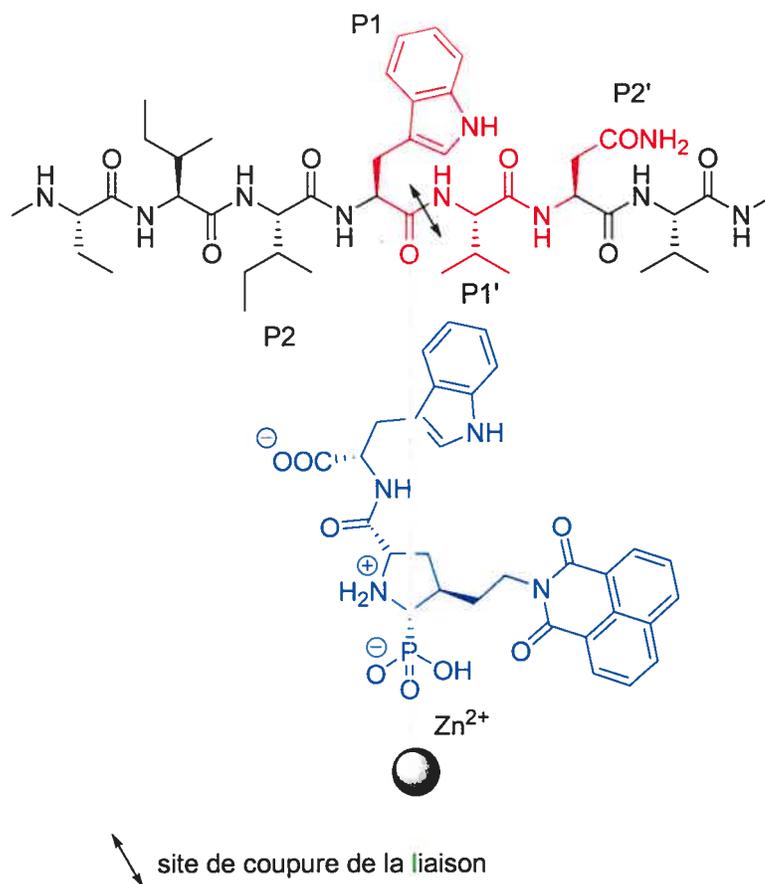


Figure 7.10 Mode de liaison hypothétique de l'analogue 5.26 β (en bleu). Analogie avec big ET-1 dont le site de clivage est en rouge

7.3. Analogues importants à synthétiser

Il faudrait pouvoir synthétiser l'analogue de 5.26 β avec un groupe isobutyle en C3, *cis* avec le carbonyle C2 de la lactame (Figure 7.11, analogue 7.4). Ceci permettrait de vérifier si c'est ce substituant avec une stéréochimie (*R*) qui est responsable de l'activité comme c'est le cas pour l'analogue de l'entrée 9.

De plus, la contrainte a été choisie de telle sorte qu'un cycle à cinq soit généré. Il serait intéressant de synthétiser un analogue de type pipéridine (Figure 7.11, analogue 7.5).

Enfin, il est toujours possible de faire varier les longueurs des chaînes des substituants comme celle de l'acide aminé et celle portant le groupe naphthalimide, de manière indépendante (Figure 7.11, analogues 7.6). Ceci permettrait d'avoir une idée sur la profondeur des poches dans lesquelles vient se loger chaque groupe.

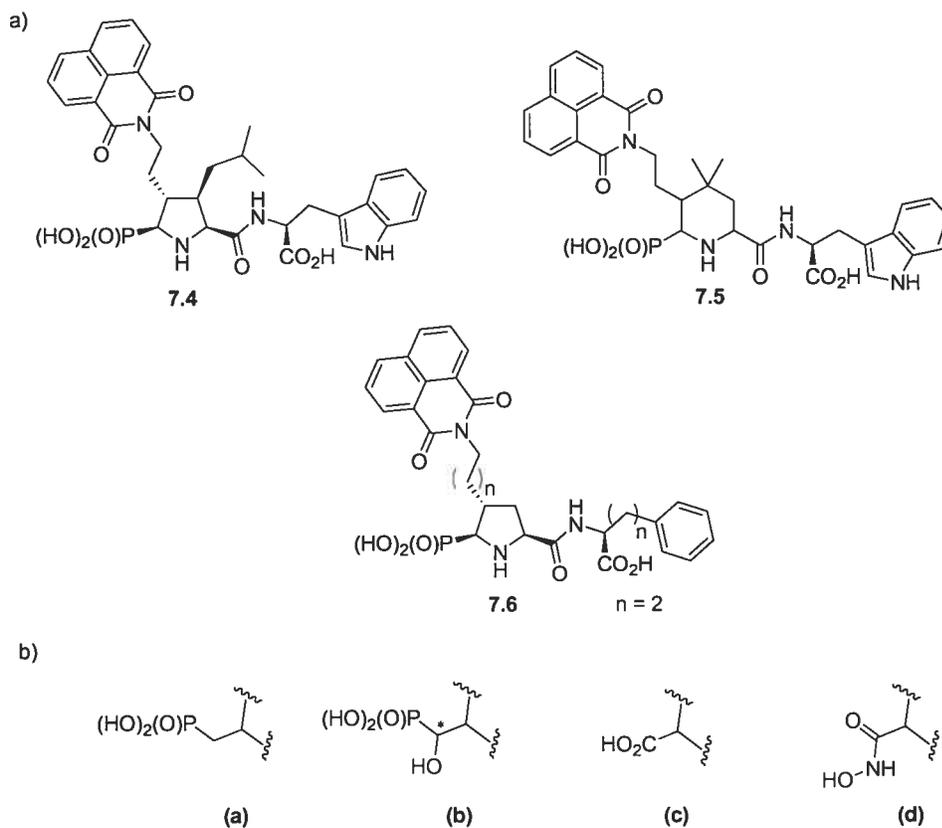


Figure 7.11 a) Analogues à faire pour compléter l'étude b) Analogues à faire en gardant le cœur de l'analogue le plus actif obtenu

Enfin les longueurs de liaison entre le groupe chélateur de zinc et le cycle peuvent être variées (Figure 7.11, (a), (c) et (d)). Un hydroxyle peut même être ajouté pour créer une chélation supplémentaire (Figure 7.11, (b)).

7. 4. Conclusion

Des analogues cycliques conçus à partir d'inhibiteurs acycliques des ECE ont été synthétisés. Ce type de molécule présente plusieurs sites de variations possibles au niveau de la stéréochimie. Le but du travail était de faire varier la stéréochimie de chaque carbone afin de déterminer la stéréochimie optimale pour obtenir un bon inhibiteur. Étonnamment, un site seulement semble faire la différence. Deux des analogues (5.26β et l'analogue de l'entrée 9 du tableau 7.1) donnent des inhibitions prometteuses et nous permettent de déduire la nature des substituants à incorporer.

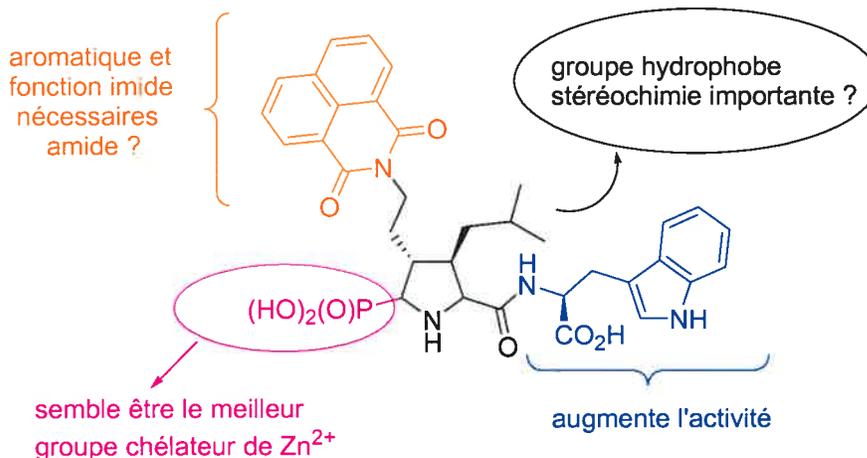


Figure 7.12 Nouveau type d'inhibiteur cyclique des ECE

Lorsque l'on dispose d'inhibiteurs optimisés et actifs de l'ordre du nM, des études de sélectivité sont entreprises sur les différentes enzymes impliquées dans le processus d'activation des peptides vasoactifs, c'est-à-dire ECE, EPN et ECA.

Les analogues synthétisés sont en cours d'évaluation sur EPN.

Ces résultats ont fait l'objet d'une demande de brevet, en collaboration avec la compagnie pharmaceutique Servier (France) qui finance ce projet.

Chapitre 8

Section expérimentale : notes générales

8. 1. Analyse des composés synthétisés

8. 1. 1. Points de fusion

Les points de fusion sont mesurés sur un appareil Büchi B-540. La valeur obtenue n'a pas été corrigée.

8. 1. 2. Pouvoirs rotatoires

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à l'aide d'un polarimètre Pelkin-Elmer 241 à 25°C dans une cellule de 10 cm de longueur contenant un volume de 1mL. Pour les produits du chapitre 6, un appareil Pelkin-Elmer 241 à 20°C est utilisé. Seule la longueur d'onde de la lampe de sodium à 589 nm a été utilisée. Les valeurs de $[\alpha]$ sont rapportées sans unité, ces dernières (deg mL)/(g dm) étant implicites.

8. 1. 3. Résonance magnétique nucléaire

Les spectres proton (^1H) et carbone (^{13}C) furent enregistrés sur un des appareils suivants : Bruker AMX-300 (^1H , 300 MHz ; ^{13}C , 75 MHz), Bruker ARX-400 (^1H , 400 MHz ; ^{13}C , 100 MHz), Bruker AV-300 (^1H , 300 MHz ; ^{13}C , 75 MHz), Bruker AV-400 (^1H , 400 MHz ; ^{13}C , 100 MHz) et Bruker DMX-600 (^1H , 600 MHz) ; les spectres du phosphore (^{31}P) sur le Bruker ARX-400 (^{31}P , 161 MHz). Les déplacements chimiques sont mesurés en partie par million (ppm) selon l'échelle δ par rapport aux références internes des solvants usuels : CDCl_3 (7.27 ppm), CD_3OD (3.30 ppm), D_2O . Les symboles utilisés pour décrire la multiplicité sont les suivants :

s : singulet, **d** : doublet, **dd** : doublet dédoublé, **ddd** : doublet de doublet dédoublé, **t** : triplet, **dt** : doublet de triplet, **q** : quadriplet, **dq** : doublet de quadriplet, **m** : multiplet.

Les valeurs des constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz).

8. 1. 4. Spectroscopie de masse

Les spectres de masse furent obtenus sur le spectromètre suivant :

-Autospec de micro-masse EBETOF pour les hautes et basses résolutions en utilisant une source LSIMS,

Les masses utilisées pour le calcul des masses moléculaires sont : H = 1.0078246, C = 12.000, N = 14.0037032, O = 15.9949141, P = 30.973764, ^{32}S = 31.9720718, ^{35}Cl = 34.968853, ^{37}Cl = 36.9659054.

Sauf indication contraire les spectres de basse résolution ont été obtenus avec une source LSIMS et les spectres de haute résolution avec une source FAB.

N2 fait référence à la technique de masse utilisée par rapport aux atomes métastables (N_2).

NBA est le nom de la matrice utilisée.

8. 1. 5. Cristallographie

Les mesures de diffraction des rayons-X ont été effectuées en utilisant un diffractomètre Nonius CAD-4 avec radiation monochromatique provenant d'une source de cuivre ($\text{CuK}\alpha$). Les structures ont été résolues à l'aide des programmes SHELX 76, SHELX 86 ou SHELX 93. Les rapports de cristallographie sont inclus en annexe.

8. 1. 6. Spectroscopie infra-rouge

Les spectres infra-rouge furent enregistrés sur un appareil Perkin Elmer Paragon 1000 en utilisant une mince couche du produit sur une plaque de NaCl ou en dispersant une infime quantité du produit solide dans KBr et en faisant une pastille. Seules les fréquences pertinentes à l'identification d'un groupement fonctionnel précis sont rapportées.

8. 1. 7. Spectres originaux

Les spectres RMN originaux, les spectres de masse, les spectres infra-rouge et les rapports de cristallographie sont disponibles auprès du professeur S. Hanessian au département de chimie de l'Université de Montréal.

8. 2. Purification des produits

8. 2. 1. Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques commerciales (Merck, 0.025 X 2 X 10 cm) sur support de verre, couvertes de gel de silice GF-UV254, imprégnées d'un indicateur fluorescent. Cette technique est employée pour suivre la progression des réactions, déterminer la mobilité relative des produits (*R_f*), et pour en estimer la pureté.

8. 2. 2. Chromatographie sur colonne de silice (éclair)

Le type de chromatographie sur colonne utilisé est décrit sous le nom de "Flash Chromatographie".²⁰⁵ Le type de gel utilisé est Kieselgel 60 (E. Merck, no. 9385) de 40-63 mm (maille de 230-400 mesh).

8. 2. 3. Révélateurs pour chromatographie sur couche mince

8. 2. 3. 1. Lumière UV

Les produits ayant des chromophores absorbant l'ultraviolet sont détectés en exposant directement la plaque CCM à la lumière UV.

8. 2. 3. 2. Permanganate de potassium

KMnO_4 (3g) est dissout dans de l'eau (300 mL) et K_2CO_3 est ajouté (20g). Par la suite NaOH (5 mL de solution aqueuse de 5%) est ajoutée. Les plaques de CCM y sont trempées puis chauffées à 300°C si nécessaire.

8. 2. 3. 3. FeCl_3

A une solution de FeCl_3 dans de l'acétone (150 mL) est ajouté HCl (10 mL, solution aqueuse de 10%). Les plaques de CCM y sont trempées puis chauffées à 300°C si nécessaire.

8. 2. 3. 4. Solution de Ninhydrine

La solution est réalisée en ajoutant 2g de ninhydrine monohydratée, 18 mL d'acide acétique concentré à 600 mL de butanol. Les plaques de CCM y sont trempées puis chauffées à 300°C .

8. 3. Purification des solvants et réactifs

8. 3. 1. Solvants usuels

L'acétate d'éthyle, le THF, le dichlorométhane et l'éther sont purifiés à travers un système SDS (Solvent Dispensing System Manual). Les autres solvants sont achetés de qualité spectroscopique et utilisés immédiatement après distillation sous atmosphère d'argon sec et sur agents desséchants.

8. 3. 2. Réactifs anhydres

Pour les réactions qui requièrent des conditions anhydres, les réactifs sont séchés selon les méthodes décrites dans la littérature.

8. 4. Généralités

Les réactions sous conditions anhydres sont effectuées sous atmosphère d'argon en utilisant de la verrerie flambée et des aiguilles préalablement séchées à l'étuve (3h, 140°C).

Les produits ayant déjà fait l'objet d'une caractérisation dans des mémoires, thèses ou dans la littérature n'ont pas été caractérisés de nouveau.

La *O*-benzylhydroxylamine est disponible commercialement alors que la *O*-tritylhydroxylamine a été préparée selon une procédure publiée.²⁰⁶

Le 3-bromométhyl-thiophène a été synthétisé à partir de l'alcool correspondant selon une procédure publiée.²⁰⁷

Le chlorure de 4-phénoxy-benzène sulfonyle a été synthétisé en deux étapes à partir du 1-bromo-4-phénoxy-benzène selon une procédure publiée.²⁰⁸

La nomenclature des composés a été déterminée l'aide du programme Autonom® et selon : Favre, H. *La nomenclature pour la chimie organique* ; l'Ordre des chimistes du Québec : Montréal, 1992.

8. 5. Modélisation moléculaire

Les travaux de modélisation moléculaire ont été effectués par le Dr. Nicolas Moitessier et Eric Therrien selon des procédures qu'ils ont développées. Les précisions concernant ces études se trouvent dans les références citées au cours de cette thèse et ne sont donc pas rappelées ici.

8. 6. Tests biologiques

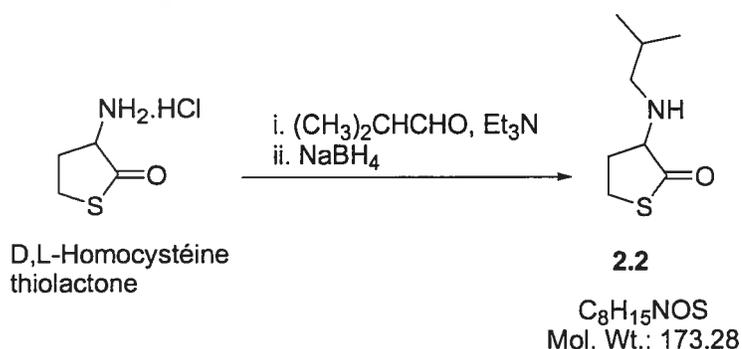
Les tests d'inhibition des composés des chapitres 2, 5 et 6 sont réalisés par les Laboratoires Servier en France. Les détails expérimentaux sont rapportés dans les brevets

correspondants aux travaux de cette thèse (voir Chapitres 2 et 7, pour les références). Aucune autre précision ne sera donc rapportée ici.

Les tests d'inhibition des composés du chapitre 3 sont réalisés par Novartis en Suisse. La compagnie pharmaceutique ne révèle pas les détails expérimentaux.

Chapitre 9

Section expérimentale : préparation des produits du chapitre 2

D,L-Dihydro-3-isobutylamino-thiophèn-2-one (2.2)

A une solution de sel d'hydrochlorure de D,L-homocystéine thiolactone (0.201 g, 1.31 mmol) dans le MeOH (5 mL) est ajouté à 0 °C l'isobutyraldéhyde (0.24 mL, 2.62 mmol) fraîchement distillé. Après dissolution, Et₃N (0.2 ml, 1.5 mmol) est additionnée. La solution résultante est agitée pendant 16 h puis refroidie à 0 °C avant l'ajout par portion de NaBH₃CN (0.172 g, 5.48 mmol) durant 45 min. Le mélange réactionnel est encore agité 30 min à 0 °C, puis neutralisé par ajout d'eau, extrait à l'éther. La phase organique est lavée avec de la saumure, séchée sur Na₂SO₄ et concentrée *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie éclair (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1) et le composé **2.2** est obtenu (0.165 g, 73%).

$R_f = 0.60$ (CH₂Cl₂/MeOH, 1:9) ;

IR (pastille NaCl) 3228, 2956, 1698 cm⁻¹ ;

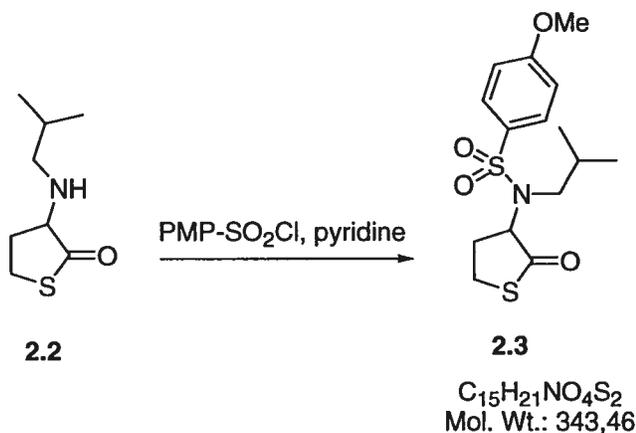
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 3.40 (m, 1H), 3.25 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.56 (dd, 1H, $J = 10.8, 6.6$, Hz), 2.42 (dd, 1H, $J = 6.6, 10.8$ Hz), 2.00 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 0.92 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.88 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 208.1, 67.4, 55.8, 32.1, 28.5, 27.7, 20.56, 20.5 ;

SM : (MS) (MAB N2, m/z , %) 171 (9), 145 (100), 112 (6).

9. 1. Procédure de formation du sulfonamide

D,L-N-Isobutyl-4-méthoxy-N-(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yle)-benzènesulfonamide (2.3)



A une solution de **2.2** (0.4 g, 2.31 mmol) dans la pyridine anhydre (5 mL) est ajouté le chlorure de *para*-méthoxybenzène sulfonyle (0.717 g, 3.47 mmol) à 0 °C. Le mélange est ensuite agité pendant 16 h à température de la pièce. Puis il est concentré, dilué à nouveau dans le CH₂Cl₂, lavé successivement à l'eau, à HCl 1N, avec une solution saturée de NaHCO₃, à la saumure puis séché sur Na₂SO₄ et concentré *in vacuo*. Le résidu obtenu purifié par chromatographie éclair (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1), permet d'obtenir **2.3** (0.722 g, 67%).

$R_f = 0.83$ (MeOH/CH₂Cl₂, 1: 9) ;

IR (pastille NaCl) 2960, 1707, 1497, 1355 cm⁻¹ ;

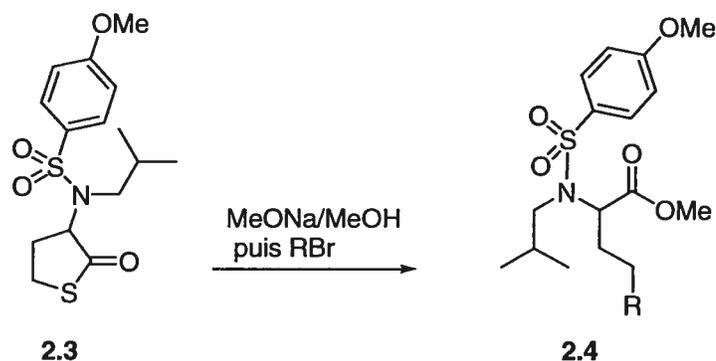
RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.81 m (d, 2H, $J = 9.8$ Hz), 6.98 (d, 2H, $J = 9.9$ Hz), 4.67 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.05 (dd, 1H, $J = 6.8, 14.5$ Hz), 2.74 (dd, 1H, $J = 6.8, 14.5$ Hz), 2.54 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 0.88 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz) ;

¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 202.2, 162.4, 131.0, 129.7, 113.9, 66.9, 55.4, 53.9, 29.1, 27.7, 26.7, 20.0 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 344 (100) (M+H⁺), 316 (37), 171 (33) ;

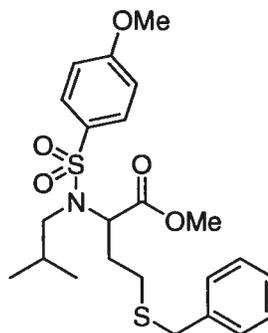
(HR) calc. pour C₁₅H₂₂O₄NS₂ 344.09903 (M+H⁺), obt. 344.09830.

9. 2. Procédure générale pour la préparation de 2.4a-f



A une solution du composé **2.3** (0.4 mmol) dans MeOH (3 mL) est ajouté à 0 °C une solution de méthanolate de sodium fraîchement préparée à partir de Na (0.6 mmol) dans le MeOH (2 mL). Après 30 min d'agitation, le bromure d'alkyle désiré (0.8 mmol) est additionné. Le mélange réactionnel est alors agité pendant 16 h à température de la pièce puis concentré, dilué dans EtOAc, filtré et concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie éclair pour donner **2.4**.

4-Benzylsulfanyl-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyrate de méthyle (2.4a)



2.4a

$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_5\text{S}_2$
Mol. Wt.: 465.63

Quantité 125mg ;

Rendement 75% ;

$R_f = 0.23$ (hexanes/EtOAc, 4:1) ;

IR (pastille NaCl) 2956, 1740, 1339 cm^{-1} ;

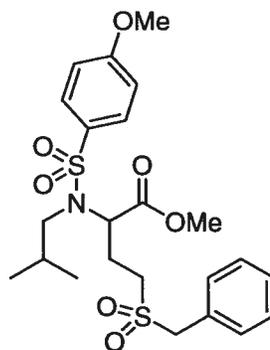
RMN: ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.75 (d, 2H, $J = 9.5$ Hz), 7.27 (m, 5H), 6.94 (d, 2H, $J = 9.5$ Hz), 4.51 (t, 1H, $J = 6.8$ Hz), 3.87 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 3.02 (dd, 1H, $J = 14.5, 7.5$ Hz), 2.88 (dd, 1H, $J = 14.5, 7.5$ Hz), 2.45 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 1.86 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 171.1, 162.7, 138.0, 131.5, 129.7, 128.7, 128.5, 127.0, 113.8, 58.7, 55.5, 54.2, 53.8, 52.1, 36.0, 29.7, 27.7, 20.2, 20.1 ;

SM: (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 466 (100) ($\text{M}+\text{H}^+$), 406 (38), 294 (38), 219 (34), 171 (38), 137 (42).

(HR) calc. pour $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{NO}_5\text{S}_2$ 466.17218 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 466.17070.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-phénylméthanesulfonyl-butyrat de méthyle (2.4b)



2.4b

$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_7\text{S}_2$
Mol. Wt.: 497.63

A une solution de **2.4a** (0.394 g, 0.084 mmol) dans AcOH (5 mL) est ajoutée H_2O_2 (30% solution aqueuse, 0.42 mmol). Le mélange résultant est chauffé à 40 °C pendant 7 h et laissé 16 h sous agitation à température de la pièce. La solution est alors neutralisée par ajout de NaHCO_3 puis lavée à l'eau, au CH_2Cl_2 , à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée afin d'obtenir **2.4b** (0.038 g, 76%), assez pure pour être utilisé tel quel dans la prochaine étape.

$R_f = 0.48$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 20:1) ;

IR (pastille NaCl) 2957, 1740, 1596.3, 1497 cm^{-1} ;

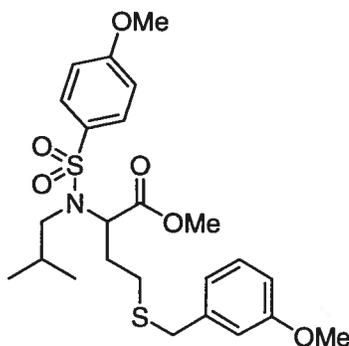
RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.70 (d, 2H, $J = 9.5$ Hz), 7.25 (m, 5H), 6.95 (d, 2H, $J = 9.5$ Hz), 4.51 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 4.25 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.55 (s, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.98 (dd, 1H, $J = 7.8, 14.6$ Hz), 2.78 (dd, 1H, $J = 7.8, 14.6$ Hz), 2.45 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.83 (m, 1H), 0.81 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz), 0.76 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 170.8, 163.8, 130.8, 130.1, 129.5, 129.0, 114.2, 60.2, 59.5, 56.1, 54.8, 53.0, 47.9, 30.1, 27.8, 23.1, 20.0 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 498 (18) ($\text{M}+\text{H}^+$), 391 (10), 171 (24), 149 (43), 107 (18).

(HR) calc. pour $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{NO}_7\text{S}_2$ 498.16202 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 498.16130.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(3-méthoxy-benzylsulfanyl)-butyrate de méthyle (2.4c)



2.4c

$\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{S}_2$
Mol. Wt.: 495.65

Quantité 80 mg ;

Rendement 60% ;

$R_f = 0.18$ (hexanes/EtOAc, 8:2) ;

IR (pastille NaCl) 2956, 1740, 1597 cm^{-1} ;

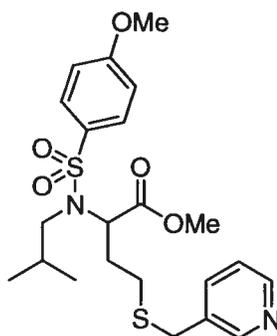
RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 7.76 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz), 7.22 (m, 1H), 6.94 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz), 6.89 (m, 3H), 4.52 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz), 3.81 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 3.54 (s, 3H), 3.02 (dd, 1H, $J = 5.8, 13.7$ Hz), 2.87 (dd, 2H, $J = 5.8, 13.7$ Hz), 2.47 (m, 2H), 2.22 (m, 1H), 1.86 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.82 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 171.8, 163.7, 161.1, 139.5, 131.4, 129.8, 129.4, 114.2, 113.9, 113.5, 112.3, 58.7, 58.4, 35.9, 27.9, 27.8, 20.6, 20.0 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 496 (35) ($\text{M}+\text{H}^+$), 324 (38), 171 (50), 121 (100) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{NO}_6\text{S}_2$ 496.18277 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 496.18480.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-butyrate de méthyle (2.4d)



2.4d

$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$
Mol. Wt.: 466.62

Quantité 93 mg ;

Rendement 20% ;

$R_f = 0.35$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 2958, 1738, 1595 cm^{-1} ;

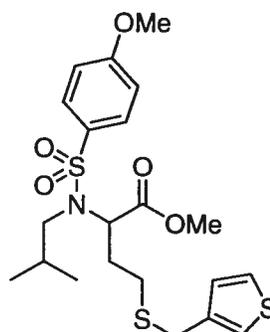
RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 8.54 (m, 3H), 7.77 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 7.27 (m, 1H), 6.95 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 4.55 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 3.86 (s, 3H), 3.71 (s, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.04 (dd, 1H, $J = 7.2, 13.7$ Hz), 2.85 (dd, 1H, $J = 7.2, 13.7$ Hz), 2.49 (m, 2 H), 2.20 (m, 1H), 1.88 (m, 2 H), 0.84 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz), 0.81 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 170.8, 162.8, 149.8, 148.3, 136.3, 133.8, 131.3, 129.6, 123.4, 113.8, 58.6, 55.5, 54.2, 53.4, 52.1, 33.1, 29.6, 28.1, 27.7, 20.2, 20.1 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 467 (100) ($\text{M}+\text{H}^+$), 322 (8), 295 (25), 274 (28), 171 (28).

(HR) calc. pour $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ 467.16745 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 467.16820.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(thiophène-3-ylméthylsulfanyl)-butyrate de méthyle (2.4e)



2.4e

$C_{21}H_{29}NO_5S_3$
Mol. Wt.: 471.66

Quantité 108 mg ;

Rendement 99% ;

$R_f = 0.57$ (hexanes/EtOAc, 7:3) ;

IR (pastille NaCl) 2957, 1738, 1596 cm^{-1} ;

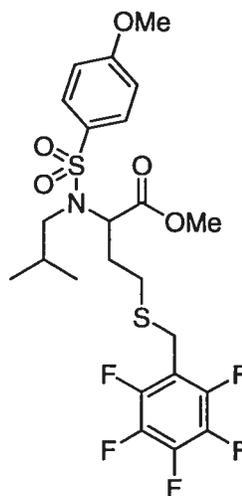
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 7.78 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.31 (m, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.09 (m, 1H), 6.97 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 4.52 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz), 3.87 (s, 3H), 3.73 (s, 2H), 3.55 (s, 3H), 3.02 (dd, 1H, $J = 7.9, 15.1$ Hz), 2.78 (dd, 1H, $J = 7.9, 15.1$ Hz), 2.48 (m, 2H), 2.22 (m, 1H), 1.88 (m, 2H), 0.85 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 171.6, 162.5, 131.8, 129.8, 128.2, 126.3, 122.4, 113.8, 58.5, 55.2, 53.8, 52.2, 31.0, 29.8, 28.3, 28.0, 20.2 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 472 (25) ($M+H^+$), 300 (27), 193 (62) ;

(HR) calc. pour $C_{21}H_{30}NO_5S_3$ 472.1230117 ($M+H^+$), obt. 472.122069.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-pentafluorophénylméthylsulfanylbutyrate de méthyle (2.4f)



2.4f

$C_{23}H_{26}F_5NO_5S_2$
Mol. Wt.: 555.58

Quantité 283 mg ;

Rendement 53% ;

$R_f = 0.15$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 2960, 1741, 1597, 1520 cm^{-1} ;

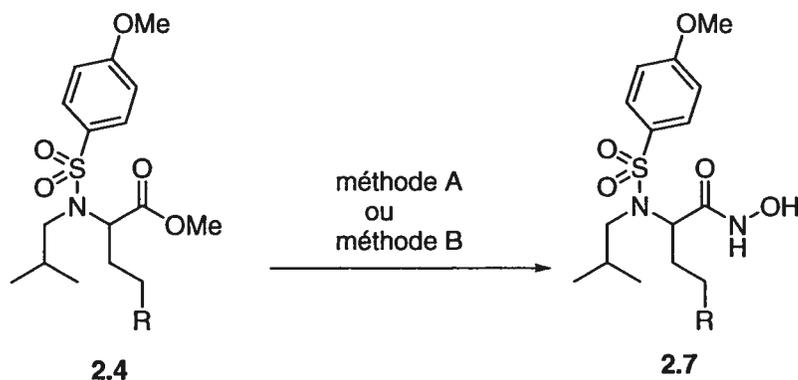
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 7.74 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 6.94 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 4.52 (t, 1H, $J = 6.5$ Hz), 3.85 (s, 3H), 3.74 (s, 2H), 3.54 (s, 3H), 3.05 (dd, 1H, $J = 4.3, 10.8$ Hz), 3.85 (dd, 1H, $J = 4.3, 10.8$ Hz), 2.59 (m, 2H), 2.22 (m, 1H), 1.90 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz), 0.80 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170.6, 162.7, 131.2, 129.5, 113.7, 58.6, 55.4, 54.2, 51.9, 29.5, 28.8, 27.6, 22.3, 19.98, 19.93 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 556 (100), 496 (46), 171 (64) ;

(HR) calc. pour $C_{23}H_{26}F_5O_5NS_2$ 556.12506 ($M+H^+$), obt. 556.12670.

9. 3. Procédure générale pour la préparation de 2.1 et 2.7b-f



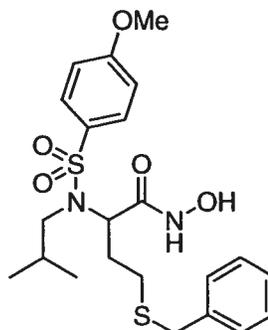
9. 3. 1. Méthode A

A une solution de **2.4** (0.1-0.2 mmol) dans MeOH (1 mL) est ajouté $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2.0 eq) et NaOMe (3.0 eq), 25% dans une solution de MeOH. Après 16 h d'agitation à température de la pièce, la solution est acidifiée à pH 3 avec HCl 0.5N et la phase organique est extraite avec EtOAc, séchée sur Na_2SO_4 , concentrée *in vacuo* et chromatographiée ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) pour donner **2.7**.

9. 3. 2. Méthode B

A une solution de **2.4** (0.1-0.2 mmol) est ajoutée NH_2OK obtenue à partir de KOH et NH_2OH (8 eq, 0.87 M dans MeOH). Après 16 h d'agitation à température de la pièce, la solution est acidifiée avec HCl dilué et la phase organique est extraite avec EtOAc, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 , concentrée *in vacuo* et chromatographiée ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) pour donner **2.7**.

4-Benzylsulfanyl-*N*-hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyramide (2.1)



2.1

$C_{22}H_{30}N_2O_5S_2$
Mol. Wt.: 466,61

Méthode A ;

Quantité 20 mg ;

Rendement 50% ;

$R_f = 0.20$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3343, 2962, 1677 cm^{-1} ;

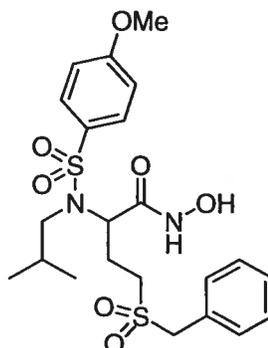
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.45 (élargi, 1H), 7.82 (d, 2H), 7.23 (m, 5H), 6.95 (d, 2H), 4.35 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 3.88 (s, 3H), 3.54 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz), 3.42 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz), 3.12 (dd, 1H, $J = 13.8, 9.8$ Hz), 2.88 (dd, 1H, $J = 13.8, 4.9$ Hz), 2.07 (m, 1H), 1.88 (m, 2H), 0.89 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 167.6, 163.0, 137.6, 130.8, 129.0, 128.6, 128.4, 127.1, 114.2, 55.5, 54.8, 53.3, 52.4, 35.6, 27.1, 26.5, 20.0 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 467 (28), 406 (64), 307 (11), 244 (32), 219 (16), 171 (47), 137 (82) ;

(HR) calc. pour $C_{22}H_{31}N_2O_5S_2$ 467.16745 ($M+H^+$), obt. 467.16530.

N-Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-phénylméthanesulfonylbutyramide (2.7b)



2.7b

$C_{22}H_{30}N_2O_7S_2$
Mol. Wt.: 498,61

Méthode B ;

Quantité 60 mg ;

Rendement 60% ;

$R_f = 0.80$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

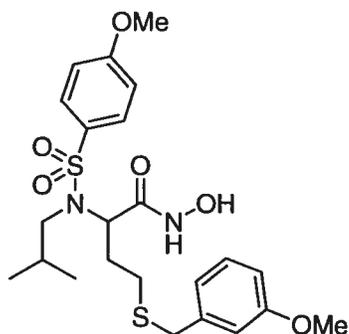
IR (pastille NaCl) 3321, 2926, 1681, 1591, 1492 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 9.45 (élargi, 1H), 7.75 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.48 (m, 5H), 6.98 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 4.51 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 4.18 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.05 (dd, 1H, $J = 5.6, 14.4$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J = 5.6, 14.4$ Hz), 2.75 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 167.3, 163.4, 130.5, 129.1, 128.9, 114.6, 113.8, 59.5, 55.5, 52.4, 47.5, 29.6, 27.3, 20.2, 19.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 499 (16) ($M+H^+$), 467 (11), 307 (17).

***N*-Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(3-méthoxy-benzylsulfanyl)-butyramide (2.7c)**



2.7c

$C_{23}H_{32}N_2O_6S_2$
Mol. Wt.: 496,64

Méthode B ;

Quantité 25 mg ;

Rendement 65% ;

$R_f = 0.72$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3332, 2961, 1677, 1597 cm^{-1} ;

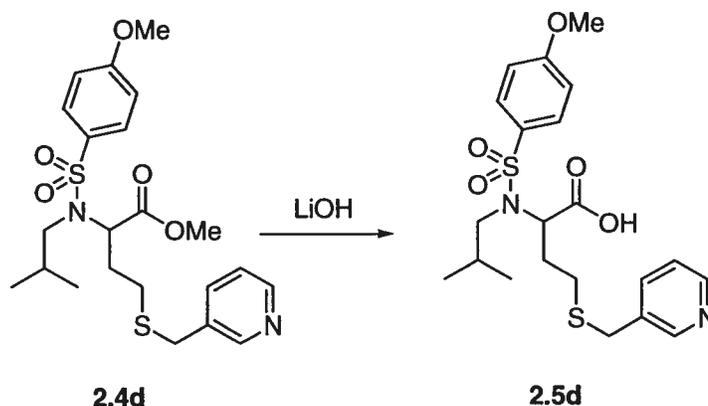
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 9.54 (élargi, 1H), 7.76 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.27 (m, 1H), 6.99 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 6.84 (m, 3H), 4.35 (t, 1H, $J = 7.0$ Hz), 3.86 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.48 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz), 3.38 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz), 3.12 (dd, 1H, $J = 7.9, 12.9$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J = 7.9, 12.9$ Hz), 2.10 (m, 2H), 1.98 (m, 1H), 1.43 (m, 2H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 0.84 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm), 168.0, 166.8, 159.2, 139.3, 129.4, 129.2, 121.1, 114.5, 112.4, 55.6, 55.2, 52.5, 35.7, 27.3, 26.6, 20.2, 19.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 497 (15) ($M+H^+$), 460 (40), 436 (36), 391 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{23}H_{33}N_2O_6S_2$ 497.17801 ($M+H^+$), obt. 497.18020.

Acide 2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-butyrique (2.5d)



$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$
Mol. Wt.: 452.59

A une solution de **2.4d** (88 mg, 0.188 mmol) dans THF (8 mL) est ajouté à 0 °C, LiOH (32 mg, 0.75 mmol). Après 24 h d'agitation à température de la pièce, la solution est acidifiée avec HCl 1N et la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée avec HCl dilué et avec de la saumure, séchée sur Na_2SO_4 puis concentrée *in vacuo* pour donner l'acide **2.5d** (69 mg, 81%) suffisamment pur pour être utilisé tel quel dans l'étape suivante.

$R_f = 0.41$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 2953, 1721, 1591 cm^{-1} ;

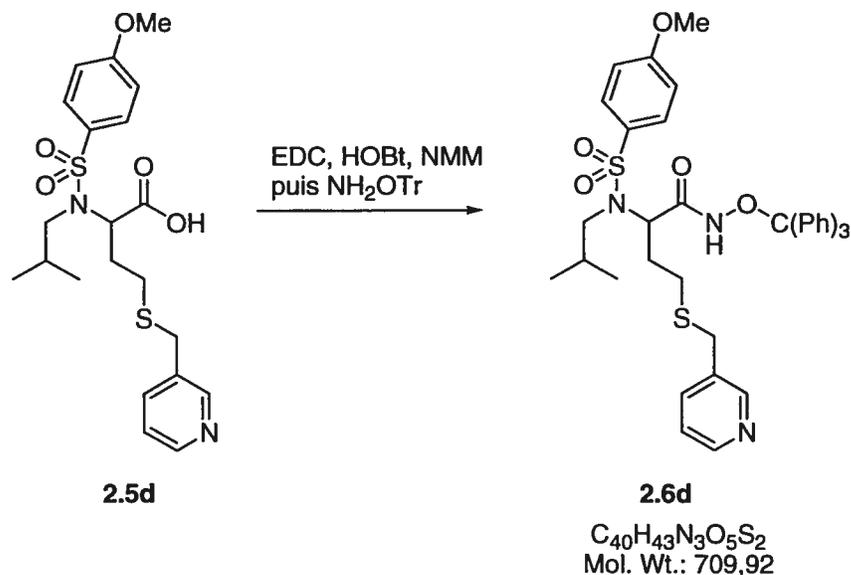
RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 10.92 (élargi, 1H), 8.48 (m, 3H), 7.78 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 7.48 (m, 1H), 6.95 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 4.45 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 3.82 (s, 3H), 3.78 (s, 1H), 3.09 (dd, 1H, $J = 7.3, 14.5$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J = 7.3, 14.5$ Hz), 2.52 (m, 2H), 2.28 (m, 1H), 1.88 (m, 2H), 0.90 (d, 3H, $J = 4.5$ Hz), 0.88 (d, 3H, $J = 4.5$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm). 172.8, 162.6, 146.5, 145.0, 139.4, 131.3, 129.7, 113.7, 58.9, 55.4, 54.2, 32.6, 30.2, 28.3, 27.8, 20.2, 20.1 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 453 (30) ($\text{M}+\text{H}^+$), 154 (20), 136 (16), 109 (30) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ 453.15179 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 453.15100.

2-[Isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-N-trityloxybutyramide (**2.6d**)



A une solution d'acide carboxylique **2.5d** (61 mg, 0.135 mmol) dans CH_2Cl_2 (8 mL) est ajouté EDC (31 mg, 0.16 mmol), HOBT (22 mg, 0.16 mmol) et NMM (0.03 mL, 0.23 mmol). Après 20 min d'agitation, *O*-tritylhydroxylamine (55 mg, 0.20 mmol) est additionnée et le mélange résultant est agité pendant 16 h. Il est ensuite repris dans CH_2Cl_2 et successivement lavé avec de l'eau, $NaHCO_3$ dilué, HCl 0.1N et de la saumure, séché sur Na_2SO_4 puis concentré *in vacuo*. Une chromatographie éclair ($CH_2Cl_2/MeOH$, 1:0 to 9:1) permet d'obtenir l'hydroxamate **2.6d** (60 mg, 65%).

