

Université de Montréal

**Synthèse et Applications des Sulfamidates Cycliques**

Par

Fabrice Galaud

Département de chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures

En vue de l'obtention du grade de

Maîtrise ès Science (M. Sc.)

En Chimie

Septembre 2005

© Fabrice Galaud, 2005



QD

3

U54

2006

v.001

**Direction des bibliothèques**

**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

Ce mémoire intitulé :

**Synthèse et Applications des Sulfamidates Cycliques**

Présenté par :

Fabrice Galaud

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Professeur Andreea R. Schmitzer	Présidente-rapporteur
Professeur William D. Lubell	Directeur de recherche
Professeur Stephen Hanessian	Membre du jury

## SOMMAIRE

Ce mémoire présente la synthèse de nouveaux sulfamidates cycliques à six membres et leur utilisation.

Dans un premier temps, une nouvelle méthodologie pour synthétiser des lactames dipeptidiques énantiomériquement pures à partir du sulfamidate cyclique (4*S*)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [PhF = 9-(9-phényle)-fluorényle] a été élaborée. L'application de ces nouveaux lactames dipeptidiques pourrait servir pour l'étude de la relation entre l'activité et la conformation des peptides biologiquement actifs. De plus, cette méthodologie permet d'obtenir toute une série de lactames dipeptidiques possédant des chaînes latérales aussi variées qu'une amine, un carboxylate, un thioéther, un groupement aromatique ou aliphatique.

Par la suite, pour valider cette méthodologie, deux analogues peptidiques ont été synthétisés. Le premier, analogue du PLG (Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), a été réalisé en solution tandis que le second, analogue du GHRP-6 (Growth Hormone Releasing Peptide), a été effectué sur support solide et son activité a été évaluée en comparaison à celle du peptide parent.

Dans un dernier chapitre, la synthèse ainsi que la caractérisation de deux nouveaux sulfamidates cycliques, le (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Boc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate et le (4*R*)-cumyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, y sont décrites. Pour la première fois, une analyse aux rayons X a été obtenue pour un sulfamidate cyclique à six membres possédant un carbamate. De

l'ouverture du sulfamidate cyclique (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate par attaque nucléophile de l'amine primaire d'un acide aminé greffé sur une résine a été obtenue, permettant d'entrevoir la possibilité de réaliser un criblage en insérant des  $\gamma$ -lactames dans différents peptides biologiquement actifs.

Le travail effectué dans ce mémoire apporte une meilleure compréhension sur l'utilisation et la réactivité des sulfamidates cycliques à six membres.

## MOTS CLÉS

sulfamidates cycliques à six membres, lactames de Freidinger,  $\gamma$ -lactame, peptidomimétisme, analogue peptidique du PLG (Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), analogues peptidiques du GHRP-6 (Growth Hormone Releasing Peptide), support solide, acides aminés, repliement  $\beta$

## ABSTRACT

This thesis presents the synthesis of new six-membered ring cyclic sulfamidates and their use.

First, a new methodology for synthesizing enantiomerically pure  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptides has been developed, featuring the ring opening of (4*S*)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [PhF = 9-(9-phenyl)-fluorenyl]. This methodology and the resulting building blocks should find general application for introducing conformational constraints into biologically active peptides to study structure-activity relationships. Moreover, this methodology afforded a variety of constrained dipeptides possessing aliphatic, aromatic, amino, thioether and carboxylate side chains.

In the second part, two peptide analogs were synthesized to demonstrate the efficiency of this methodology. The first one, PLG analog (Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), was synthesized in solution whereas the second, GHRP-6 analog, was synthesized on solid support and its activity was evaluated and compared with native GHRP-6.

Finally, the synthesis and characterization of two new cyclic sulfamidates, (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Boc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate and (4*R*)-cumyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, were described. For the first time, an X-ray structure of a cyclic sulfamidate possessing carbamate was obtained. Moreover,  $\gamma$ -lactam formation could be performed on a solid support. Ring opening of (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate with the primary amine of an amino acid grafted onto a solid support could be obtained. This approach

now allows the possibility of performing a  $\gamma$ -lactam insertion scan in different biologically active peptides.

The work described in this thesis has increased our understanding of the use and the reactivity of six-membered ring cyclic sulfamidates.