$R_f = 0.62$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (neat/NaCl) 2961, 1710, 1595 cm^{-1} ;

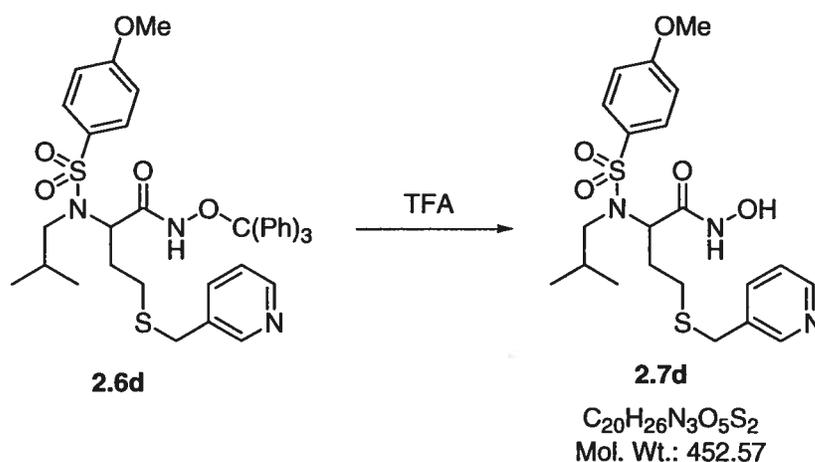
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 8.95 (m, 1H), 8.59 (m, 2H), 8.40 (m, 1H), 7.68 (d, 2H, $J = 6.8$ Hz), 7.28 (m, 15H), 6.95 (d, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.05 (t, 1H, $J = 7.0$ Hz), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.42 (d, 1H, $J = 13.9$ Hz), 3.32 (d, 1H, $J = 13.9$ Hz), 2.92 (dd, 1H, $J = 5.5, 14.1$ Hz), 2.84 (dd, 1H, $J = 5.5, 14.1$ Hz), 2.05 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.78 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, $J = 5.4$ Hz), 0.75 (d, 3H, $J = 5.4$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 166.5, 163.2, 148.8, 147.4, 141.7, 137.2, 131.2, 129.1, 128.9, 127.9, 127.7, 123.7, 114.4, 93.1, 55.6, 55.3, 52.5, 32.4, 27.5, 27.0, 26.8, 20.2, 19.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 710 (16) ($\text{M}+\text{H}^+$), 243 (100) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$ 710.27222 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 710.27520.

***N*-Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(pyridin-3-ylméthylsulfanyl)-butyramide (2.7d)**



A une solution d'hydroxamate **2.6d** (60 mg, 0.084 mmol) dans CH_2Cl_2 (10 mL) est ajouté TFA (1 ml, 10% dans CH_2Cl_2) goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur jaune persiste. La solution est alors encore agitée pendant 2 h, puis extraite avec CH_2Cl_2 , lavée avec HCl 0.1N, NaHCO_3 diluée, de la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée *in vacuo*. Une chromatographie éclair ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 1:0 to 9:1) permet d'obtenir **2.7d** (20 mg, 50%).

$R_f = 0.27$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3165, 2996, 1669, 1597 cm^{-1} ;

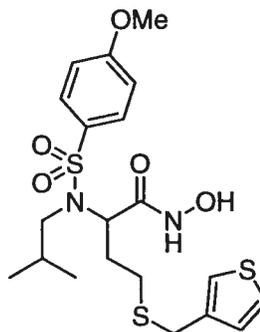
RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.55 (élargi, 1H), 8.48 (m, 3H), 7.68 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 7.35 (m, 1H), 6.95 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 4.35 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 3.86 (s, 3H), 3.55 (s, 2H), 3.12 (dd, 1H, $J = 5.3, 13.9$ Hz), 2.92 (dd, 1H, $J = 5.3, 13.9$ Hz), 2.21 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 0.98 (m, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 168.5, 163.7, 139.6, 131.8, 129.7, 114.3, 55.6, 55.2, 52.5, 32.4, 27.4, 27.3, 27.2, 20.1, 19.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 468 (73) ($M+H^+$), 153 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{21}H_{30}N_3O_5S_2$ 468.16269 ($M+H^+$), obt. 468.16150.

***N*-Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-(thiophène-3-ylméthylsulfanyl)-butyramide (2.7e)**



2.7e

$C_{20}H_{28}N_2O_5S_3$
Mol. Wt.: 472,64

Méthode B ;

Quantité 48 mg ;

Rendement 60% ;

$R_f = 0.45$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3335, 2961, 1674, 1595 cm^{-1} ;

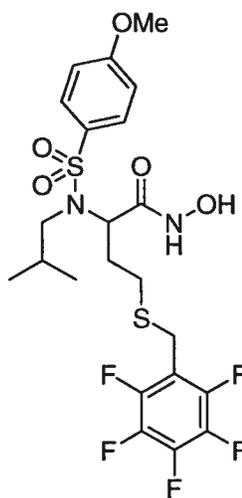
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 9.50 (élargi, 1H), 7.78 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz), 7.28 (m, 2H), 7.00 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz), 6.98 (m, 1H), 4.32 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz), 3.88 (s, 3H), 3.51 (d, 1H, $J = 5.7$ Hz), 3.49 (d, 1H, $J = 5.7$ Hz), 3.11 (dd, 1H, $J = 7.2, 11.2$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J = 7.2, 11.2$ Hz), 2.23 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 0.94 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 0.84 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz)

^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 167.9, 163.3, 132.2, 129.8, 128.2, 126.1, 122.3, 114.6, 55.9, 55.1, 52.8, 30.8, 27.6, 26.3, 20.03, 20.01 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 473 (7) ($M+H^+$), 412 (11), 307 (23), 289 (13), 193 (18), 107 (27) ;

(HR) calc. pour $C_{20}H_{29}N_2O_5S_3$ 473.12387 ($M+H^+$), obt. 473.12600.

***N*-Hydroxy-2-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-4-pentafluorophénylméthylsulfanylbutyramide (2.7f)**



2.7f

$C_{22}H_{25}F_5N_2O_5S_2$
Mol. Wt.: 556,57

Méthode B ;

Quantité 76 mg ;

Rendement 65% ;

$R_f = 0.45$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3334, 2964, 1678, 1596, 1505 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 7.77 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz), 7.25 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz), 4.38 (bs, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.51 (m, 2H), 3.16 (dd, 1H, $J = 7.5, 11.5$ Hz), 2.96 (dd, 1H, $J = 7.5, 11.5$ Hz), 2.24 (m, 2H), 1.96 (m, 1H), 1.51 (m, 1H), 0.91 (d, 3H, $J = 4.7$ Hz), 0.87 (d, 3H, $J = 4.7$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 167.4, 163.1, 130.7, 129.1, 114.3, 55.5, 54.8, 52.5, 28.2, 27.1, 26.7, 22.1, 20.04, 19.7 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 579 (18), 557 (27), 496 (50), 171 (100) ;

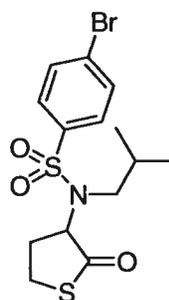
(HR) calc. pour $C_{22}H_{26}F_5N_2O_5S_2$ 557.12036 ($M+H^+$), obt. 557.12170.

9. 4. Préparation des produits 2.3j-k ; 2.4j-k et 2.7j-k

9. 4. 1. Préparation des sulfonamides 2.3j et 2.3k

La formation des sulfonamides suivants suit celle rapportée au paragraphe 8. 1., en remplaçant le chlorure de *para*-méthoxybenzène sulfonyle par le chlorure du sulfonyle choisi.

4-Bromo-*N*-isobutyl-*N*-(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yl)-benzènesulfonamide (2.3j)



2.3j

$C_{14}H_{18}BrNO_3S_2$
Exact Mass: 390,99
Mol. Wt.: 392,33

Quantité 428 mg ;

Rendement 71% ;

$R_f = 0.67$ (hexanes/EtOAc, 1:1) ;

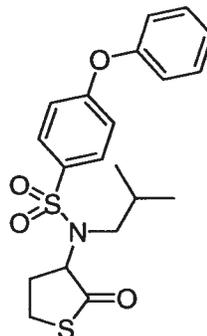
IR (pastille NaCl) 2961, 1705, 1575, cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.71 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.62 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 4.63 (m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.02 (dd, 2H, $J = 8.4, 4.6$ Hz), 2.71 (dd, 2H, $J = 8.4, 4.6$ Hz), 2.41 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 0.85 (d, 3H, $J = 5.8$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 5.8$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 202.5, 138.4, 131.9, 129.8, 127.6, 68.0, 54.6, 26.3, 27.7, 26.7, 19.9 ;

SM : (BR) (FAB, m/z , %): 392 (20), 307 (15) ;

(HR) calc. pour $C_{14}H_{19}O_3NS_2$ ^{79}Br 391.99896 (M+1), obt. 392.00060.

***N*-Isobutyl-*N*-(2-oxo-tétrahydro-thiophèn-3-yl)-4-phénoxy-benzènesulfonamide (2.3k)****2.3k**

$C_{20}H_{23}NO_4S_2$
Mol. Wt.: 405,53

Quantité 323 mg ;

Rendement 45% ;

$R_f = 0.20$ (hexanes/EtOAc, 8:2) ;

IR (pastille NaCl) 2962, 1706, 1584, 1488 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.81 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 7.42 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 7.21 (t, 1H, $J = 5.1$ Hz), 7.08 (dd, 2H, $J = 6.2, 12.4$ Hz), 7.04 (dd, 2H, $J = 6.2, 12.4$ Hz), 4.65 (m, 1H), 3.28 (m, 2H), 3.07 (dd, 1H, $J = 10.5, 5.5$ Hz), 2.74 (dd, 1H, $J = 10.5, 5.5$ Hz), 2.57 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.92 (m, 1H), 0.85 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 5.5$ Hz)

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 203.3, 182.2, 155.8, 134.4, 130.1, 130.0, 121.9, 120.0, 117.2, 67.4, 54.4, 29.3, 28.2, 27.7, 20.8 ;

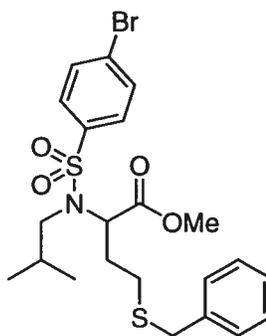
SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 406(15), 154 (28), 109 (24), 83 (48) ;

(HR) calc. pour $C_{20}H_{23}O_4NS_2$ 406.11469 ($M+H^+$), obt. 406.11550.

9. 4. 2. Formation des thioéthers 2.4j et 2.4k

La formation des composés **2.4j** et **2.4k** suit la procédure rapportée au paragraphe **8. 2.** en utilisant le bromure de benzyle.

**4-Benzylsulfanyl-2-[(4-bromo-benzènesulfonyl)-isobutyl-amino]-butyrate de méthyle
(2.4j)**



2.4j

$C_{22}H_{28}BrNO_4S_2$
Exact Mass: 513,06
Mol. Wt.: 514,50

Rendement 90 mg ;

Rendement 22% ;

$R_f = 0.51$ (hexanes/EtOAc, 4:1) ;

IR (pastille NaCl) 2956, 1742, 1546 cm^{-1} ;

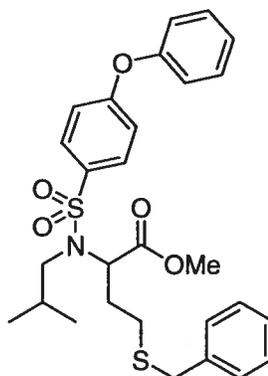
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.71 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.62 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.31 (m, 5H), 4.54 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz), 3.68 (s, 2H), 3.55 (s, 3H), 3.05 (dd, 2H, $J = 4.6, 8.4$ Hz), 2.85 (dd, 2H, $J = 4.6, 8.4$ Hz), 2.48 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 1.87 (m, 2H), 0.88 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz), 0.87 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 170.6, 138.8, 137.9, 131.9, 129.1, 128.7, 128.5, 127.5, 127.02, 58.8, 54.4, 52.1, 36.0, 29.7, 27.9, 27.7, 20.14, 20.07 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 514 (28) ($M+H^+$), 456 (15), 294 (59) ;

(HR) calc. pour $C_{22}H_{28}BrO_4NS_2$ 514.07214 ($M+H^+$), obt. 514.07110.

**4-Benzylsulfanyl-2-[isobutyl-(4-phénoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyrate de méthyle
(2.4k)**



2.4k

$C_{28}H_{33}NO_5S_2$
Mol. Wt.: 527,70

Quantité 168 mg ;

Rendement 55% ;

$R_f = 0.41$ (hexanes/EtOAc, 4:1) ;

IR (pastille NaCl) 2963, 1736, 1584, 1488 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.79 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 7.43 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 7.26 (t, 1H, $J = 5.2$ Hz), 7.02 (d, 2H, $J = 6.5$ Hz), 7.0 (d, 2H, $J = 6.5$ Hz), 4.52 (t, 1H, $J = 4.3$ Hz), 4.02 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.06 (dd, 1H, $J = 5.7, 10.1$ Hz), 2.85 (dd, 1H, $J = 5.7, 10.1$ Hz), 2.47 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 1.89 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 5.8$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz), 0.84 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz) ;

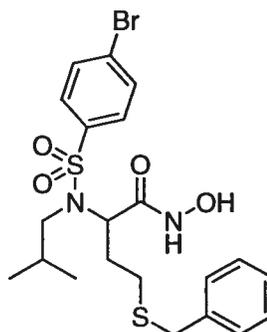
^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 130.0, 129.7, 128.7, 128.4, 126.9, 124.7, 120.0, 117.2, 61.1, 58.8, 54.1, 35.8, 29.7, 27.9, 27.6, 20.1, 20.0, 13.8 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 542 (32), 308 (32), 137 (76), 91 (73) ;

(HR) calc. pour $C_{29}H_{35}O_5NS_2$ 542.20349 ($M+H^+$), obt. 542.20260.

9. 4. 3. Formation des acides hydroxamiques 2.7j et 2.7k

4-Benzylsulfanyl-2-[(4-bromo-benzènesulfonyl)-isobutyl-amino]-*N*-hydroxybutyramide (2.7j)



2.7j

$C_{21}H_{27}BrN_2O_4S_2$
Mol. Wt.: 515.49

Méthode B rapportée au paragraphe 8. 3. 2. ;

Quantité 12 mg ;

Rendement 62% ;

Huile incolore ;

$R_f = 0.37$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3345, 2961, 1679, 1157 cm^{-1} ;

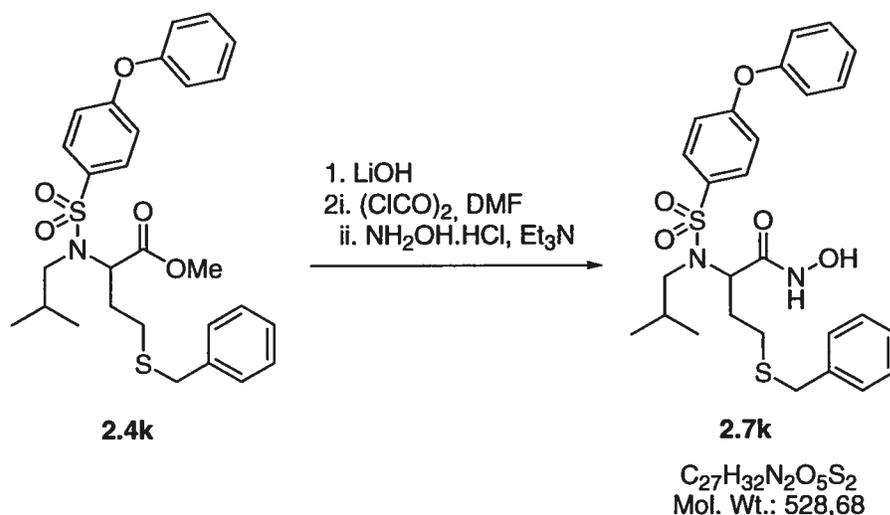
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.67 (m, 5H), 7.31 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz), 7.27 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz), 4.35 (t, 1H, $J = 6.8$ Hz), 3.52 (dd, 1H, $J = 5.7, 12.6$ Hz), 3.12 (dd, 1H, $J = 5.7, 12.6$ Hz), 2.22 (m, 2H), 2.11 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 0.89 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz) ;

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 166.9, 138.3, 137.5, 132.5, 128.5, 128.45, 128.38, 128.04, 127.06, 54.7, 52.5, 35.7, 27.0, 26.5, 20.0, 19.6 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 523 (8), 438 (15), 391 (25), 307 (17), 286 (23), 176 (21), 137 (67) ;

(HR) calc. pour $C_{21}H_{28}O_4N_2S_2^{79}Br$ 515.06738 (M+1), obt. 515.06580.

4-Benzylsulfanyl-N-hydroxy-2-[isobutyl-(4-phénoxy-benzènesulfonyl)-amino]-butyramide (2.7k)



L'ester **2.4k** (118 mg, 0.217 mmol) est solubilisé dans le THF (5 mL) et à 0°C, et LiOH (36 mg, 0.871 mmol) est additionné. La solution est laissée sous agitation à température ambiante pendant 36 h. Puis, HCl 1M est ajouté lentement jusqu'à pH 3 et la phase organique est extraite à AcOEt, séchée sur Na₂SO₄ et concentrée pour donner l'acide carboxylique (88 mg, 77%) utilisé tel quel dans l'étape suivante.

L'acide carboxylique (75 mg, 0.146 mmol) obtenu dans l'étape précédente est mis en solution dans CH₂Cl₂ (5 mL) et DMF (11 µL, 0.146 mmol) est additionnée, suivi du chlorure d'oxalyle. Un dégagement gazeux est observé et le tout est agité 30 min. Pendant ce temps, dans un second ballon, le sel HCl d'hydroxylamine (40 mg, 0.584 mmol) est mis en suspension dans un mélange eau/THF 1/5 (6 mL) et à 0°C, Et₃N (122 µL, 0.876 mmol) est ajoutée et la solution obtenue est agitée 15 min.

Lorsque le dégagement gazeux est terminé, la première solution est ajoutée à la solution d'hydroxylamine et le tout est agité 16 h à température ambiante. HCl 1N est ajouté jusqu'à pH 4 et la phase organique est extraite au CH₂Cl₂, lavée à la saumure, séchée sur Na₂SO₄ et concentrée pour donner une huile. Cette dernière est purifiée par chromatographie éclair (CH₂Cl₂/MeOH/, 96/4) pour donner **2.7k** (62 mg, 80%) comme une huile incolore

$R_f = 0.42$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) ;

IR (pastille NaCl) 3337, 2963, 1676, 1583, 1488 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 10.92 (élargi, 1H), 7.74 (d, 2H, $J = 5.8$ Hz), 7.39 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 7.26 (m, 5H), 7.03 (t, 3H, $J = 5.0$ Hz), 4.34 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.49 (dd, 2H, $J = 7.5, 13.6$ Hz), 3.15 (dd, 1H, $J = 10.0, 14.2$ Hz), 2.88 (dd, 1H, $J = 10.0, 14.2$ Hz), 2.22 (m, 1H), 2.1 (m, 2H), 1.8 (m, 1H), 1.4 (m, 1H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

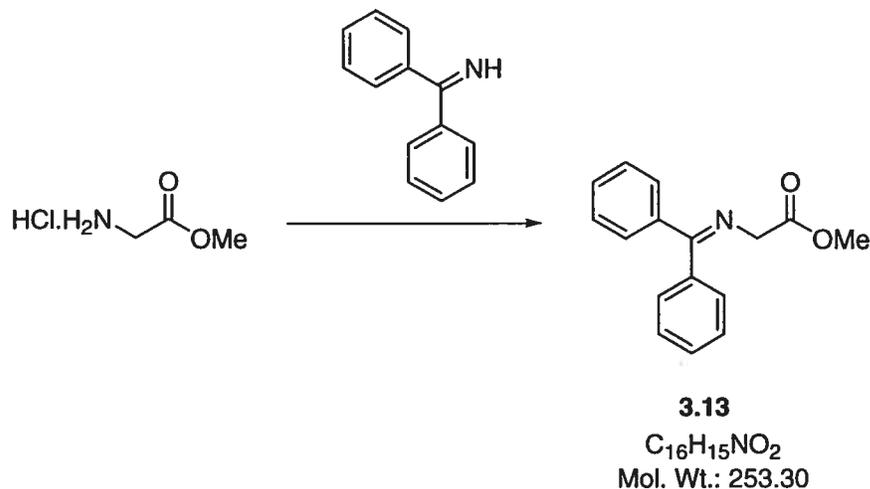
^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 167.7, 161.8, 154.8, 137.6, 132.7, 130.1, 129.1, 128.64, 128.61, 128.60, 128.43, 128.41, 127.0, 124.9, 120.1, 117.7, 54.9, 52.4, 35.6, 27.1, 26.6, 20.1, 19.7 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 529 (20), 468 (49), 233 (24), 137 (88) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}_2$ 529.18400 ($\text{M}+\text{H}^+$), obt. 529.18311.

Chapitre 10

**Section expérimentale :
préparation des produits du chapitre 3**

(Benzhydrylidène-amino)-acétate de méthyle (3.13)

A une solution du sel HCl d'ester méthylique de la glycine (10.0 g, 79.6 mmol) dans CH₂Cl₂ (150 mL) est ajoutée la dibenzophénone imine (13.3 mL, 1 eq). Le mélange résultant est agité à température ambiante pendant 24 h puis filtré et concentré. Le résidu obtenu est dissout dans Et₂O (150 ml) et le précipité est filtré et lavé à l'eau. La phase organique est extraite, lavée à la saumure et séchée sur Na₂SO₄ avant d'être concentré *in vacuo* pour donner **3.13** (18.5 g, 92%), sous forme de cristaux blancs, suffisamment purs pour être utilisés tels quels dans la prochaine étape.

$R_f = 0.63$ (Hexanes/AcOEt, 7:3) ;

IR (pastille NaCl) 3059, 2952, 1748, 1627 cm⁻¹ ;

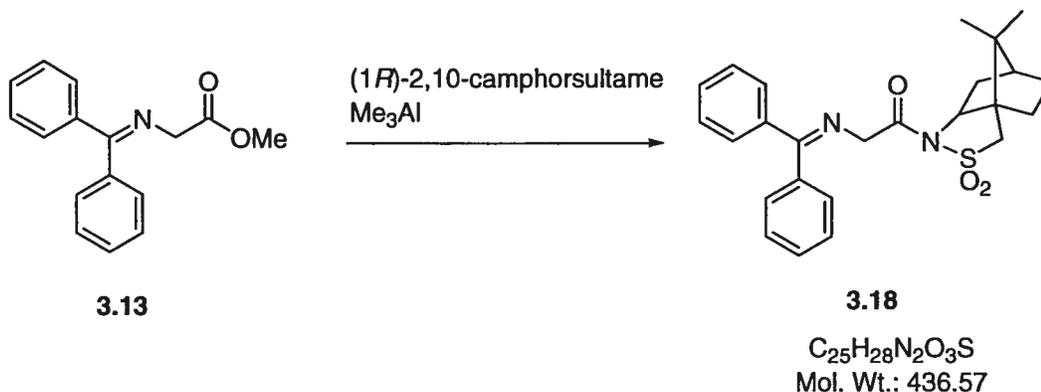
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.68 (dd, 2H, $J = 1.3, 8.2$ Hz), 7.47 (m, 3H), 7.45 (m, 1H), 7.34 (m, 2H), 7.15 (dd, 2H, $J = 1.5, 7.8$ Hz), 4.23 (s, 2H), 3.75 (s, 3H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.3, 171.5, 139.6, 136.3, 132.8, 130.9, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.0, 56.0, 52.4 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 253 (27) (M), 194 (100), 182 (16) ;

(HR) calc. pour C₁₆H₁₅O₂N 253.11, obt. 253.110893.

2-(Benzhydrylidène-amino)-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3λ⁶-thia-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{1,5}]dec-4-yl)-éthanone (3.18)



A une solution de l'acide (*R*)-camphorsulphonique (10.0 g, 46.5 mmol) dans le toluène (150 mL) est ajoutée goutte à goutte une solution de triméthylaluminium, 2M dans le toluène (33 mL, 1.4 eq) à température ambiante, sous argon. Le mélange résultant est agité 30 min puis le composé **3.13** (16.5 g, 1.4 eq) dissout au préalable dans le toluène (150 mL) est additionné. La solution est agitée 48 h. à 50°C puis refroidie dans un bain de glace. MeOH (100 mL) est ensuite ajouté très lentement et le mélange est agité pendant 15 min. De l'eau (30 mL) est additionnée et l'agitation est poursuivie encore 30 min. Le mélange est alors filtré sur Célite, rincé avec AcOEt tiède et concentré *in vacuo*. Le résidu obtenu donne après chromatographie éclair (hexanes/AcOEt, 9:1 à 6:2), **3.18** (14.4 g, 71%).

$R_f = 0.42$ (Hexanes/AcOEt, 7:3) ;

IR (pastille NaCl) 2960, 1704, 1265, 1446, 1333 cm⁻¹ ;

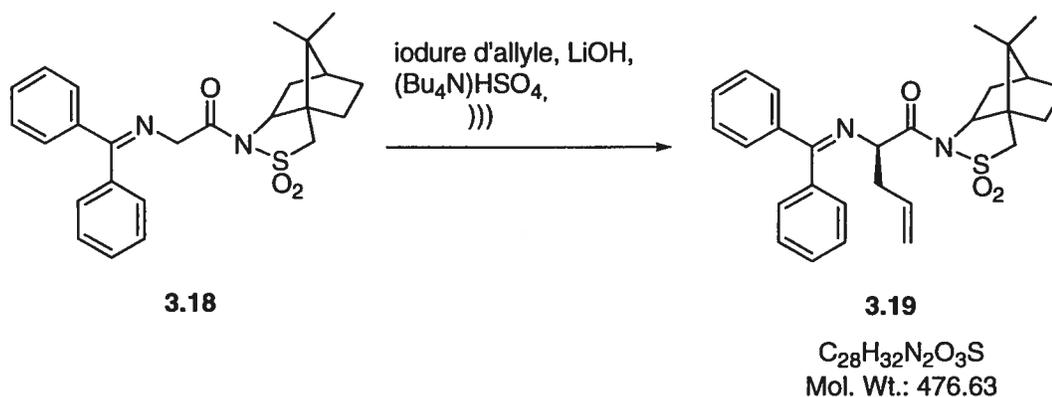
RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.68 (m, 2H), 7.44 (m, 3H), 7.35 (m, 3H), 7.26 (m, 2H), 5.76 (m, 1H), 5.1 (s, 1H), 5.08 (m, 2H), 4.84 (t, 1H), 3.91 (m, 1H), 3.35 (d, 2H, $J = 5.2$ Hz), 2.58 (m, 1H), 2.05 (m, 2H), 1.86 (m, 3H), 1.35 (m, 2H), 1.12 (s, 3H), 0.93 (s, 3H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm). 172.4, 170.9, 140.0, 136.4, 134.0, 130.6, 129.3, 129.0, 128.8, 128.5, 128.3, 118.6, 65.6, 65.3, 53.5, 48.8, 48.1, 44.9, 40.4, 38.7, 33.1, 31.4, 26.8, 21.1, 20.3 ;

SM : (BR) (MAB N2, m/z , %): 436 (42) (M+), 194 (100) ;

(HR) calc. pour C₂₅H₂₈O₃N₂S 436.182065, obt. 436.181696.

(2*R*)-(Benzhydrylidène-amino)-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3λ⁶-thia-4-azatricyclo[5.2.1.0^{1,5}]dec-4-yl)-pent-4-én-1-one (3.19)



L'imine **3.18** (104 mg, 0.238 mmol) est dissoute dans CH₂Cl₂/H₂O 30:1 et le tout est refroidi à -10°C (glace + saumure). LiOH.H₂O (12 mmol, 50 eq) est ajouté, suivi de (Bu₄N)HSO₄ (0.262 mmol, 1.1 eq) et de l'iodure d'allyle (0.286 mmol, 1.2 eq). Le mélange est alors immédiatement soumis aux ultrasons pendant 8 min, puis filtré sur papier et concentré. Le résidu obtenu est alors trituré avec Et₂O (11 mL) et le tout est filtré une nouvelle fois pour éliminer Bu₄NI. Le filtrat est lavé avec H₂O puis avec de la saumure et enfin concentré pour fournir **3.19** (80 mg, 81%) utilisé tel quel dans l'étape suivante.

R_f = 0.46 (hexanes/AcOEt, 7/3) ;

IR (pastille NaCl) 2961, 1705, 1625, 1333 cm⁻¹ ;

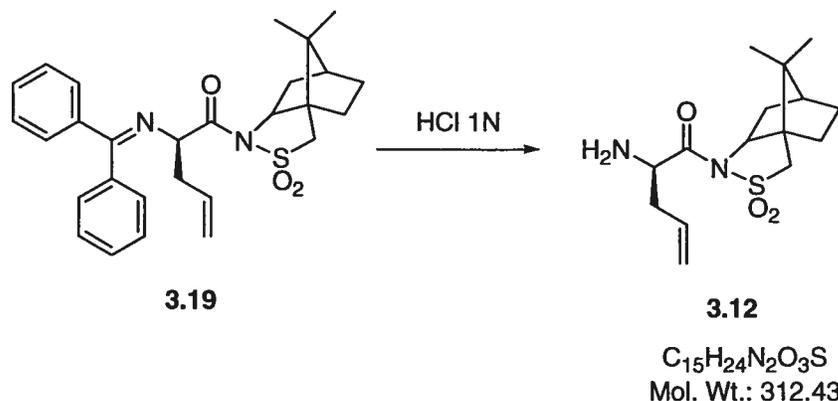
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.74 (dd, 2H, *J* = 1.3, 8.3 Hz), 7.44 (m, 3H), 7.33 (m, 3H), 7.2 (dd, 2H, *J* = 1.3, 8.3 Hz), 5.7 (m, 1H), 5.1 (dd, 1H, *J* = 2.0, 12.1 Hz), 5.05 (dd, 1H, *J* = 1.5, 7.1 Hz), 4.80 (dd, 1H, *J* = 4.6 Hz), 3.91 (m, 1H), 3.35 (dd, 2H, *J* = 7.9, 13.8 Hz), 2.76 (m, 1H), 2.56 (m, 1H), 2.05 (m, 2H), 1.85 (m, 3H), 1.36 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 0.93 (s, 3H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.4, 170.9, 140.0, 136.4, 134.0, 130.6, 129.3, 129.0, 128.8, 128.5, 128.3, 118.6, 65.6, 65.3, 53.5, 48.8, 48.1, 44.9, 40.4, 38.7, 33.1, 31.4, 26.8, 21.1, 20.3 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 477 (100) (M), 435 (10) ;

(HR) calc. pour C₂₈H₃₃O₃N₂S 477.22119, obt. 477.21980.

(2*R*)-Amino-1-(10,10-diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{1,5}]dec-4-yl)-pent-4-én-1-one (3.12)



L'allyle **3.19** (4.6 g, 9.66 mmol) est dissout dans Et₂O (130 mL) et une solution de HCl 1N (130 mL) est ajoutée. Le mélange est alors laissé sous agitation, à température ambiante pendant 16 h. La phase organique est ensuite extraite trois fois avec Et₂O pour séparer la dibenzophénone formée. La phase aqueuse est par la suite basifiée à pH 11 avec K₂CO₃ 3M puis la phase organique est extraite trois fois à l'aide de AcOEt, lavée à la saumure puis séchée sur Na₂SO₄ et concentrée pour fournir **3.12** (1.5 g, 50%) utilisé tel quel dans l'étape suivante.

$R_f = 0.10$ (hexanes/AcOEt, 1/1) ;

$[\alpha]_D = +83.7$ (c 0.97, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2990, 1696, 1329 cm⁻¹ ;

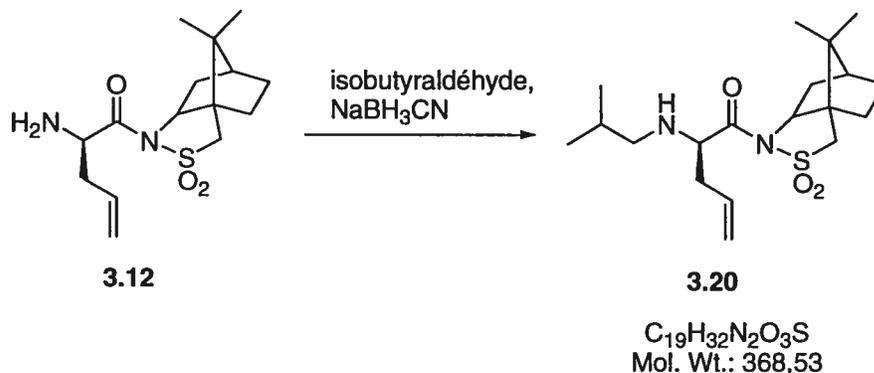
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 5.75 (m, 1H), 5.15 (dd, 1H, $J = 1.9, 12.5$ Hz), 5.12 (dd, 1H, $J = 0.9, 5.5$ Hz), 4.15 (dd, 1H, $J = 6.1$ Hz), 3.95 (dd, 1H, $J = 4.8, 7.2$ Hz), 3.46 (dd, 2H, $J = 8.1, 11.9$ Hz), 2.53 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.11-1.94 (m, 5H), 1.42 (m, 2H), 1.15 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.9, 133.6, 118.9, 65.5, 54.4, 53.4, 49.0, 48.1, 45.0, 40.3, 38.6, 33.2, 26.8, 21.3, 21.1, 20.2 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 313 (40) (M+1) ;

(HR) calc. pour C₁₅H₂₅O₃N₂S 313.15860, obt. 313.15980.

1-(10,10-Diméthyl-3,3-dioxo-3 λ^6 -thia-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{1,5}]dec-4-yl)-(2*R*)-isobutylamino-pent-4-én-1-one (3.20)



Sur l'isobutyraldéhyde (9.203 mmol, 1.5 eq) préalablement dissoute dans un mélange de MeOH/AcOH 20:3 (46 mL) est canulée goutte à goutte l'amine **3.12** (1.917 g, 6.135 mmol) en solution dans MeOH (40 mL). Après 30 min d'agitation à température ambiante, sous argon, NaBH₃CN (9.203 mmol, 1.5 eq) est ajouté lentement. Le mélange est alors agité 24 h. Puis le solvant est évaporé, le résidu est repris dans AcOEt (100 mL), lavé avec une solution saturée de NaHCO₃, de l'eau, de la saumure puis séché sur Na₂SO₄, concentré et chromatographié (hexanes/AcOEt 9:1 à 7:3) pour donner **3.20** (1.81 g, 80%) sous forme d'un solide blanc.

$R_f = 0.66$ (hexanes/AcOEt, 6/4) ;

PF : 79 °C

$[\alpha]_D = +78.06$ (c 1.1, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2369, 2343, 1700, 1654 cm⁻¹ ;

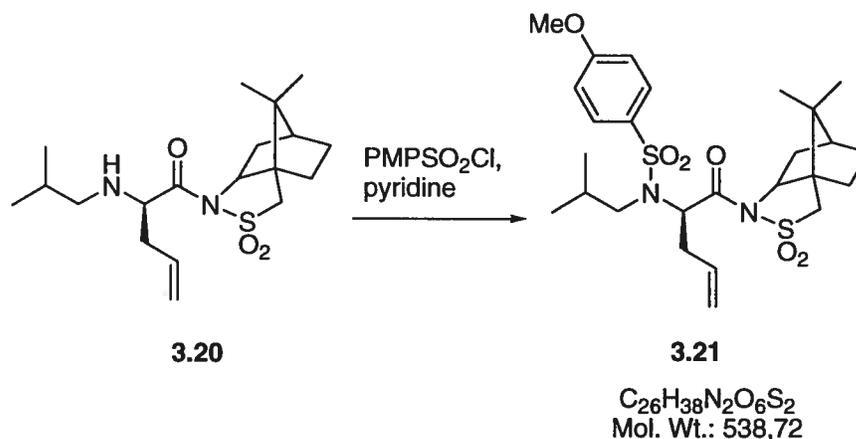
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 5.72 (m, 1H), 5.03 (dd, 1H, $J = 1.3, 18.6$ Hz), 4.98 (dd, 1H, $J = 0.9, 11.1$ Hz), 4.04 (dd, 1H, $J = 2.7, 7.2$ Hz), 3.86 (m, 2H), 3.44 (d, 1H, $J = 13.8$ Hz), 3.41 (d, 1H, $J = 13.8$ Hz), 2.36 (m, 2H), 2.26 (m, 2H), 1.95 (m, 3H), 1.83 (m, 3H), 1.58 (m, 1H), 1.17 (m, 2H), 1.08 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.80 (d, 6H, $J = 6.6$ Hz) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.5, 133.7, 118.7, 65.4, 61.3, 56.2, 53.5, 48.1, 44.9, 39.1, 38.7, 33.1, 28.8, 26.8, 21.1, 20.7, 20.2, 18.2, 17.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 369 (100) (M+1), 327 (10) ;

(HR) calc. pour C₁₉H₃₃N₂O₃S 369.22119, obt. 369.22190.

***N*-[(1*R*)-(10,10-Diméthyl-3,3-dioxo- λ^6 thia-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{1,5}]décane-4-carbonyl)-but-3-ényl]-*N*-isobutyl-4-méthoxy-benzènesulfonamide (3.21)**



Sur de l'isobutylamine **3.20** (1.96 g, 5.318 mmol) diluée dans la pyridine anhydre (25 mL) est ajoutée à 0°C le chlorure de sulfonyl paraméthoxyphényl (7.977 mmol, 1.5 eq). Après 30 min à cette température, l'agitation est poursuivie pendant 24 h à température ambiante. Puis, le solvant est évaporé, le résidu est repris dans CH₂Cl₂ (50 mL), lavé avec HCl 1% (10 mL), NaHCO₃ sat., de la saumure puis séché sur Na₂SO₄, concentré et chromatographié (hexanes/AcOEt 9:1) pour donner **3.21** (1.71 g, 60%).

$R_f = 0.43$ (hexanes/AcOEt, 6/4) ;

$[\alpha]_D = +31.3$ (c 1.28, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2960, 2360, 1762 cm⁻¹ ;

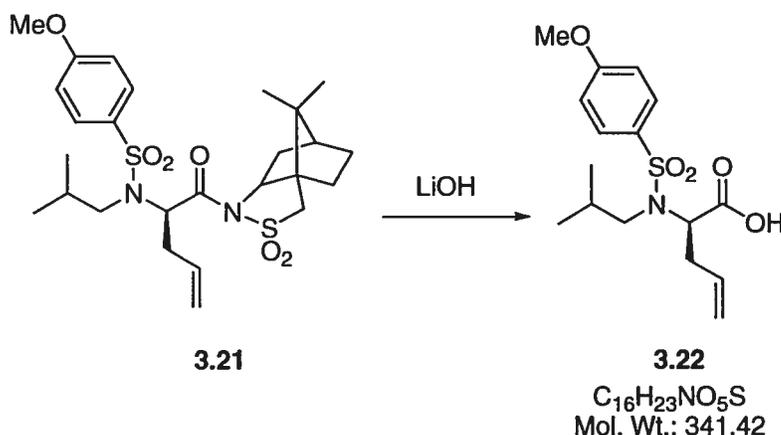
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.85 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 6.94 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 5.60 (m, 1H), 5.10 (dd, 1H, $J = 1.3, 17.2$ Hz), 5.01 (d, 2H, $J = 10.5$ Hz), 3.85 (s, 3H), 3.76 (dd, 1H, $J = 6.2$ Hz), 3.48 (s, 2H), 3.22 (dd, 2H, $J = 2.6, 7.1$ Hz), 2.66 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.03-1.83 (m, 5H), 1.4-1.27 (m, 3H), 1.08 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.89 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.8, 163.1, 133.5, 131.9, 130.4, 118.6, 114.1, 65.6, 60.5, 55.9, 53.9, 53.3, 48.9, 48.1, 44.7, 38.6, 34.9, 33.1, 28.9, 26.7, 24.4, 21.1, 20.1, 20.7, 20.2, 14.6 ;

MS : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 539 (64) (M+1), 497 (22), 296 (100) 171 (58) ;

(HR) calc. pour C₂₆H₃₉N₂O₆S 539.22498, obt. 539.22740.

Acide (2*R*)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-pent-4-énoïque (3.22)



LiOH (3 eq, 1.442 mmol) est ajouté au sulfonamide **3.21** (2.59 g, 4.8 mmol) en solution dans un mélange H₂O/THF : 7/4 (110 ml) et le tout est agité pendant 24 h à température ambiante. La phase organique est ensuite extraite avec CH₂Cl₂. La phase aqueuse est alors acidifiée avec HCl 1M à pH 3 et la phase organique est extraite à l'AcOEt. Cette seconde phase organique est lavée à la saumure, séchée sur Na₂SO₄, concentrée et chromatographiée (CH₂Cl₂/MeOH, 95/5) pour donner **3.22** (0.819 g, 50%).

$R_f = 0.21$ (hexanes/AcOEt, 1/1) ;

$[\alpha]_D = +27.9$ (c 1.0, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 3390, 2960, 1645, 1597, 1262 cm⁻¹ ;

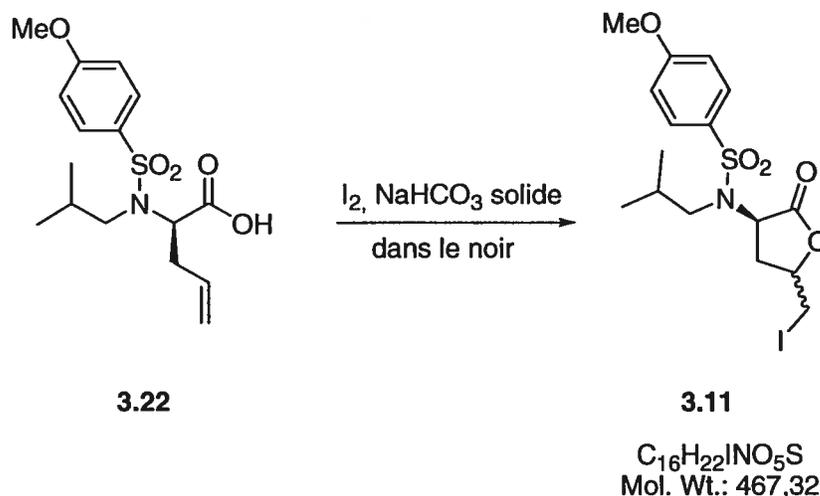
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.77 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 6.98 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz), 5.35 (m, 1H), 5.0 (dd, 1H, $J = 1.4, 17.0$ Hz), 4.92 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz), 4.25 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.15 (dd, 1H, $J = 3.4, 9.2$ Hz), 3.05 (dd, 1H, $J = 2.3, 5.7$ Hz), 2.65 (m, 1H), 2.36 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 0.93 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.87 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.0, 162.9, 133.3, 131.1, 129.6, 118.3, 113.9, 55.5, 50.2, 44.5, 33.7; 27.5, 20.1, 20.3 ;

MS : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 341 (80) (M), 295 (43) 170 (81) ;

(HR) calc. pour C₁₆H₂₃NO₅S (M+1) 342.137520, obt. 342.136124.

***N*-(5-Iodométhyl-2-oxo-tétrahydro-furan-(3*R*)-yl)-*N*-isobutyle-4-méthoxy-benzènesulfonamide (3. 11)**



NaHCO₃ solide (3 eq, 3.99 mmol) dilué au préalable dans 4 ml d'eau est ajouté sur l'acide **3.22** (455 mg, 1.33 mmol) en solution dans le THF (4ml). Le ballon est alors protégé de la lumière et I₂ (3 eq, 3.99 mmol) est ajouté lentement au mélange qui se colore immédiatement en brun foncé. Après 3 h 30 d'agitation à température de la pièce dans le noir, une solution aqueuse de KSO₄ 1M (10 ml) est ajoutée et la phase organique est extraite avec Et₂O jusqu'à ce que la phase aqueuse soit incolore. La phase organique est alors lavée avec NaHCO₃ sat., Na₂S₂O₃ sat en quantité minimale nécessaire pour que la solution devienne incolore puis séchée sur Na₂SO₄ pour donner un mélange de diastéréoisomères **3.11** (0.496 g, 80%).

$R_f = 0.75$ et 0.92 (hexanes/AcOEt, 1/1) ;

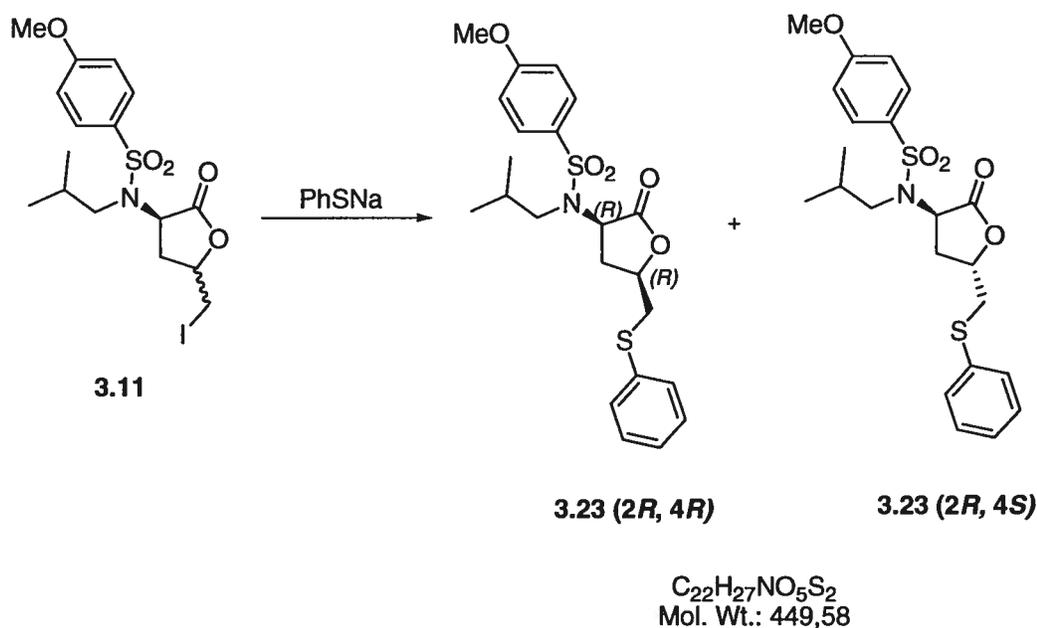
IR (pastille NaCl) 1785, 1597, 1154 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.88 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 6.98 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 4.60 (dd, 1H, $J = 9.2, 11.5$ Hz), 4.39 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.49 (dd, 1H, $J = 4.6, 10.4$ Hz), 3.38 (dd, 1H, $J = 7.2, 10.4$ Hz), 2.98 (dd, 1H, $J = 7.5, 14.4$ Hz), 2.87 (dd, 1H, $J = 7.5, 14.4$ Hz), 2.83 (ddd, 1H, $J = 6.3, 9.4, 15.2$ Hz), 2.32 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 0.88 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 172.2, 163.2, 130.4, 129.1, 114.2, 75.3, 58.3, 55.5, 54.7, 50.5, 34.5, 27.5, 20.0, 19.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 468 (28) (M).

***N*-Isobutyl-4-méthoxy-*N*-(2-oxo-5-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3*R*)-yle)-benzènesulfonamide (3.23)**



Sur l'iodolactone **3.11** (542 mg, 1.15 mmol) en solution dans le THF (5 mL) est ajoutée goutte à goutte une solution de phénylthiolate de sodium 0.15 M (15.4 mL, 2 eq.) préparé fraîchement comme suit.

L'hydrure de sodium 60% dans la graisse (107 mg, 2.6 mmol) est lavée 3 fois avec de l'hexane puis mis en solution dans du THF (17.8 mL). Le mélange est refroidi à 0°C avant l'addition de phénylthiol (274 μL , 6.6 mmol). L'ensemble est ajouté 30 min à 0°C avant d'être utilisé.

La solution est agitée à température ambiante pendant 16 h. Puis 60 mL d'un mélange 1:1 éther diéthylique/eau sont ajoutés et la phase organique est extraite 3 fois à l'éther, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 , concentrée et chromatographiée (hexanes/AcOEt, 4/1) pour

donner un mélange de deux diastéréoisomères dans un ratio 2.2/1 en faveur 3.23 (2*R*, 4*R*) (125 mg) (62 mg de 3.23 (2*R*, 4*S*)) et dans un rendement global de 40%.

***N*-Isobutyl-4-méthoxy-*N*-(2-oxo-(5*R*)-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3*R*)-yle)-benzènesulfonamide (3.23 (2*R*, 4*R*))**

$[\alpha]_D = +20.19$ (c 1.04, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2992, 1785, 1596, 1498 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.90 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 7.45 (dd, 2H, *J* = 1.3, 8.4 Hz), 7.36 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.30 (dd, 2H, *J* = 1.8, 7.4 Hz), 7.01 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz), 4.80 (dd, 1H, *J* = 9.0, 11.7 Hz), 4.34 (dddd, 1H, *J* = 4.9, 5.9, 7.5, 10.1 Hz), 3.91 (s, 3H), 3.47 (dd, 1H, *J* = 4.9, 14.0 Hz), 3.20 (dd, 1H, *J* = 7.5, 14.0 Hz), 3.02 (dd, 1H, *J* = 7.7, 14.4 Hz), 2.88 (dd, 1H, *J* = 7.5, 14.4 Hz), 2.77 (ddd, 1H, *J* = 5.9, 9.0, 12.7 Hz), 2.37 (ddd, 1H, *J* = 10.1, 12.0, 12.7 Hz), 1.85 (m, 2H), 0.88 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.81 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.3, 163.1, 134.4, 130.7, 130.4, 130.3, 129.2, 127.1, 114.0, 75.3, 57.9, 55.5, 54.6, 38.4, 33.4, 27.5, 20.0, 19.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 450 (24) (M+1), 155 (19), 137 (47), 83 (67) ;

(HR) calc. pour C₂₂H₂₈NO₅S₂ (M+1) 450.140892, obt. 450.138369.

***N*-Isobutyl-4-méthoxy-*N*-(2-oxo-(5*S*)-phénylsulfanylméthyl-tétrahydro-furan-(3*R*)-yle)-benzènesulfonamide (3.23 (2*R*, 4*S*))**

$[\alpha]_D = -2.1$ (C 0.55, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2992.0, 1784, 1596, 1498 cm⁻¹ ;

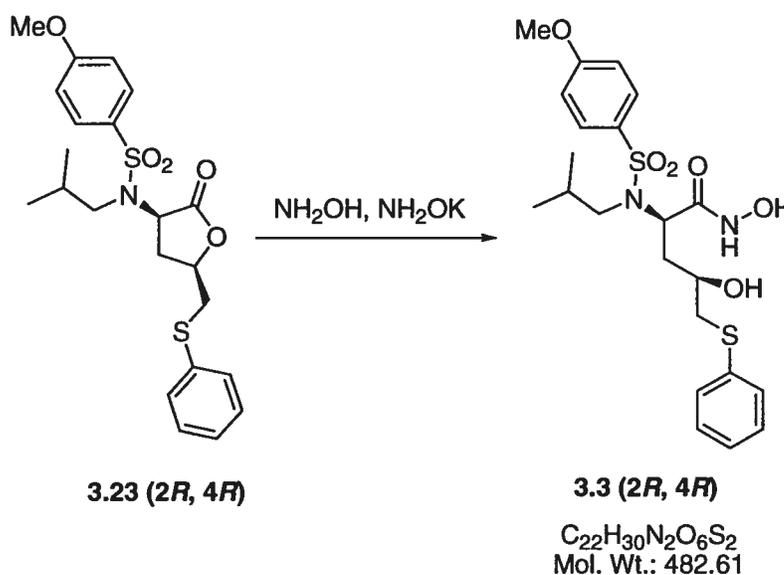
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 7.91 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.46 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 7.36 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.30 (d, 2H), 7.0 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 4.93 (m, 1H), 4.51 (t, 1H, *J* = 9.7 Hz), 3.91 (s, 3H), 3.32 (dd, 1H, *J* = 4.1, 14.2 Hz), 3.19 (dd, 1H, *J* = 6.8, 14.2 Hz), 2.88 (m, 2H), 2.74 (ddd, 1H, *J* = 9.0, 9.0, 13.8 Hz), 2.54 (ddd, 1H, *J* = 3.4, 10.4, 13.8 Hz), 1.78 (m, 1H), 0.89 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.77 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 173.3, 163.2, 132.4, 130.7, 130.3, 130.0, 129.3, 128.2, 128.1, 127.2, 113.9, 75.9, 56.5, 55.6, 55.2, 39.2, 31.5, 27.2, 19.9, 19.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 450 (24) ($\text{M}+1$), 307 (29), 289 (14), 244 (19)

(HR) cal. pour $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}_2$ 449.133067, obt. 449.132454.

Acide (4*R*)-hydroxy-(2*R*)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-5-phénylsulfanyl-pentanohydroxamique (3.3 (2*R*, 4*R*))



Un mélange d'hydroxylamine et des sels de potassium d'hydroxylamine (8eq, 1.9 mL, 0.83 mmol) dans le MeOH) préparé fraîchement comme décrit est ajouté sur la lactone **3.23 (2*R*, 4*R*)** (95 mg, 0.21 mmol) et le tout est ajouté à température ambiante pendant 16 h. Puis, le mélange est acidifié avec HCl 0.5M à pH 3 et la phase organique est extraite 3 fois avec AcOEt, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 , concentrée et chromatographiée (hexanes/AcOEt, 1/1) pour donner **3.3 (2*R*, 4*R*)** (19 mg, 20%).

$[\alpha]_{\text{D}} = +12.1$ (c 0.73, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 3344, 2995, 1674, 1596, 1498 cm^{-1} ;

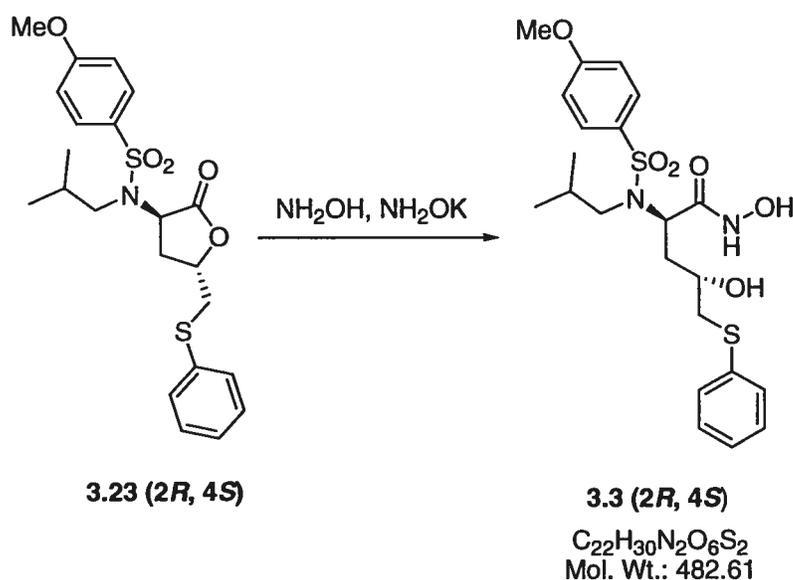
RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 9.6 (élargi, 1H), 7.73 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.33 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz), 7.30 (m, 1H), 6.92 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 4.51 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.27 (m,

1H), 3.11 (m, 1H), 2.95 (m, 3H), 1.92 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz), 0.87 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 168.5, 163.1, 135.0, 130.7, 130.1, 129.3, 129.0, 126.5, 114.2, 66.9, 55.6, 54.5, 52.6, 41.1, 33.9, 27.3, 20.2, 19.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 459 (6), 307 (44) .

Acide (4S)-hydroxy-(2R)-[isobutyl-(4-méthoxy-benzènesulfonyl)-amino]-5-phénylsulfanyl-pentanohydroxamique (3.3 (2R, 4S))



Le même mode opératoire décrit pour la formation de **3.3 (2R, 4R)** est suivi.

Quantité 8 mg ;

Rendement 19% ;

$[\alpha]_{\text{D}} = -24$ (c 0.4, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 3330.2, 2929.8, 1678.0, 1592.3, 1497.8 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 9.35 (élargi, 1H), 7.80 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.34 (m, 5H), 7.02 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 4.60 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 3.09 (dd, 2H, $J =$

10.0, 13.7), 2.84 (dd, 2H, $J = 5.0, 14.1$ Hz), 2.24 (t, 1H, $J = 11.8$ Hz), 1.91 (m, 1H), 1.30 (dd, 1H, $J = 7.6, 16.4$ Hz), 0.93 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm), 168.5, 163.2, 135.0, 130.8, 129.8, 129.1, 126.7, 114.4, 66.3, 55.6, 53.1, 52.1, 42.1, 33.8, 27.1, 20.1, 12.8 ;

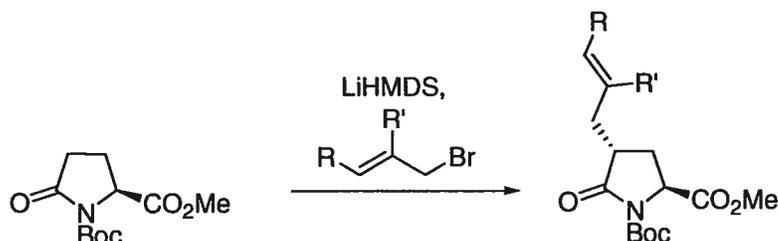
SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 484 (5), 460 (35).

Chapitre 11

**Section expérimentale :
préparation des produits du chapitre 5**

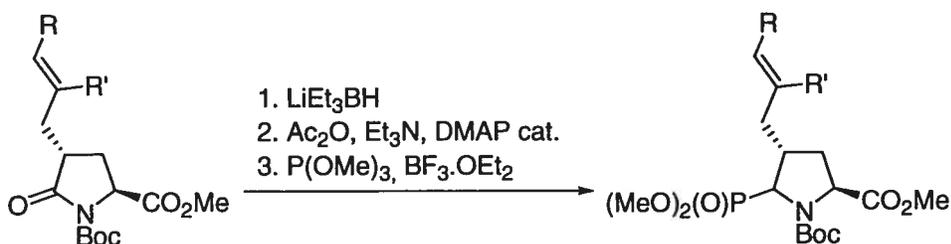
11. 1. Procédures générales

11. 1. 1. Procédure A : alkylation de l'ester pyroglutamique



Dans un ballon préalablement flambé est mise la lactame en solution dans THF anhydre (0.12 M) à -78°C sous argon. Après 15 min d'agitation à cette température, LiHMDS est additionné goutte à goutte sur une période de 30 min puis le mélange est agité pour encore 30 min. Une solution de bromure (1.5 eq) dans le THF (0.12 M) préalablement refroidie à 0°C est ajoutée lentement par canulation et le mélange réactionnel est agité à -78°C jusqu'à complétion de la réaction. Une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. (0.15 M) est alors ajoutée et la solution est laissée remonter jusqu'à température ambiante. La phase organique est extraite à AcOEt, lavée à la saumure et séchée sur Na_2SO_4 avant d'être concentré *in vacuo*. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie (Hexanes/AcOEt, 9/1) par gravitation afin de séparer les produits de double, *trans* et *cis* alkylation.

11. 1. 2. Procédure B : formation du phosphonate



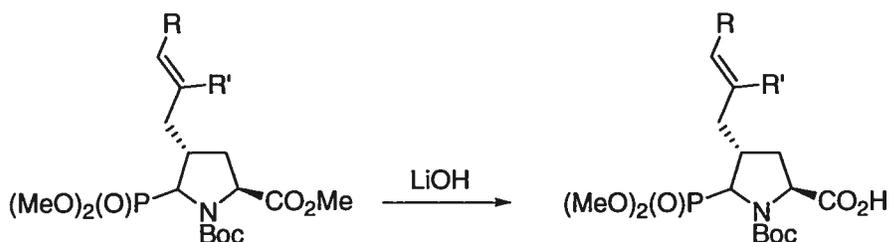
Dans un ballon préalablement flambé est mise la lactame en solution dans THF anhydre (0.16 M) et agitée pendant 20 min. à -78°C sous argon. LiEt_3BH (1.2 eq, 1M dans THF)

est additionné goutte à goutte sur une période de 30 min puis le mélange est agité à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à complétion. Une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. est ajoutée suivi de 2 gouttes de H_2O_2 30%. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1 h à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Après évaporation du solvant, la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée, sans chauffer le bain-marie pour donner une huile utilisée telle quelle dans la prochaine étape.

L'hémiacétal est dissout dans CH_2Cl_2 (0.3 M) et la solution refroidie à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sont additionnés dans l'ordre, Et_3N (3 eq), Ac_2O 99% pur (3 eq) et DMAP en quantité catalytique. La solution est laissée sous agitation pendant 16 h à température ambiante. Une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. est ajoutée et la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée, sans chauffer le bain-marie pour donner une huile utilisée directement dans l'étape suivante.

Le produit est dissout dans CH_2Cl_2 (0.1 M) et $\text{P}(\text{OMe})_3$ est ajouté. Le mélange sous argon est alors refroidi à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Au bout de 15 min à cette température, $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (2 eq) est additionné goutte à goutte. La solution est agitée 1 h à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 h à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ et encore 1 h à température ambiante. H_2O est ajoutée et la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée. Une purification par chromatographie par gravitation permet d'obtenir séparément les 2 diastéréoisomères phosphonates.

11. 1. 3. Procédure C : hydrolyse de l'ester méthylique

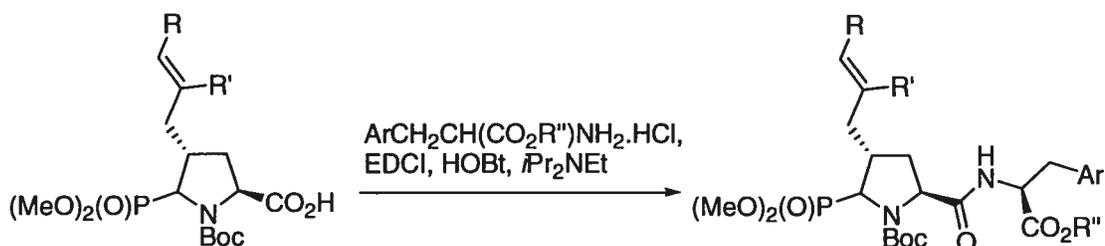


L'ester est dissout dans un mélange THF/ H_2O / MeOH , 5:4:1 (0.1 M) et refroidi à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (2 eq) est ajouté et le mélange est laissé 16 h sous agitation à température ambiante. La phase organique est extraite au CH_2Cl_2 puis la phase aqueuse initialement basique est acidifiée à pH 3 avec HCl 1N et la phase organique est extraite avec AcOEt ,

lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée pour donner l'acide carboxylique ne nécessitant généralement pas de purification.

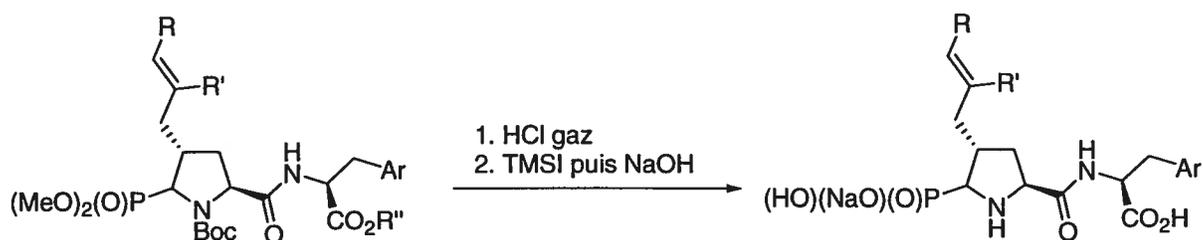
Pour les phosphonates *cis*, il est nécessaire de chauffer à $60\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 2 jours.

11. 1. 4. Procédure D : couplage peptidique



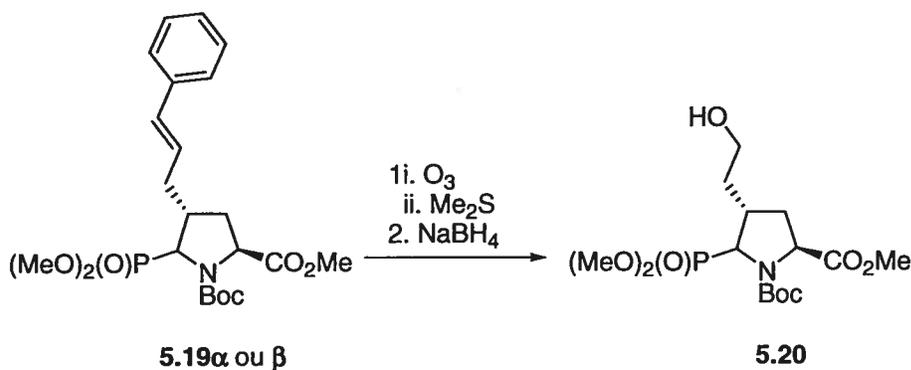
L'acide aminé (1.2 eq) sous forme de sel HCl est mis en suspension dans CH_2Cl_2 à $0\text{ }^\circ\text{C}$. La base $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (1.2 eq) est ajoutée, suivie de HOBT (1.4 eq) et de l'acide carboxylique, préalablement dissout dans CH_2Cl_2 . Le mélange sous argon est agité 15 min à $0\text{ }^\circ\text{C}$ et EDCI (1.3 eq) est additionné. Le tout est laissé 16 h sous agitation à température ambiante. La phase organique dans CH_2Cl_2 est lavée successivement avec une solution aqueuse de NaHCO_3 sat., HCl 1N, de la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée. Une purification par chromatographie éclair (0 à 2% MeOH/ CH_2Cl_2) donne le produit attendu.

11. 1. 5. Procédure E : hydrolyse des groupements protecteurs et obtention de l'acide phosphonique sous forme de mono sel de Na



Dans un ballon séché, est mis en solution le produit de départ dans le dioxane anhydre. HCl gazeux est bullé dans la solution pendant 1 h. puis le mélange est porté au reflux pendant 6 h et parfois laissé encore plusieurs heures à température ambiante jusqu'à complétion. Le solvant est alors évaporé et le résidu obtenu est mis en suspension dans CH_2Cl_2 . Les ultra sons permettent d'avoir une dispersion plus homogène. La solution sous argon est refroidie à 0 °C et TMSBr (4eq) est additionné lentement. La solution devient alors orange et limpide. Le tout est agité pendant 1 à 2 jours à température ambiante. Le solvant est évaporé et l'ajout de H_2O désionisée (2mL) fait apparaître un précipité blanc. Le mélange est alors laissé sous agitation dans la chambre froide pendant 16 h. puis la suspension est reprise dans une fiole conique et centrifugée pendant 10 min à 4 °C. La liqueur surnageante est enlevée et la même opération est répétée ainsi 2 autres fois. Le culot beige est mis en suspension dans 2 mL d'eau désionisée et le pH est ajusté à 6.9 avec une solution de NaOH 0.05 M (environ 1eq) dans de l'eau désionisée. Les ultra sons peuvent être utilisés pour permettre une meilleure solubilisation. Après filtration sur micropores et lyophilisation de la solution, une mousse blanche est obtenue.

11. 1. 6. Procédure F : ozonolyse et réduction de l'oléfine

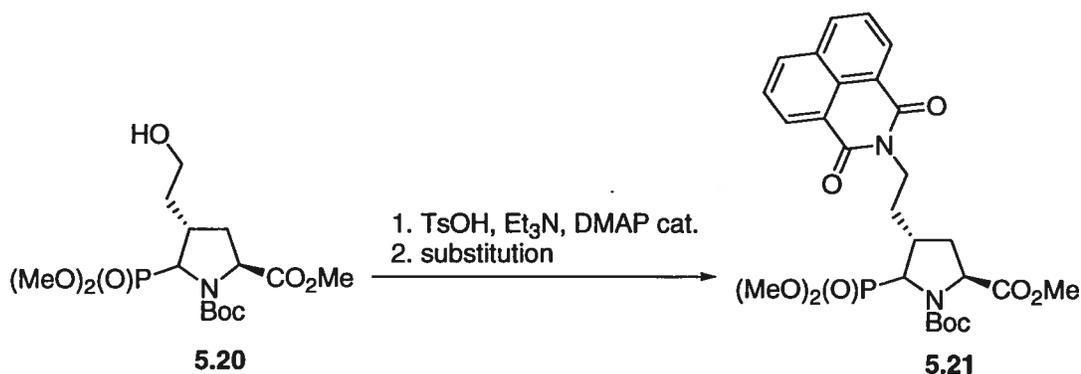


Le produit de départ est mis en solution dans un mélange 1:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (0.1 M) et refroidit à -78 °C pendant 15 min. L'ozone est bullé dans la solution jusqu'à apparition d'une légère couleur bleue indiquant un excès d'ozone. L'argon est alors fait bullé jusqu'à ce que la solution redevienne incolore et Me_2S (2 eq) est ajouté. Le mélange est agité pendant 1 h à 0 °C puis une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. est ajoutée et la phase

organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée. Une chromatographie rapide (Hexanes/ AcOEt , 8/2) permet d'éliminer la benzaldéhyde formée et obtenir l'aldéhyde désiré.

Dans un ballon séché est mis en solution l'aldéhyde dans MeOH anhydre (0.1 M) sous argon à $0\text{ }^\circ\text{C}$. NaBH_4 est ajouté par petites portions et la solution est laissée remonter à température ambiante et agitée jusqu'à complétion. L'excès d'hydrure est neutralisé par ajout d'une solution aqueuse de NH_4Cl sat. jusqu'à pH 7. Le solvant est évaporé, sans chauffer le bain-marie, et H_2O est ajoutée, la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée pour fournir l'alcool suffisamment pur pour être utilisé tel quel.

11. 1. 7. Procédure G : substitution de l'alcool



Dans un ballon séché est mis l'alcool en solution dans CH_2Cl_2 anhydre (0.1 M) à $0\text{ }^\circ\text{C}$. Sont ajoutés dans l'ordre, TsCl (1.1 eq), Et_3N (1.1 eq) et DMAP en quantité catalytique. La solution est agitée à température ambiante pendant 24 h. Une solution de NH_4Cl sat. est ajoutée et la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 , lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentré pour fournir l'alcool tosylé utilisé tel quel dans l'étape suivante.

Sur NaH (4eq, 60% dans la graisse) débarrassé de sa graisse par lavages successifs à l'hexane, est ajoutée DMF anhydre. La solution est ensuite refroidie à $0\text{ }^\circ\text{C}$ et l'amide est ajouté. Le mélange est agité pendant 30 min. L'alcool tosylé mis préalablement en solution

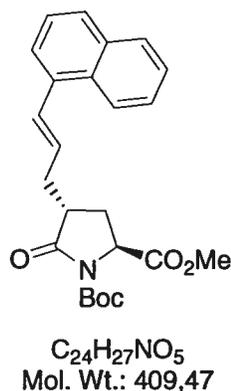
dans DMF anhydre est canulé sur le sel de Na de l'amide. Le mélange est agité de 24 à 48 h. à température ambiante. Le solvant est évaporé, H₂O est ajoutée et la phase organique est extraite au CH₂Cl₂, lavée à la saumure, séchée sur Na₂SO₄ et concentrée. Une chromatographie éclair (Hexanes/AcOEt, 1/1) permet d'éliminer l'excès d'amide et (Hexanes/AcOEt, 3/7) permet d'obtenir le produit désiré.

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés à 25°C.

Dans le cas de carbones équivalents, un seul signal de double intensité est observé par RMN ¹³C.

11. 2. Données expérimentales de la série témoin

1-Carboxylate de *tert*-butyle-(2*S*)-carboxylate de méthyle-(4*R*)-(3-naphtalèn-1-yl-allyle)-5-oxopyrrolidine (5.2)



Procédure A ;

Quantité 1.1 g ;

Rendement 63 % (trans) ratio *trans:cis* 7.8:1

R_f = 0.37 (Hexanes/AcOEt, 7/3) ;

[α]_D = -20.74 (c 0.675, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2981, 1790, 1750, 1717, 1314 cm⁻¹ ;

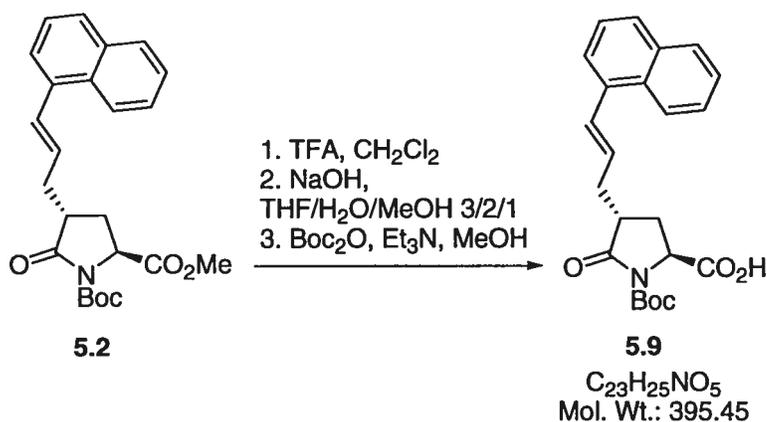
RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.06 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.84 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.80 (m, 1H), 7.50 (m, 3H), 7.36 (m, 1H), 7.20 (d, 1H, J = 15.5 Hz), 6.15 (m, 1H), 4.59 (d, 1H, J = 9.4 Hz), 3.77 (s, 3H), 2.90 (m, 2H), 2.52 (m, 1H), 2.27-2.08 (m, 2H), 1.50 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 174.2, 171.7, 149.3, 134.6, 133.4, 130.9, 130.3, 129.0, 128.4, 127.7, 126.0, 125.7, 125.5, 123.7, 83.6, 56.9, 52.5, 41.6, 33.8, 27.8, 27.6 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 409 (80) (M), 309 (100) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ 409.188923, obt. 409.187996.

(2S)-Acide carboxylique-(4R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-5-oxopyrrolidine (5.9)



Procédure H. Le composé **5.2** (150 mg, 0.36 mmol) est solubilisé dans CH_2Cl_2 (2 mL) et TFA (280 μmL , 10 eq) sont ajoutés goutte à goutte. La solution est agitée 1 h à température ambiante puis le solvant est évaporé. Une solution saturée de NaHCO_3 est ajoutée et la phase organique est extraite à AcOEt, lavée à la saumure et séchée sur Na_2SO_4 puis concentrée pour donner la lactame utilisée directement dans l'étape suivante.

La lactame (93 mg, 0.3 mmol) est solubilisée dans un mélange THF/MeOH 3/1 (3 mL) et NaOH (24 mg, 2eq) dissout au préalable dans 1.6 mL d'eau est additionné. Le tout est laissé agiter 16 h à température ambiante. Après ajout d'eau (3 mL), la phase organique est extraite à AcOEt, la phase aqueuse initialement à pH basique est acidifiée avec HCl 1N à pH 3 et la nouvelle phase organique est extraite à l'AcOEt, séchée sur Na_2SO_4 et le solvant est concentré pour donner l'acide carboxylique utilisé directement dans l'étape suivante.

L'acide (100 mg, 0.33 mmol) est dissout dans 3 mL de MeOH/ Et_3N 10%. Boc_2O (2 eq, 147 mg) est ajouté et le mélange est chauffé à 45°C pendant 1 h 45. Puis après concentration, le résidu obtenu est repris dans une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. et lavé à l'hexane. La phase aqueuse est ensuite acidifiée à pH 3 avec HCl 1M et la phase organique est extraite 3

fois avec AcOEt, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée pour donner l'acide (100 mg, 84 %) assez pur pour être utilisé tel quel dans l'étape suivante ;

$R_f = 0.2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9/1) ;

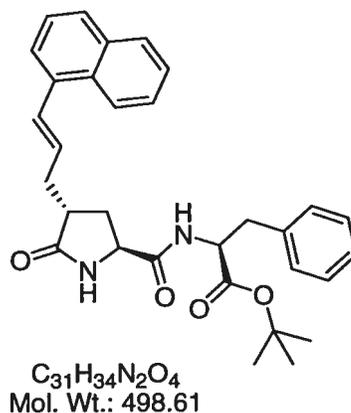
IR (pastille NaCl) 3324, 1707 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 10.4 (élargi, 1H), 8.05 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.92 (s, 1H), 7.80 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz), 7.72 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.50-7.38 (m, 4H), 7.15 (d, 1H, $J = 15.4$ Hz), 6.08 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 2.77 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 1.55 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 182.0, 176.0, 147.2, 135.2, 133.9, 131.4, 130.6, 129.6, 128.9, 128.2, 126.7, 126.5, 126.2, 126.1, 124.25, 124.2, 85.7, 54.9, 40.7, 34.6, 30.6, 27.8, 19.6 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 196 (84).

2-[[*(4R)*-(3-Naphthalèn-1-yl-allyl)-5-oxo-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl]-amino]-*(3S)*-phénylpropionate de *tert*-butyle (5.10)



L'acide précédent **5.9** (60 mg, 0.15 mmol) est dissout dans 2.5 mL de CH_2Cl_2 et refroidit à 0°C . Sont alors ajoutés dans l'ordre la diisopropyléthylamine (2eq, 53 μL), EDC (1.2 eq, 35 mg), HOBt (1.2 eq, 47 mg), L-Phe'Bu (1.2 eq, 47 mg). Le mélange est alors agité à température ambiante pendant 16 h. Puis, il est concentré, NaHCO_3 sat. est ajouté et la phase organique est extraite 3 fois avec AcOEt, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 ,

concentré et chromatographié (hexanes/AcOEt, gradient de 7/3 à 3/7) pour donner **5.10** (66 mg, 72%).

$R_f = 0.35$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9/1) ;

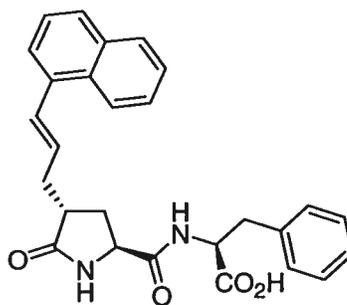
IR (pastille NaCl) 3298, 2979, 1705 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 8.08 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.85 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 7.77 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 7.50 (m, 3H), 7.45 (m, 1H), 7.25-7.15 (m, 5H), 7.08 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.89 (s, 1H), 6.12 (m, 1H), 4.83 (dd, 1H, $J = 6.0$ Hz), 3.99 (dd, 1H), 3.19 (dd, 1H), 3.05 (dd, 1H), 2.75 (m, 1H), 2.50 (m, 2H), 2.32 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 1.42 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 180.4, 172.3, 171.4, 136.7, 135.4, 134.0, 131.4, 130.4, 130.1, 129.7, 128.9, 128.8, 128.1, 127.4, 126.4, 126.2, 126.0, 124.2, 116.1, 83.1, 60.8, 55.6, 53.6, 39.6, 38.3, 34.6, 32.3, 28.4;

MS: (BR)(FAB, NBA, m/z , %): 499 (18), 443 (27), 391 (9), 307 (13).

Acide 2-[[*(4R)*-(3-naphthalèn-1-yl-allyl)-5-oxo-pyrrolidine-(*2S*)-carbonyl]-amino]-*(3S)*-phénylpropionique (5.11)



$\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$
Mol. Wt.: 442.51

Procédure I. L'acide précédent **5.10** est dissout dans 1 mL de CH_2Cl_2 et refroidit à 0 °C avant l'ajout de TFA (5 eq, 43 μL). Le mélange est alors agité à température ambiante pendant 16 h. Le mélange est ensuite concentré, une solution aqueuse de NaHCO_3 sat. est ajouté et la phase organique est extraite au CH_2Cl_2 . La phase aqueuse est acidifiée avec HCl 1 M à pH 3 et la phase organique est alors extraite avec AcOEt, lavée à la saumure, séchée

sur Na₂SO₄, concentrée et chromatographiée (CH₂Cl₂/MeOH, gradient de 95/5 à 85/15) pour donner **5.11** (34 mg, 67 %).

R_f = 0.12 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1) ;

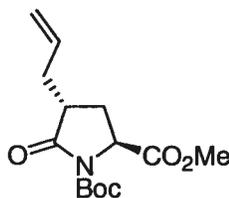
IR (neat/NaCl) 3358, 1677, 1578 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8.06 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz), 7.78 (dd, 1H, *J* = 2.8, 6.9 Hz), 7.71 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz), 7.51-7.34 (m, 5H), 7.20-7.11 (m, 4H), 7.04 (dd, 1H, *J* = 3.6, 8.6 Hz), 6.08 (m, 1H), 4.48 (dd, 1H, *J* = 4.9, 9.0 Hz), 4.0 (dd, 1H, *J* = 2.7, 8.9 Hz), 2.91 (dd, 1H, *J* = 8.9, 13.9 Hz), 2.65 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 2.35 (dd, 1H, *J* = 7.0, 16.8 Hz), 2.15 (m, 3H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 181.0, 174.6, 138.4, 135.3, 134.1, 131.4, 130.0, 129.9, 129.3, 128.5, 128.3, 127.7, 126.5, 126.0, 125.7, 125.6, 123.7, 123.6, 55.3, 53.8, 40.1, 37.6, 34.2, 31.8

MS : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %): 443 (20) (M+1), 399 (18), 391 (26), 307 (32).

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(4*R*)-allyle-5-oxopyrrolidine (5.12)



C₁₄H₂₁NO₅
Mol. Wt.: 283,32

Procédure A ;

Quantité 1.5 g ;

Rendement 45 % (trans) ratio *trans:cis* 1.5:1 ;

R_f = 0.31 (hexanes/AcOEt, 7/3) ;

[α]_D = -32.4 (*c* 1.03, CHCl₃) ;

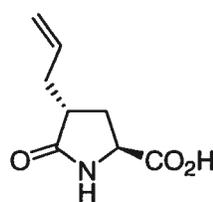
IR (pastille NaCl) 2961, 1793, 1752, 1718, 1317 cm⁻¹ ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 5.65 (m, 1H), 5.01 (dd, 2H, $J = 6.4, 13.6$ Hz), 4.48 (dd, 1H, $J = 1.6, 9.6$ Hz), 3.69 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.12 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.41 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 174.7, 172.2, 149.8, 134.7, 118.2, 84.0, 57.3, 52.9, 41.6, 34.8, 28.3, 28.1 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 283 (88) (M), 183 (100).

(2S)-Acide carboxylique-(4R)-allyle-5-oxopyrrolidine (5.14)



$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3$
Mol. Wt.: 169.18

Les deux premières étapes de la procédure H ;

Quantité 87 mg ;

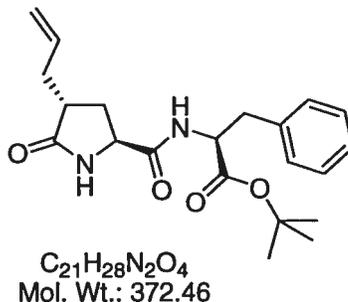
Rendement 95 % (2 étapes) ;

$R_f = 0.15$ (Hexanes/ AcOEt , 7/3) ;

IR (pastille NaCl) 3306, 2927, 1721 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.60 (s élargi, 1H), 7.84 (s élargi, 1H), 7.50 (m, 1H), 5.06-5.01 (m, 2H), 4.15 (dd, 1H, $J = 3.1, 9.3$ Hz), 2.65 (dd, 1H, $J = 4.2, 8.2$ Hz), 2.58 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.12 (m, 2H).

2-(((4R)-Allyl-5-oxo-pyrrolidine-(2S)-carbonyl)-amino)-(3S)-phénylpropionate de tert-butyle (5.15)



Procédure D ;

Quantité 140 mg ;

Rendement 75 %;

$R_f = 0.21$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 95/5) ;

IR (pastille NaCl) 3292, 2979, 1708 cm^{-1} ;

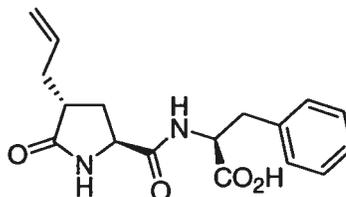
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7.27-7.13 (m, 5H), 5.70 (m, 1H), 5.05 (faux t, 2H, $J = 7.9, 10.4$ Hz), 4.80 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.1$ Hz), 3.96 (dd, 1H, $J = 3.6, 8.8$ Hz), 3.18 (dd, 1H, $J = 5.9, 13.9$ Hz), 2.98 (dd, 1H, $J = 8.3, 13.8$ Hz), 2.48 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 2.12-2.04 (m, 3H), 1.41 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 180.2, 172.0, 171.0, 136.3, 134.8, 129.3, 128.3, 126.8, 117.2, 82.4, 55.1, 53.2, 38.7, 37.7, 34.6, 31.6, 27.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 372 (24) (M), 316 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{21}H_{28}O_4N_2$ 372.204908, obt. 372.205470.

**Acide 2-[(*4R*)-allyl-5-oxo-pyrrolidine-(*2S*)-carbonyl]-amino]-(*3S*)-phénylpropionique
(5.16)**



$C_{17}H_{20}N_2O_4$
Mol. Wt.: 316.35

Procédure I ;

Quantité 34 mg ;

Rendement 67 % ;

$R_f = 0.38$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9/1) ;

IR (pastille NaCl) 3300, 2929, 1659 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7.29-7.19 (m, 5H), 5.75 (m, 1H), 5.05 (dd, 2H, $J = 9.0$, 15.2 Hz), 4.73 (dd, 1H, $J = 4.7$, 9.8 Hz), 4.03 (dd, 1H, $J = 4.2$, 7.7 Hz), 3.28 (dd, 1H, $J = 4.6$, 14.0 Hz), 2.98 (dd, 1H, $J = 9.9$, 13.9 Hz), 2.46 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.09-2.01 (m, 3H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 182.1, 175.0, 174.4, 138.5, 136.3, 130.2, 129.5, 127.9, 117.7, 55.9, 54.8, 40.5, 38.0, 35.8, 32.7 ;

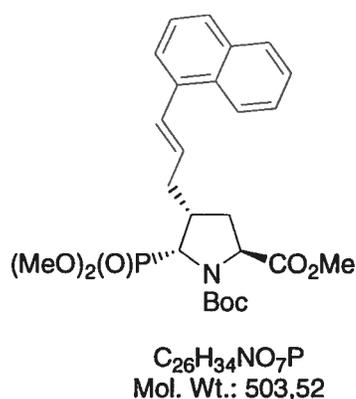
SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 316 (27) (M), 207 (37), 148 (100);

(HR) calc. pour $C_{17}H_{20}O_4N_2$ 316.142307, obt. 316.143078.

Remarque : Les masses de basse résolution des acides phosphoniques entièrement déprotégés sont disponibles mais en raison de la faible abondance du pic moléculaire (inférieure à 10%), les masses haute résolution ne peuvent être accessibles pour des raisons techniques de sensibilité de l'appareil utilisé.

11. 3. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un allyl-naphtalényle

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-(3-naphtalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.3α)



Procédure B ;

Quantité 152 mg ;

Rendement 25 %, ratio α:β 1:1.6 ;

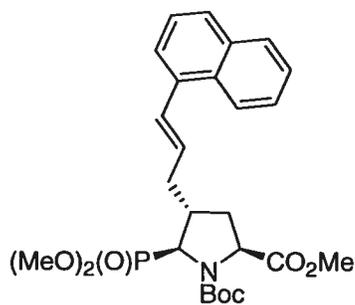
$R_f = 0.21$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

$[\alpha]_D = +19.97$ (c 1.12, $CHCl_3$) ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.09 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.83 (d, 1H, $J = 3.05$ Hz), 7.80 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz), 7.53-7.38 (m, 4H), 7.21 (d, 2H, $J = 15.5$ Hz), 6.18 (m, 1H), 4.53 (dd, 1H, $J = 2.7, 7.2$ Hz), 4.34 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 3.81 (d, 3H, $J = 2.6$ Hz), 3.77 (d, 3H, $J = 2.5$ Hz), 3.69 (s, 3H), 2.80 (m, 2H), 2.59 (m, 2H), 2.03 (m, 1H), 1.48 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.40 (s, 6H) (rotamère majoritaire) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.4, 153.1, 134.9, 133.4, 131.1, 130.9, 128.9, 128.3, 127.5, 125.8, 125.6, 125.5, 123.7, 123.5, 80.7, 58.9, 54.9, 53.3 (d), 25.3, 52.2, 39.4, 34.9, 28.1 (rotamère), 27.9 (rotamère).