## KEY WORDS

Six-membered ring cyclic sulfamidates, Freidinger lactams,  $\gamma$ -lactam, peptidomimetics, peptide analog of PLG (Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), peptide analogs of GHRP-6 (Growth Hormone Releasing Peptide), solid support, amino acids,  $\beta$ -turn

**TABLE DES MATIÈRES**

<b>SOMMAIRE</b>	<b>I</b>
<b>MOTS CLÉS</b>	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS</b>	<b>IV</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTE DES SCHÉMAS</b>	<b>X</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>XII</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b>	<b>XIII</b>
<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>XVII</b>
<b>CHAPITRE 1</b>	
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
1.1 Les peptides	2
1.2 Structures secondaires des peptides	3
1.3 Peptidomimétisme	6
1.4 Conception de mimes peptidiques	8
1.5 Synthèse et incorporation de lactames de Freidinger	12
1.6 Conclusion	19
1.7 Références	20
<b>CHAPITRE 2</b>	
<b>Article 1 :</b>	
<b>Homoserine-Derived Cyclic Sulfamidate as Chiral Educt for The Diversity Oriented Synthesis of Lactam-Bridged Dipeptides</b>	<b>28</b>
2.1 Abstract	29
2.2 Introduction	30
2.3 Results and Discussion	34

2.4 Conclusion	40
2.5 Experimental Section	41
2.6 References	59
<b>CHAPITRE 3</b>	
<b>Synthèse et Biologie d'Analogues de GHRP-6 contenant des Lactames de Freidinger</b>	<b>62</b>
3.1 Introduction	63
3.2 Résultats et Discussion	66
3.2.1 Chimie en solution	66
3.2.2 Synthèse peptidique	71
3.2.3 Biologie	73
3.3 Conclusion	75
3.4 Partie Expérimentale	76
3.5 Références	91
<b>CHAPITRE 4</b>	
<b>Synthèse et caractérisation d'une seconde génération de sulfamidates cycliques</b>	<b>97</b>
4.1 Synthèse et étude structurale des <i>N</i> -acyl sulfamidates cycliques	98
4.2 Tentatives de formation de lactame de Freidinger sur support solide	103
4.3 Conclusion	105
4.4 Partie Expérimentale	107
4.5 Références	114
<b>CHAPITRE 5</b>	
<b>Conclusion</b>	<b>116</b>
5.1 Conclusion	117
5.2 Références	121

<b>ANNEXE 1</b>	<b>XVIII</b>
Données spectrales de l'article 1 du Chapitre 2	
<b>ANNEXE 2</b>	<b>LXXVIII</b>
Données spectrales du Chapitre 3	
<b>ANNEXE 3</b>	<b>CXVI</b>
Données spectrales du Chapitre 4	

## LISTE DES FIGURES

## CHAPITRE 1

<b>Figure 1.</b> Angle de torsion d'une chaîne peptidique	3
<b>Figure 2.</b> Structure générale des repliements $\beta$ et $\gamma$	4
<b>Figure 3.</b> Équilibre conformationnel des peptides	7
<b>Figure 4.</b> Produits naturels contenant un lactame dipeptidique	9
<b>Figure 5.</b> Lactame de Freidinger et analogue 4 de LHRH	10
<b>Figure 6.</b> Hexapeptides 5	11
<b>Figure 7.</b> Analogues contraints de l'Enképhaline ( $n = 1,2,3$ )	11
<b>Figure 8.</b> Mime peptidique 21 du PLG	18
<b>Figure 9.</b> Sulfamidates (4 <i>S</i> )-22 et (4 <i>R</i> )-22 et analogues ( <i>S</i> )-23 et ( <i>R</i> )-23 du GHRP-6	18
<b>Figure 10.</b> Sulfamidites 24 et sulfamidate 25	19

## CHAPITRE 2

<b>Figure 1.</b> Representative examples of structurally constrained analogs of biologically active peptides that possess Freidinger Lactams	31
<b>Figure 2.</b> Influence of S-O bond anisotropy on chemical shift in sulfamidites 7 and sulfamidate 8	36

## CHAPITRE 3

<b>Figure 1.</b> Structures d'analogues de GHRP, et sécrétagogues non peptidiques de GH	64
<b>Figure 2.</b> Analogues du GHRP-6 possédant des lactames de Freidinger	65
<b>Figure 3.</b> Sulfamidates cycliques (4 <i>S</i> )-2 et (4 <i>S</i> )-4, lactames dipeptidiques (3 <i>S</i> ,2' <i>S</i> )-3, (3 <i>S</i> ,2' <i>S</i> )-5 et (3 <i>S</i> ,2' <i>S</i> )-6	67
<b>Figure 4.</b> Essai de cotransfection	74

**CHAPITRE 4**

- Figure 1.** Représentations en 3 dimensions du sulfamidate (4*S*)-**6** 101
- Figure 2.** Sulfamidates cycliques à cinq membres **9** et à six membres **10** 102

**CHAPITRE 5**

- Figure 1.** Schéma général 117
- Figure 2.** Synthèse de la *N*-(Fmoc)amino lactame (3*S*,2'*S*)-**2** à partir de l'ester méthylique de la lactame dipeptidique *N*-(PhF) (3*S*,2'*S*)-**1** 119