**1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4*R*)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.3β)**



$C_{26}H_{34}NO_7P$
Mol. Wt.: 503,52

Procédure B ;

Quantité 249 mg ;

Rendement 40 %, ratio $\alpha:\beta$ 1:1.6 ;

$R_f = 0.22$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

$[\alpha]_D = +0.81$ (c 0.98, $CHCl_3$) ;

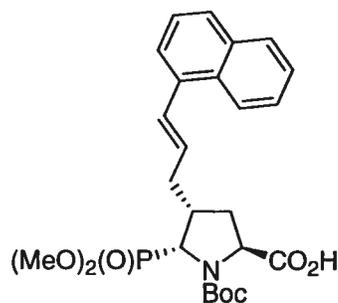
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.04 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 7.80 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.72 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.50-7.36 (m, 4H), 7.15 (d, 1H, $J = 15.4$ Hz), 6.08 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.87 (d, 3H, $J = 10.3$ Hz), 3.78 (d, 3H, $J = 11.8$ Hz), 3.72 (s, 3H), 2.76 (m, 1H), 2.59 (m, 1H), 2.34 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 1.44 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.38 (s, 6H) (rotamère majoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 504 (18) (M+1), 448 (42), 294 (100) ;

(HR) impossible à obtenir, signal trop faible .

**(2S)-Acide carboxylique-1-carboxylate de *tert*-butyl-(5R)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.4 α)**



$C_{25}H_{32}NO_7P$
Mol. Wt.: 489,50

Procédure C ;

Quantité 170 mg ;

Rendement 65 % ;

$R_f = 0.12$ (hexanes/AcOEt, 1/4) ;

$[\alpha]_D = +11$ (c 1, MeOH) ;

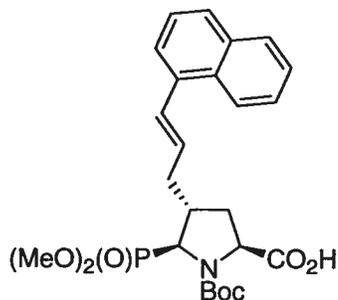
IR (pastille NaCl) 2956, 1704, 1382 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.05 (élargi, 1H), 8.06 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 7.80 (m, 1H), 7.72 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.48 (m, 4H), 7.18 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 6.14 (m, 1H), 4.52 (dd, 1H, $J = 2.7, 7.6$ Hz), 4.34 (m, 1H), 3.80 (d, 3H, $J = 2.1$ Hz), 3.78 (d, 3H, $J = 2.3$ Hz), 2.82 (m, 2H), 2.56 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 1.45 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.36 (s, 6H) (rotamère majoritaire) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.4, 171.1, 153.2, 134.9, 133.4, 131.1, 130.9, 128.9, 128.4, 125.8, 125.6, 123.5, 80.8, 58.9, 53.4 (d), 52.4, 39.5, 34.9, 33.0, 27.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 490 (40), 434 (13), 391 (11).

**(2S)-Acide carboxylique-1-carboxylate de *tert*-butyl-(5S)-(diméthoxy-phosphoryl)
(4R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.4β)**



$C_{25}H_{32}NO_7P$
Mol. Wt.: 489,50

Procédure C ;

Quantité 254 mg ;

Rendement 54 % ;

$R_f = 0.18$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1) ;

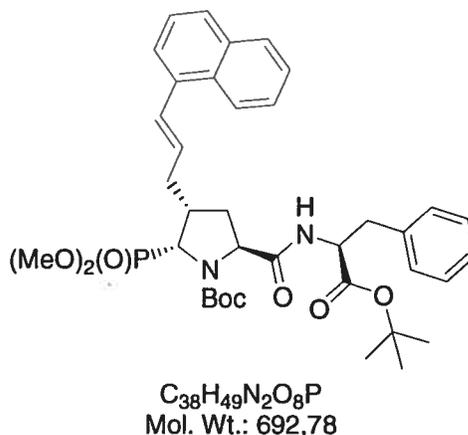
$[\alpha]_D = +5.8$ (c 0.85, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 2959, 1703, 1381 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.10 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.86 (m, 1H), 7.80 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.53 (m, 3H), 7.47 (t, 1H, $J = 7.60$ Hz), 7.20 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 4.39 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 3.90 (d, 3H, $J = 10.7$ Hz), 3.83 (d, 3H, $J = 10.6$ Hz), 2.82 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 2.41 (m, 4H), 1.47 (s, 9H) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 490 (8) ($M+1$), 434 (24), 310 (25), 286 (63).

(5S)-((3S)-*tert*-butoxycarbonyl-4-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2R)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.5α)



Procédure D ;

Quantité 58 mg ;

Rendement 42 % ;

$R_f = 0.21$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1) ;

$[\alpha]_D = -1.83$ (c 1.14, MeOH) ;

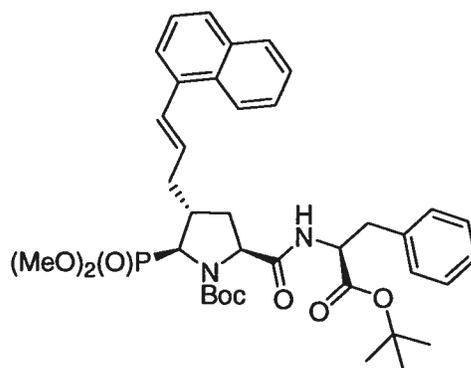
IR (pastille NaCl) 3281, 2978, 1734, 1705, 1683, 1367 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.12 (m, 1H), 7.84 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.79 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.58-7.42 (m, 4H), 7.26 (m, 5H), 7.18 (m, 2H), 6.10 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.98 (dd, 6H, $J = 10.0, 10.1$ Hz), 3.08 (m, 2H), 2.72 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 1.18 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.37 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 170.6, 154.7, 136.9, 134.8, 133.5, 130.9, 129.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.7, 126.5, 126.0, 125.5, 123.7, 81.6, 81.2, 60.2, 58.0, 53.5 (d), 52.6, 52.5, 39.3, 38.6, 37.5, 37.3, 27.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 692 (36) (M), 426 (90).

(5S)-((3S)-*tert*-Butoxycarbonyl-4-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyle)-pyrrolidine (5.5β)



$C_{38}H_{49}N_2O_8P$
Mol. Wt.: 692,78

Procédure D ;

Quantité 142 mg ;

Rendement 48 % ;

$R_f = 0.32$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1) ;

$[\alpha]_D = +9.51$ (c 1.73, $CHCl_3$) ;

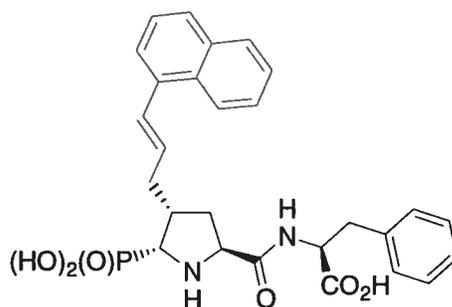
IR (pastille NaCl) 3281, 2979, 1735, 1705, 1681, 1367 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.11 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz), 7.86 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.79 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.28 (m, 4H), 7.16 (m, 2H), 6.10 (m, 1H), 4.79 (dd, 1H, $J = 5.2, 7.8$ Hz), 4.23 (m, 1H), 4.16 (m, 1H), 3.85 (d, 3H, $J = 9.6$ Hz), 3.79 (d, 3H, $J = 10.4$ Hz), 3.11 (dd, 1H, $J = 6.8$ Hz), 3.06 (dd, 1H, $J = 7.7$ Hz), 3.72 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.35 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 171.8, 170.5, 154.3, 136.9, 134.9, 133.5, 130.9, 130.2, 129.5, 128.4, 128.0, 127.7, 126.5, 125.9, 125.7, 125.5, 123.7, 81.6, 81.2, 62.6, 60.2, 58.0, 54.0 (d), 52.6, 39.3, 38.6, 37.5, 37.3, 27.9, 27.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 692 (36) (M), 427 (86), 234 (47).

Acide (2S)-benzyl-(4S)-[(4R)-(3-naphtalèn-1-yl-allyl)-(5R)-phosphono-pyrrolidin-2-yl]-4-oxobutyrique (5.6 α)



$C_{27}H_{29}N_2O_6P$
Mol. Wt.: 508,50

Procédures I et E pour la partie avec TMSBr mais aucun traitement avec NaOH 0.05M ;

Poudre blanche ;

Quantité 16 mg ;

Rendement 41 % (2 étapes);

PF : 102 °C ;

$[\alpha]_D = -10.6$ (*c* 0.86, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 3360, 2926, 1676 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 8.15 (m, 1H), 7.83 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.75 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.59 (d, 1H, $J = 6.2$ Hz), 7.48 (m, 3H), 7.24 (m, 5H), 7.10 (m, 1H), 6.23 (m, 1H), 4.68 (dd, 1H, $J = 4.6, 9.8$ Hz), 4.45 (m, 1H), 3.88 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz), 3.65 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz), 3.31 (t, 1H, $J = 1.6$ Hz), 3.26 (m, 1H), 2.95 (dd, 1H, $J = 10.0, 14.0$ Hz), 2.58 (m, 1H), 2.33 (m, 1H) ;

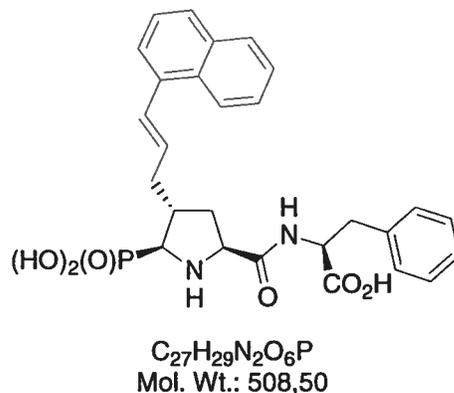
^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 172.5, 168.2, 137.9, 136.1, 134.7, 132.0, 129.1, 128.5, 126.8, 125.9, 125.7, 123.8, 123.7, 123.6, 59.2, 54.8, 41.1, 36.9, 35.0, 32.8, 29.7 ;

^{31}P (161.3 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 24.9 (mono déprotection), 12.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 509 (11) (M+1), 427 (27), 421 (100) ;

(HR) impossible à obtenir car signal peu intense.

Acide (2S)-benzyl-(4S)-[(4R)-(3-naphthalèn-1-yl-allyl)-(5S)-phosphono-pyrrolidin-2-yl]-4-oxobutyrique (5.6β)



Procédures I et E pour la partie avec TMSBr, pas de traitement avec NaOH 0.05M ;

Poudre jaune ;

Quantité 16 mg ;

Rendement 40 % (2 étapes);

PF : 97 °C ;

$[\alpha]_D = -72.7$ (*c* 0.83, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 3360, 2925, 1678 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 8.15 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.85 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz), 7.77 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.62 (m, 1H), 7.49 (m, 4H), 7.22 (m, 5H), 7.10 (m, 1H), 6.24 (m, 1H), 4.69 (t, 1H, $J = 4.3$ Hz), 4.28 (m, 1H), 3.67 (m, 2H), 3.29 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 2.38 (m, 3H) ;

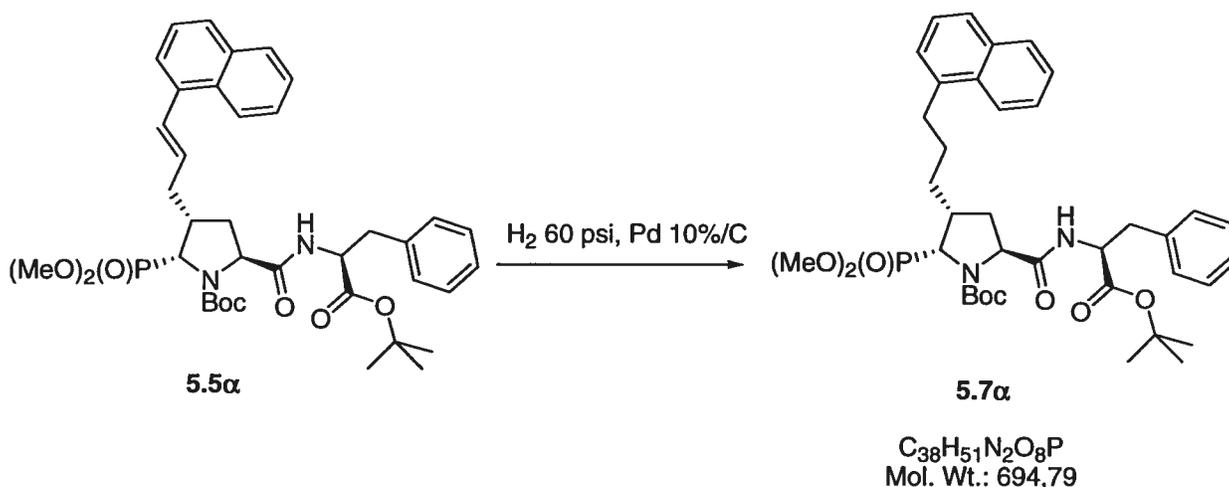
^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 173.4, 170.8, 138.3, 136.2, 135.1, 132.4, 131.0, 129.5, 128.7, 127.8, 127.0, 126.7, 126.6, 124.8, 124.7, 60.4, 59.6, 55.7, 37.7, 30.7, 30.1, 24.0 ;

^{31}P (161.3 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 13.84 (mono déprotection), 11.56 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 522.2 (22) (monodéprotection), 508 (9), 505 (34) ;

(HR) calc. pour $C_{27}H_{28}N_2O_6P$ 507.168500, obt. 507.168697.

(5S)-((3S)-tert-Butoxycarbonyl-2-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de tert-butyle-(2R)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-(3-naphthalèn-1-yl)-propylpyrrolidine (5.7α)



5.5α (28 mg, 0.0404 mmol) est dilué dans 2 mL d'AcOEt, Pd 10%/C est ajouté en quantité catalytique et le tout est maintenu sous atmosphère d'hydrogène à une pression de 60 psi pendant 2 jours. Au bout de ce temps, la solution est filtrée sur Célite et concentrée pour donner 22 mg d'une huile, utilisée telle quelle.

Rendement 80 % ;

$[\alpha]_{\text{D}} = +13.8$ (c 0.73, CHCl_3) ;

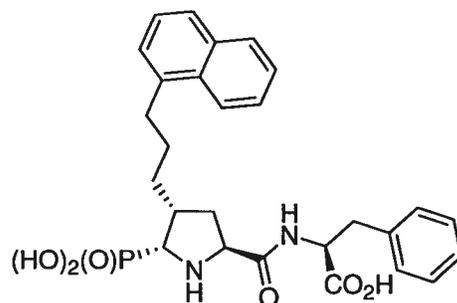
IR (pastille NaCl) 3278, 2927, 1735, 1705, 1367 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.00 (élargi, 1H), 7.98 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.83 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.73 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 7.55 (m, 3H), 7.40 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 7.18 (m, 5H), 4.76 (dd, 1H, $J = 4.3, 7.5$ Hz), 4.20 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.82 (d, 3H, $J = 10.0$ Hz), 3.75 (d, 3H, $J = 10.6$ Hz), 3.08 (m, 4H), 2.44 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.58 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.33 (s, 9H), 1.26 (m, 2H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 171.6, 170.8, 154.5, 137.8, 136.9, 129.5, 128.8, 128.0, 126.7, 126.5, 125.9, 125.8, 125.5, 123.6, 81.6, 81.4, 62.4, 60.1, 59.3, 53.8, 53.1 (d), 39.3, 38.6, 32.6, 29.6, 28.5, 27.9, 27.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 695 (55) (M+1), 429 (100).

Acide (2S)-{(4S)-[(4R)-(3-naphthalèn-1-yl-propyl)-(5R)-phosphono-pyrrolidin-2-carbonyl]-amino}-3-phénylpropionique (5.8α)



$C_{27}H_{31}N_2O_6P$
Mol. Wt.: 510,52

Procédures I et E pour la partie avec TMSBr, pas de traitement avec NaOH 0.05M ;

Quantité 12 mg ;

Rendement 42 %

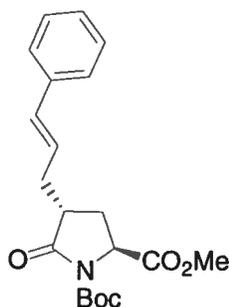
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 8.20 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.71 (d 1H), 7.50 (m, 4H), 7.19 (m, 5H), 5.38 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.66 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.64 (m, 2H) ;

^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 172, 174, 133, 130.1, 129.5, 128.5, 127.6, 127.5, 126.4, 126.2, 124.6, 114.3, 61.5, 60.3, 56.4, 34.9, 33.1, 30.8, 26.1, 23.7, 21.0 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 498 (22).

11. 4. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un naphthalimidoéthyle

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-5-oxo-(4*R*)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.17)



$C_{20}H_{25}NO_5$
Mol. Wt.: 359,42

Procédure A ;

Quantité 5.1 g ;

Rendement 57 % (trans) ratio *trans:cis* 3.5:1 ;

$R_f = 0.3$ (hexanes/AcOEt, 7/3) ;

PF : 107 °C ;

$[\alpha]_D = -33.3$ (c 1.3, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2981, 1792, 1751, 1717, 1318 cm^{-1} ;

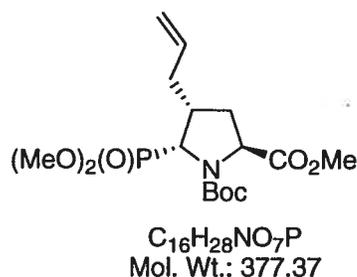
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.34-7.25 (m, 5H), 6.45 (d, 1H, $J = 15.8$ Hz), 6.11 (m, 1H), 4.55 (dd, 1H, $J = 1.6, 9.4$ Hz), 3.75 (s, 3H), 2.78 (m, 2H), 2.39 (m, 1H), 2.16 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.48 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 174.1, 171.6, 149.2, 136.7, 132.8, 128.1, 127.3, 125.9, 125.6, 83.4, 56.8, 53.3, 52.4, 41.4, 33.3, 28.1, 27.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 360 (58) (M+1), 304 (82), 260 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{20}H_{26}NO_5$ 360.183778, obt. 360.182100.

(4R)-Allyl-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-carboxylate de méthyl-(5R)-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.18 α)



Procédure B ;

Quantité 193 mg ;

Cristaux obtenus par recristallisation dans un mélange hexanes/AcOEt ;

Rendement 29 % (3 étapes), ratio α : β 1:1.5 ;

$R_f = 0.25$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

$[\alpha]_D = -9.4$ (c 1.04, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3478, 2958, 1749, 1711, 1381 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 5.77 (m, 1H), 5.05 (dd, 1H, $J = 1.5, 17.2$ Hz) 4.41 (dd, 1H, $J = 2.6, 7.5$ Hz), 4.30 (d, 1H, $J = 8.04$ Hz), 3.74 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 2.55 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 1.92 (m, 1H), 1.44 (s, 3H) (rotamère), 1.36 (s, 6H) (rotamère) ;

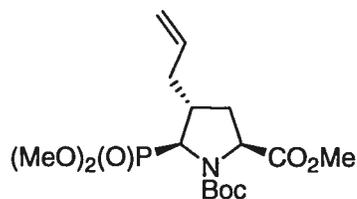
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.4, 153.1, 136.2, 116.3, 80.9 (rotamère minoritaire), 80.6 (rotamère majoritaire), 58.9, 56.1, 55.1, 53.2 (d), 52.3, 39.0, 34.8, 33.2, 28.1 (rotamère minoritaire), 27.9 (rotamère majoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 26.1 (rotamère minoritaire), 24.9 (rotamère majoritaire) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 377 (100) (M), 378 (20) ;

(HR) calc. pour $C_{16}H_{28}NO_7P$ 377.160341, obt. 377.159649.

(4R)-Allyl-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-carboxylate de méthyl-(5S)-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.18β)



$C_{16}H_{28}NO_7P$
Mol. Wt.: 377.37

Procédure B ;

Quantité 300 mg ;

Cristaux obtenus par recristallisation dans un mélange hexanes/AcOEt ;

Rendement 44 % (3 étapes), ratio α : β 1:1.5 ;

$R_f = 0.11$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

$[\alpha]_D = +1.5$ (c 0.98, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3481, 2957, 1761, 1739, 1703, 1382 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 5.72 (m, 1H), 5.06 (faux t, 1H, $J = 17.5, 10.2$ Hz) 4.35-4.26 (2 faux t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 4.04 (m, 1H), 3.83 (d, 3H, $J = 10.3$ Hz), 3.76 (d, 3H, $J = 10.5$ Hz), 3.71 (s, 3H), 2.57 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.08 (m, 3H), 1.43 (s, 3H) (rotamère), 1.40 (s, 6H) (rotamère) ;

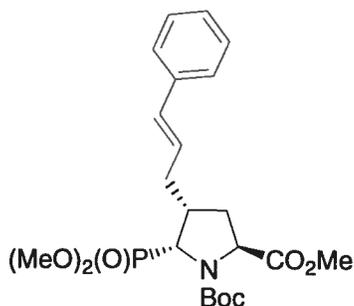
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.4, 155.4, 135.6, 118.6, 81.4, 59.2, 58.9 (d), 54.3, 52.9, 52.3, 39.0, 38.2, 33.9, 28.4 (rotamère minoritaire), 28.2 (rotamère majoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.5 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 377 (100) (M), 378 (20) ;

(HR) calc. pour $C_{16}H_{28}NO_7P$ 377.160341, obt. 377.159546.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.19 α)



$C_{22}H_{32}NO_7P$
Mol. Wt.: 453,47

Procédure B ;

Quantité 1.72 g ;

Solide blanc ;

Rendement 28 % (3 étapes) ratio α : β 1:1.9 ;

$R_f = 0.23$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

PF : 121 °C ;

$[\alpha]_D = -1.42$ (c 1.05, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3468, 2956, 1748, 1704, 1382 cm^{-1} ;

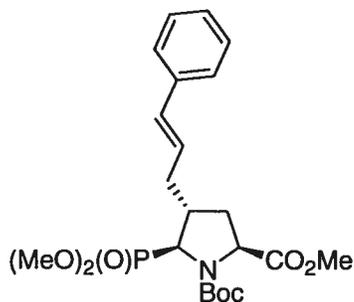
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.35 (m, 4H), 7.12 (m, 1H), 6.48 (d, 1H), 6.10 (m, 1H, $J = 13.3$ Hz), 4.46 (dd, 1H, $J = 2.5, 7.2$ Hz), 4.32 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz), 3.76 (d, 3H, $J = 1.6$ Hz), 3.74 (d, 3H, $J = 1.8$ Hz), 3.68 (s, 3H), 2.70-2.68 (m, 1H), 2.63-2.43 (m, 3H), 1.98 (m, 1H), 1.46 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.38 (s, 6H) (rotamère majoritaire) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.8, 153.6, 137.8, 132.2, 128.9, 128.3, 127.6, 126.4, 81.2, 59.4 (d), 57.5, 52.8, 52.5, 39.9, 35.4, 33.1, 28.6 ;

^{31}P (161.3 Mz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.23 (rotamère minoritaire), 24.93 (rotamère majoritaire) ;

SM : (HR) calc. pour $C_{22}H_{33}NO_7P$ 454.19946, obt. 454.20050.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-(3-phényl-allyle)-pyrrolidine (5.19 β)



$C_{22}H_{32}NO_7P$
Mol. Wt.: 453,47

Procédure B ;

Quantité 3.32 g ;

Huile ;

Rendement 53 % (3 étapes), ratio α : β 1:1.9 ;

$R_f = 0.20$ (hexanes/AcOEt, 4/6) ;

$[\alpha]_D = +3.56$ (c 0.78, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3473, 2956, 1760, 1702, 1381 cm^{-1} ;

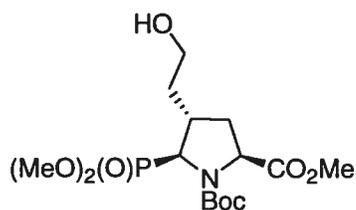
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.34-7.26 (m, 4H), 7.21 (m, 1H), 6.44 (d, 1H, $J = 15.1$ Hz), 6.10 (dd, 1H, $J = 6.7, 15.1$ Hz), 4.33 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.88 (d, 3H, $J = 10.3$ Hz), 3.74 (s, 3H), 3.36 (d, 3H, $J = 10.5$ Hz), 2.71 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 1.59 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.41 (s, 6H) (rotamère majoritaire) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.8, 154.2, 137.4, 133.5, 133.3, 128.9, 127.8, 126.5, 81.4, 60.4, 59.3 (d), 53.1, 52.4, 39.5, 37.6, 34.1, 28.6 (rotamère minoritaire), 28.4 (rotamère majoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.5 ;

SM : (HR) calc. pour $C_{22}H_{33}NO_7P$ 454.19946, obt. 454.19820.

**1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4*R*)-(2-hydroxy-éthyle)-pyrrolidine (5.20β)**



$C_{15}H_{28}NO_8P$
Mol. Wt.: 381.36

Procédure F ;

Quantité 286 mg ;

Huile incolore ;

Rendement 79 % (2 étapes) ;

$R_f = 0.48$ (MeOH/CH₂Cl₂, 1/9) ;

$[\alpha]_D = +16.07$ (c 1.09, CHCl₃) ;

RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 4.40 (faux t, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.10 (m, 1H), 3.88 (d, 3H, $J = 9.9$ Hz), 3.80 (d, 3H, $J = 10.6$ Hz), 3.74 (s, 3H), 3.62 (faux t, 2H, $J = 6.1$ Hz), 2.64 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.50 (s, 3H) (rotamère), 1.44 (s, 6H) (rotamère) ;

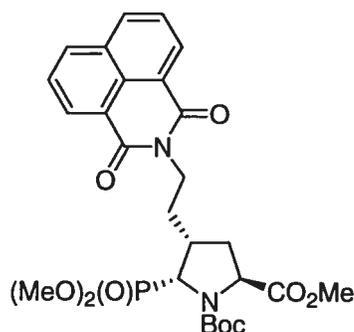
¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.3, 153.8, 80.9, 59.8, 57.7 (d), 53.7, 52.7, 51.9, 36.5, 36.1, 34.6, 28.0 ;

³¹P (161.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 27.1 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 381 (67) (M), 325 (50), 272 (88), 216 (100) ;

(HR) calc. pour C₁₅H₂₈NO₈P 381.155256, obt. 381.154572.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl--(5*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.21 α)



$C_{27}H_{33}N_2O_9P$
Mol. Wt.: 560.53

Procédures F et G ;

Quantité 210 mg ;

Mousse blanche ;

Rendement 27 % (4 étapes) ;

$R_f = 0.41$ (100 % AcOEt) ;

PF : 58 °C ;

$[\alpha]_D = -8.12$ (c 0.86, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2956, 1747, 1701, 1667, 1366 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.47 (dd, 2H, $J = 6.7, 7.2$ Hz), 8.13 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.66 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz), 4.41 (dd, 1H, $J = 2.5, 7.2$ Hz), 4.32 (dd, 1H, $J = 7.9, 13.5$ Hz), 4.25-3.97 (m, 3H), 3.73 (d, 3H, $J = 4.9$ Hz), 3.70 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz), 3.67 (s, 3H), 2.58 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 1.88 (m, 1H), 1.41 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.33 (s, 6H), (rotamère majoritaire) ;

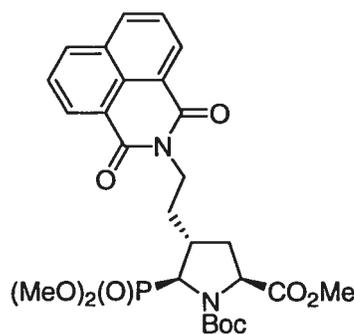
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.2, 163.9, 153.0, 144.9, 133.8, 131.3, 130.9, 129.8, 127.8, 126.7, 122.3, 80.5, 58.6, 55.9 (d), 53.0, 52.4, 21.9, 38.8, 37.0, 34.8, 30.4, 27.4;

^{31}P (161.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 25.16 (rotamère minoritaire), 25.48 (rotamère majoritaire) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 560.8 (24), 504.7 (40), 350.9 (100), 325.9 (22) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ 561.200195, obt. 561.199200.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.21 β)



$\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$
Mol. Wt.: 560.53

Procédure G ;

Quantité 92 mg ;

Rendement 42 % (2 étapes) ;

$R_f = 0.50$ (hexanes/AcOEt, 1/4) ;

$[\alpha]_D = +5.30$ (c 0.94, CHCl_3) ;

IR (pastille NaCl) 2957, 2360, 1700, 1661, 1367 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 5.58 (dd, 2H, $J = 1.1, 7.5$ Hz), 8.22 (dd, 2H, $J = 1.1, 8.5$ Hz), 7.77 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz), 4.43 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.87 (d, 3H, $J = 10.8$ Hz), 3.76 (d, 3H, $J = 10.9$ Hz), 3.74 (s, 3H), 2.63 (m, 2H), 2.38 (m, 1H), 1.90-1.62 (m, 3H), 1.51 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.41 (s, 6H), (rotamère majoritaire) ;

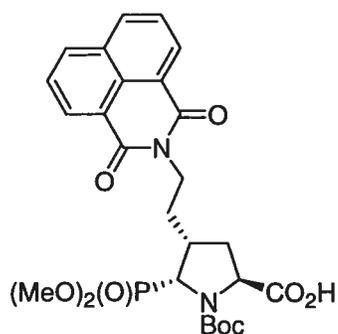
^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 172.3, 163.9, 153.7, 134.6, 134.1, 131.5, 131.2, 130.9, 128.1, 126.9, 122.4, 80.9, 60.6, 58.6 (d), 54.0, 52.5, 51.9, 38.2, 37.5, 33.5, 31.7, 28.1 ;

^{31}P (161.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 25.24 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 561 (9) (M+1), 460 (8), 410 (35) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ 561.200195, obt. 561.198600.

**(2S)-Acide carboxylique-1-carboxylate de *tert*-butyl-(5R)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4R)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.22 α)**



$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$
Mol. Wt.: 546,51

Procédure C ;

Quantité 151 mg ;

Solide blanc ;

Décomposition à 190 °C ;

Rendement 74 % ;

$R_f = 0.48$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1) ;

$[\alpha]_D = -14.7$ (c 0.86, CHCl_3) ;

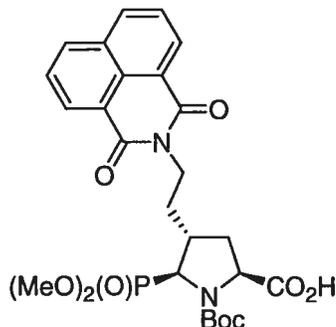
IR (pastille NaCl) 2958, 1701, 1660, 1367 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.53 (dd, 2H, $J = 7.7, 15.1$ Hz), 8.15 (dd, 2H, $J = 6.6, 13.7$ Hz), 7.99 (élargi, 1H), 7.69 (m, 2H), 4.46 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.22 (m, 2H), 3.78 (d, 3H, $J = 7.5$ Hz), 3.75 (d, 3H, $J = 7.3$ Hz), 2.65 (m, 2H), 2.29 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 1.39 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 177.4, 164.0, 163.9, 153.1, 133.8, 131.3, 131.1, 127.9, 126.8, 122.3, 80.9, 58.8, 57.1, 55.0, 53.5, 52.6, 38.8, 37.2, 34.9, 27.9 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 546 (11), 504 (17), 490 (43).

**(2*S*)-Acide carboxylique-1-carboxylate de *tert*-butyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.22β)**



C₂₆H₃₁N₂O₉P
Mol. Wt.: 546,51

Procédure C ;

Quantité 67 mg ;

Solide blanc, recristallisé Et₂O/Hexanes ;

Rendement 86 % ;

R_f = 0.34 (CH₂Cl₂/MeOH 9/1) ;

PF : 108 °C ;

[α]_D = +30.04 (c 0.59, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2960, 1700, 1661, 1367 cm⁻¹ ;

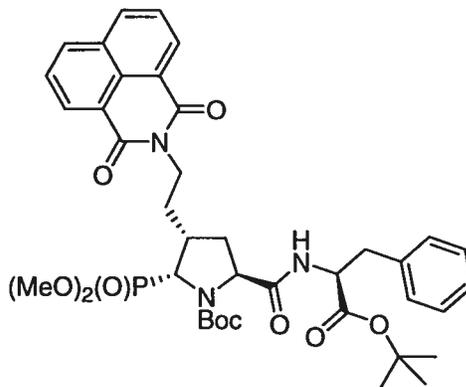
RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.56 (d, 2H, *J* = 6.8 Hz), 8.22 (dd, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.75 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz), 4.44 (t, 1H, *J* = 8.3 Hz), 4.27 (m, 2H), 4.18 (m, 1H), 3.88 (d, 3H, *J* = 10.8 Hz), 3.71 (d, 3H, *J* = 10.6 Hz), 2.64 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz), 2.34 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.45 (s, 9H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.7, 163.9, 153.5, 134.1, 131.5, 131.2, 128.0, 126.9, 122.3, 82.4, 60.8, 60.2, 54.6, 52.8, 37.9, 37.6, 34.0, 31.5, 27.9 ;

³¹P (161.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 30.95 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 547 (40) (M+1), 491 (33), 337 (73), 307 (56).

(5S)-(1-*tert*-Butoxycarbonyl-(2S)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2R)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.23 α)



$C_{39}H_{48}N_3O_{10}P$
Mol. Wt.: 749,79

Procédure D ;

Quantité 65 mg ;

Solide blanc ;

Rendement 33 % ;

$R_f = 0.48$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1) ;

PF : 79-82 °C ;

$[\alpha]_D = +2.31$ (c 1.12, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2955, 1721, 1500 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.54 (dd, 2H, $J = 7.2$ Hz), 8.18 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.72 (m, 2H), 7.26 (m, 3H), 7.16 (m, 2H), 4.68 (m, 1H), 4.51 (d, 1J, $J = 7.4$ Hz), 4.20 (m, 3H), 3.75 (d, 3H, $J = 10.4$ Hz), 3.73 (d, 3H, $J = 10.2$ Hz), 3.12 (dd, 1H, $J = 5.7, 13.8$ Hz), 2.97 (m, 1H), 2.57 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 1.97 (m, 1H), 1.47 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.35 (s, 6H) (rotamère majoritaire), 1.33 (s, 9H) ;

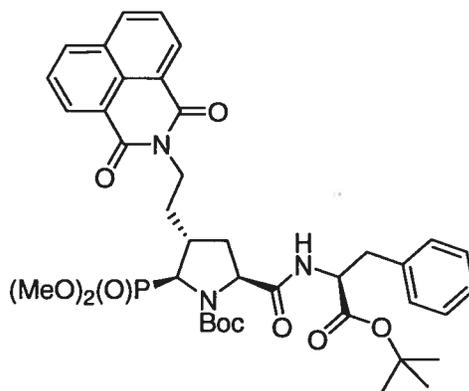
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.0, 170.5, 164.0, 153.3, 136.3, 133.8, 131.5, 131.2, 129.8, 129.3, 128.4, 126.9, 122.6, 82.4, 80.8, 60.4, 60.2, 53.7, 53.1, 52.3, 39.1, 38.7, 37.2, 35.8, 34.6, 28.2, 27.9 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.72, 25.28 (rotamères) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 750.5 (15) (M+1), 650.0 (40), 483.7 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{39}H_{49}N_3O_{10}P$ 750.315559, obt. 750.317400.

(5S)-(1-*tert*-Butoxycarbonyl-(2S)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-[2-(1,3-dioxo-1H,3H-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.23β)



$C_{39}H_{48}N_3O_{10}P$
Mol. Wt.: 749,79

Procédure D ;

Quantité 65 mg ;

Mousse blanche ;

Rendement 79 % ;

$R_f = 0.55$ ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1) ;

$[\alpha]_D = +2.98$ (c 1.34, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3279, 2977, 1735, 1701, 1663 cm^{-1} ;

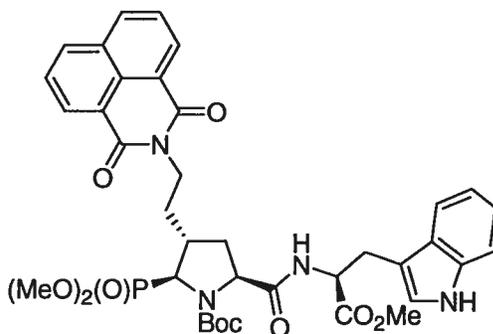
RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.75 (dd, 2H, $J = 0.97, 7.3$ Hz), 8.20 (dd, 2H, $J = 0.90, 8.3$ Hz), 7.73 (dd, 2H, $J = 7.4, 8.1$ Hz), 7.25 (m, 5H), 4.75 (m, 1H), 4.30 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 4.15 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.82 (d, 3H, $J = 10.5$ Hz), 3.75 (d, 3H, $J = 10.6$ Hz), 3.09 (dd, 1H, $J = 6.8, 13.7$ Hz), 3.00 (dd, 1H, $J = 8.0, 13.7$ Hz), 2.49 (élargi, 1H), 2.29 (m, 1H), 2.15-1.86 (m, 3H), 1.66 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.33 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.3, 171.0, 164.3, 154.8, 137.4, 134.4, 131.9, 131.6, 129.9, 128.7, 128.5, 127.3, 126.9, 122.9, 82.1, 81.6, 62.8, 61.3, 59.1, 54.0, 53.1, 39.02, 38.7, 38.1, 35.05, 32.2, 28.4 (rotamère), 28.3 (rotamère) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 29.53 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 750 (84) (M+1), 540 (37), 484 (100).

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(5*S*)-[2-(1*H*-indol-3-yl)-1-méthoxycarbonyl-éthylcarbamoyl]-pyrrolidine (5.25β)



$C_{38}H_{43}N_4O_{10}P$
Mol. Wt.: 746.74

Procédure D ;

Quantité 63 mg ;

Mousse jaune ;

Rendement 74 % ;

PF : 45 °C ;

$[\alpha]_D = -5.52$ (c 0.99, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3285, 2956, 1745, 1700, 1661, 1368 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.75 (s élargi, 1H), 8.60 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz), 8.37 (s élargi, 1H), 8.22 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.76 (faux t, 2H, $J = 7.8$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 7.31 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 7.12 (m, 3H), 5.06 (m, 1H), 4.38 (faux t, 1H, $J = 5.8$ Hz), 4.10 (m, 2H), 3.86 (m, 1H), 3.78 (d, 3H, $J = 9.8$ Hz), 3.69 (s, 3H), 3.58 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz), 3.40 (dd, 1H, $J = 5.03, 14.8$ Hz), 3.28 (dd, 1H, $J = 8.9, 14.9$ Hz), 2.41 (s élargi, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.05 (m, 2H), 1.91 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.44 (s, 9H) ;

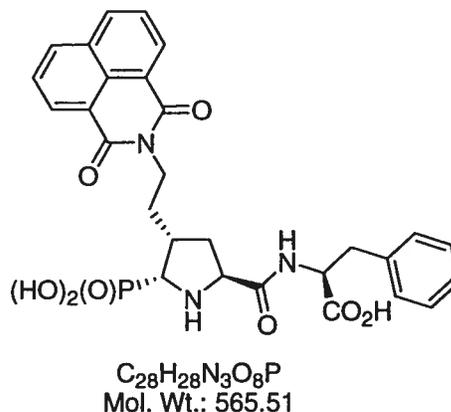
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.8, 164.5, 154.7, 136.7, 134.6, 132.0, 131.8, 128.5, 127.8, 127.4, 123.5, 122.8, 122.2, 119.6, 119.2, 111.5, 82.1, 62.8 (d), 61.3, 59.2, 54.7, 52.6, 52.5, 39.0, 38.6, 35.6, 31.9, 28.4 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 30.3 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 747 (8) ($M+1$), 537 (8), 307 (27) ;

(HR) calc. pour $C_{38}H_{44}N_4O_{10}P$ 747.279508, obt. 747.277900.

Acide 2-((4*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-5*R*)-phosphono-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl)-amino)-(3*S*)-phénylpropionique (5.24α)



Procédure E ;

Quantité 7 mg ;

Rendement 15 % après purification par LCMS préparative ;

$[\alpha]_D = -78.7$ (c 0.48, H₂O) ;

IR (KBr) 3433, 1698, 1656, 1591 cm⁻¹ ;

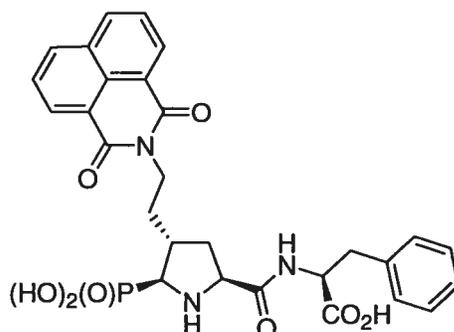
RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 8.15 (dd, 4H, *J* = 7.5, 7.4 Hz), 7.58 (t, 2H, , *J* = 7.7 Hz), 7.24 (m, 2H), 7.11 (m, 3H), 4.70 (dd, 1H, , *J* = 2.3, 3.2 Hz), 4.35 (dd, 1H, , *J* = 5.1, 9.0 Hz), 4.24 (dd, 1H, , *J* = 5.4, 9.5 Hz), 3.88 (t, 2H, , *J* = 6.5 Hz), 3.48 (dd, 1H, , *J* = 9.2, 6.0 Hz), 3.10 (dd, 1H, , *J* = 5.0, 13.9 Hz), 2.87 (dd, 1H, , *J* = 9.1, 13.9 Hz), 2.39 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 1.62 (m, 1H) ;

¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 178.4, 171.8, 166.2, 138.6, 136.0, 132.4, 131.7, 130.0, 129.3, 127.9, 127.6, 127.5, 121.5, 61.8, 59.6, 57.6, 40.0, 38.8, 38.2, 35.0, 27.7 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 11.56 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 565 (100) (M), 549 (74), 485 (30).

Acide 2-((4*R*)-[2-(1,3-Dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(5*S*)-phosphono-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl)-amino)-(3*S*)-phénylpropionique (5.24β)



$C_{28}H_{28}N_3O_8P$
Mol. Wt.: 565.51

Procédure E ;

Quantité 30 mg ;

Rendement 64 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -72$ (c 0.53, H_2O) ;

IR (KBr) 3443, 1697, 1656, 1591, 1456 cm^{-1} ;

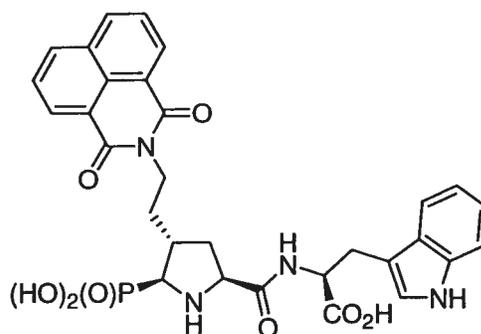
RMN : 1H (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 8.24 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 8.17 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.63 (t, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.33 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz), 7.25 (t, 3H, $J = 9.2$ Hz), 4.45 (dd, 1H, $J = 5.2$ 8.9 Hz), 4.36 (dd, 1H, $J = 5.1, 9.5$ Hz), 3.99 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 3.26 (t, 1H, $J = 10.0$ Hz), 3.21 (dd, 1H, $J = 5.4, 14.1$ Hz), 2.98 (dd, 1H, $J = 8.8, 13.6$ Hz), 2.44 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.13 (m, 1H), 1.54 (m, 1H) ;

^{13}C (100 MHz, D_2O) δ (ppm) 178.0, 169.2, 165.3, 138.6, 135.7, 131.9, 130.0, 129.8, 129.4, 127.6, 126.9, 120.7, 62.6, 61.2, 59.9, 39.4, 38.6, 38.0, 36.4, 30.0 ;

^{31}P (161.3 MHz, D_2O) δ (ppm) 10.78 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) 566 (100) (M+1).

Acide 2-((4*R*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-5*S*)-phosphono-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl)-amino)-(3*S*)-(1*H*-indol-3-yle)-propionique (5.26β)



$C_{30}H_{29}N_4O_8P$
Mol. Wt.: 604.55

Procédure E ;

Quantité 22 mg ;

Rendement 69 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -22.46$ (c 1.19, H₂O) ;

IR (KBr) 3428, 1654, 1591, 1129 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 8.03 (d, 2H, *J* = 6.3 Hz), 7.98 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz), 7.67 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.59 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz), 7.50 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz), 7.17 (m, 2H), 7.08 (t, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.51 (t, 1H, *J* = 4.6 Hz), 3.09 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 3.13 (dd, 1H, *J* = 9.0, 13.5 Hz), 2.97 (t, 1H, *J* = 8.3 Hz), 2.19 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.41 (m, 1H) ;

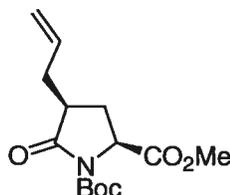
¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 178.9, 171.6, 165.5, 136.8, 135.6, 131.9, 131.1, 127.9, 127.5, 127.0, 125.1, 122.4, 120.9, 119.9, 119.3, 112.6, 111.3, 63.5 (d), 59.7, 56.8, 39.9, 38.6, 36.3, 31.3, 28.1 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 13.36 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 605 (100) (M+1).

11. 5. Données expérimentales de la série subsituée en C4 par un naphthalimidoéthyle *cis* par rapport au substituant en C2

(4*S*)-allyl-1-carboxylate de *tert*-butyle-(2*S*)-carboxylate de méthyl-5-oxopyrrolidine
(5.13)



C₁₄H₂₁NO₅
Mol. Wt.: 283,32

Procédure A ;

Quantité 611 mg ;

Rendement 10 % ratio *trans:cis* 1.5:1 ;

R_f = 0.28 (hexanes/AcOEt, 7/3) ;

[α]_D = + 12 (*c* 3.55, CHCl₃) ;

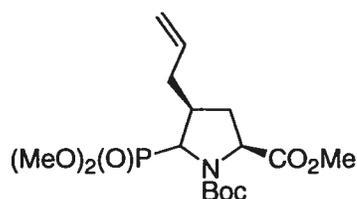
IR (pastille NaCl) 2981, 1792, 1752, 1719, 1320 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 5.68 (m, 1H), 5.08 (dd, 2H, *J* = 7.0, 13.0 Hz), 4.50 (dd, 1H, *J* = 1.8, 6.9 Hz), 3.78 (s, 3H), 2.68 (m, 2H), 2.45 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.47 (s, 9H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 174.4, 171.9, 149.1, 134.4, 117.6, 83.6, 57.3, 52.4, 41.9, 35.0, 27.7, 26.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 284 (5) (M+1), 228 (25), 184 (100).

(4S)-Allyl-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-carboxylate de méthyl-5-(diméthoxy-phosphoryle)-pyrrolidine (5.27)



$C_{16}H_{28}NO_7P$
Mol. Wt.: 377.37

Procédure B ;

Quantité 789 mg ;

Rendement 45 % (3 étapes) ;

IR (pastille NaCl) 3479, 2958, 1761, 1706, 1381 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 5.76 (m, 1H), 5.08 (d, 1H, $J = 17.3$ Hz), 4.98 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 4.29 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.87 (d, 3H, $J = 10.3$ Hz), 3.72 (d, 3H, $J = 10.7$ Hz), 3.70 (s, 3H), 2.51 (m, 1H), 2.32-2.28 (m, 4H), 1.44 (s, 3H) (rotamère), 1.39 (s, 6H) (rotamère) ;

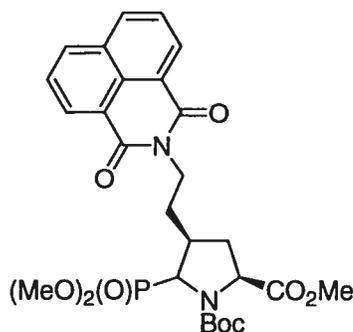
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.0, 153.6, 136.1, 116.4, 80.8, 59.4, 57.9, 55.8, 54.0, 51.9, 41.2, 34.4, 33.2, 28.2 (rotamère minoritaire), 28.0 (rotamère majoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.5 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 378 (41) (M+1), 322 (67) ;

(HR) calc. pour $C_{16}H_{29}NO_7P$ 378.168166, obt. 378.169900.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-5-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*S*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.28)



$C_{27}H_{33}N_2O_9P$
Mol. Wt.: 560.53

Procédures F et G ;

Quantité 355 mg ;

Gomme blanche ;

Rendement 32 % (4 étapes) ;

$R_f = 0.48$ (100 % AcOEt) ;

IR (pastille NaCl) 3470, 2957, 1757, 1699, 1660, 1366, 1327 ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.55 (d, 2H, $J = 7.1$ Hz), 8.19 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.70 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.88 (d, 3H, $J = 10.2$ Hz), 3.74 (d, 3H, $J = 10.6$ Hz), 3.71 (s, 3H), 2.58 (m, 1H), 2.31-2.18 (m, 3H), 2.01 (m, 1H), 1.46 (s, 3H) (rotamère), 1.38 (s, 6H), (rotamère) ;

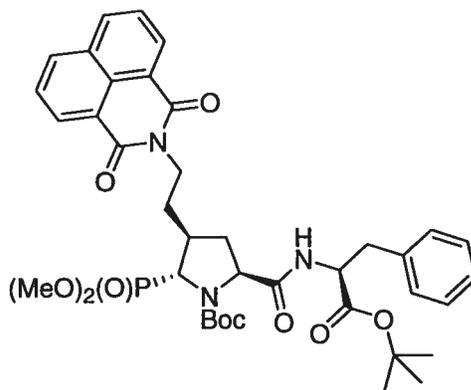
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 172.0, 164.1, 153.5, 133.9, 131.4, 131.2, 128.0, 126.8, 122.4, 80.7, 59.4, 58.9, 55.9, 54.1, 52.1 (d), 38.9, 38.2, 34.6, 33.6, 28.0 (rotamère majoritaire), 27.6 (rotamère minoritaire) ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 24.6 (rotamère minoritaire), 24.4 (rotamère majoritaire) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 561 (26) (M+1), 505 (23), 351 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{27}H_{34}N_2O_9P$ 561.200195, obt. 561.198600.

(5*S*)-(1-*tert*-Butoxycarbonyl-(2*S*)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(3*S*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyle]-pyrrolidine (5.29)



$C_{39}H_{48}N_3O_{10}P$
Mol. Wt.: 749,79

Procédures C et D;

Quantité 131 mg ;

Rendement 65 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -2.92$ (*c* 1.06, $CHCl_3$) ;

PF : 82 °C ;

IR (pastille NaCl) 2978, 1703, 1664, 1364 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.54 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz), 8.18 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz), 7.84 (bs, 1H), 7.72 (t, 2H, $J = 7.8, 15.35$ Hz), 7.25 (m, 5H), 4.71 (dd, 1H, $J = 7.52$ Hz), 4.23 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.02 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz), 2.46-2.35 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 2.11 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.28 (s, 9H) ;

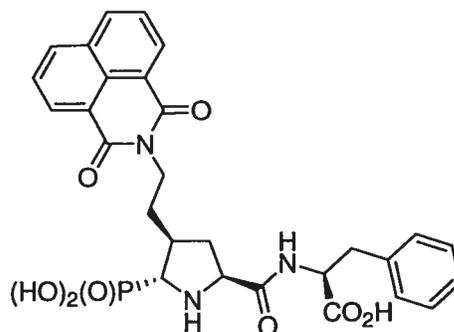
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 171.9, 170.4, 164.1, 154.4, 136.7, 133.9, 131.5, 131.2, 129.6, 128.2, 128.0, 126.8, 126.5, 122.4, 81.4, 81.2, 63.5, 54.0, 53.7, 52.5, 52.4, 39.3, 39.0, 38.8, 35.9, 28.2, 27.9, 27.1 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 25.71 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 750 (70) (M+1), 540 (21), 484 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{39}H_{49}O_{10}N_3P$ 750.315559, obt. 750.318900.

Acide 2-((4*S*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(5*R*)-phosphono-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl)-amino)-(3*S*)-phénylpropionique (5.30)



$C_{28}H_{28}N_3O_8P$
Mol. Wt.: 565.51

Procédure E ;

Quantité 13 mg ;

Rendement 38 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -8.25$ (*c* 0.4, H₂O) ;

IR (KBr) 3407, 1699, 1658, 1591, 1388 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 8.10 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz), 8.08 (d, 2H, *J* = 6.9 Hz), 7.55 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.34-7.29 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 6.94 (t, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.70 (d, 1H, *J* = Hz), 4.38 (dd, 1H, *J* = 5.0, 7.9 Hz), 4.08 (dd, 1H, *J* = 5.9, 9.7 Hz), 3.77 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 3.44 (dd, 1H, *J* = 7.2, 9.9 Hz), 3.08 (dd, 1H, *J* = 5.1, 14.0 Hz), 2.90 (dd, 1H, *J* = 8.1, 14.0 Hz), 2.44 (m, 1H), 2.36 (m, 1H), 2.16-2.08 (m, 2H), 1.42 (ddd, 1H, *J* = 6.6, 13.4, 19.27 Hz) ;

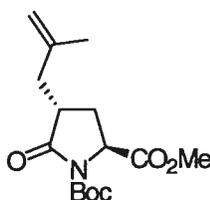
¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 178.3, 172.2, 165.8, 138.5, 135.8, 132.1, 131.5, 130.0, 129.2, 127.8, 127.4, 121.2, 62.6, 60.8, 60.0, 40.0, 38.9, 38.4, 35.2, 28.3 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 12.26 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 588 (61) (M+1+Na), 566 (57) (M+1), 484 (100).

11. 6. Données expérimentales de la série substituée en C4 par un isobutyle

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(4*R*)-(2-méthyl-allyl)-5-oxopyrrolidine (5.31)



$C_{15}H_{23}NO_5$
Mol. Wt.: 297,35

Procédure A ;

Quantité 620 mg ;

Rendement 30 % (trans) ratio *trans:cis* 1.5:1 ;

$R_f = 0.58$ (Hexanes/AcOEt, 7:3) ;

PF : 55 °C ;

$[\alpha]_D = -41$ (c 2.04, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2979, 1792, 1751, 1717 cm^{-1} ;

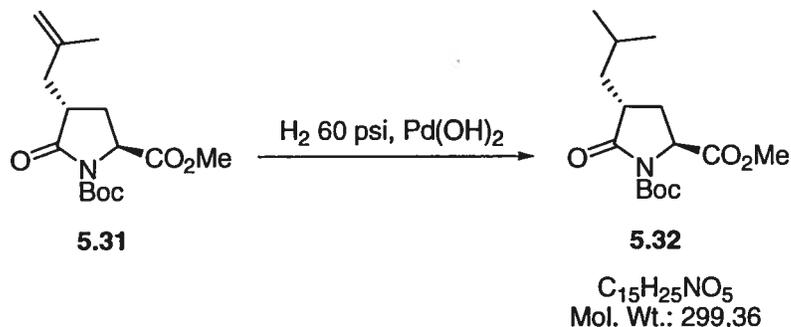
RMN : 1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 4.60 (d, 2H, $J = 23.8$ Hz), 4.64 (dd, 1H, $J = 1.7, 9.6$ Hz), 3.66 (s, 3H), 2.67 (m, 1H), 2.54 (dd, 1H, $J = 3.7, 14.4$ Hz), 2.05 (dddd, 2H, $J = 1.7, 8.6, 13.5, 22.2$ Hz), 1.89 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 1.58 (s, 3H), 1.37 (s, 9H) ;

^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 174.3, 171.5, 148.9, 141.7, 112.2, 83.1, 56.5, 52.1, 39.6, 38.5, 27.8, 27.4, 21.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 297 (44) (M), 250 (100), 197 (42), 241 (35) ;

(HR) calc. pour $C_{15}H_{23}O_5N$ 297.157623, obt. 297.158752.

**1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl (4*R*)-isobutyl-5-oxopyrrolidine
(5.32)**



La lactame est mise en solution dans EtOH (0.1 M), Pd(OH)₂, 20% sur C, est ajouté en quantité catalytique et l'hydrogénation est réalisée à 60 psi pendant 3 h à température ambiante. La solution est filtrée sur Célite et concentrée pour donner le produit de manière quantitative.

Quantité 620 mg ;

IR (pastille NaCl) 2958, 1793, 1752, 1718, 1318 cm⁻¹ ;

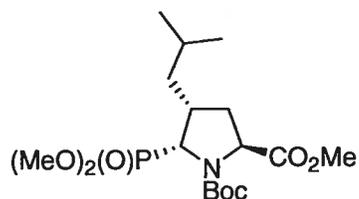
RMN : ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm) 4.54 (dd, 1H, *J* = 1.3, 9.6 Hz), 3.73 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 1.92 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.63 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.23 (m, 3H), 0.90 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.85 (d, 3H, *J* = 6.5Hz) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.4, 171.8, 149.4, 83.4, 56.9, 52.5, 39.8, 39.7, 29.0, 27.8, 25.7, 23.2, 21.4 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 300 (16) (M+1), 244 (57), 200 (100) ;

(HR) calc. pour C₁₅H₂₆O₅N 300.181098, obt. 300.180300.

**1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4*R*)-isobutylpyrrolidine (5.33 α)**



C₁₇H₃₂NO₇P
Mol. Wt.: 393,41

Procédure B ;

Quantité 172 mg ;

Rendement 32 %, ratio α : β 1:1.2 ;

$[\alpha]_D = -22.6$ (*c* 0.9, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2957, 1749, 1712, 1367 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 4.35 (dd, 1H, *J* = 2.6, 7.8 Hz), 4.24 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz), 3.71 (d, 3H, *J* = 0.6 Hz), 3.68 (d, 3H, *J* = 0.6 Hz), 3.67 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 2.46 (m, 2H), 1.84 (dd, 1H, *J* = 5.8, 12.6 Hz), 1.54 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.1 Hz), 0.81 (d, 3H, *J* = 5.8 Hz) ;

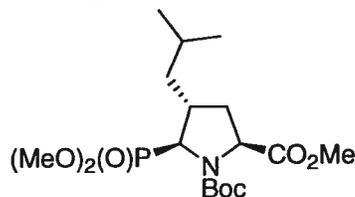
¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 173.4, 153.0, 80.5, 58.8, 57.0, 55.4, 53.0, 52.1 (d), 37.6, 35.1, 33.9, 27.8, 26.4, 22.8 ;

³¹P (161.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 25.7 (rotamère minoritaire), 25.4 (rotamère majoritaire) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 394 (M+1) (18), 338 (38), 307 (19) ;

(HR) calc. pour C₁₇H₃₃NO₇P 394.199466, obt. 394.199019.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-carboxylate de méthyl-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryle)-(4*R*)-isobutylpyrrolidine (5.33β)



C₁₇H₃₂NO₇P
Mol. Wt.: 393,41

Procédure B ;

Quantité 204 mg ;

Rendement 37 % (3 étapes), ratio α:β 1:1.2 ;

[α]_D = +12.66 (c 0.79, CHCl₃) ;

IR (pastille NaCl) 2958,1761, 1706, 1368 cm⁻¹ ;

RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 4.35 (élargi, 1H), 4.21 (t, 1H), 3.91 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz), 3.80 (d, 3H, *J* = 10.4 Hz), 3.70 (d, 3H, *J* = 9.8 Hz), 3.66 (s, 3H), 2.52 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 1.52 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.18 (m, 1H), 1.10 (m, 1H), 0.85 (d, 3H, *J* = 3.3 Hz), 0.83 (d, 3H, *J* = 3.3 Hz) ;

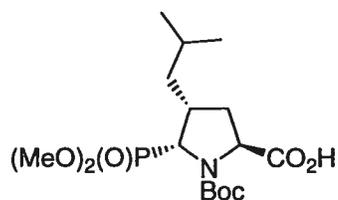
¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 172.4, 153.9, 80.8, 60.7, 59.1, 53.3 (d), 52.3, 51.8, 42.7, 37.2, 34.4, 28.0, 25.7, 22.3, 22.1 ;

³¹P (161.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 25.74 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 394 (M+1) (48), 338 (42) ;

(HR) calc. pour C₁₇H₃₃NO₇P 394.199466, obt. 394.199255.

1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-acide carboxylique-(5*R*)-(diméthoxy-phosphoryl)-(4*R*)-isobutylpyrrolidine (5.34 α)



$C_{16}H_{30}NO_7P$
Mol. Wt.: 379.39

Procédure C ;

Quantité 79 mg ;

Solide blanc ;

PF : 168-170 °C ;

Rendement 41 % ;

$[\alpha]_D = -32$ (c 0.67, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2959, 1736, 1711, 1368 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.45 (élargi, 1H), 4.41 (dd, 1H, $J = 2.2, 7.5$ Hz), 4.31 (dd, 1H, $J = 7.2, 16.2$ Hz), 3.74 (d, 6H, $J = 10.6$ Hz), 2.75 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.00 (dd, 1H, $J = 5.5, 12.3$ Hz), 1.59 (m, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.40 (s, 6H), 1.38 (m, 1H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz), 0.85 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz) ;

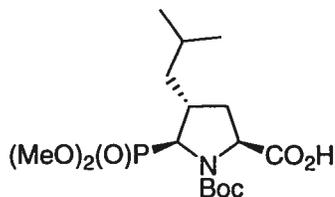
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 177.7, 153.3, 81.0, 58.9, 57.4, 53.4, 52.4, 37.7, 37.3, 35.3, 28.0, 26.5, 23.0, 22.0 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 26.43 (rotamère minoritaire), 26.17 (rotamère majoritaire) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 379 (9), 335 (21), 284 (41), 270 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{16}H_{30}NO_7P$ 379.175991, obt. 379.175770.

**1-Carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-acide carboxylique-(5*S*)-(diméthoxy-phosphoryl)-
(4*R*)-isobutylpyrrolidine (5.34β)**



$C_{16}H_{30}NO_7P$
Mol. Wt.: 379.39

Procédure C ;

Quantité 165 mg ;

Gomme blanche ;

Rendement 85 % ;

$[\alpha]_D = +52.7$ (*c* 1.05, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3380, 2960, 1706, 1368 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 9.93 (élargi, 1H), 4.32 (t, 1H, $J = 8.6$ Hz), 4.03 (m, 1H), 3.83 (d, 3H, $J = 10.7$ Hz), 3.77 (d, 3H, $J = 10.7$ Hz), 2.60 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.57 (m, 2H), 1.43 (s, 6H) (rotamère majoritaire), 1.42 (s, 3H) (rotamère minoritaire), 1.11 (m, 1H), 0.87 (d, 6H, $J = 6.4$ Hz) ;

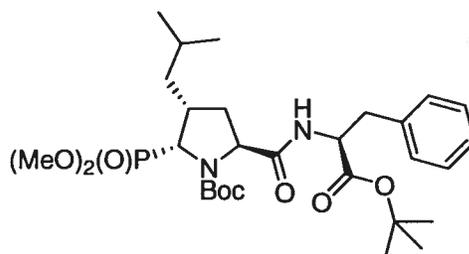
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 173.3, 153.7, 82.0, 60.2, 57.9, 54.5, 52.7, 42.2, 37.3, 34.1, 27.9, 25.7, 22.2, 22.0 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 30.06 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 380 (M+1) (35), 324 (59) ;

(HR) calc. pour $C_{16}H_{31}NO_7P$ 380.183816, obt. 380.182961.

**(5S)-((3S)-tert-Butoxycarbonyl-4-phényl-butryl)-1-carboxylate de tert-butyl-(2R)-
(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-isobutylpyrrolidine (5.35 α)**



$C_{29}H_{47}N_2O_8P$
Mol. Wt.: 582.67

Procédure D ;

Quantité 46 mg ;

Solide blanc ;

PF : 142 °C ;

Rendement 38 % ;

$[\alpha]_D = -6.96$ (c 0.74, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 3284, 2956, 1705, 1367 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.30-7.17 (m, 5H), 4.63 (m, 1H), 4.40 (dd, 1H, $J = 1.8, 7.7$ Hz), 4.11 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 3.73 (m, 6H), 3.06 (dd, 2H, $J = 6.7, 14.2$ Hz), 2.40 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.54 (m, 3H), 1.47 (s, 9H), 1.36 (s, 9H), 0.88 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 0.83 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz) ;

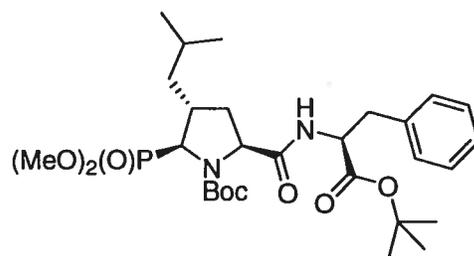
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 175.2, 170.6, 153.3, 136.1, 129.7, 128.2, 127.0, 82.2, 80.7, 60.2, 53.8, 53.7, 53.1, 52.9, 52.2, 52.1, 38.1, 37.1, 28.1, 27.8, 26.5, 23.0, 22.2 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 26.31 (rotamère), 25.75 (rotamère) ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 582 (25), 482 (62), 426 (34), 316 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{29}H_{48}N_2O_8P$ 583.314830, obt. 583.314000.

**(5S)-((3S)-*tert*-Butoxycarbonyl-4-phényl-buteryl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2S)-
(diméthoxy-phosphoryl)-(3R)-isobutylpyrrolidine (5.35β)**



$C_{29}H_{47}N_2O_8P$
Mol. Wt.: 582.67

Procédure D ;

Quantité 52 mg ;

Gomme ;

Rendement 65 % ;

$[\alpha]_D = + 16.71$ (c 2.01, $CHCl_3$) ;

IR (pastille NaCl) 2958, 1706, 1367, 1160 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.06 (élargi, 1H), 7.26-7.15 (m, 1H), 4.73 (dd, 1H, $J = 7.6, 15.4$ Hz), 4.20 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 3.91 (dd, 1H, $J = 2.8, 5.4$ Hz), 3.79 (faux t, 6H, $J = 10.1$ Hz), 3.09 (dd, 1H, $J = 6.9, 13.7$ Hz), 3.02 (dd, 1H, $J = 7.6, 15.4$ Hz), 2.53 (m, 1H), 2.26 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.53 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.32 (s, 9H), 1.17 (m, 1H), 0.87 (faux t, 6H, $J = 6.8$ Hz) ;

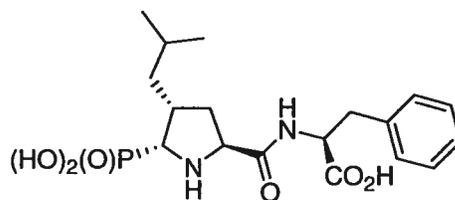
^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 170.6, 154.8, 137.0, 129.5, 128.1, 126.5, 81.6, 81.3, 62.6, 61.4, 53.6, 53.4, 52.6, 42.9, 42.7, 38.7, 37.3, 28.0, 27.8, 25.9, 22.6, 22.2 ;

^{31}P (161.3 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 28.88 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 582 (46), 317 (100) ;

(HR) calc. pour $C_{29}H_{48}N_2O_8P$ 583.314830, obt. 583.312800.

Acide (2S)-[[(4R)-isobutyl-(5R)-phosphono-pyrrolidine-(2S)-carbonyl]-amino]-3-phénylpropionique (5.36 α)



$C_{18}H_{27}N_2O_6P$
Mol. Wt.: 398.39

Procédure E ;

Quantité 19 mg ;

Rendement 66 % (2 étapes);

$[\alpha]_D = -63$ (c 0.27, H₂O) ;

IR (KBr) 3420, 2959, 1683, 1455 cm⁻¹ ;

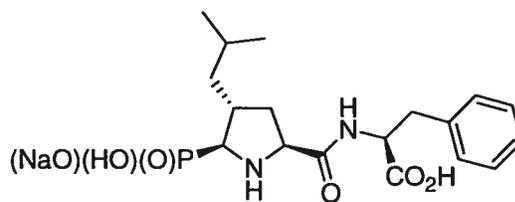
RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 7.34 (m, 3.5H), 7.16 (m, 1.5H), 4.55 (d, 1H, $J = 1.89$ Hz), 4.45 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 4.22 (t, 1H, $J = 8.7$ Hz), 3.22 (dd, 1H, $J = 4.4, 14.2$ Hz), 3.07 (dd, 1H, $J = 4.4, 14.1$ Hz), 1.82 (m, 1H), 1.63 (m, 1H), 1.45-1.38 (m, 4H), 0.81 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 0.73 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz) ;

¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 172.5, 153.2, 130.6, 129.0, 127.9, 56.9, 56.7, 38.9 (d), 32.7, 26.5 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 14.42 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 395 (61) (M-3), 299 (100).

Acide (2S)-[[(4R)-isobutyl-(5S)-phosphono-pyrrolidine-(2S)-carbonyl]-amino]-3-phénylpropionique (5.36β)



$C_{18}H_{26}N_2NaO_6P$
Mol. Wt.: 420.37

Procédure E ;

Quantité 26 mg ;

Rendement 70 % (2 étapes)

$[\alpha]_D = -56$ (c 0.34, H_2O) ;

IR (KBr) 3437, 2957, 1618, 1385 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 7.31 (m, 2H), 7.23 (m, 3H), 4.42 (dd, 1H, $J = 5.0, 8.8$ Hz), 4.14 (dd, 1H, $J = 5.6, 9.5$ Hz), 3.17 (dd, 1H, $J = 5.05, 13.9$ Hz), 2.99 (t, 1H, $J = 3.2$ Hz), 2.92 (dd, 1H, $J = 8.8, 13.9$ Hz), 2.28 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.52 (m, 2H), 1.14 (m, 1H), 0.84 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 0.81 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz) ;

^{13}C (100 MHz, D_2O) δ (ppm) 178.3, 170.2, 138.5, 130.0, 129.4, 127.6, 64.6 (d), 59.5, 57.8, 42.3, 38.9, 38.2, 36.7, 26.7, 23.9, 21.5 ;

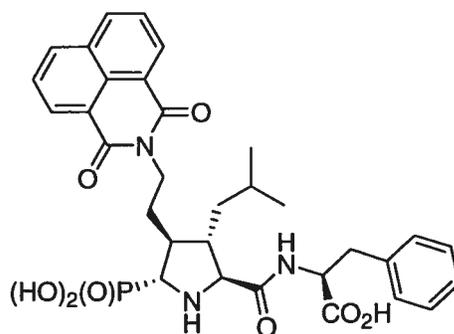
^{31}P (161.3 MHz, D_2O) δ (ppm) 11.05 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %): 421 (17) (M+1), 307 (37) ;

(HR) calc. pour $C_{18}H_{27}O_6N_2PNa$ 421.150445, obt. 421.152400.

11. 7. Données expérimentales des composés finaux substitués en C3 par un isobutyle et en C4 par un groupe variable

Acide 2-((4*S*)-[2-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isoquinolin-2-yl)-éthyl]-(3*S*)-isobutyl-(5*R*)-phosphono-pyrrolidine-(2*S*)-carbonyl]-amino)-(3*S*)-phénylpropionique (7.1)



$C_{32}H_{36}N_3O_8P$
Mol. Wt.: 621.62

Procédure E ;

Quantité 5 mg ;

Rendement 45 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -79$ (c 0.24, H₂O) ;

IR (KBr) 3453, 1654, 1465 cm⁻¹ ;

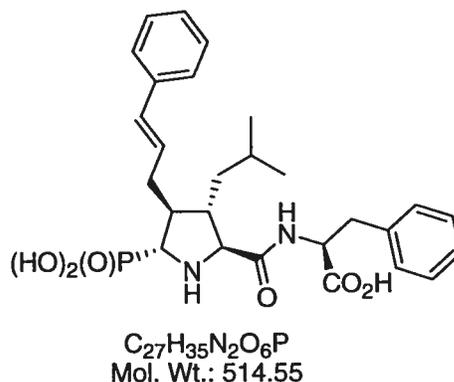
RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 8.25 (m, 4H), 7.68 (m, 2H), 6.98 (m, 2H), 6.84 (m, 2H), 6.59 (m, 1H), 4.24 (dd, 1H, *J* = 4.8, 7.3 Hz), 3.85-3.80 (m, 2H), 3.60 (d, 1H), 3.55 (dd, 1H, *J* = 6.1, 9.7 Hz), 2.98 (dd, 1H, *J* = 4.4, 13.8 Hz), 2.86 (dd, 1H, *J* = 7.7, 14.1 Hz), 2.35 (d, 1H, *J* = 9.5 Hz), 2.21 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.38 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz), 1.22 (m, 1H), 0.91 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz), 0.80 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz) ;

¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 178.0, 165.7, 138.1, 136.0, 132.3, 131.8, 129.7, 128.9, 127.9, 126.9, 121.5, 66.2 (d), 60.9, 57.5, 47.5, 45.3, 44.3 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 14.84 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 622 (100) (M+1).

Acide-2-[[[(3S)-Isobutyl-(4S)-(3-phényl-allyl)-(5R)-phosphono-pyrrolidine-(2S)-carbonyl]-amino]-(3S)-phénylpropionique (7.2)



Procédure E ;

Quantité 24 mg ;

Rendement 74 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -0.38$ (c 0.78, H₂O) ;

IR (KBr) 3429, 1619, 1222 cm⁻¹ ;

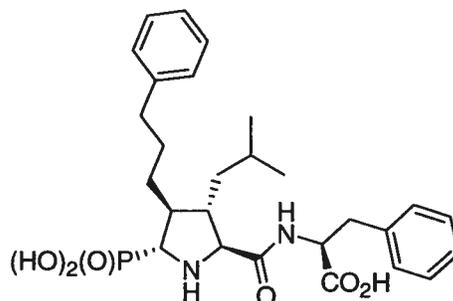
RMN : ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm) 7.37 (m, 3H), 7.32 (m, 2H), 7.21 (m, 5H), 6.23 (d, 2H, *J* = 16.0 Hz), 6.14 (m, 1H), 4.36 (dd, 1H, *J* = 4.8, 8.5 Hz), 3.71 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz), 3.60 (dd, 1H, *J* = 6.2, 11.5 Hz), 3.19 (dd, 1H, *J* = 5.0, 14.1 Hz), 2.98 (dd, 1H, *J* = 8.5, 14.0 Hz), 2.73 (d, 1H, *J* = 13.7 Hz), 2.30-2.24 (m, 2H), 1.99 (td, 1H, *J* = 9.8, 13.6 Hz), 0.71 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz), 0.62 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz) ;

¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 177.5, 170.4, 138.6, 138.1, 133.1, 130.0, 129.6, 129.4, 128.1, 127.5, 126.9, 66.6, 61.1, 57.7, 58.0, 45.9 (d), 44.6, 38.1, 33.9, 26.2, 23.1, 21.7 ;

³¹P (161.3 MHz, D₂O) δ (ppm) 10.03 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) 515 (18) (M+1), 433 (100).

Acide 2-[[*(3S)*-Isobutyl-*(4S)*-(3-phényl-propyl)-*(5R)*-phosphono-pyrrolidine-*(2S)*-carbonyl]-amino]-*(3S)*-phénylpropionique (7.3)



$C_{27}H_{37}N_2O_6P$
Mol. Wt.: 516.57

Procédure E ;

Quantité 13 mg ;

Rendement 53 % (2 étapes) ;

$[\alpha]_D = -59$ (c 0.61, H_2O) ;

IR (pastille NaCl) 3434, 2927, 1638, 1455, 1385 cm^{-1} ;

RMN : 1H (300 MHz, D_2O) δ (ppm) 7.47-7.06 (m, 10H), 4.87 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.64 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.52 (m, 3H), 1.22 (m, 2H), 1.10 (m, 1H), 0.76 (s, 6H) ;

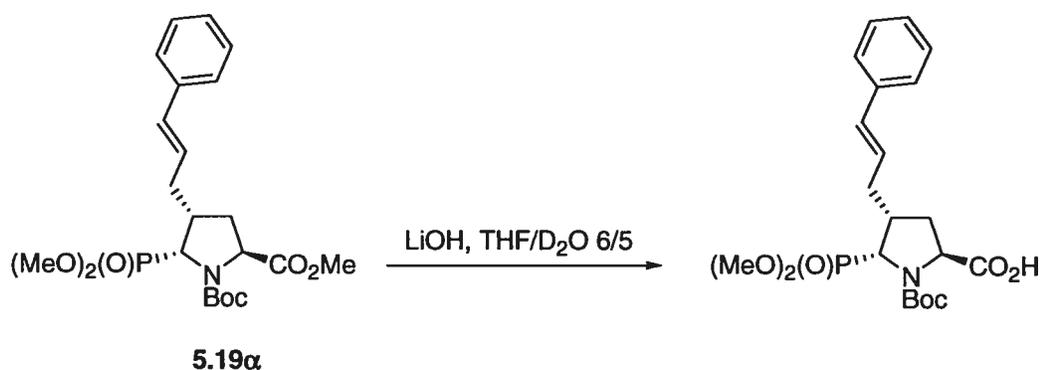
^{13}C (100 MHz, D_2O) δ (ppm) 177.4, 169.5, 143.7, 138.4, 130.0, 129.4, 127.6, 126.7, 66.2, 60.1, 57.6, 46.6, 46.2, 44.5, 38.0, 35.7, 29.9, 29.1, 26.3, 22.9, 22.2 ;

^{31}P (161.3 MHz, D_2O) δ (ppm) 15.39 (momodéprotection) 9.61 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 517 (8) (M+1), 435 (100).

11. 8. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN de la cinétique de l'hydrolyse de l'ester méthylique des intermédiaires phosphonates 5.19 α et 5.18 β

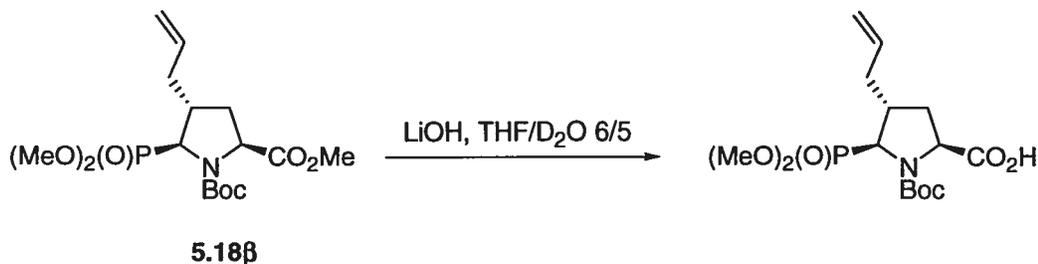
11. 8. 1. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de 5.19 α



Dans un tube RMN, à une solution du dérivé **5.19 α** (11 mg, 0.024 mmol) dans un mélange THF/D₂O 6/5 (0.9 mL), est additionné LiOH (2 mg, 2 eq), dissous au préalable dans 0.2 mL de D₂O. Aussitôt, un premier spectre RMN ^{31}P est pris, puis le tube est chauffé à 60°C pour voir apparaître des signaux correspondants au produit d'hydrolyse. Les spectres de RMN ^{31}P sont alors enregistrés toutes les 30 min pendant 6 h, puis toutes les 24 h pendant 2 jours, toujours à 60°C.

Les résultats de cette expérience sont discutés au chapitre 5, paragraphe 5. 4. 4.

11. 8. 2. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^{31}P de l'hydrolyse de **5.18 β**



Nous ne disposons pas de l'analogue **5.19 β** , pour réaliser la même expérience que réalisée sur **5.19 α** et décrite au paragraphe 11. 7. 1.

Dans un tube RMN, est mis en solution le dérivé **5.18 β** (50 mg, 0.13 mmol) dans un mélange THF/D₂O 6/5 (1.1 mL). Un premier spectre RMN ^{31}P est pris correspondant à $t = 0$.

Puis LiOH (11 mg, 2 eq), dissous au préalable dans 0.2 mL de D₂O, est additionné. Dès l'ajout terminé, les spectres RMN ^{31}P sont enregistrés toutes les 3 min pendant 1 h. C'est pendant cette première heure que les signaux de l'intermédiaire apparaissent et que ceux correspondant à **5.18 β** disparaissent. L'évolution de la réaction est ensuite beaucoup plus lente et les spectres ne sont pris que toutes les heures. Ce n'est qu'au bout de 5 h que les signaux correspondants au produit apparaissent. Il faut au moins 3 jours pour ne plus voir les signaux de l'intermédiaire.

11. 8. 3. Conditions expérimentales pour le suivi par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P de l'hydrolyse de **5.18 β**

Comme un intermédiaire semble se former lors de l'hydrolyse de **5.18 β** , il a paru nécessaire de suivre l'hydrolyse par RMN ^1H et ^{13}C .

La même expérience que décrite dans le paragraphe 11. 7. 2. a été réalisée mais cette fois-ci en utilisant du THF deutéré (d_8).

L'expérience plus complexe est confiée au soin du spécialiste en RMN, le Dr Tan Phan Minh Viet. Ce dernier a réalisé des expériences de RMN à des températures variables pour tenter de piéger le supposé intermédiaire à basse température. A partir de ce moment, des expériences ^{13}C découplé du P, ^1H découplé du P, RMN ^2D de l'intermédiaire sont réalisées. Il n'a jamais été possible de voir un couplage caractéristique phosphore-carbone qui correspondrait à l'intermédiaire **IV** décrit au paragraphe **5. 4. 4.**

Un mécanisme détaillé est discuté dans le chapitre 5, paragraphe **5. 4. 4.** dans le but de rationaliser les résultats.

Chapitre 12

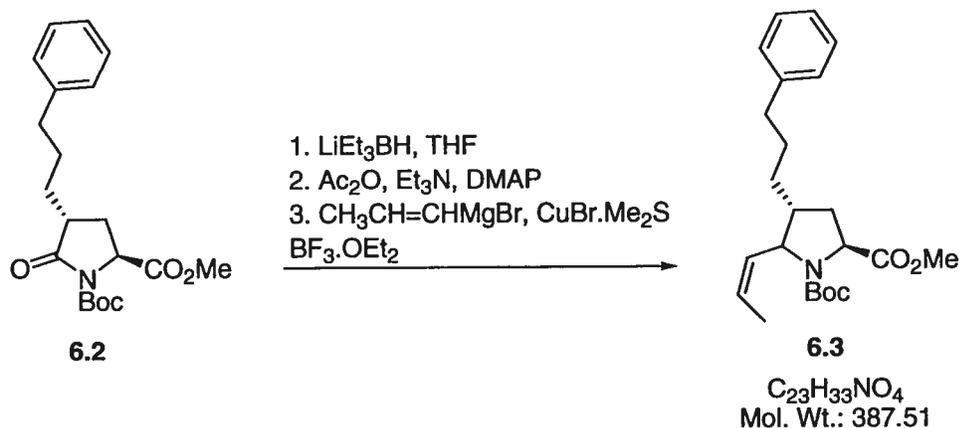
**Section expérimentale :
préparation des produits du chapitre 6**

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés à 20°C.

Dans le cas de carbones équivalents, un seul signal de double intensité est observé par RMN ¹³C.

12. 1. Données expérimentales des analogues possédant un acide carboxylique comme groupe chélatant

1-Carboxylate de tert-butyl-(2S)-carboxylate de méthyl-(4R)-(3-phényl-propyl)-5-propénylpyrrolidine (6.3)



Les deux premières séquences réactionnelles sont identiques à celles décrites dans la procédure B (Chapitre 11) et permettent d'obtenir l'hémi-aminal acétylé.

Dans un ballon préalablement flambé est mis CuBr.Me₂S (2.2 eq, 4.92 mmol) en solution dans 16 mL d'éther anhydre à -40°C.

Dans un second ballon préalablement flambé est ajouté CH₃CH=CHMgBr (0.5 M dans THF) (2.1 eq, 4.7 mmol) à 5 mL d'éther anhydre et cette solution est canulée sur la suspension de cuivre et le tout est agité sous argon 1 h à -40°C. Au bout de ce temps, BF₃.OEt₂ (2.4 eq, 0.67 mL) est additionné goutte à goutte et l'agitation est poursuivie 1 h à -40°C. La solution orange devient d'un violet intense. L'hémi-aminal acétylé (2.24 mmol), solubilisé au préalable dans 14 mL d'éther anhydre est canulé sur l'organocuivreux formé et le mélange est agité sous argon pendant 6 h, durée durant laquelle la température est progressivement augmentée jusqu'à 0°C. Lorsque la réaction est terminée, un mélange équimolaire de NH₄OH 16M et NH₄Cl sat. (20 mL) est ajouté lentement. La phase

organique est extraite plusieurs fois à l'éther, lavée à la saumure, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie éclair (Hexanes/AcOEt, 9/1) pour donner le produit désiré (600 mg) sous forme d'un mélange de diastéréoisomères.

Rendement 70 % (3 étapes) ;

$R_f = 0.55$ (Hexanes/AcOEt, 8/2) ;

Mélange d'isomères ;

IR (pastille NaCl) 2976, 2934, 1751, 1697, 1393 cm^{-1} ;

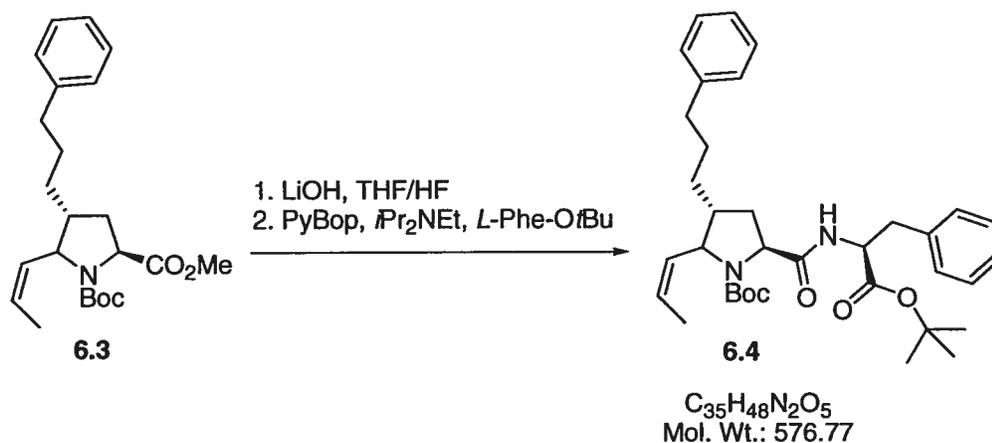
RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.25 (m, 2H), 7.12 (m, 3H), 5.55 (m, 1H), 5.09 (m, 0.6 H), 4.83 (m, 0.3 H), 4.20 (m, 1H), 3.68 (m, 3H), 2.31 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.86 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.60 (m, 3H), 1.55 (m, 2H), 1.46 (m, 9H), 1.25 (m, 1H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) mélange d'isomères ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 388 (M+1) (26), 332 (75), 288 (73) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{NO}_4$ 388.247400, obt. 388.248784.

(5S)-(1-*tert*-Butoxycarbonyl-(2S)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(3R)-(3-phényl-propyl)-2-propénylpyrrolidine (6.4)



Procédure C et D (Chapitre 10) où HOBt et EDCI sont remplacés par PyBop, même nombre d'équivalent ;

Quantité 391 mg ;

Rendement 50 % (2 étapes) ;

$R_f = 0.75$ (100 % AcOEt)

IR (pastille NaCl) 3410, 3220, 2978, 2933, 1732, 1690, 1497 cm^{-1} ;

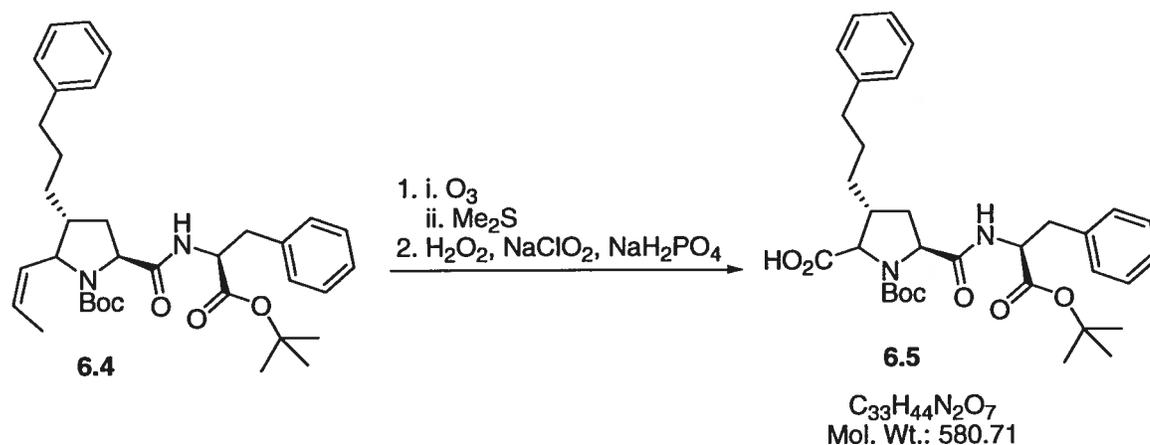
RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.29 (m, 2H), 7.16 (m, 8H), 5.56 (m, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.48 (m, 0.3H), 4.28 (dd, 1H), 4.11 (m, 0.6H), 3.18 (dd, 1H, $J = 6.2, 13.8$ Hz), 3.05 (m, 1H), 2.57 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 2.15 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.76 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 1.53 (m, 1H), 1.41 (d, 9H, $J = 8.3$ Hz), 1.38 (d, 9H, $J = 8.6$ Hz), 1.26 (m, 1H) ;

^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) mélange d'isomères ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 577 (M+1) (36), 477 (20), 421 (100) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_5$ 577.364148, obt. 577.364174.

2-Acide carboxylique-(5S)-(1-tert-butoxycarbonyl-(2S)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de tert-butyl)-(3R)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.5)



Après l'étape d'ozonolyse décrite dans la procédure F (Chapitre 10), l'aldéhyde obtenu est tout de suite oxydé de la manière suivante. 0.72 mmol d'aldéhyde sont dissout dans l'acétonitrile (7 mL). A 0°C , est additionné NaH_2PO_4 (0.70 g, 7eq), dissout au préalable dans l'eau (1 mL), puis H_2O_2 30% (0.12 mL, 5.5 eq) . NaClO_2 , dissout lui aussi au préalable dans de l'eau (2 mL) est alors additionné lentement sur 15 min. Le mélange est agité pendant 1 h à 0°C et à température ambiante pendant 30 min. La solution prend une teinte verdâtre. Une pointe de spatule de Na_2SO_3 est ajoutée et le pH ajusté à 3 avec HCl

1M. puis l'acide est extrait à AcOEt pour donner après séchage sur Na₂SO₄ et évaporation une huile incolore qui est purifiée par chromatographie (Hexanes/AcOEt, 8/2 à 1/1) pour donner 359 mg d'un solide incolore de type verre amorphe.

Rendement 40 % (2 étapes)

R_f = 0.48 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1) ;

IR (pastille NaCl) 2979, 2932, 1734, 1684, 1654, 1368 cm⁻¹ ;

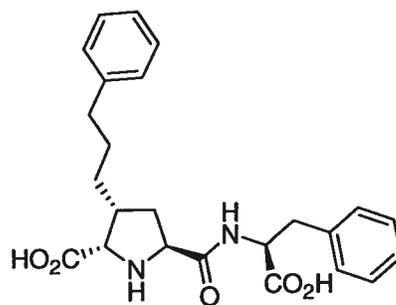
RMN : ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 2.15 (t, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.33-7.16 (m, 5H), 4.59 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 2.57 (m, 2H), 2.33 (m, 1H), 2.00-1.81 (m, 3H), 1.59 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.31 (s, 9H) ;

¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.6, 172.0, 155.9, 143.4, 138.3, 130.5, 129.6, 127.9, 126.9, 83.0, 82.1, 65.2, 61.9, 55.7, 41.7, 40.6, 36.9, 35.2, 31.3, 30.6, 28.5, 28.3 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, *m/z*, %) : 581.1 (16), 425.2 (30), 469.1 (15) ;

(HR) calc. pour C₃₃H₄₅N₂O₇ 381.322677, obt. 581.324834.

(2*S*)-acide carboxylique-(3*R*)-(5*S*)-(1-carboxy-(2*S*)-phényl-éthylcarbamoyl)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.6)



C₂₄H₂₈N₂O₅
Mol. Wt.: 424.49

Procédure H (Chapitre 10) pour l'hydrolyse avec HCl gas ;

Quantité 27 mg ;

Cristaux blancs, obtenus après purification par LCMS préparative ;

Rendement 82 %, séparation des diastéréoisomères, ratio 5.1:1 ;

R_f = 0.21 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1) ;

$[\alpha]_D = -23.9$ (c 1, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 2931, 1676, 1418 cm^{-1} ;

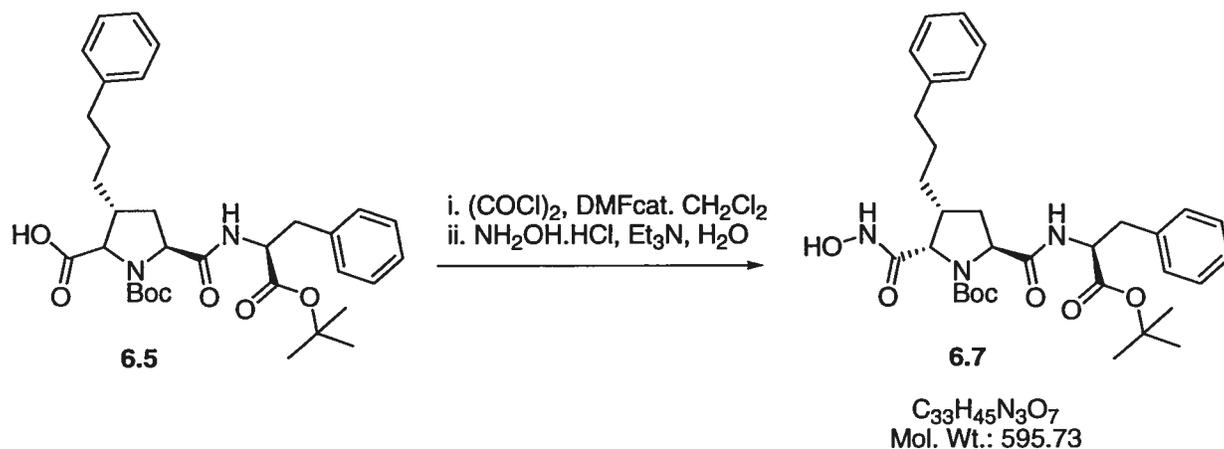
RMN : ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 7.26 (m, 7H), 7.14 (m, 3H), 4.55 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 4.47 (m, 2H), 3.22 (dd, 1H, $J = 4.7, 14.4$ Hz), 3.03 (dd, 1H, $J = 6.2, 14.4$ Hz), 2.60 (m, 2H), 2.23 (m, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.66 (m, 2H), 1.52 (m, 2H) ;

^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) 171.6, 167.4, 143.3, 137.6, 130.8, 129.4, 128.0, 126.8, 63.6, 59.3, 57.4, 39.9, 37.1, 36.8, 32.7, 31.1, 30.8 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 407 (19).

12. 2. Données expérimentales des analogues possédant un acide hydroxamique comme groupe chélatant

(5*S*)-(1-*tert*-Butoxycarbonyl-(2*S*)-phényl-éthylcarbamoyl)-1-carboxylate de *tert*-butyl-(2*S*)-hydroxycarbamoyl-(3*R*)-(3-phényl-propyle)-pyrrolidine (6.7)



A l'acide (100 mg, 0.17 mmol) solubilisé dans CH_2Cl_2 (2 mL) est ajouté goutte à goutte $(\text{ClCO})_2$ (31 μL , 2.05 eq) à 0°C , puis une goutte de DMF. Un dégagement gazeux de dioxyde carbone est observé. Le mélange est laissé sous agitation à cette température. Pendant ce temps là, $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (48 mg, 4 eq) et Et_3N (0.14 mL, 6 eq) sont solubilisés

dans un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ 5/1 (0.6 mL) et ajoutés par canule au premier mélange. Le tout est alors agité pendant 24 h dans la chambre froide (4°C). Le pH est ajusté à 4 avec HCl 1N et la phase organique est extraite avec CH_2Cl_2 , séchée sur Na_2SO_4 , concentré pour donner une huile. Cette dernière est chromatographiée (Hexanes/ AcOEt , 2/3) pour donner **6.7** (20 mg) sous forme d'un solide vitreux amorphe.

Rendement 20 % ;

$R_f = 0.44$ (Hexanes/ AcOEt , 3/7) :

$[\alpha]_D = +4$ (C 1.05, CHCl_3) ;

IR (pastille NaCl) 3306, 2926, 1677 cm^{-1} ;

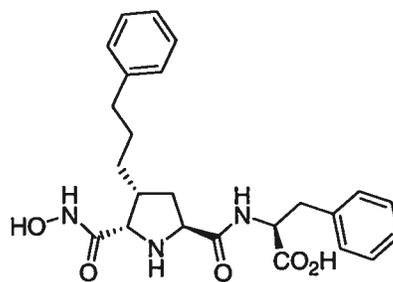
RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm), 7.30-7.13 (m, 10H), 4.77-4.68 (2dd, 1H, $J = 6.8, 14.2$ Hz), 4.47-4.33 (2d, 1H, $J = 8.4, 9.2$ Hz), 4.15 (2d, 1H, $J = 6.9, 8.6$ Hz), 3.12-3.08 (2m, 2H), 2.54 (dd, 2H), 2.57 (dd, 1H, $J = 7.0, 14.3$ Hz), 2.32 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.57 (m, 2H), 1.39 (s, 12H), 1.34 (s, 6H), 1.22 (m, 2H) ;

^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ (ppm) 171.9, 170.7, 170.4, 154.4, 142.0, 136.1, 132.1, 129.6, 129.2, 128.6, 128.3, 125.8, 82.4, 82.2, 77.2, 61.2, 53.8, 38.3, 37.9, 35.9, 31.9, 29.7, 28.1, 22.7 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 596 (45) (M+1), 563 (100) ;

(HR) calc. pour $\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_7$ 596, 333576, obt. 596.332206.

Acide 2-[(5S)-hydroxycarbamoyl-(4R)-(3-phényl-propyl)-pyrrolidine-(2S)-carbonyl]-amino)-(3S)-phénylpropionique (6.8)



6.8

$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5$
Mol. Wt.: 439.50

Procédure E (Chapitre 10) pour l'hydrolyse avec HCl gaz ;

Quantité 17 mg ;

Rendement 50 % ;

$[\alpha]_D = -15.8$ (C 0.92, MeOH) ;

IR (pastille NaCl) 3432 (bande large), 2928, 1673 cm^{-1} ;

RMN : ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.30 (m, 6H), 7.19 (m, 4H), 4.72 (dd, 1H, $J = 4.5, 9.6$ Hz), 4.43 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz), 3.75 (m, 1H), 3.22 (dd, 1H, $J = 7.4, 14.6$ Hz), 3.01 (m, 1H), 2.62 (m, 2H), 2.24 (m, 2H), 1.71 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.32 (m, 2H) ;

^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ (ppm) 174.2, 170.0, 169.9, 143.2, 138.5, 130.3, 130.2, 129.7, 129.5, 128.1, 127.1, 65.1, 60.2, 55.7, 41.9, 38.1, 36.7, 35.6, 30.6, 29.5 ;

SM : (BR) (FAB, NBA, m/z , %) : 440 (M+1), 425 (100).

Références

- ¹ Leung, D.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. "Protease Inhibitors: Current Status and Future Prospects." *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 305-341.
- ² Babine, R. E.; Bender, S. L. "Molecular Recognition of Protein-Ligand Complexes: Applications to Drug Design." *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1359-1472.
- ³ Fisher, S. J.; Damsky, C. H. "Human Cytotrophoblast Invasion." *Seminars Cell Biol.* **1993**, *4*, 183-188.
- ⁴ Saarialho-Kere, U.K.; Pentland, A. P.; Birkedal-Hansen, H.; Parks, W. C.; Welgus, H. G. "Distinct Populations of Basal Keratinocytes Express Stromelysin-1 and Stromelysin-2 in Chronic Wounds." *J. Clin. Invest.* **1994**, *94*, 79-88.
- ⁵ Whittaker, M.; Floyd, C. D.; Brown, P.; Gearing, A. J. H. "Design and Application of Matrix Metalloproteases Inhibitors." *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2735-2776.
- ⁶ Whittaker, M.; Ayscough, A. "Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors – Current Status and Future Challenge." *Celltransmissions* **2001**, *17*, 3-14.
- ⁷ Cawston, T. E. "Metalloproteinase Inhibitors and the Prevention of Connective Tissue Breakdown." *Pharmacol. Ther.* **1996**, *70*, 163-182.
- ⁸ Van der Rest, M.; Garrone, R. "Collagen Family of Proteins." *FASEB. J.* **1991**, *5*, 2814-2823.

-
- ⁹ Postlethwaite, A. E.; Kang, A. H. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. **1992**, Eds J. I. Gallin, I. M. Goldstein, R. Snyderman, New York: Raven Press, 747-773.
- ¹⁰ Lovejoy, B.; Hassell, A. M.; Luther, M. A.; Weigl, D.; Jordan, S. R. "Crystal Structure of Recombinant 19-kDa Human Fibroblast Collagenase Complexed to Itself." *Biochemistry* **1994**, *33*, 8207-8217.
- ¹¹ (a) Kleiner, Jnr, D. E.; Stetler-Stevenson, W. G. "Structural Biochemistry and Activation of Matrix Metalloproteases." *Curr. Opin. Cell Biol.* **1993**, *5*, 891-897.
- (b) Springman, E.; Angleton, E. L.; Birkedal-Hansen, H.; Van Wart, H. E. "Multiple Mode of Activation of Latent Human Fibroblast Collagenase: Evidence for the Role of a Cys-73 Active-Site Zinc Complex in Latency and a "Cysteine Switch" Mechanism for Activation." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *87*, 364-368.
- ¹² (a) Overall, C. M. "Regulation of Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases Expression." *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1987**, *732*, 51-64.
- (b) Ray, J. M.; Stetler-Stevenson, W. G. "The Role of Matrix Metalloprotease and their Inhibitions in Tumor Invasion, Metastasis and Angiogenesis." *Eur. Respir. J.* **1994**, *7*, 2062-2072.
- ¹³ (a) Walakovits, L. A.; Moore, V. L.; Bhardwaj, N.; Gallick, G. S.; Lark, M. W. "Detection of Stromelysin and Collagenase in Synovial Fluid from Patients with Rheumatoid Arthritis and Posttraumatic Knee Injury." *Arthritis Rheum.* **1992**, *35*, 35-42.
- (b) Dean, D. D.; Pelletier-Martel, J.; Pelletier, J. P.; Howell, D. S.; Woessner, J. F. Jnr, "Evidence for Metalloproteinase and Metalloproteinase Inhibitor Unbalance in Human Osteoarthritic Cartilage." *J. Clin. Invest.* **1989**, *84*, 678-685.

-
- ¹⁴ Hill, P. A.; Docherty, A. J.; Bottomley, K. M.; O'Connell, J. P.; Morphy, J. R.; Reynolds, J. J.; Meikle, M. C. "Inhibition of Bone Resorption in vitro by Selective Inhibitors of Gelatinase and Collagenase." *Biochem. J.* **1995**, *308*, 167-175.
- ¹⁵ Armstrong, P. W.; Moe, G. W.; Howard, R. J.; Grima, E. A.; Cruz, T. F. "Structural Remodeling in Heart Failure: Gelatinase Induction." *Canadian J. Cardiol.* **1994**, *10*, 214-220.
- ¹⁶ (a) Kohn, E. C. "Invasion and Metastasis: Biology and Clinical Potential." *Pharmac. Ther.* **1991**, *52*, 235-244.
- (b) Liotta, L. A. "Cancer Cell Invasion and Metastasis." *Scientific American* **1992**, *266*, 54-59; 62-63.
- (c) Westermarck, J.; Kähäri, V.-M. "Regulation of Matrix Metalloproteinase Expression in Tumor Invasion." *FASEB J.* **1999**, *13*, 781-792.
- ¹⁷ Coussens, L. M.; Werb, Z. "Matrix Metalloproteinases and the Development of Cancer." *Chemistry & Biology* **1996**, *3*, 895-904.
- ¹⁸ Brown, P. D.; Giavazzi, R. "Matrix Metalloproteinase Inhibition: a Review of Anti-Tumor Activity." *Ann. Oncol.* **1995**, *6*, 967-974.
- ¹⁹ (a) Firestein, G. S. "Mechanisms of Tissue Destruction and Cellular Activation in Rheumatoid Arthritis." *Curr. Opin. Rheumatol.* **1992**, *4*, 348-354.
- (b) Gijbels, K.; Masure, S.; Carton, H.; Opdenakker, G. "Gelatinase in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Multiple Sclerosis and other Inflammatory Neurological Disorders." *J. Neuroimmunol.* **1992**, *41*, 29-34.
- (c) Liotta, L. A.; Stetler-Stevenson W. G. "Metalloproteinases and Cancer Invasion." *Sem. Cancer Biol.* **1990**, *1*, 99-106.

-
- ²⁰ Beckett, R. P.; Davidson, A. H.; Drummond, A. H.; Huxley, P.; Whittaker, M. "Recent Advances in Matrix Metalloproteinase Inhibitor Research." *Drug Discovery Today* **1996**, *1*, 16-26.
- ²¹ Schechter, I.; Berger, A. "On the Size of the Active Site in Proteases. I. Papain." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, *27*, 157-162.
- ²² Castelhana, A. L.; Billedeau, R.; Dewdney, N.; Donnelly, S.; Horne, S.; Kurz, L. J.; Liak, T. J.; Martin, R.; Uppington, R.; Yuan, Z.; Krantz, A. "Novel Indolactam-Based Inhibitors of Matrix Metalloproteinases." *Bioorg. Med. Chem. Letters* **1995**, *5*, 1415-1420.
- ²³ Brown, B.; Whittaker, M. "Matrix Metalloproteinases Inhibitors; Design, Development and Early Clinical Trials." *Biotech Médecine* **1998**, *9*, Le point sur.
- ²⁴ Champion, C.; Davidson, A. H.; Dickens, J. P.; Crimmin, M. J. "Preparation of *N*-[4-(*N*-Hydroxyamino) Succinyl]Amino Acid Amides as Collagenase Inhibitors." *PCT patent application* WO9005719, **1990**, AN 1990:612677; *Chem. Abstr.* **1990**, *113*, 212677c.
- ²⁵ Galardin, R. E. "Antiinflammatory Protease Inhibitor." *Drugs of the Future* **1993**, *18*, 1109-1111.
- ²⁶ Porter, J. R. "Potent and Selective Inhibitors of Gelatinase-a1. Hydroxamic Acid Derivatives." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2741-2746.
- ²⁷ (a) Baxter, A. D.; Bird, J. B.; Bannister, R.; Bhogal, R.; Manallack, D. T.; Watson, R. W.; Owen, D. A.; Montana, J.; Henshilwood, J.; Jackson, R. C. "D1927 and D2163 : Novel Mercaptoamide Inhibitors of Matrix Metalloproteinases." *Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy* **2001**, 193-221.
- (b) Mise à jour des informations grâce au site Internet <http://www.celltechgroup.com>.

-
- ²⁸ (a) Lovejoy, B.; Cleasby, A.; Hassell, A. M.; Longley, K.; Luther, M. A.; Weigl, D.; McGeehan, G.; McElroy, A. B.; Drewry, D.; Lambert, M. H. "Structure of the Catalytic Domain of Fibroblast Collagenase Complexed with an Inhibitor." *Science* **1994**, *263*, 375-377.
- (b) Stams, T.; Spurlino, J. C.; Smith, D. L.; Wahl, R. C.; Qoronfleh, M. W.; Banks, T. M.; Rubin, M. "Structure of Human Neutrophil Collagenase Reveals Large S1' Specificity Pocket." *Nature Struct. Biol.* **1994**, *1*, 119-123.
- (c) Bode, W.; Reinemer, P.; Huber, R.; Kleine, T.; Schnierer, S.; Tschesche, H. "The X-Ray Crystal Structure of the Catalytic Domain of Human Neutrophil Collagenase Inhibited by a Substrate Analogue Reveals the Essentials for Catalysis and Specificity." *EMBO J.* **1994**, *13*, 1263-1269.
- (d) Spurlino, J. C.; Smallwood, A. M.; Carlton, D. D.; Banks, T. M.; Vavra, K. J.; Johnson, J. S.; Cook, E. R.; Falvo, J.; Wahl, R. C.; Pulvino, T. A. "+1.5 Å Structure of Mature Truncated Human Fibroblast Collagenase." *Proteins : Struct. Funct. Genet.* **1994**, *19*, 98-109.
- (e) Grams, F.; Reinemer, P.; Powers, J. C.; Kleine, T.; Pieper, M.; Tschesche, M.; Hubert, R.; Bode, W. "X-Ray Structures of Human Neutrophil Collagenase Complexed with Peptide Hydroxamate and Peptide Thiol Inhibitors. Implications for Substrate Binding and Rational Drug Design." *Eur. J. Biochem.* **1995**, *228*, 830-841.
- (f) Grams, F.; Crimmins, M.; Hinnes, L.; Huxley, P.; Pieper, M.; Tschesche, M.; Bode, W. "Structure Determination and Analysis of Human Neutrophil Collagenase Complexed with a Hydroxamate Inhibitor." *Biochemistry* **1995**, *34*, 14012-14020.
- (g) Browner, M. F.; Smith, W. W.; Castelhana, A. L. "Matrilysin-Inhibitor Complexes: Common Themes Among Metalloproteinases." *Biochemistry* **1995**, *34*, 6602-6610.
- (h) Becker, J. W.; Marcy, A. L.; Robosz, L. L.; Axel, M. G.; Burbaum, J. J.; Fitzgerald, P. M.; Cameron, P. M.; Esser, C. K.; Hagmann, W. K.; Hermes, J. D. "Stromelysin-1: Three-Dimensional Structure of the Inhibited Catalytic Domain and the C-Truncated Proenzyme." *Protein science* **1995**, *4*, 1966-1976.

(i) Gooley, P. R.; O'Connell, J. F.; Marcy, A. L.; Cuca, G. C.; Axel, M. G.; Caldwell, C. G.; Hagmann, W. K.; Becker, J. W. "Comparison of the Structure of Human Recombinant Short Form Stromelysin by Multidimensional Heteronuclear NMR and X-Ray Crystallography." *J. Biomolecular NMR* **1996**, *7*, 8-28.

(j) Dhanaraj, V.; Ye, Q.-Z.; Johnson, L. L.; Hupe, D. J.; Ortwine, D. F.; Dunbar, J. B., Jr.; Rubin, J. R.; Pavlovsky, A.; Humblet, C.; Blundell, T. L. "X-Ray Structure of a Hydroxamate Inhibitor Complex of Stromelysin Catalytic Domain and its Comparison with Members of the Zinc Metalloproteinase Superfamily." *Structure* **1996**, *4*, 375-386.

²⁹ Wahl, R. C.; Pulvino, T. A.; Mathiowetz, A. M.; Ghose, A. K.; Johnson, J. S.; Delecki, D.; Cook, E. R.; Gainor, J. A.; Gowravaram, M. R.; Tomczuk, B. E. "Hydroxamate Inhibitors of Human Gelatinase B (92 kDa)." *Bioorg. Med. Chem. Lett* **1995**, *5*, 349-352.

³⁰ Gowravaram, M. R.; Johnson, J. S.; Delecki, D.; Cook, E. R.; Tomczuk, B. E.; Ghose, A. K.; Mathiowetz, A. M.; Spurlino, J. C.; Rubin, B. "Inhibition of Matrix Metalloproteinases by Hydroxamates Containing Heteroatom-Based Modifications of the P1' Group." *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2570-2581.

³¹ Castelhana, A. L. Bender, S. L.; Deal, J. G.; Horne, S. L.; Liak, T. J.; Yuan, Z. "Preparation of Peptides as Matrix Metalloproteinase Inhibitors." *PCT patent application* WO9616027, **1996**, AN 1996:476742; *Chem. Abstr.* **1996**, *125*, 143320.

³² Mise à jour d'après le site Internet <http://www.rochesa.com>.

³³ Millar, A.; Brown, P. "360 Patient Meta-Analysis of Studies of Marimastat, a Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitor." *Annal. Oncol.* **1996**, *7*, 123.

-
- 34 Morphy, J. R.; Millican, T. A.; Porter, J. R. "Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Current Status." *Curr. Med. Chem.* **1995**, *2*, 743-762.
- 35 Davidson, A. H.; Drummond, A. H.; Galloway, W. A.; Whittaker, M. "The Inhibition of Matrix Metalloproteinase Enzymes." *Chem. Ind.* **1997**, 258-261.
- 36 MacPherson, L. J.; Bayburt, E. K.; Capparelli, M. P.; Carroll, B. J.; Goldstein, R.; Justice, M. R.; Zhu, L.; Hu, S.; Melton, R. A.; Fryer, L.; Goldberg, R. L.; Doughty, J. R.; Spirito, S.; Blancuzzi, V.; Wilson, D.; O'Byrne, E. M.; Ganu, V.; Parker, D. T. "Discovery of CGS 27023A, a Non-Peptidic, Potent, and Orally Active Stromelysin Inhibitor That Blocks Cartilage Degradation in Rabbits." *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2525 - 2532.
- 37 Ventura, O. N.; Rama, J. B.; Turi, L.; Dannenberg, J. J. "Acidity of Hydroxamic Acids: An *ab Initio* and Semiempirical Study." *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5754-5761.
- 38 (a) Muri, E. M. F.; Nieto, M. J.; Sindelar, R. D.; Williamson, J. S. "Hydroxamic Acids as Pharmacological Agents." *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1631-1653.
- (b) Wojtowicz-Praga, S. M.; Dickson, R. B.; Hawkins, M. J. "Matrix Metalloproteinase Inhibitors." *Invest. New Drugs* **1997**, *15*, 61-75.
- (c) White, A. D.; Bocan, T. M. A.; Boxer, P. A.; Peterson, J. T.; Schrier, D. "Emerging Therapeutic Advances for the Development of Second Generation Matrix Metalloproteinase Inhibitors." *Curr. Pharm. Design* **1997**, *3*, 45-58.
- (d) Powell, W. C.; Matrisian, L. M. "Complex Roles of Matrix Metalloproteinases in Tumor Progression." *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1996**, *213*, 1-22.
- (e) Schwartz, M. A.; Van Wart, H. E. "Synthetic Inhibitors of Bacterial and Mammalian Interstitial Collagenases." *Progress in Med. Chem* **1992**, *29*, 271-334.
- (f) Hagmann, W. K.; Lark, M. W.; Becker, J. W. "Inhibition of Matrix Metalloproteinases." *Annual Reports in Med. Chem.* **1996**, chapt. 24.

-
- ³⁹ Pour un aperçu des différentes classes d'inhibiteurs de MPM, voir la mini-revue De, B.; Natchus, M. G.; Cheng, M.; Pikul, S.; Almstead, N. G.; Taiwo, Y. O.; Schnider, C. E.; Chen, L.; Barnett, B.; Gu, F.; Dowty, M. "The Next Generation of MMP Inhibitors. Design and Synthesis." *Annals of the New York Academy of Sciences* **1999**, 878, 40-91.
- ⁴⁰ Holmes, M. A.; Matthews, B. W. "Binding of Hydroxamic Acid Inhibitors to Crystalline Thermolysin Suggests a Pentacoordinate Zinc Intermediate in Catalysis." *Biochemistry* **1981**, 20, 6912-6920.
- ⁴¹ (a) Bracher, B. H. "The Crystal Structure of Acetohydroxamic Acid Hemihydrate." *Acta Cryst.* **1970**, 1705-1710.
(b) Kjøller Larsen, I.; Jersley, B. "The Crystal and Molecular Structure of Hydroxyurea." *Acta Chem. Scan.* **1966**, 983-991.
- ⁴² (a) Lossen, H *Liebigs Ann. Chem.* **1869**, 150, 314
(b) Lossen, W *Liebigs Ann. Chem.* **1872**, 161, 347; **1877**, 186, 1; **1889**, 252, 170; **1894**, 281, 169
- ⁴³ Yale, H. L. "The Hydroxamic Acids." *Chem. Rev.* **1943**, 33, 209-256.
- ⁴⁴ (a) Johnstone, S. "Development of New Methodologies for Synthesis of Enzyme Inhibitors and Natural Products." Thèse de Doctorat, **2003**, Université de Montréal.
(b) Hanessian, S., Johnstone, S. "Synthesis of Hydroxamic Esters via Alkoxyaminocarbonylation of β -Dicarbonyl Compounds." *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5896-5903.
- ⁴⁵ Yang, K.; Lou, B. "Molecular Diversity of Hydroxamic Acid. Part I. Solution- and Solid-Phase Synthesis." *Mini-Review Med. Chem.* **2003**, 3, 349-360.

-
- ⁴⁶ Ngu, K.; Patel, D. "A New and Efficient Solid Phase Synthesis of Hydroxamic Acids." *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7088-7089.
- ⁴⁷ Leggio, A.; Liguori, A.; Napoli, A.; Siciliano, C.; Sindona, G. "Site Selectivity in the Synthesis of *O*-Methylated Hydroxamic Acids with Diazomethane." *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2246-2250.
- ⁴⁸ Bauer, L.; Exner, O. "The Chemistry of Hydroxamic Acids." *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, *13*, 376-384.
- ⁴⁹ Hurd, C. D.; Bauer, L. "A Novel Rearrangement of Hydroxamic Acids Using Sulfonyl Chlorides." *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 2791-2792.
- ⁵⁰ Taira, J.; Chika, M.; Aniya, Y. "Dimerumic Acid as an Antioxidant from the Mold, *Monascus anka*: the Inhibition Mechanisms against Lipid Peroxidation and Hemeprotein-Mediated Oxidation." *Biochem Pharmacol.* **2002**, *63*, 1019-1026.
- ⁵¹ Telegdi, J.; Shaban, A.; Kálmán, E. "EQCM Study of Copper and Iron Corrosion Inhibition in Presence of Organic Inhibitors and Biocides." *Electrochim. Acta* **2000**, *45*, 3639-3647.
- ⁵² Szymanowski, J. "Removal of Toxic Elements from Copper Electrolyte by Solvent Extraction." *Mineral Proc. Extractive Metallurgy Rev.* **1998**, *18*, 389.
- ⁵³ Zhang, Y.; Li, D.; Houtman, J. C.; Witiak, D. T.; Seltzer, J.; Bertics, P. J.; Lauhon, C. T. "Design, Combinatorial Chemical Synthesis and *in vitro* Characterization of Novel Urea Based Gelatinase Inhibitors." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2823-2826.

-
- ⁵⁴ Tsukamoto, K.; Itakura, H.; Sato, K.; Fukuyama, K.; Miura, S.; Takahashi, S.; Ikesawa, H.; Hosoya, T. "Binding of Salicylhydroxamic Acid and Several Aromatic Donor Molecules to *Arthromyces ramosus* Peroxidase, Investigated by X-Ray Crystallography, Optical Difference Spectroscopy, NMR Relaxation, Molecular Dynamics, and Kinetics." *Biochemistry* **1999**, *38*, 12558-12568.
- ⁵⁵ Steward, W. P.; Thomas, A. L. "Marimastat: the Clinical Development of a Matrix Metalloproteinase Inhibitor." *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 2913.
- ⁵⁶ Jeng, A. Y.; De Lombaert, S. "Endothelin Converting Enzyme Inhibitors." *Curr. Pharm. Des.* **1997**, *3*, 597-614.
- ⁵⁷ Szekeres, T.; Fritzer-Szekeres, M.; Elford, H. L. "The Enzyme Ribonucleotide Reductase: Target for Antitumor and Anti-HIV Therapy." *Critical Rev. Clin. Lab. Sci.* **1997**, *34*, 503-528.
- ⁵⁸ Parvathy, S.; Hussain, I.; Karran, E. H.; Turner, A. J.; Hooper, N. M. "Alzheimer's Amyloid Precursor Protein α -Secretase Is Inhibited by Hydroxamic Acid-Based Zinc Metalloprotease Inhibitors: Similarities to the Angiotensin Converting Enzyme Secretase." *Biochemistry* **1998**, *37*, 1680-1685.
- ⁵⁹ Valapour, M.; Gou, J.; Schroeder, J. T.; Keen, J.; Cianferoni, A.; Casolaro, V.; Georas, S. N. "Histone Deacetylation Inhibits IL4 Gene Expression in T Cells." *J. Allergy Clin. Immunol.* **2002**, *109*, 238-245.
- ⁶⁰ Miller, M. J. "Syntheses and Therapeutic Potential of Hydroxamic Acid Based Siderophores and Analogs." *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1563.

-
- ⁶¹ Vippagunta, S. R.; Dorn, A.; Bubendorf, A.; Ridley, R. G.; Vennerstrom, J. L. "Deferoxamine: Stimulation of Hematin Polymerization and Antagonism of its Inhibition by Chloroquine." *Biochem. Pharmacol.* **1999**, *58*, 817-824.
- ⁶² Hidy, P. H.; Hodge, E. B.; Young, V. V.; Harned, R. L.; Brewer, G. A.; Phillips, W. F.; Runge, W. F.; Stavely, H. E.; Pohland, A.; Boaz, H.; Sullivan, H. R. "Structure and Reactions of Cycloserine." *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2345-2346.
- ⁶³ Dutcher, J. D. "Aspergillilic Acid: an Antibiotic Substance Produced by *Aspergillus Flavus*. I. General Properties; Formation of Desoxyaspergillilic Acid; Structural Conclusions." *J. Biol. Chem.* **1947**, *171*, 321-339.
- ⁶⁴ Umezawa, H.; Aoyagi, T.; Tanaka, T.; Suda, H.; Okuyama, A.; Naganawa, H.; Hamada, M.; Takeuchi, T. "Production of Actinonin, an Inhibitor of Aminopeptidase M, by Actinomycetes." *J. Antibiotics* **1985**, *38*, 1629-1630.
- ⁶⁵ Lelievre, Y. Bouboutou R, Boiziau J, Cartwright T. "Inhibition of Synovial Collagenase by Actinonin. Study of Structure/Activity Relationship." *Path. Biol.* **1989**, *37*, 43-46.
- ⁶⁶ (a) Hanessian, S.; Bouzbouz, S.; Boudon, A.; Tucker, G. C.; Peyroulan, D. "Picking the S₁, S₁' and S₂' Pockets of Matrix Metalloproteinases. A Niche for potent Acyclic Sulfonamide Inhibitors." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1691-1696.
- (b) Hanessian, S.; Moitessier, N.; Wilmouth, S. "Tetrahydrofuran as a Scaffold for Peptidomimetics. Application to the Design and Synthesis of Conformationally Constrained Metalloproteinase Inhibitors." *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 7643-7660.

⁶⁷ (a) Boobbyer, D. N. A.; Goodford, P. J.; McWhinnie, P. M.; Wade, R. C. "New Hydrogen-Bond Potentials for Use in Determining Energetically Favorable Binding Sites in Molecules of Known Structure." *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1083-1094.

(b) Wade, R. C.; Clark, K. J.; Goodford, P. J. "Further Development of Hydrogen Bond Functions for Use in Determining Energetically Favorable Binding Sites on Molecules of Known Structure. 1. Ligand Probe Groups with the Ability to Form Two Hydrogen Bonds." *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 140-147.

(c) Pour un autre exemple d'utilisation concluant de GRID pour des complexes inhibiteur/MPM, se rapporter à Matter, H.; Schwab, W. "Affinity and Selectivity of Matrix Metalloproteinase Inhibitors: A Chemometrical Study from the Perspective of Ligands and Proteins." *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4506-4523.

(d) Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. "Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function." *J. Comput. Chem.* **1998**, *19*, 1639-1662.

(e) GRID version 17, Molecular Discovery Inc., Oxford, UK. Goodford, P. J. "A Computational Procedure for Determining Energetically Favorable Binding Sites on Biologically Important Macromolecules." *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 849-857.

⁶⁸ Chen, L.; Rydel, T. J.; Gu, F.; Dunaway, M.; Pikul, S.; McDow Dunham, K.; Barnett, B. L. "Crystal Structure of the Stromelysin Catalytic Domain at 2.0 Å Resolution: Inhibitor-Induced Conformational Change." *J. Mol. Biol.* **1999**, *293*, 545-557.

⁶⁹ Hanessian, S.; Moitessier, N.; Therrien, E. "Design and Synthesis of MMP Inhibitors Guided by Molecular Modeling. Overview of the Available Structural Data, Comparative Docking Study and Design of Potentially Selective Inhibitors." *J. Comput.-Aided Mol. Design* **2001**, *15*, 873-881.

⁷⁰ Rockwell, A.; Melden, M.; Copeland, E. A.; Hardman, K.; Decicco, C. M.; DeGrado, W. F. "Complementarity of Combinatorial Chemistry and Structure-Based

Ligand Design – Application to the Discovery of Novel Inhibitors of Matrix Metalloproteinases.” *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10337-10338.

⁷¹ McPherson, L. J.; Bayburt, E. K.; Capparelli, M. P.; Carroll, B. J.; Goldstein, R.; Justice, M. R.; Zhu, L.; Hu, S.; Melton, R. A.; Fryer, L.; Goldberg, R. L.; Doughty, J. R.; Spirito, S.; Blancuzzi, V.; Wilson, D.; O'Byrne, E. M.; Ganu, V.; Parker, D. T. “Discovery of CGS 27023A, a Non-Peptidic, Potent, and Orally Active Stromelysin Inhibitor That Blocks Cartilage Degradation in Rabbits.” *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2525-2532.

⁷² (a) Tamura, Y.; Watanabe, F.; Nakatani, T.; Yasui, K.; Fuji, M.; Komurasaki, T.; Tsuzuki, H.; Maekawa, R.; Yoshioka, T.; Kawada, K.; Sugita, K.; Ohtani, M. “Highly Selective and Orally Active Inhibitors of Type IV Collagenase (MMP-9 and MMP-2) -*N*-Sulfonylamino Acid Derivatives.” *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 640-649.

(b) Sandler, S.; Karo, W. “Organic Group Preparations.” Wasserman, H. H. Ed.; Academic Press: San Diego, **1989**, *3*, 482-522.

(c) Fieser, L. F.; Fieser, M. “Reagents for Organic Synthesis.” J. Wiley & Sons, Inc.: New York, **1967**, Vol 1, 478-479.

(d) Hauser, C. R.; Renfrow, W. B., Jr. “Benzohydroxamic Acid.” *Org. Synth. Coll. Vol.* **1943**, *2*, 67-68.

⁷³ Nakonieczna, L.; Milewska, M.; Kolasa, T., Chimiak, A. “One-Pot Synthesis of *N*-Substituted Hydroxamic Acids Using *N,N*-Dimethylchloromethaneiminium Chloride.” *Synthesis* **1985**, 929-931.

⁷⁴ Jencks, W. P. “Catalysis in Chemistry and Enzymology.” McGraw-Hill Series in Advanced Chemistry Publishers, New York **1969**.

⁷⁵ (a) Böhm, H.-J.; Klebe, G. "What Can We Learn from Molecular Recognition in Protein-Ligand Complexes for the Design of New Drugs?" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2588-2614.

(b) Kiyama, R.; Tamura, Y.; Watanabe, F.; Tsuzuki, H.; Ohtani, M.; Yodo, M. "Homology Modeling of Gelatinase Catalytic Domains and Docking Simulations of Novel Sulfonamide Inhibitors." *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1723-1738.

(c) Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S, Jr.; Weiner P. K. "A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins." *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 765-784.

⁷⁶ Hanessian, S.; Moitessier, N.; Gauchet, C.; Viau, M. "N-Aryl Sulfonyl Homocysteine Hydroxamate Inhibitors of Matrix Metalloproteinases: Further Probing of the S₁, S₁', and S₂' Pockets." *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3066-3073.

⁷⁷ Hanessian, S.; Moitessier, N.; Gauchet, C.; Hickman, J.; Tucker, G.; Caignard, D-H.; Renard, P. "Preparation of α -Aminohydroxamic Acids as MMP Inhibitors." Fr. Demande **2002**, AN 2002:796617; *Chem. Abstr.* **2002**, *137*, 278978.

⁷⁸ (a) série azirine, Hanessian, S.; Moitessier, N.; Cantin, L. -D. "Design and Synthesis of MMP Inhibitors Using N-Arylsulfonylaziridine Hydroxamic Acids as a Constrained Scaffolds." *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6885-6900.

(b) série pyrrolidine, Hanessian, S.; MacKay, D. B.; Moitessier, N. "Design and Synthesis of Matrix Metalloproteinase Inhibitors Guided by Molecular Modeling. Picking the S₁ Pocket Using Conformationally Constrained inhibitors." *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3074-3082.

⁷⁹ Williams, R. M. "Synthesis of Optically Active Amino Acids." Pergamon Press: Oxford, **1989**.

-
- ⁸⁰ Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. "Kinetic Resolution of Unnatural and Rarely Occurring Amino Acids: Enantioselective Hydrolysis of *N*-Acyl Amino Acids Catalyzed by Acylase I." *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.
- ⁸¹ (a) Schöllkopf, U. "Asymmetric Syntheses of Amino Acids via Metalated Bis-Lactim Ethers of 2,5-Diketopiperazines." *Pure Appl. Chem.* **1983**, *55*, 1799-1806.
- (b) Schöllkopf, U.; Busse, U.; Lonsky, R.; Hinrichs, R. "Asymmetric Syntheses via Heterocyclic Intermediates. XXXII. Asymmetric Synthesis of Various Non-Proteinogenic Amino Acid Methyl Esters (Functionalized in the Carbon Chain) and Amino Acids by the Bislactim Ether Method." *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, *12*, 2150-2163.
- (c) Schöllkopf, U.; Hinrichs, R.; Lonsky, R. "Asymmetric Synthesis via Heterocyclic Intermediates. 32. Asymmetric Synthesis of α -amino Acids by the Bislactam Ether Method." *Angewandte Chemie* **1987**, *99*, 137-138.
- ⁸² (a) Evans, D. A.; Ennis, M. D.; Mathre D. J. "Asymmetric Alkylation Reactions of Chiral Imide Enolates. A Practical Approach to the Enantioselective Synthesis of α -Substituted Carboxylic Acid Derivatives." *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1737-1739.
- (b) synthèse de l'auxilaire chiral : Evans, D. A.; Mathre, D. J.; Scott, W. L. "Asymmetric Synthesis of the Enkephalinase Inhibitor Thiorphan." *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1830-1835.
- ⁸³ (a) Fitzi, R.; Seebach, D. "Enantiomer Separation of (*R*, *S*)-2-(*tert*-Butyl)-3-Methyl-4-Imidazolidinone, a Chiral Building Block for Amino-Acids Synthesis." *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 345-346.
- (b) Juaristi, E.; Quintana, D.; Lamatsch, B.; Seebach, D. "Asymmetric Synthesis of β -amino Acids. 1. Highly Diastereoselective Addition of a Racemic β -Alanine Enolate Derivative to Electrophiles." *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2553-2557.

⁸⁴ (a) Williams R. M. Sinclair, P. J.; Zhai, D.; Chen, D. "Practical Asymmetric Syntheses of α -Amino Acids Through Carbon-Carbon Bond Constructions on Electrophilic Glycine Templates." *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1547-1557.

(b) Williams, R. M. Im, M. N. "Asymmetric Synthesis of α -Amino Acids. Comparison of Enolate Versus Cation Functionalization of *N*-BOC-5,6-Diphenyl-2,3,5,6-tetrahydro-4H-1,4-oxazin-2-ones." *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6075-6078.

(c) Williams, R. M.; Hendrix, J. A. "Asymmetric Synthesis of Arylglycines." *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3723-3728.

⁸⁵ (a) Belokon, Yu. N.; Popkov, A. N.; Chernoglazova, N. I.; Saporovskaya, M. B.; Bakhmutov, V. I.; Belikov, V. M. "Synthesis of a Chiral Nickel(II) Complex of an Electrophilic Glycinate, and its Use for Asymmetric Preparation of α -Amino Acids." *J. Chem. Soc., Chem. Com.* **1988**, *19*, 1336-8.

(b) Belokon, Yu. N.; Bakhmutov, V. I.; Chernoglazova, N. I.; Kochetkov, K. A.; Vitt, S. V.; Garbalinskaya, N. S.; Belikov, V. M. "General Method for the Asymmetric Synthesis of α -Amino Acids via Alkylation of the Chiral Nickel(II) Schiff Base Complexes of Glycine and Alanine." *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1988**, *2*, 305-312.

⁸⁶ (a) Oppolzer, W. Moretti, R.; Thomi, S. "Asymmetric Alkylation of *N*-acylsultams: a General Route to Enantiomerically Pure, Crystalline C(α,α)-Disubstituted Carboxylic Acid Derivatives." *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5603-5606.

(b) Oppolzer, W. Moretti, R.; Thomi, S. "Asymmetric Alkylations of a Sultam-Derived Glycinate Equivalent: Practical Preparation of Enantiomerically Pure α -Amino Acids." *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6009-6010.

⁸⁷ (a) Groaning, M. D.; Meyers, A. I. "Chiral Non-Racemic Bicyclic Lactams. Auxiliary-Based Asymmetric Reactions." *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9843-9873.

(b) Meyers, A. I. "Chiral Oxazolines - Their Legacy as Key Players in the Renaissance of Asymmetric Synthesis." *J. Het. Chem.* **1998**, *35*, 1991-1002.

(c) Meyers, A. I.; Brengel, G.P. "Chiral Bicyclic Lactams: Useful Precursors and Templates for Asymmetric Syntheses." *Chem. Comm.* **1997**, *1*, 1-8.

(d) Meyers, A. I.; Yang, B. H. "Synthesis and Diastereoselective Alkylation of Pseudoephedrine Amides." *Org. Synth.* **2000**, *77*, 22-28.

⁸⁸ Oppolzer, W. "Camphor Derivatives as Chiral Auxiliaries in Asymmetric Synthesis." *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1969-2004.

⁸⁹ Davis, F. A.; Towson, J. C.; Weismiller, M. C.; Lal, S.; Carroll, P. J. "Chemistry of Oxaziridines. (Camphorsulphonyl) Oxaziridine: Synthesis and Properties." *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8477-8482.

⁹⁰ Guillena, G.; Nájera, C. "1,5-Dimethyl-4-phenylimidazolidin-2-one-Derived Iminic Glycinimides: Useful New reagents for practical Asymmetric Synthesis of α -Amino Acids." *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7310-7322.

⁹¹ Nájera, C. "From α -Amino Acids to Peptides: All you need to Know for the Journey." *Synlett* **2002**, *9*, 1388-1403.

⁹² Oppolzer, W.; Moretti, R.; Thomi, S. "Asymmetric Alkylation of *N*-Acylsultams: A General Route to Enantiomerically Pure, Crystalline C(α,α)-Disubstituted Carboxylic Acid Derivatives." *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5603-5606.

⁹³ Josien, H.; Martin, A.; Chassaing, G. "Asymmetric Synthesis of L-Diphenylalanine and L-9-Fluorenylglycine via Room temperature Alkylations of a Sultam-Derived Glycine Imine." *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6547-6550.

-
- ⁹⁴ Oppolzer, W.; Moretti, R.; Zhou, C. "Asymmetric Alkylations of a Sultam-Derived Glycine Equivalent: Practical Preparation of Enantiomerically Pure α -Amino Acids." *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 2363-2380.
- ⁹⁵ López, A.; Pleixats, R. "Highly Diastereoselective Monoalkylation and Michael Addition of *N*-(Diphenylmethylene)glycinesultam under Solid-Liquid Phase-Transfer Catalysis Conditions Using Potassium Carbonate as Base." *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1697-1977.
- ⁹⁶ Pochapski, T. C.; Stone, P. M. "Study of Ion Pair Solution Structure Using Nuclear Overhauser Effects: Interionic $^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ and $^{11}\text{B}\{^1\text{H}\}$ NOES in the $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}^+, \text{BH}_4^-$ Ion Pair." *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6714-6715.
- ⁹⁷ Une seconde alkylation est possible sous différentes conditions pour former des dérivés α, α -dialkylés, voir López, A.; Moreno-Mañas, M.; Pleixats, R.; Roglans, A.; Esquerra, J.; Pedregal, C. "Ethyl *N*-(Diphenylmethylene)glycinate as Anionic Glycine Equivalent. Monoalkylation, Dialkylation and Michael Additions Under Solid-Liquid Phase-Transfer Catalysis." *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8365-8386 et les références citées.
- ⁹⁸ O'Donnel, M. J. "The Preparation of Optically Active α -Amino Acids from the Benzophenone Imines of Glycine Derivatives." *Aldrichima Acta* **2001**, *34*, 3-15.
- ⁹⁹ (a) Bougault, M. J. *Compt. Rend.* **1904**, *139*, 864.
(b) Bougault, M. J. "Action de l'Acide Hypoiodéux Naissant sur les Acides non Saturés. Lactames Iodés." *Ann. Chim. Phys.* **1908**, *14*, 145.
(c) *ibid.* "Action de l'Acide Hypoiodéux Naissant sur les Acides non Saturés." *Ann. Chim. Phys* **1908**, *15*, 296.
(d) *ibid.* "Action de l'Acide Hypoiodéux Naissant sur les Acides non Saturés. Acides α -Cyclogéranique." *Ann. Chim. Phys* **1911**, *22*, 125.

-
- ¹⁰⁰ Dowles, M. D.; Davies, D. I. "Synthesis and Synthetic Utility of Halolactones." *Chem. Soc. Rev.* **1979**, *8*, 171.
- ¹⁰¹ Baldwin, J. E. "Rules for Ring Closure." *J. Chem. Soc., Chem. Com.* **1976**, *18*, 734-736.
- ¹⁰² (a) Barnett, W. E.; Sohn, W. H. " β -Lactones as Kinetic Products in the Iodolactonization Reaction." *J. Chem. Soc., Chem. Com.* **1972**, 472.
(b) Barnett, W. E.; Sohn, W. H. "Formation of β -Lactones in the Iodolactonization Reaction." *Tetrahedron Lett.* **1972**, 1777-1780.
- ¹⁰³ van Tamelen, E. E.; Shamma, M. "Assignment of the Olefinic Position in Unsaturated Acids by Means of the Iodolactonization Reaction." *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 2315-2317.
- ¹⁰⁴ Do Amaral, L.; Melo, S. C. "Kinetics and Mechanism of Iodolactonization of γ,δ -Unsaturated Acids." *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 800-802.
- ¹⁰⁵ Bartlett, P. A.; Myerson, J. "Stereoselective Epoxidation of Acyclic Olefinic Carboxylic Acids via Iodolactonisation." *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3950-3952.
- ¹⁰⁶ Kropp, P. J.; Jones, T. H.; Poindexter, G. S. "Photochemistry of Alkyl Halides. I. Ionic Versus Radical Behavior." *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 5420-5421.
- ¹⁰⁷ (a) Levin, J. I.; Dijoseph, J. F.; Killar, L. M.; Sharr, M. A.; Skotnicki, J. S.; Patel, D. V.; Xiao, X. Y.; Shi, L.; Navre, M.; Campbell, D. A. "The Asymmetric Synthesis and *In Vitro* Characterization of Succinyl Mercaptoalcohol and Mercaptoketone Inhibitors of Matrix Metalloproteinases." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1163-1168.

(b) la substitution de l'iodure peut être accomplie également en ajoutant une quantité catalytique de $n\text{Bu}_4\text{NBr}$ au sel de thiophénol dans EtOH, Uenishi, J.; Kobayashi, N.; Yonemitsu, O.; Sasaki, T.; Yamada, Y. "Synthesis and Cytotoxicity of 5-Carbo Analogues of Acetomycin." *Heterocycles* **1997**, *44*, 277-287.

¹⁰⁸ Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. "Kinetic Resolution of Unnatural and Rarely Occurring Amino Acids: Enantioselective Hydrolysis of *N*-Acyl Amino Acids Catalyzed by Acylase I." *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.

¹⁰⁹ Ohfuné, Y.; Hori, K.; Sakaitani, M. "An Efficient Route to 1,3-Amino Hydroxyl System via Electrophilic Lactonisation of 2-Amino-4-pentenoic Acid Derivatives. Stereoselective Synthesis of (-)-Bulgecinine." *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6079-6082.

¹¹⁰ (a) Guillerm, D.; Guillerm, G. "Enantioselective Synthesis of Episulfide Analogues of L-Methionine." *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5047-5050.

(b) Guillerm, D.; Lavrador, K.; Guillerm, G. "Enantioselective Synthesis of Epoxy Amino Acids." *Synth. Comm.* **1995**, *25*, 877-882.

¹¹¹ Kagan, H. B. "Stereochemistry. Fundamentals and Methods." Vol. 1 "Spectroscopic Methods." Kagan Ed., G. Thieme Pub. Stuttgart, **1977**, 246 p.

¹¹² Hoye, T. R.; Hanson, P. R. "Assigning the Relative Stereochemistry Between C(2) and C(4) of the 2-Acetyl-4-alkylbutyrolactone Substructures of the Appropriate Annonaceous Acetogenins." *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5092-5095.

¹¹³ Nicolaou, K. C.; Lysenko, Z. "Phenylsulphenyl-lactonization: an Easy and Synthetically Useful Lactonization Procedure." *J. C. S. Chem. Comm.* **1977**, 293-294.

-
- ¹¹⁴ De Moura Campos, M. "A *gem*-Effect in the Addition of 2,4-Dinitrobenzenesulfonyl Chloride to γ,δ -Unsaturated Acids." *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4480-4481.
- ¹¹⁵ Tuladhar, S. M.; Fallis, A. G. "Phenylsulphenyl Chloride/*N,N*-Diisopropylethylamine: A Useful Reagent for Cyclic Ether Formation (Sulfonyletherification)." *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 523-526.
- ¹¹⁶ Tupper, D. E.; Pullar, I. A.; Clemens, J. A.; Fauhurst, J.; Risius, F. C.; Timms, G. H.; Wedley, S. "Synthesis and Dopamine Antagonist Activity of 2-Thioether Derivatives of the Ergoline Ring System." *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 912-18
- ¹¹⁷ Akiyama, M.; Shimizu, K.; Aiba, S.; Banba, F. "Synthesis of *N*-Hydroxymaleimide and *N*-Hydroxyitaconimide and their Related Derivatives." *J. C. S. Perkin I* **1980**, 2122-2125.
- ¹¹⁸ (a) O'Donnell, M. J.; Benett, W. D.; Wu, S. J. "The Stereoselective Synthesis of α -Amino Acids by Phase-Transfer Catalysis." *J. Am. Chem. Soc* **1989**, *111*, 2353-2355.
- (b) O'Donnell, M. J.; Wu, S. J.; Huffman, J. C. "A New Active Catalyst Species for Enantioselective Alkylation by Phase-Transfer Catalysis." *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4507-4518.
- (c) Lipkowitz, K. B.; Cavanaugh, M. W.; Baker, B.; O'Donnell, M. J. "Theoretical Studies in Molecular Recognition: Asymmetric Induction of Benzophenone Imine Ester Enolates by the Benzylcinchoninium Ion." *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5181-5192.
- (d) O'Donnell, M. J.; Esokova, I. A.; Mi, A.; Shullenberger, D. F.; Wu, S. "In Phase-Transfer Catalysis." Halpern, M. E., Ed.; *ACS Symposium Series 659*; American Chemical Society: Washington, DC, **1997**; Chapt 10.

¹¹⁹ (a) Corey, E. J.; Xu, F.; Noe, M. C. "A Rational Approach to Catalytic Enantioselective Enolate Alkylation Using a Structurally Rigidified and Defined Chiral Quaternary Ammonium Salt under Phase Transfer Conditions." *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12414.

(b) Corey, E. J.; Noe, M. C.; Xu, F. "Highly Enantioselective Synthesis of Cyclic and Functionalized α -Amino Acids by Means of a Chiral Phase Transfer Catalyst." *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5347-5350.

(c) Corey, E. J.; Bo, Y.; Busch-Petersen, J. "Highly Enantioselective Phase Transfer Catalyzed Alkylation of a 3-Oxygenated Propionic Ester Equivalent; Applications and Mechanism." *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13000-13001.

¹²⁰ (a) Lygo, B.; Wainwright, P. G. "A New Class of Asymmetric Phase-Transfer Catalysts Derived from Cinchona Alkaloids - Application in the Enantioselective Synthesis of α -Amino Acids." *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8595-8598.

(b) Lygo, B.; Crosby, J.; Peterson, J. A. "Enantioselective Synthesis of bis- α -Amino Acid Esters via Asymmetric Phase-Transfer Catalysis." *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1385-1388.

(c) Lygo, B. "Enantioselective Synthesis of Dityrosine and Isodityrosine via Asymmetric Phase-Transfer Catalysis." *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1389-1392.

¹²¹ O'Donnell, M. J. "The Preparation of Optically Active α -Amino Acids from the Benzophenone Imines of Glycine Derivatives." *Aldrichimica Acta* **2001**, *34*, 3-15.

¹²² Hoarau, S.; Fauchere, J. L.; Pappalardo, L.; Roumestant, M. L.; Viallefont, P. "Synthesis of Enantiomerically Pure (2*R*, 5*S*)- and (2*R*, 5*R*)-5-Hydroxypipicolinic Acid from Glycinate Schiff Bases." *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 2585-2593.

¹²³ O'Donnell, M. J.; Polt, R. L. "A Mild and Efficient Route to Schiff Base Derivatives of Amino Acids." *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2663-2666.

-
- ¹²⁴ <http://www.brenda.uni-koeln.de/index.php4> est un site sur lequel se trouvent les informations spécifiques à chaque enzyme.
- ¹²⁵ Juillerat, L. "Criblage des Molecules Anti-Tumorales : de la Pathologie à la Chimie." Lecture inaugurale, Lausanne **2002**.
- ¹²⁶ (a) Gross, P. "Biologic Activity of Hydroxylamine: a Review." *Critical Reviews in Toxicology* **1985**, *14*, 87-99.
- (b) Marfey, P.; Robinson, E. "The Genetic Toxicology of Hydroxylamines." *Mutation Research* **1981**, *86*, 155-191.
- (c) Beckett, A. H. "Importance of the 'Hydroxylamine Metabolic Route in Pharmacology, Toxicology, and Pharmacokinetics." *Biochemical Pharmacology* **1974**, (Suppl., Pt. 1), 91-5.
- (d) Weisburger, J. H.; Weisburger, E. K. "Biochemical Formation and Pharmacological, Toxicological, and Pathological Properties of Hydroxylamines and Hydroxamic acids." *Pharmacological Reviews* **1973**, *25*, 1-66.
- ¹²⁷ Corvol, P.; Alhenc-Gelas, F.; Soubrier, F. "L'Endothélium, Site de Production et de Métabolisme des Peptides Vasoactifs." *Médecine/Sciences* **1993**, *9*, 1050-1060.
- ¹²⁸ Doherty, A. M. "Endogenous Vasoactives Peptides." *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 83-92.
- ¹²⁹ Masakis, T.; Yanagisawa, M. "Endothelins." *Essays Biochem.* **1992**, *27*, 79-89.
- ¹³⁰ Marsault, R.; Vigne, P.; Breittmayer, J. P.; Frelin, C. "Astrocytes Are Target Cells for Endothelins and Sarafotoxin." *J. Neurochem.* **1990**, *54*, 2142-2144.

-
- ¹³¹ Yanagasiwa, M.; Kurihara, H.; Kimura, S.; Tomobe, Y.; Kogbayashi, M.; Mitsui, Y.; Yasaki, Y.; Goto, K.; Masaki, T. "A Novel Potent Vasoconstrictor Peptide Produced by Vascular Endothelial cells." *Nature* **1988**, *332*, 411-415.
- ¹³² Haynes, W. G.; Webb, D. J. "Endothelin as a Regulator of Cardiovascular Function in Health and Disease." *J. Hypertens.* **1998**, *16*, 1081-1098.
- ¹³³ Inoue, A.; Yanagasiwa, M.; Ohkubo, S.; Kimura, C.; Kasuya, Y.; Miyauchi, T.; Goto, K.; Masaki, T. "The Human Endothelin Family: Three Structurally and Pharmacologically Distinct Isopeptides Predicted by Three Separate Genes." *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1989**, *86*, 2863-2867.
- ¹³⁴ Rubanyi, G. M.; Polokoff, M. A. "Endothelins: Molecular Biology, Biochemistry, Pharmacology, Physiology, and Pathophysiology." *Pharm. Rev.* **1994**, *46*, 325-415.
- ¹³⁵ Goto K, Hama H, Kasuya Y. "Molecular Pharmacology and Pathophysiological Significance of Endothelin." *Jpn J. Pharmacol.* **1996**, *72*, 261-290.
- ¹³⁶ Corder, R. "Identity of Endothelin Converting Enzyme and Other Targets for the Therapeutic Regulation of Endothelin Biosynthesis." *Handb. Exp. Pharmacol.* **2001**, *152*, 35-67.
- ¹³⁷ Schmidt, M.; Kröger, B.; Jacob, E.; Seulberger, H.; Subkowski, T.; Oitter, T.; Meyer, T.; Schmalzing, G.; Hillen, H. "Molecular Characterization of Human and Bovine Endothelin Converting Enzyme (ECE-1)." *FEBS Lett.* **1994**, *356*, 238-243.
- ¹³⁸ Sonnenberg, J. L.; Sakane, Y.; Jeng, A. Y.; Koehn, J. A.; Ansell, J. A.; Wennogle, L. P.; Ghai, R. D. "Identification of Protease 3.4.24.11 as the Major Atrial Natriuretic Factor Degrading Enzyme in the Rat Kidney." *Peptides* **1988**, *9*, 183-180.

-
- ¹³⁹ Nadel, J. A.; Borson, D. B. "Modulation of Tachykinins and Bradykinin by Enkephalinase." *Prog. Clin. Biol. Res.* **1988**, *263*, 123-130.
- ¹⁴⁰ Lovenburg, W.; Miller, R. C. "Endothelin: A Review of its Effects and Possible Mechanisms of Action." *Neurochem. Res.* **1990**, *14*, 407-417.
- ¹⁴¹ Masaki, T.; Yanagisawa, M. "Cardiovascular Effects of the Endothelins." *Cardiovasc. Drug Rev.* **1990**, *8*, 373-385.
- ¹⁴² Elliott, J. D.; Xiang, J. -N. "Endothelin Receptor Antagonist." *Handb. Exp. Pharmacol.* **2001**, *152*, 239-270.
- ¹⁴³ Sawamura, T.; Kimura, S.; Shinmi, O.; Sugita, Y.; Kobayashi, M.; Mitsui, Y.; Yanagisawa, M.; Goto, K.; Masaki, T. "Characterization of Endothelin Converting Enzyme Activities in Soluble Fraction of Bovine Cultured Endothelial Cells." *Biophys. Res. Commun.* **1990**, *169*, 1138-1144.
- ¹⁴⁴ Battistini, B.; Jeng, A. Y. "Endothelin-Converting Enzyme Inhibitors and their Effects." *Handb. Exp. Pharmacol.* **2001**, *152*, 155-208.
- ¹⁴⁵ McMahon, E. G.; Palomo, M. A.; Moore, W. M.; McDonald, J. F.; Stern, M. K. "Phosphoramidon Blocks the Pressor Activity of Porcine Big Endothelin-1-(1-39) *in vivo* and Conversion of Big Endothelin-1-(1-39) to Endothelin-1-(1-21) *in vitro*." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, *88*, 703-707.
- ¹⁴⁶ (a) Rogel, O. Ph.D. "Synthèse d'une nouvelle classe d'inhibiteurs potentiels d'enzyme à base de phosphore." Thèse de Doctorat, **2000**, Université de Montréal.

-
- (b) Hanessian, S.; Rogel, O. "Synthesis of a Phostone Glycomimetic of the Endothelin Converting Enzyme Inhibitor Phosphoramidon." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2441-2446.
- ¹⁴⁷ Jeng, A. Y.; De Lombaert, S. "Endothelin Converting Enzymes Inhibitors." *Curr. Pharmaceut. Design* **1997**, *3*, 597-614.
- ¹⁴⁸ Keller, P. M.; Lee, C. -P.; Fenwick, A. E.; Elliott, J. D.; DeWolf, W. E. Jr. "Endothelin Converting Enzyme: Substrate Specificity and Inhibition by Novel Analogs of Phosphoramidon." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *223*, 372-378.
- ¹⁴⁹ Fukami, H.; Hayama, T.; Amano, Y.; Nakamura, Y.; Arai, Y.; Matsuyama, K.; Yano, M.; Ishikawa, K. "Aminophosphonate Endothelin Converting Enzyme Inhibitors: Potency-Enhancing and Selectivity-Improving Modifications of Phosphoramidon." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1257-1262.
- ¹⁵⁰ (a) Roques, B. P. "Zinc Metallopeptidases: Active Site Structure and Design of Selective and Mixed Inhibitors: New Approaches in the Search for Analgesics and Anti-hypertensives." *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, *21*, 678-685.
- (b) Roques, B. P.; Noble, F.; Dauge, V.; Fournié-Zaluski, M.-C.; Beaumont, A. "Neutral Endopeptidase 24.11: Structure, Inhibition, and Experimental and Clinical Pharmacology." *Pharmacol. Rev.* **1993**, *45*, 87-146.
- ¹⁵¹ McKittrick, B. A.; Stamford, A. W.; Weng, X.; Ma, K.; Chackalamannil, S.; Czarniecki, M.; Cleven, R. M.; Fawzi, A. B. "Design and Synthesis of Phosphinic Acids that Triply Inhibit Endothelin Converting Enzyme, Angiotensin Converting Enzyme and Neutral Endopeptidase 24.11." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1629-1634.

-
- ¹⁵² Tsurumi, Y.; Ohhata, N.; Iwamoto, T.; Shigematsu, N.; Sakamoto, K.; Nishikawa, M.; Kiyoto, S.; Okuhara, M. "WS79089 A, B, and C, New Endothelin Converting Enzyme Inhibitors Isolated from *Streptosporangium Roseum*. No. 79089. Taxonomy, Fermentation, Isolation, Physico-Chemical Properties and Biological Activities." *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 619-630.
- ¹⁵³ Takaishi, S.; Tuchiya, N.; Sato, R.; Negishi, A.; Takamatsu, Y.; Matsushita, H.; Watanabe, T.; Iijima, Y.; Haruyama, H.; Kinoshita, T.; Tanaka, M.; Kodama, K. "B 90063, a Novel Endothelin Converting Enzyme Inhibitor Isolated from a New Marine Bacterium, *Blastobacter sp.* SANK 71894." *J. Antibiot.* (Tokyo) **1998**, *51*, 805-815.
- ¹⁵⁴ Umekawa, K.; Hasegawa, H.; Tsutsumi, Y.; Sato, K. Matsumura, Y.; Ohashi, N. "Pharmalogical Characterization of a Novel Sulfonylureid-Pyrazole Derivative, SM-19712, a Potent Nonpeptidic Inhibitor of Endothelin Converting Enzyme." *Jpn. J. Pharmacol.* **2000**, *84*, 7-15.
- ¹⁵⁵ Ahn, K.; Sisneros, A. M.; Herman, S. B.; Pan, S. M.; Hupe, D.; Lee, C.; Nikam, S.; Cheng, X. -M.; Doherty, A. M.; Schroeder, R. L.; Haleen, S. J.; Kaw, S.; Emoto, N.; Yanagisawa, M. "Novel Selective Quinazoline Inhibitors of Endothelin Converting Enzyme-1." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *243*, 184-190.
- ¹⁵⁶ Jeng, A. Y. "Utility of Endothelin-Converting Enzyme Inhibitors for the Treatment of Cardiovascular Diseases." *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2003**, *4*, 1076-1081.
- ¹⁵⁷ Jeng, A. Y.; Mulder, P.; Kwan, A. -L.; Battistini, B. "Nonpeptidic Endothelin Converting Enzyme Inhibitors and their Potential Therapeutic Applications." *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2002**, *80*, 440-449.

¹⁵⁸ (a) Hanessian, S.; Moitessier, N.; Wilmouth, S. "Tetrahydrofuran as a Scaffold for Peptidomimetics. Application to the Design and Synthesis of Conformationally Constrained Metalloproteinase Inhibitors." *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7643-7660.

(b) Hanessian, S.; MacKay, D. B.; Moitessier, N. "Design and Synthesis of Matrix Metalloproteinase Inhibitors Guided by Molecular Modeling. Picking the S₁ Pocket using Conformationally Constrained Inhibitors." *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3074-3082.

¹⁵⁹ Pour des revues récentes, voir (a) Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W. D. "Design and Synthesis of Conformationally Constrained Amino Acids as Versatile Scaffolds and Peptide Mimetics." *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854.

(b) Gante, J. "Peptide Mimetics - Tailor-Made Enzyme Inhibitors." *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699-1720.

(c) Olson, L. G.; Bolin, D. R.; Bonner, M. P.; Bös, M.; Cook, C. M.; Fry, D. C.; Graves, B. J.; Hatada, M.; Hill, D. E.; Kahn, M.; Madison, V. S.; Rusiecki, V. K.; Sarabu, R.; Sepinwall, J.; Vincent, G. P.; Voss, M. E. "Concepts and Progress in the Development of Peptides Mimetics." *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039-3049.

¹⁶⁰ Robinson, R. P.; Laird, E. R.; Blake, J. F.; Bordner, J.; Donahue, K. M.; Lopresti-Morrow, L.-L.; Mitchell, P. G.; Reese, M. R.; Reeves, L. M.; Stam, E. J.; Yocum, S. A. "Structure-Based Design and Synthesis of a Potent Matrix Metalloproteinase-13 Inhibitor Based on a Pyrrolidinone Scaffold." *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2293-2296.

¹⁶¹ (a) Hilderbrand, R. L. "The Role of Phosphonates in Living Systems." CRC Press: Boca Raton, FL **1983**.

(b) Neuzil, E.; Cassaigne, A. "Natural Compounds with Biologic Value Containing a P-C Bond and Phosphonates." *Exp. Ann. Biochim. Med.* **1980**, *34*, 165-210.

¹⁶² Sikorski, J. A.; Logusch, E. W. "Handbook of Organophosphorus Chemistry." Engel, R. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, **1992**, p. 739; Eto, M. p. 807.

-
- ¹⁶³ (a) Weil, E. D. *Handbook of Organophosphorus Chemistry*. Engel, R. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, **1992**, p. 683.
- (b) Chélateur de métaux : Hutchinson, D. W.; Naylor, M.; Semple, G. "Inhibition of Viral Nucleic Acid Synthesis by Analogs of Inorganic Pyrophosphate." *Chem. Scripta*. **1986**, *26*, 91-95.
- ¹⁶⁴ (a) Diana, G. D.; Pevear, D.; Young, D. C. "Antiviral Agents." *Ann. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 129-137.
- (b) Pauwels, R.; Balzarini, J.; Schols, D.; Baba, M.; Desmyter, J.; Rosenberg, I.; Holy, A.; De Clercq, E. "Phosphonylmethoxyethyl Purine Derivatives, a New Class of Anti-Human Immunodeficiency Virus Agents." *Antimicrob. Agents and Chemother.* **1988**, *32*, 1025-1030.
- ¹⁶⁵ Cameron, D. G.; Hudson, H. R.; Pianka, M. "Organophosphorus Compounds as Potential Fungicides. Part II. Aminoalkane-, Guanidinoalkane-, and Thioureidoalkane-Phosphonic Acids: Preparation, Spectroscopy, and Fungicidal Activity." *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **1993**, *83*, 21-37.
- ¹⁶⁶ Hendlin, D.; Stapley, E. O.; Jackson, M.; Wallick, H.; Miller, A. K.; Wolf, F. J.; Miller, T. W.; Chaiet, L.; Kahan, G. M.; Foltz, E. L.; Woodruff, H. B.; Mata, J. M.; Hernandez, S.; Mochales, S. *Science* **1969**, *166*, 122.
- ¹⁶⁷ Malachowski, W. P.; Coward, J. K. "The Chemistry of Phosphapeptides: Investigations on the Synthesis of Phosphonamidate, Phosphonate, and Phosphinate Analogs of Glutamyl- γ -Glutamate." *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7625-7634.
- ¹⁶⁸ Engel, R. "Phosphonates as Analogues of Natural Phosphates." *Chem. Rev.* **1977**, *77*, 349-367.

-
- ¹⁶⁹ Brill, T. B.; Landon, S. J. "Arbuzov-like Dealkylation Reactions of Transition-Metal-Phosphite Complexes." *Chem. Rev.* **1984**, *84*, 577-585.
- ¹⁷⁰ (a) Kafirov, R.; Selke, R.; Giernoth, R.; Bargon, J. "Synthesis of New 3-(Dialkoxylphosphoryl)butenoates and their Enantioselective Hydrogenation." *Synthesis* **1999**, 1056-1062.
- (b) Texier-Boullet, F.; Lequitte, M. "An Unexpected Reactivity of Simple Heterogeneous Mixture of γ -Alumina and Potassium Fluoride: 1-Hydroxyalkanephosphonic Esters Synthesis from Non-Activated Ketones in Dry Media." *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3515-3516.
- (c) Sebti, S.; Rihil, A.; Saber, A.; Laghrissi, M.; Boulaajaj, S. "Synthesis of α -Hydroxyphosphonates on Phosphate Supports in the Absence of Solvent." *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3999-4000.
- (d) Kharasch, M. S.; Mosher, R. A.; Bengelsdorg, I. S. "Organophosphorus Chemistry. Addition Reactions of Diethyl Phosphonate and the Oxidation of Triethyl Phosphite." *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 1000-1006 et références citées.
- ¹⁷¹ Shono, T.; Matsumura, Y.; Tsubata, K. "Electroorganic Chemistry. 53. A New Carbon-Phosphorus Bond Forming Reaction and Synthesis of Aminoalkylphosphonic Acid Derivatives." *Tetrahedron Lett.* **1981**, *34*, 3249-3252.
- ¹⁷² (a) Pauling, L. "Nature of Forces Between Large Molecules of Biological Interest." *Nature* **1948**, *161*, 707-709.
- (b) Wolfenden, R. "Transition State Analogs for Enzyme Catalysis." *Nature* **1969**, *223*, 704-705.
- ¹⁷³ (a) Jacobsen, J. E.; Bartlett, P. A. "A Phosphoramidate Dipeptide Analog as an Inhibitor of Carboxypeptidase A." *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 654-657.

(b) Bartlett, P. A.; Hanson, J. E.; Giannousis, P. P. "Potent Inhibition of Pepsin and Penicillopepsin by Phosphorus-Containing Peptide Analogs." *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6268-6274.

(c) Allen, J. G.; Atherton, F. R.; Hall, M. J.; Hassal, C. H.; Holmes, S. W.; Lambert, R. W.; Nisbet, L. J.; Ringrose, P. S. "Phosphonopeptides, a New Class of Synthetic Antibacterial Agents." *Nature* **1978**, *272*, 56-58.

(d) Atherton, F. R.; Hassal, C. H.; Lambert, R. W. "Synthesis and Structure-Activity-Relationships of Antibacterial Phosphonopeptides Incorporating (1-Aminoethyl)-phosphonic Acid and (Aminomethyl)phosphonic Acid." *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 29-40.

(e) Christianson, D. W.; Lipscomb, W. N. "Comparison of Carboxypeptidase A and Thermolysin: Inhibition by Phosphonamidates." *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5560-5565.

(f) Bartlett, P. A.; Marlowe, C. K. "Evaluation of Intrinsic Binding Energy from a Hydrogen Bonding Group in an Enzyme Inhibitor." *Science* **1987**, *235*, 569-571.

(g) Tronrud, D. E.; Holden, H. M.; Matthews, B. W. "Structures of Two Thermolysin-Inhibitor Complexes that Differ by a Single Hydrogen Bond." *Science* **1987**, *235*, 571-574.

(h) Bash, P. A.; Sinhg, U. C.; Brown, F. K.; Langridge, R.; Kollman, P. A. "Calculation of the Relative Change in Binding Free Energy of a Protein-Inhibitor Complex." *Science* **1987**, *235*, 574-576.

(i) Paldi, A.; Mora, M.; Bajusz, S.; Graf, L. "Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme by Angiotensin I Analog Peptide Inhibitors. A Kinetic Study." *Int. J. Peptide Protein Res.* **1987**, *29*, 746-754.

¹⁷⁴ Teraishi, K.; Saito, M.; Fujii, I.; Nakamura, H. "Ab Initio Comparison Between the Tetrahedral Intermediates and the Phosphorous-Containing Analogues in the Ester and the Amide Hydrolysis." *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7153-7156.

¹⁷⁵ Hanessian, S. "The Total Synthesis of Natural Products: The "Chiron" Approach." Pergamon Press: Oxford, **1983**.

-
- ¹⁷⁶ Najera, C.; Yus, M. "Pyroglutamic Acid: a Versatile Building Block in Asymmetric Synthesis." *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 2245-2303.
- ¹⁷⁷ (a) Johnson, F. "Allylic Strain in Six-Membered Rings." *Chem. Rev.* **1968**, *4*, 735-413.
(b) Hoffmann, W. R. "Allylic 1,3-Strain as a Controlling Factor in Stereoselective Transformations." *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1841-1860.
- ¹⁷⁸ Pedregal, C.; Ezquerra, J.; Rubio, A.; Yruretagoyena, B.; Escribano, A.; Sanchez-Ferrando, F. "Stereoselective Reactions of Lithium Enolates Derived from *N*-Boc Protected Pyroglutamic Esters." *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8665-8678.
- ¹⁷⁹ (a) Bernstein, N. "The Asymmetric Synthesis of L-Azetidine-2-Carboxylic Acid and 3-Substituted Analogs." Mémoire de maîtrise de l'Université de Montréal, **1999**.
(b) Hanessian, S.; Bernstein, N.; Yang, R.-Y.; Maguire, R. "Asymmetric Synthesis of L-Azetidine-2-Carboxylic Acid and 3-Substituted Congeners - Conformationally Constrained Analogs of Phenylalanine, Naphthylalanine, and Leucine." *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1437-1442.
- ¹⁸⁰ Pedregal, C.; Ezquerra, J. "Highly Chemoselective Reduction of *N*-Boc Protected Lactams." *Tetrahedron* **1994**, *35*, 2053-2056.
- ¹⁸¹ (a) McKenna, C. E.; Higa, M. T.; Cheung, N. H.; McKenna, M.-C. "The Facile Dealkylation of Phosphonic Acid Dialkyl Esters by Bromotrimethylsilane." *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-158.
(b) Rabinowitz, R. "The Reactions of Phosphonic Acid Esters with Acid Chlorides. A Very Mild Hydrolytic Route." *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *28*, 2975-2977.

-
- ¹⁸² Pedregal, C.; Collado, I.; Escribano, A.; Ezquerra, J.; Domínguez, C.; Mateo, A. I.; Rubio, A.; Baker, S. R.; Goldsworthy, J.; Kamboj, R. K.; Ballyk, B. A.; Hoo, K.; Bleakman, D. "4-Alkyl- and 4-Cinnamylglutamic Acid Analogues Are Potent GluR5 Kainate Receptor Agonists." *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1958-1968.
- ¹⁸³ Benedetti, E.; Ciajolo, M. R.; Maisto, A. "Crystal Structure of *N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-L-proline." *Acta Crystallogr. Section B* **1974**, *30*, 1783-17988.
- ¹⁸⁴ Méthode utilisée pour purifier des dipeptides avec un acide phosphonique en place de l'acide carboxylique : Gerber, C.; Seebach, D. "Dipeptide Derivatives with a Phosphonate Instead of Carboxylate Terminus by *C*-Alkylation of Protected (Decarboxy-dipeptidyl)phosphonates." *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 1373-1385.
- ¹⁸⁵ Biller, S. A.; Forster, C. "The Synthesis of Isoprenoid Phosphinylmethyl)phosphonates." *Tetrahedron* **1990**, *19*, 6645-6658.
- ¹⁸⁶ Li, W.; Moeller, K. D. "Conformationally Restricted TRH Analogs: The Compatibility of a 6,5-Bicyclic Lactam-Based Mimetic with Binding to TRH-R." *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10106-10112.
- ¹⁸⁷ (a) Sadighi, J. P.; Singer, R. A.; Buchwald, S. L. "Palladium-Catalyzed Synthesis of Monodisperse, Controlled-Length, and Functionalized Oligoanilines." *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4960-4976.
- (b) Exemple d'utilisation de DEAD, Tanis, S. P.; Deaton, M. V.; Dixon, L. A.; McMills, M. C.; Raggon, J. W.; Collins, M. A. "Furan-Terminated *N*-Acyyliminium Ion Initiated Cyclisations in Alkaloid Synthesis." *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6914-6928.
- (c) Exemple d'utilisation de DIAD, von Itzstein, M.; Mocerino, M. "(*p*-Dimethylaminophenyl)diphenylphosphine: A More Practical Phosphine in the Mitsunobu Reaction." *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 2049-2057.

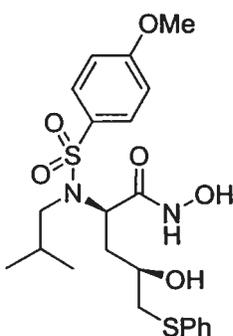
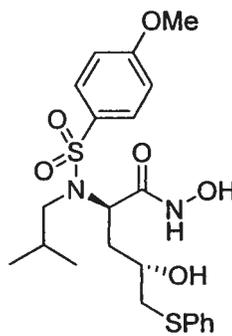
-
- 188 Hanessian, S.; Cantin, L. -D. "Synthesis and Biological Evaluation of Constrained Phosphonoglutamic Acids as Metabotropic Agents." *Molecules Online* **1998**, 2, 46-52.
- 189 Chen, Z. -Z.; Tan, B.; Li, Y.- M. ; Zhao, Y. -F. "Activity Difference Between α -COOH and β -COOH in *N*-Phosphorylaspartic Acids." *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4052-4058.
- 190 Bender, M. L. "Mechanisms of Catalysis of Nucleophilic Reactions of Carboxylic Acid Derivatives." *Chem. Reviews* **1960**, 53-113.
- 191 Shalitin, Y.; Bernhard, S. A. "Neighboring Group Effects on Ester Hydrolysis. Neighboring Hydroxyl Groups." *J. Chem. Soc.* **1954**, 2291-2292.
- 192 Ghatak, U. R.; Chakravarty, J. "Intramolecular Participation by a Neighbouring Ketone Group in Ester hydrolysis." *Chem. Comm.* **1966**, 7, 184-185.
- 193 Kluger, R.; Chan, L. W. "Amide-Phosphate Interactions: Acid Catalysis in Amide-Assisted Hydrolysis of Phosphonate Esters." *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 4913-4917.
- 194 Lieske, C. N.; Hovanec, J. W.; Steinberg, G. M.; Blumberg, P. "Participation of a Neighbouring Oxime Group in Phosphonate Ester Hydrolysis." *Chem. Comm.* **1968**, 13-14.
- 195 Fujita, Y.; Satoh, C.; Tsukahara, Y.; Miyawaki, N. "The properties of Enzyme Inhibition by a Novel Dual Inhibitor, SA-6817, of Neutral Endopeptidase and Angiotensin Converting Enzyme." *Jpn Pharmacol. Soc.* P-28 **1997** Japanese Pharmacological Society, Kyoto University, Kyoto, Japan. (Abstr.)

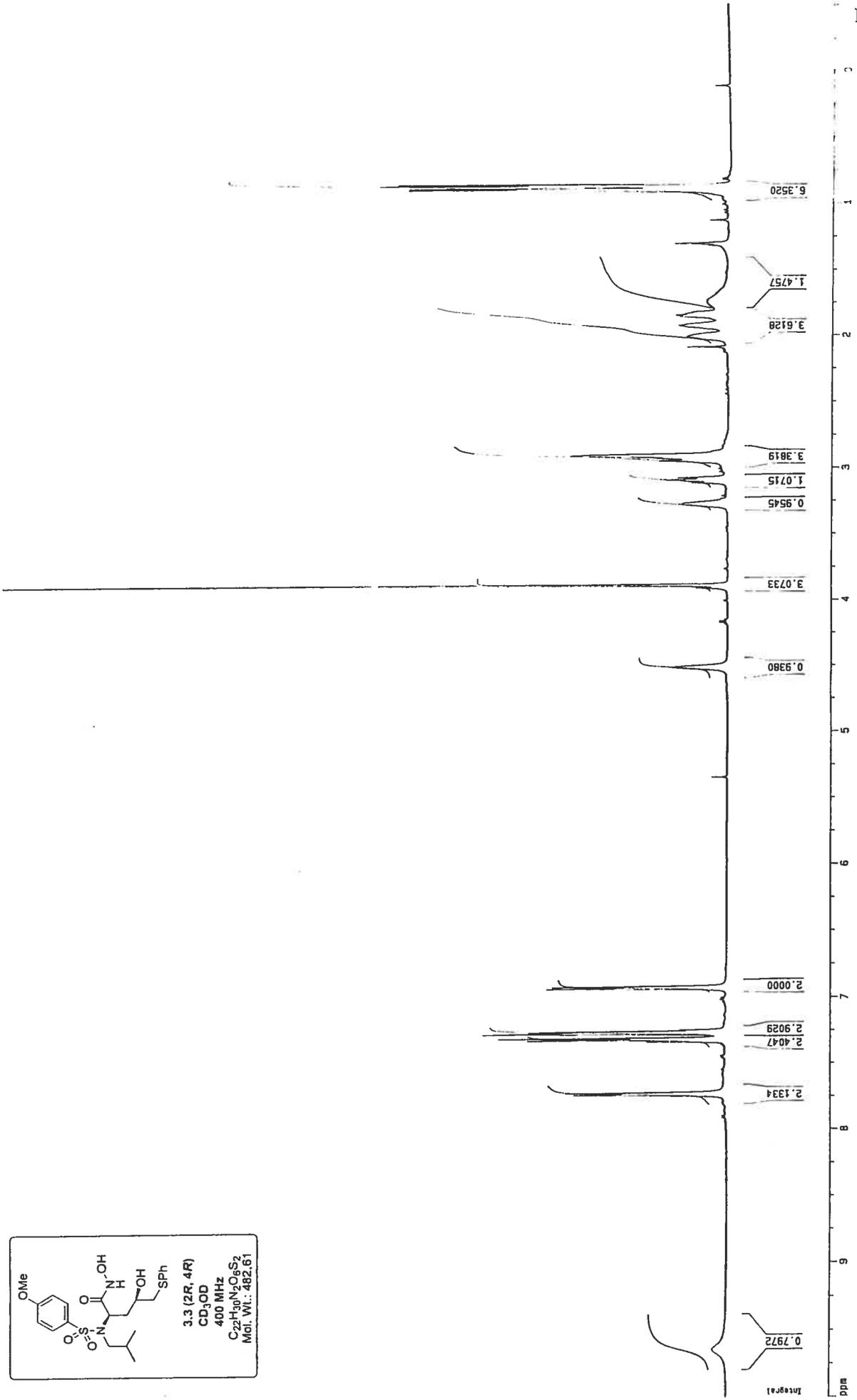
-
- ¹⁹⁶ Seed, A.; Kuc, R.; Davenport, A.; Hillier, C.; Essers, H.; McMurray, J. "First Demonstration in Human of Systemic Neutral Endopeptidase and Endothelin Converting Enzyme Inhibition Using a New, Orally Active, Dual Metalloprotease Inhibitor, SLV-306." *Heart* **2002**, *87* (S2), Abs 200.
- ¹⁹⁷ Bihovsky, R.; Levinson, B. L.; Loewi, R. C.; Erhardt, P. W.; Polokoff, M. A. "Hydroxamic Acids as Potent Inhibitors of Endothelin-Converting Enzyme from Human Bronchiolar Smooth Muscle." *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2119-2129.
- ¹⁹⁸ (a) Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Collado, I. "Stereoselective Addition of Grignard-Derived Organocopper Reagents to *N*-Acyliminium Ions: Synthesis of Enantiopure 5- and 4,5-Substituted Prolinates." *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5011-5015.
- (b) Wistrand, L.; Skrinjar, M. "Chiroselective Synthesis of *Trans*-2,5-Disubstituted Pyrrolidines Via Stereoselective Addition of Organocopper Reagents to *N*-Acyliminium Ions." *Tetrahedron* **1991**, *47*, 573.
- (c) Kemp, D. S.; Renold, P.; McClure, K. F. "An Improved Synthesis of a Template for α -Helix Formation." *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 454.
- (d) Hanessian, S.; Sailes, H.; Munro, A.; Therrien, E. "Synthesis of Diversely Functionalized Indolizidinones and Related Bicyclic Lactams Using Intramolecular Grubbs Olefin Metathesis and Dieckmann Condensation." *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7219-7233.
- ¹⁹⁹ Dalcanale, E. "Selective Oxidation of Aldehydes to Carboxylic Acids with Sodium Chlorite-Hydrogen Peroxide." *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 567-569.
- ²⁰⁰ Coste, J.; Frérot, E.; Jouin, P. "Coupling *N*-Methylated Amino Acids Using PyBrop and PyClop Halogenophosphonium Salts: Mechanism and Fields of Application." *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437-2446.

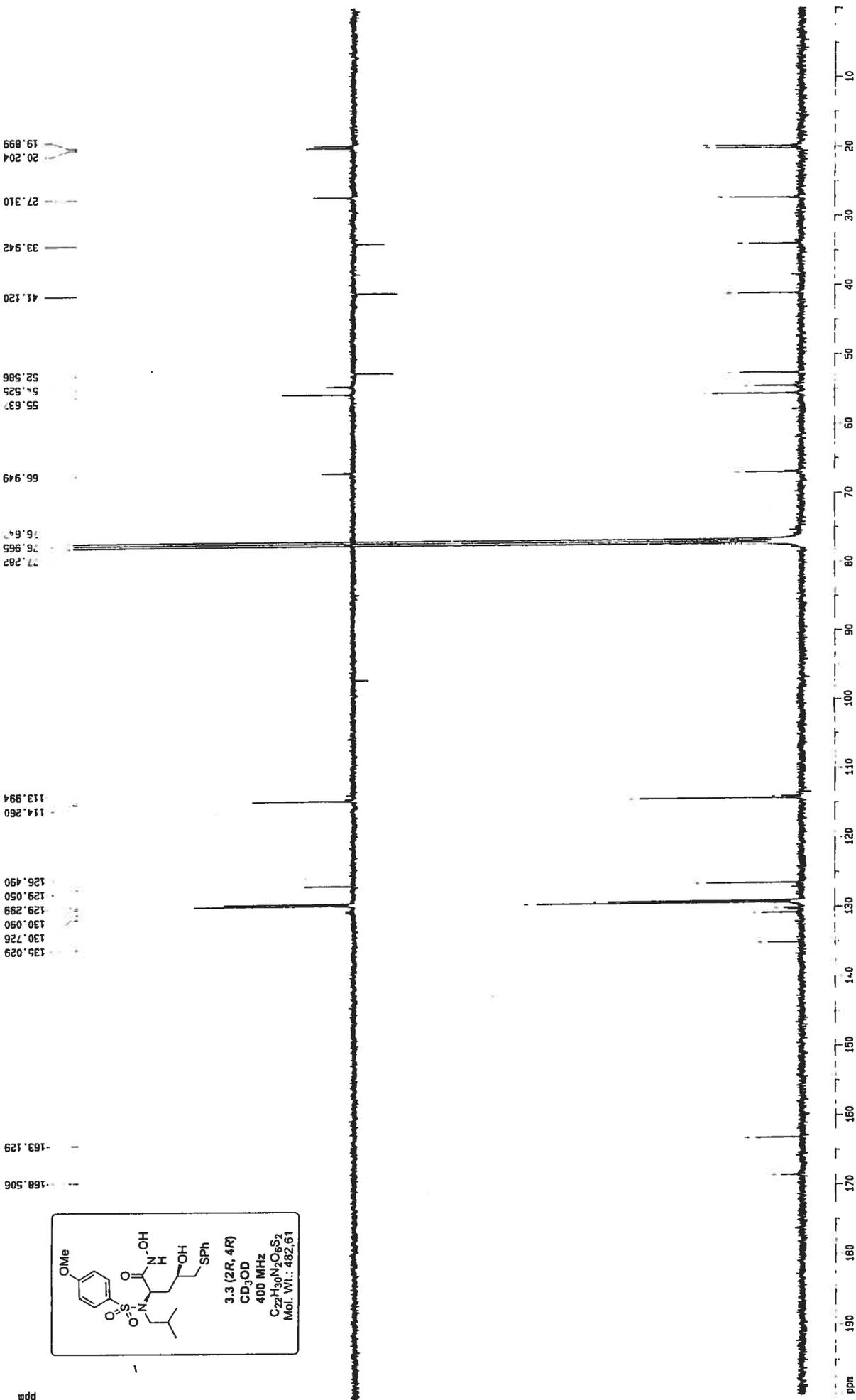
-
- ²⁰¹ Nikam, S. S.; Komberg, B. E.; Johnson, D. R.; Doherty, A. M. "Synthesis of Hydroxamic Acids: Pd/BaSO₄ as a New Catalyst for the Deprotection of *O*-Benzyl Hydroxamates." *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 197-200.
- ²⁰² Giacomelli, G.; Porcheddu, A.; Salaris, M. "Simple One-Flask Method for the Preparation of Hydroxamic Acids." *Org. Letters* **2003**, *5*, 2715-2717.
- ²⁰³ Song, B.; Chen, D.; Bastian, M.; Martin, R. B.; Sigel, H. "Metal-Ion-Coordinating Properties of a Viral Inhibitor, a Pyrophosphate Analogue, and a Herbicide Metabolite, a Glycinate Analogue: The Solution Properties of the Potentially Five-Membered Chelates Derived from Phosphonoformic Acid and (Aminomethyl)phosphonic Acid." *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1738-1756.
- ²⁰⁴ Shetty, S. S.; Savage, P.; DelGrande, D.; De Lombaert, S.; Jeng, A. Y. "Characterization of CGS 31447, A Potent and Nonpeptidic Endothelin-Converting Enzyme Inhibitor." *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1998**, *31*, S68-S70.
- ²⁰⁵ Still, W. C.; Khan, M.; Mitra, A. "Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution." *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- ²⁰⁶ Lutz, W. B. "*O*-Triphenylmethylhydroxylamine (Trityloxyamine), a Useful *O*-Protected Form of Hydroxylamine." *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 3835-3836.
- ²⁰⁷ Moustrou, C.; Samat, A.; Guglielmetti, R.; Dubest, R.; Garnier, F. "Synthesis of Thiophene-Substituted Spiopyrans and Spirooxazines, Precursors of Photochromic Polymers." *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1887-1893.
- ²⁰⁸ (a) Hamada, T.; Yonemitsu, O. "An Improved Synthesis of Arenesulfonyl Chlorides from Aryl Halides." *Synthesis* **1986**, *10*, 852-854.

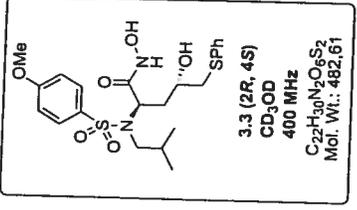
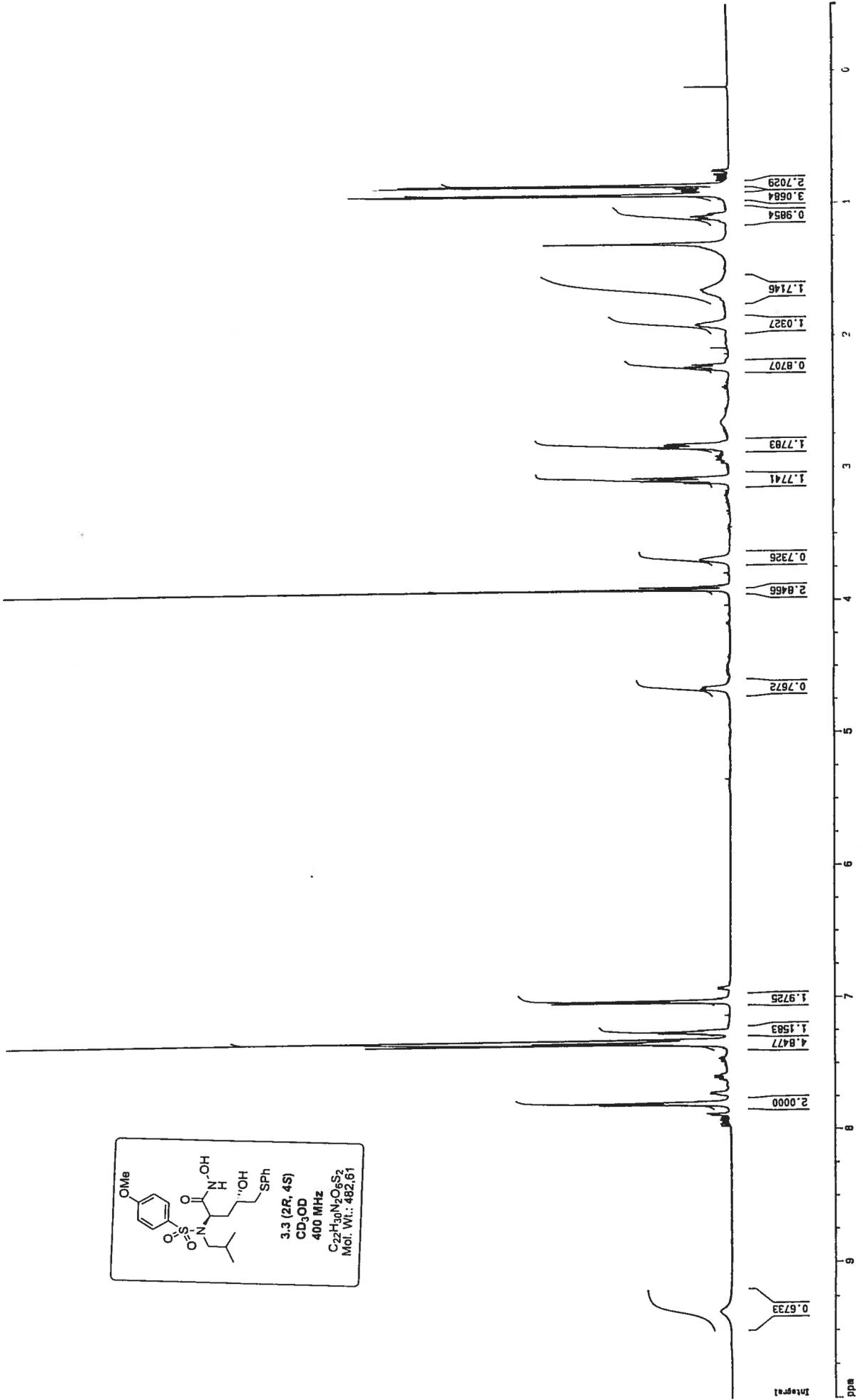
(b) Pinnick H. W.; Reynolds, M. A., Michael A. "An Improved Preparation of Sulfinic Salts and their Michael Addition to Enones." *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 160-161.

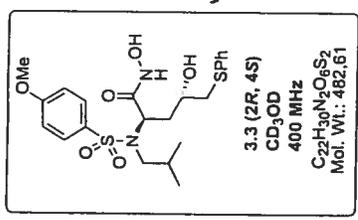
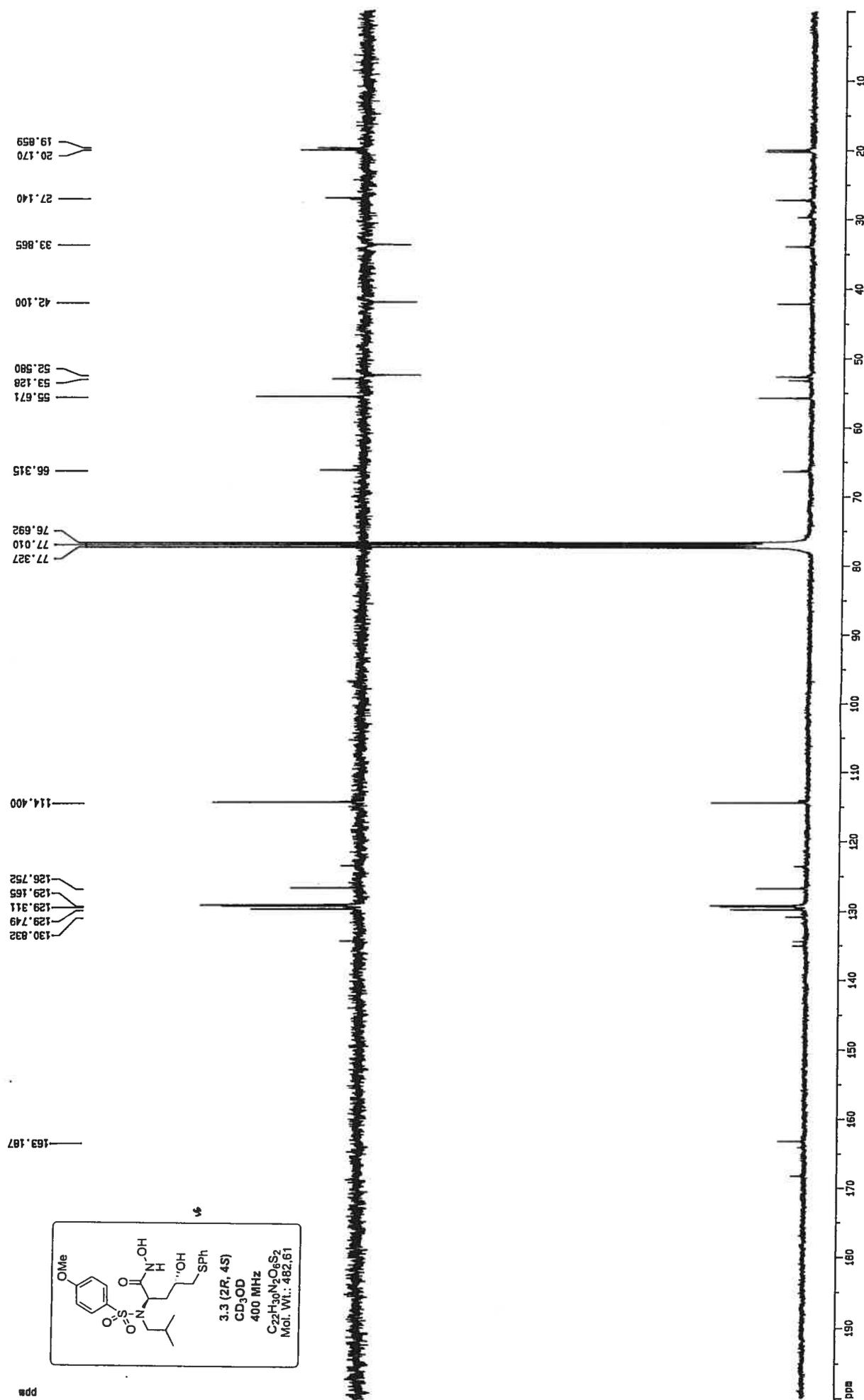
Annexe I

Spectres RMN ^1H et ^{13}C
de 3.3 (2*R*, 4*S*) et 3.3 (2*R*, 4*R*)3.3 (2*R*, 4*R*)3.3 (2*R*, 4*S*)









ppm

Annexe II

Rapport de cristallographie

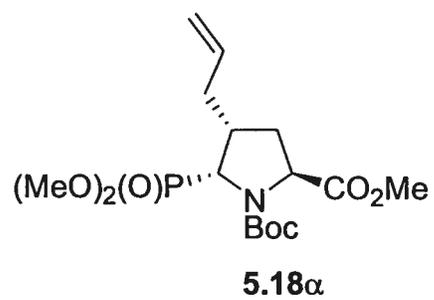


Table 1. Crystal data and structure refinement for C16 H28 N O7 P.

Identification code	HAN321
Empirical formula	C16 H28 N O7 P
Formula weight	377.364
Temperature	293(2)K
Wavelength	1.54184Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 8.72760(10)Å α = 90° b = 10.65140(10)Å β = 90° c = 21.8479(2)Å γ = 90°
Volume	2031.01(4)Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.2341 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.504 mm ⁻¹
F(000)	808.0
Crystal size	0.39 x 0.37 x 0.32 mm
Theta range for data collection	4.05 to 72.66°
Index ranges	-10<=h<=10, -10<=k<=12, -26<=l<=27
Reflections collected	12093
Independent reflections	3886 [R(int) = 0.0316]
Absorption correction	Multi-scan
Max. and min. transmission	0.7170 and 0.4370
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	3886 / 0 / 233
Goodness-of-fit on F ²	1.016
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0460, wR2 = 0.1264
R indices (all data)	R1 = 0.0481, wR2 = 0.1286
Absolute structure parameter	0.02(2)
Extinction coefficient	0.0011(3)
Largest diff. peak and hole	0.260 and -0.246 e.Å ⁻³

Table 5. Bond lengths [Å] and angles [°] for C16 H28 N O7 P

P(1)-O(1)	1.4654(15)	P(1)-O(3)	1.557(2)
P(1)-O(2)	1.580(2)	P(1)-C(5)	1.821(2)
O(2)-C(16)	1.443(5)	O(3)-C(17)	1.427(3)
O(6)-C(6)	1.207(2)	O(7)-C(6)	1.349(2)
O(7)-C(7)	1.478(2)	O(11)-C(11)	1.200(3)
O(12)-C(11)	1.331(3)	O(12)-C(12)	1.455(3)
N(1)-C(6)	1.363(2)	N(1)-C(2)	1.462(3)
N(1)-C(5)	1.469(2)	C(2)-C(11)	1.519(3)
C(2)-C(3)	1.531(3)	C(3)-C(4)	1.526(3)
C(4)-C(13)	1.535(3)	C(4)-C(5)	1.536(3)
C(7)-C(8)	1.502(4)	C(7)-C(10)	1.506(4)
C(7)-C(9)	1.514(4)	C(13)-C(14)	1.502(5)
C(14)-C(15)	1.189(7)		
O(1)-P(1)-O(3)	116.70(11)	O(1)-P(1)-O(2)	113.23(11)
O(3)-P(1)-O(2)	102.60(12)	O(1)-P(1)-C(5)	113.51(9)
O(3)-P(1)-C(5)	102.72(10)	O(2)-P(1)-C(5)	106.84(9)
C(16)-O(2)-P(1)	119.21(18)	C(17)-O(3)-P(1)	123.0(2)
C(6)-O(7)-C(7)	120.88(16)	C(11)-O(12)-C(12)	115.30(18)
C(6)-N(1)-C(2)	121.71(15)	C(6)-N(1)-C(5)	120.65(16)
C(2)-N(1)-C(5)	112.53(15)	N(1)-C(2)-C(11)	111.01(15)
N(1)-C(2)-C(3)	103.30(16)	C(11)-C(2)-C(3)	109.59(19)
C(4)-C(3)-C(2)	103.19(17)	C(3)-C(4)-C(13)	115.4(2)
C(3)-C(4)-C(5)	103.03(17)	C(13)-C(4)-C(5)	117.28(19)
N(1)-C(5)-C(4)	102.76(16)	N(1)-C(5)-P(1)	112.57(13)
C(4)-C(5)-P(1)	116.72(13)	O(6)-C(6)-O(7)	126.46(17)
O(6)-C(6)-N(1)	124.56(17)	O(7)-C(6)-N(1)	108.97(16)
O(7)-C(7)-C(8)	110.35(19)	O(7)-C(7)-C(10)	109.2(2)
C(8)-C(7)-C(10)	113.2(3)	O(7)-C(7)-C(9)	102.27(19)
C(8)-C(7)-C(9)	110.2(3)	C(10)-C(7)-C(9)	111.0(2)
O(11)-C(11)-O(12)	124.7(2)	O(11)-C(11)-C(2)	125.02(18)
O(12)-C(11)-C(2)	110.24(17)	C(14)-C(13)-C(4)	111.6(2)
C(15)-C(14)-C(13)	132.0(6)		

Table 6. Torsion angles [°] for C16 H28 N O7 P.

O(1)-P(1)-O(2)-C(16)	-40.8(2)
O(3)-P(1)-O(2)-C(16)	-167.4(2)
C(5)-P(1)-O(2)-C(16)	84.9(2)
O(1)-P(1)-O(3)-C(17)	-37.6(3)
O(2)-P(1)-O(3)-C(17)	86.8(3)
C(5)-P(1)-O(3)-C(17)	-162.4(3)
C(6)-N(1)-C(2)-C(11)	-48.6(2)
C(5)-N(1)-C(2)-C(11)	106.28(18)
C(6)-N(1)-C(2)-C(3)	-165.93(19)
C(5)-N(1)-C(2)-C(3)	-11.1(2)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	30.9(2)
C(11)-C(2)-C(3)-C(4)	-87.4(2)
C(2)-C(3)-C(4)-C(13)	-168.4(2)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-39.2(2)
C(6)-N(1)-C(5)-C(4)	141.98(18)
C(2)-N(1)-C(5)-C(4)	-13.2(2)
C(6)-N(1)-C(5)-P(1)	-91.63(19)
C(2)-N(1)-C(5)-P(1)	113.23(16)
C(3)-C(4)-C(5)-N(1)	32.04(18)
C(13)-C(4)-C(5)-N(1)	160.0(2)
C(3)-C(4)-C(5)-P(1)	-91.64(17)
C(13)-C(4)-C(5)-P(1)	36.3(3)
O(1)-P(1)-C(5)-N(1)	177.79(14)
O(3)-P(1)-C(5)-N(1)	-55.30(17)
O(2)-P(1)-C(5)-N(1)	52.27(16)
O(1)-P(1)-C(5)-C(4)	-63.72(18)
O(3)-P(1)-C(5)-C(4)	63.18(17)
O(2)-P(1)-C(5)-C(4)	170.76(16)
C(7)-O(7)-C(6)-O(6)	-11.9(3)
C(7)-O(7)-C(6)-N(1)	168.75(18)
C(2)-N(1)-C(6)-O(6)	162.2(2)
C(5)-N(1)-C(6)-O(6)	9.4(3)
C(2)-N(1)-C(6)-O(7)	-18.4(2)
C(5)-N(1)-C(6)-O(7)	-171.29(17)
C(6)-O(7)-C(7)-C(8)	-53.2(3)
C(6)-O(7)-C(7)-C(10)	71.9(3)
C(6)-O(7)-C(7)-C(9)	-170.5(2)
C(12)-O(12)-C(11)-O(11)	-1.1(3)
C(12)-O(12)-C(11)-C(2)	175.9(2)
N(1)-C(2)-C(11)-O(11)	-31.2(3)
C(3)-C(2)-C(11)-O(11)	82.3(3)
N(1)-C(2)-C(11)-O(12)	151.87(17)
C(3)-C(2)-C(11)-O(12)	-94.7(2)
C(3)-C(4)-C(13)-C(14)	-70.0(4)
C(5)-C(4)-C(13)-C(14)	168.2(3)
C(4)-C(13)-C(14)-C(15)	130.7(5)

Calcul de plans pour HAN321

PLAN 1

Least-squares planes (x,y,z in crystal coordinates) and deviations from them
 (* indicates atom used to define plane)

$$5.4769 (0.0078) x - 6.9733 (0.0089) y + 9.2070 (0.0219) z = 7.3849 (0.0180)$$

* -0.0068 (0.0012) N1
 * -0.1341 (0.0013) C2
 * 0.2305 (0.0015) C3
 * -0.2343 (0.0014) C4
 * 0.1448 (0.0012) C5
 -0.5134 (0.0034) C6
 -0.7167 (0.0041) O6
 -0.7283 (0.0038) O7

Rms deviation of fitted atoms = 0.1715

PLAN 2

$$6.1337 (0.0092) x - 5.9379 (0.0147) y + 9.6554 (0.0219) z = 8.4446 (0.0204)$$

Angle to previous plane (with approximate esd) = 7.15 (0.20)

* 0.1179 (0.0009) N1
 * -0.1835 (0.0014) C2
 * 0.1780 (0.0013) C3
 * -0.1124 (0.0008) C4
 0.3780 (0.0032) C5
 -0.3253 (0.0037) C6
 -0.3818 (0.0050) O6
 -0.6672 (0.0038) O7

Rms deviation of fitted atoms = 0.1516

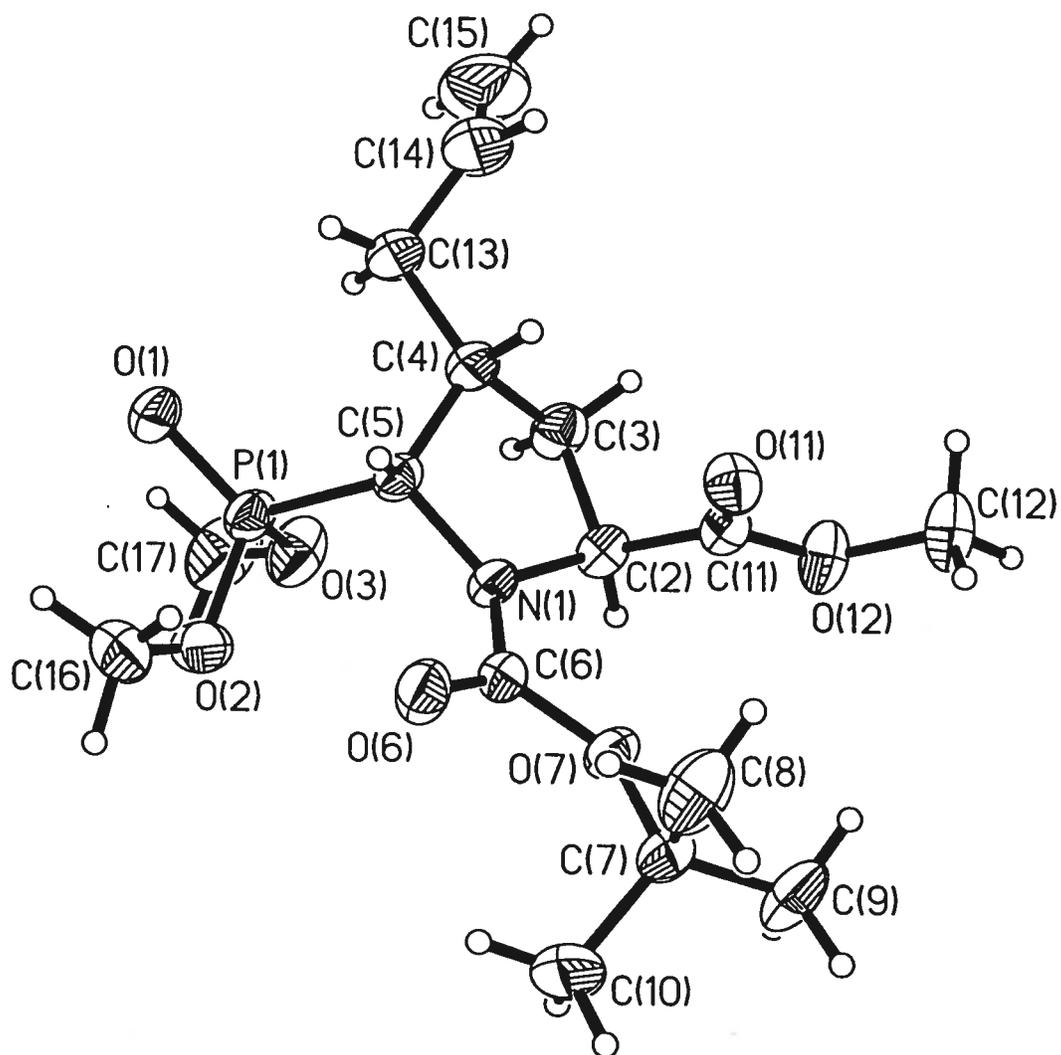
PLAN 3

$$5.7821 (0.0077) x - 7.5311 (0.0079) y + 5.4032 (0.0328) z = 4.5033 (0.0244)$$

Angle to previous plane (with approximate esd) = 14.29 (0.20)

* 0.0628 (0.0012) N1
 * -0.0592 (0.0012) C2
 * 0.0352 (0.0007) C3
 * -0.0388 (0.0008) C5
 -0.5740 (0.0035) C4
 -0.2507 (0.0039) C6
 -0.4670 (0.0046) O6
 -0.2618 (0.0048) O7

Rms deviation of fitted atoms = 0.0505



ORTEP view of the C₁₆ H₂₈ N O₇ P compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.

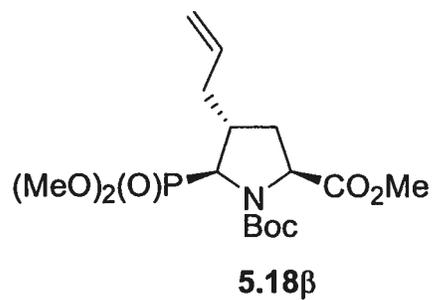
Annexe III**Rapport de cristallographie**

Table 1. Crystal data and structure refinement for C₁₆ H₂₈ N O₇ P.

Identification code	HAN322
Empirical formula	C ₁₆ H ₂₈ N O ₇ P
Formula weight	377.364
Temperature	293(2)K
Wavelength	1.54184Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 10.106(3)Å α = 90° b = 10.272(4)Å β = 90° c = 19.673(6)Å γ = 90°
Volume	2042.2(12)Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.2273 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.496 mm ⁻¹
F(000)	808.0
Crystal size	0.52 × 0.48 × 0.44 mm
Theta range for data collection	4.50 to 69.94°
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -12 ≤ k ≤ 12, -23 ≤ l ≤ 23
Reflections collected	14308
Independent reflections	3868 [R(int) = 0.044]
Absorption correction	Integration
Max. and min. transmission	0.6388 and 0.5125
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	3868 / 0 / 233
Goodness-of-fit on F ²	1.041
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0369, wR2 = 0.1015
R indices (all data)	R1 = 0.0390, wR2 = 0.1030
Absolute structure parameter	-0.01(2)
Extinction coefficient	0.0178(9)
Largest diff. peak and hole	0.225 and -0.230 e.Å ⁻³

Table 5. Bond lengths [Å] and angles [°] for C16 H28 N O7 P

P(1)-O(1)	1.4531(15)	P(1)-O(2)	1.5592(16)
P(1)-O(3)	1.5677(16)	P(1)-C(5)	1.8165(18)
O(2)-C(16)	1.446(3)	O(3)-C(17)	1.423(2)
O(6)-C(6)	1.218(2)	O(7)-C(6)	1.334(2)
O(7)-C(7)	1.474(2)	O(11)-C(11)	1.203(2)
O(12)-C(11)	1.315(3)	O(12)-C(12)	1.442(3)
N(1)-C(6)	1.353(2)	N(1)-C(2)	1.463(2)
N(1)-C(5)	1.467(2)	C(2)-C(11)	1.507(3)
C(2)-C(3)	1.529(3)	C(3)-C(4)	1.524(3)
C(4)-C(5)	1.534(3)	C(4)-C(13)	1.538(3)
C(7)-C(9)	1.498(3)	C(7)-C(8)	1.511(3)
C(7)-C(10)	1.514(4)	C(13)-C(14)	1.484(3)
C(14)-C(15)	1.270(5)		
O(1)-P(1)-O(2)	113.91(9)	O(1)-P(1)-O(3)	116.12(9)
O(2)-P(1)-O(3)	102.90(11)	O(1)-P(1)-C(5)	115.50(9)
O(2)-P(1)-C(5)	107.93(8)	O(3)-P(1)-C(5)	98.74(8)
C(16)-O(2)-P(1)	121.43(18)	C(17)-O(3)-P(1)	121.92(16)
C(6)-O(7)-C(7)	122.36(15)	C(11)-O(12)-C(12)	116.55(19)
C(6)-N(1)-C(2)	118.56(15)	C(6)-N(1)-C(5)	125.74(14)
C(2)-N(1)-C(5)	112.40(15)	N(1)-C(2)-C(11)	114.97(16)
N(1)-C(2)-C(3)	103.45(15)	C(11)-C(2)-C(3)	111.51(17)
C(4)-C(3)-C(2)	104.22(16)	C(3)-C(4)-C(5)	102.61(16)
C(3)-C(4)-C(13)	111.67(19)	C(5)-C(4)-C(13)	111.00(18)
N(1)-C(5)-C(4)	103.01(15)	N(1)-C(5)-P(1)	112.61(12)
C(4)-C(5)-P(1)	112.33(13)	O(6)-C(6)-O(7)	126.36(17)
O(6)-C(6)-N(1)	122.66(16)	O(7)-C(6)-N(1)	110.97(14)
O(7)-C(7)-C(9)	109.8(2)	O(7)-C(7)-C(8)	101.63(17)
C(9)-C(7)-C(8)	111.3(2)	O(7)-C(7)-C(10)	110.5(2)
C(9)-C(7)-C(10)	112.0(2)	C(8)-C(7)-C(10)	111.1(3)
O(11)-C(11)-O(12)	124.8(2)	O(11)-C(11)-C(2)	122.1(2)
O(12)-C(11)-C(2)	113.01(16)	C(14)-C(13)-C(4)	112.6(2)
C(15)-C(14)-C(13)	126.5(3)		

Table 6. Torsion angles [°] for C16 H28 N O7 P.

O(1)-P(1)-O(2)-C(16)	-28.8(2)
O(3)-P(1)-O(2)-C(16)	-155.32(19)
C(5)-P(1)-O(2)-C(16)	100.9(2)
O(1)-P(1)-O(3)-C(17)	-40.0(2)
O(2)-P(1)-O(3)-C(17)	85.1(2)
C(5)-P(1)-O(3)-C(17)	-164.1(2)
C(6)-N(1)-C(2)-C(11)	-70.7(2)
C(5)-N(1)-C(2)-C(11)	128.66(17)
C(6)-N(1)-C(2)-C(3)	167.51(17)
C(5)-N(1)-C(2)-C(3)	6.8(2)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-27.8(2)
C(11)-C(2)-C(3)-C(4)	-151.86(17)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	37.8(2)
C(2)-C(3)-C(4)-C(13)	-81.1(2)
C(6)-N(1)-C(5)-C(4)	-142.43(18)
C(2)-N(1)-C(5)-C(4)	16.57(19)
C(6)-N(1)-C(5)-P(1)	96.33(19)
C(2)-N(1)-C(5)-P(1)	-104.67(15)
C(3)-C(4)-C(5)-N(1)	-32.99(19)
C(13)-C(4)-C(5)-N(1)	86.43(19)
C(3)-C(4)-C(5)-P(1)	88.44(17)
C(13)-C(4)-C(5)-P(1)	-152.14(15)
O(1)-P(1)-C(5)-N(1)	64.88(15)
O(2)-P(1)-C(5)-N(1)	-63.90(14)
O(3)-P(1)-C(5)-N(1)	-170.59(14)
O(1)-P(1)-C(5)-C(4)	-50.89(16)
O(2)-P(1)-C(5)-C(4)	-179.67(13)
O(3)-P(1)-C(5)-C(4)	73.64(15)
C(7)-O(7)-C(6)-O(6)	0.2(3)
C(7)-O(7)-C(6)-N(1)	-179.49(19)
C(2)-N(1)-C(6)-O(6)	8.1(3)
C(5)-N(1)-C(6)-O(6)	165.97(19)
C(2)-N(1)-C(6)-O(7)	-172.16(17)
C(5)-N(1)-C(6)-O(7)	-14.3(3)
C(6)-O(7)-C(7)-C(9)	-65.0(3)
C(6)-O(7)-C(7)-C(8)	177.0(2)
C(6)-O(7)-C(7)-C(10)	59.0(3)
C(12)-O(12)-C(11)-O(11)	0.6(3)
C(12)-O(12)-C(11)-C(2)	-175.2(2)
N(1)-C(2)-C(11)-O(11)	158.7(2)
C(3)-C(2)-C(11)-O(11)	-84.0(3)
N(1)-C(2)-C(11)-O(12)	-25.4(2)
C(3)-C(2)-C(11)-O(12)	92.0(2)
C(3)-C(4)-C(13)-C(14)	-179.3(2)
C(5)-C(4)-C(13)-C(14)	66.8(3)
C(4)-C(13)-C(14)-C(15)	-110.5(3)

Calcul de plans pour HAN322

PLAN 1

Least-squares planes (x,y,z in crystal coordinates) and deviations from them
 (* indicates atom used to define plane)

$$7.4402 (0.0077) x + 3.0005 (0.0108) y - 12.0096 (0.0170) z = 5.9040 (0.0088)$$

*	0.0295	(0.0012)	N1
*	0.1112	(0.0013)	C2
*	-0.2146	(0.0014)	C3
*	0.2319	(0.0014)	C4
*	-0.1580	(0.0012)	C5
	0.5126	(0.0031)	C6
	0.8793	(0.0036)	O6
	0.5173	(0.0037)	O7

Rms deviation of fitted atoms = 0.1662

PLAN 2

$$7.1816 (0.0086) x + 1.8658 (0.0143) y - 13.3720 (0.0199) z = 5.0949 (0.0123)$$

Angle to previous plane (with approximate esd) = 7.62 (0.17)

*	-0.1052	(0.0009)	N1
*	0.1634	(0.0013)	C2
*	-0.1593	(0.0013)	C3
*	0.1010	(0.0008)	C4
	-0.4060	(0.0029)	C5
	0.3224	(0.0033)	C6
	0.7911	(0.0036)	O6
	0.1506	(0.0045)	O7

Rms deviation of fitted atoms = 0.1354

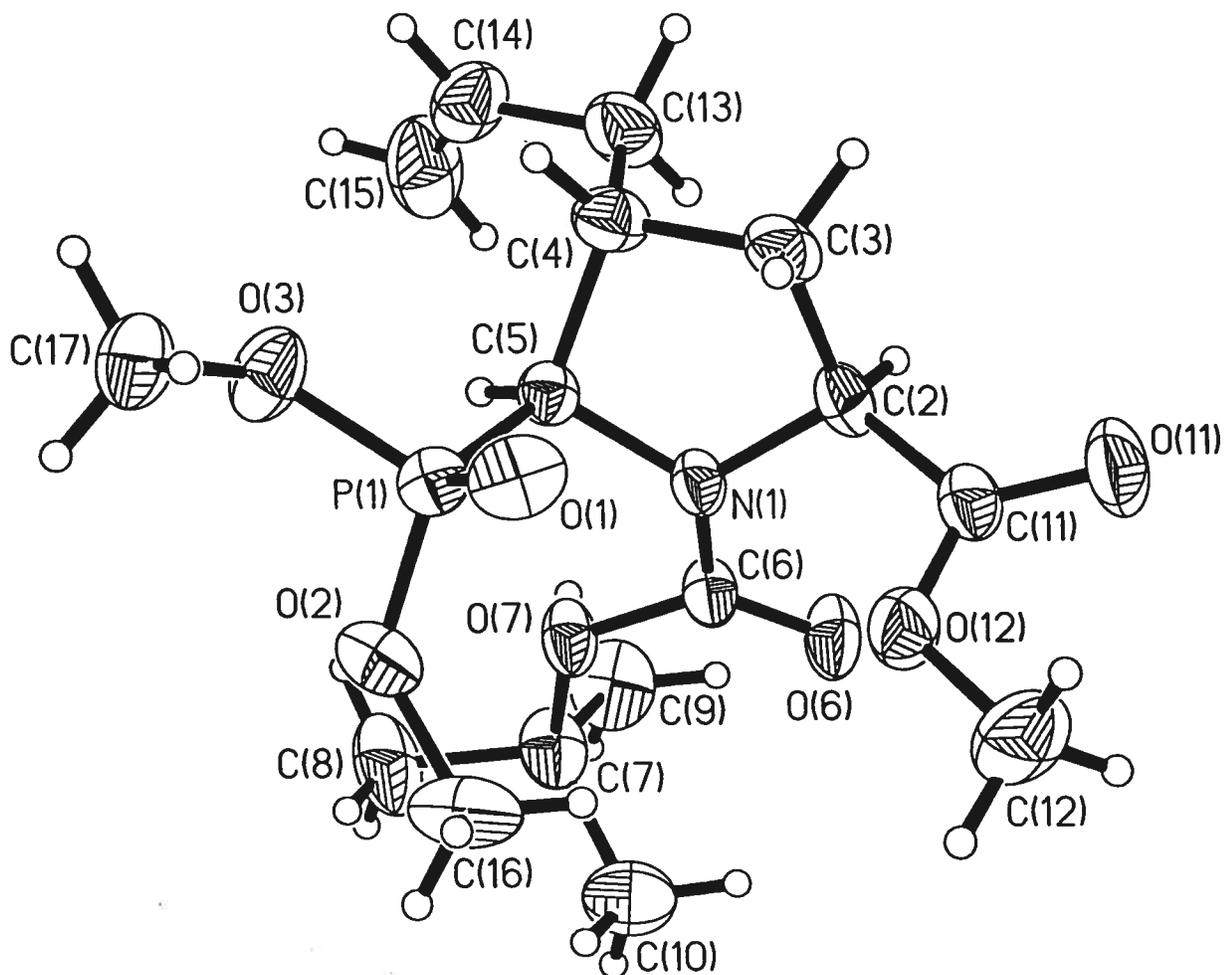
PLAN 3

$$8.5590 (0.0082) x + 2.4522 (0.0115) y - 9.3470 (0.0222) z = 6.8599 (0.0084)$$

Angle to previous plane (with approximate esd) = 14.50 (0.16)

*	-0.0387	(0.0011)	N1
*	0.0366	(0.0011)	C2
*	-0.0219	(0.0007)	C3
*	0.0241	(0.0007)	C5
	0.5688	(0.0032)	C4
	0.2442	(0.0035)	C6
	0.4173	(0.0044)	O6
	0.2948	(0.0039)	O7

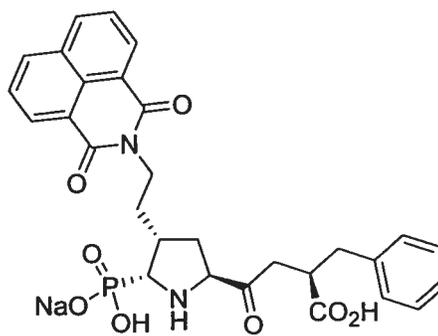
Rms deviation of fitted atoms = 0.0312



ORTEP view of the C₁₆ H₂₈ N O₇ P compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.

Annexe IV

Exemple de spectres RMN ^1H et ^{13}C d'un inhibiteur de type acide phosphonique



5.24 α

27.7
35.0
38.2
38.8
40.2
57.5
59.6

121.5
127.6
127.7
127.9
129.3
130.0
131.7
132.4
136.0
138.6

166.2

ppm