## LISTE DES SCHÉMAS

### CHAPITRE 1

<b>Schéma 1.</b> Synthèse d'un lactame dipeptidique avec la méthode au sel de sulfonium	12
<b>Schéma 2.</b> Synthèse via le diméthyle aspartate	13
<b>Schéma 3.</b> Synthèse de spirolactames et de l'analogue peptidique GR71251	14
<b>Schéma 4.</b> Synthèse de la spirolactame <b>15</b> et d'un analogue peptidique <b>16</b> du tripeptide Pro-Leu-Gly-NH <sub>2</sub> (PLG)	15
<b>Schéma 5.</b> Synthèse de $\gamma$ -lactames terminales et internes	16
<b>Schéma 6.</b> Stratégie générale pour la synthèse de $\gamma$ -lactames dipeptidiques <b>20</b>	17

### CHAPITRE 2

<b>Scheme 1.</b> Synthesis of $\gamma$ -lactam using protected methionine dipeptides	32
<b>Scheme 2.</b> 6-Membered cyclic sulfamidate ring opening with an amine nucleophile	33
<b>Scheme 3.</b> Synthesis of sulfamidate cumyl ester <b>8</b>	35
<b>Scheme 4.</b> Ring opening of six-membered sulfamidate <b>8</b>	38
<b>Scheme 5.</b> Synthesis of $\alpha$ -amino $\gamma$ -lactam dipeptides <b>12</b>	39
<b>Scheme 6.</b> PLG analogue synthesis	40

### CHAPITRE 3

<b>Schéma 1.</b> Synthèse du sulfamidate (4 <i>S</i> )- <b>4</b> à partir de L-Asp	68
<b>Schéma 2.</b> Synthèse du <i>N</i> -(Fmoc)sulfamidate (4 <i>R</i> )- <b>4</b> à partir de D-Asp	69
<b>Schéma 3.</b> Synthèse de $\alpha$ -amino $\gamma$ -lactame dipeptidique (3 <i>S</i> ,2' <i>S</i> )- <b>6</b>	71
<b>Schéma 4.</b> Synthèse sur support solide de l'analogue ( <i>S</i> )- <b>1</b> de GHRP-6	73

### CHAPITRE 4

<b>Schéma 1 :</b> Synthèse des sulfamidites <b>5</b> et du sulfamidate (4 <i>S</i> )- <b>6</b>	98
--	----

**Schéma 2 : Synthèse du sulfamidate (4*R*)-15**

## LISTE DES TABLEAUX

## CHAPITRE 1

<b>Tableau 1.</b> Valeurs des angles de torsion pour des repliements $\beta$ et $\gamma$	5
--	---

## CHAPITRE 2

<b>Table 1.</b> Yields for the synthesis of secondary amine <b>10</b> and lactam <b>12</b>	39
--	----

## CHAPITRE 3

<b>Tableau 1.</b> Caractérisations spectrométriques et chromatographiques des analogues de GHRP-6 contenant une lactame de Freidinger	72
---	----

<b>Tableau 2.</b> Transactivation par médiation avec GHS-R1a de PPAR $\gamma$ par les analogues	75
---	----

## CHAPITRE 4

<b>Tableau 1.</b> Données spectrales pour les sulfamidate (4 <i>S</i> )- <b>6</b> et (4 <i>S</i> )- <b>7</b>	99
--	----

<b>Tableau 2.</b> Données spectrales pour les sulfamidites (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )- et (2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )- <b>5</b> , et (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )- et (2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )- <b>8</b>	100
---	-----

<b>Tableau 3.</b> Données structurales des différents sulfamidates	102
--	-----

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

$[\alpha]$	Pouvoir rotatoire spécifique [en (deg mL) / (g dm)]
Å	Angstrom
Ac	Acétyle
Ac <sub>2</sub> O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
Ala	Alanine
Asp	Acide aspartique
aq.	Aqueux
atm	Atmosphère
Bn	Benzyle
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
br	<i>broad</i>
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyle
<i>c</i>	Concentration
°C	Degré Celcius
calcd	<i>calculated</i>
Cbz	Benzyloxycarbonyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
δ	Déplacement chimique en partie par million
d	Doublet
dd	Doublet de doublets
DIBAL-H	Hydruire de diisobutylaluminium
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCM	Dichlorométhane
dt	Doublet de triplet
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde

Et	Éthyle
Et <sub>2</sub> O	Éther diéthylique
EtOAc	<i>ethyl acetate</i>
EtOH	Éthanol
Fmoc	9-Fluorénylméthoxycarbonyle
Fmoc-OSu	N-(9-Fluorenylméthoxycarbonyloxy)succinimide
g	Gramme
GHRP	<i>Growth Hormone Releasing Peptide</i>
Glu	Acide glutamique
pGlu	Acide paraglutamique
Gly	Glycine
h	Heure(s)
HATU	2-(7-Aza-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate
His	Histidine
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazole
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
IR	Infra-rouge
<i>J</i>	Constante de couplage (hertz)
Leu	Leucine
LRMS	<i>Low Resolution Mass Spectrometry</i>
Lys	Lysine
μL	Microlitre
m	Multiplet
M	Mole par litre
Me	Méthyle
Met	Méthionine
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz

min	Minute(s)
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mmol	Millimole
Mol	Mole
mp	<i>Melting point</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
Orn	Ornithine
pf	point de fusion
Ph	phényle
Phe	Phénylalanine
PhF	9-(9-Phénylfluorényl)
ppm	Parties par million
<i>i</i> -Pr	<i>Iso</i> -Propyle
Pro	Proline
q	Quadruplet
quin	Quintuplet
<i>R<sub>f</sub></i>	<i>Retention factor</i>
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
rt	<i>Room temperature</i>
s	Singulet
Ser	Sérine
t	Triplet
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium tetrafluoroborate
td	Triplet de doublet
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TIS	Triisopropylsilane
TLC	<i>thin layer chromatography</i>
TMS	Tétraméthylsilane

Trp	Tryptophane
<i>p</i> -TsOH	acide <i>para</i> -toluènesulfonique
UV	Ultra-violet
Val	Valine
v/v	Volume à volume

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, j'aimerais remercier le professeur William D. Lubell de m'avoir accueilli dans son groupe et d'avoir pu ainsi approfondir ma formation en chimie. Sa passion, sa rigueur scientifique mais surtout sa vision des choses ont été pour moi une grande source de motivation et une expérience qui me servira dans le futur.

Merci à tous les membres du groupe, anciens ou présents, pour leur support et leur aide. Spécialement à Monsieur l'Ingénieur James E. Dettwiller, avec qui j'ai cohabité dans le modeste laboratoire B636 et qui m'a fait partager son goût de la musique... Je remercie Karine Gingras pour sa bonne humeur et de m'avoir aidé lors de passes difficiles.

Je remercie également Sylvie Bilodeau et Véronique Desjardins du laboratoire de résonance magnétique nucléaire, Francine Bélanger-Gariépy du laboratoire de diffraction des rayons X, Dalbir Sekhon pour les analyses et les purifications par LC-MS ainsi que la Dr Alexandra Fürtös pour sa disponibilité. Ne pas oublier Lyne Laurin qui par sa serviabilité et sa compétence nous a souvent rendu service.

Enfin et surtout, je tiens à remercier de tout cœur mes parents et toute ma famille pour leur appui et leur amour malgré la distance qui nous sépare. Arlène Roland pour m'avoir aidé pendant si longtemps et poussé à reprendre mes études. Eve Pomerleau, ainsi que toute sa petite famille, pour m'avoir soutenu tout au long de ce grand périple, et Dieu sait que ce ne fut pas de tout repos.... Merci à vous tous pour votre patience et votre amour...

# **CHAPITRE 1**

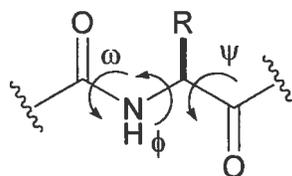
## **Introduction**

## 1.1 Les peptides

Les acides aminés sont des composés bifonctionnels avec une fonction acide et une fonction amine. Ces deux fonctions peuvent être situées sur le même carbone ou sur deux carbones différents, voire sur un cycle. Arbitrairement, on appellera **peptides** les enchaînements d'acides  $\alpha$ -aminés dont la masse est inférieure à 5000 et protéines ceux dont la masse est supérieure à 5000. Les peptides sont en général constitués de 2 à 50 acides aminés qui sont liés entre eux par une liaison amide. Ce sont souvent des molécules très flexibles et subissent des interconversions conformationnelles. Les peptides influencent de nombreux processus physiologiques en tant que neurotransmetteurs, neuromodulateurs et hormones; une fois liés à leurs récepteurs ils contrôlent toute une série de fonctions vitales tels que le métabolisme, la défense immunitaire, la respiration, la sensibilité à la douleur et la reproduction, par exemple.<sup>1</sup> La compréhension des mécanismes intervenant lors de la liaison des peptides avec leurs récepteurs, quels sont leurs rôles réels, pourraient mener au traitement de diverses maladies impliquant des peptides. Par conséquent, des peptides biologiquement actifs peuvent servir eux-mêmes d'agents thérapeutiques significatifs ou comme point de départ au développement de ces derniers.

## 1.2 Structures secondaires des peptides

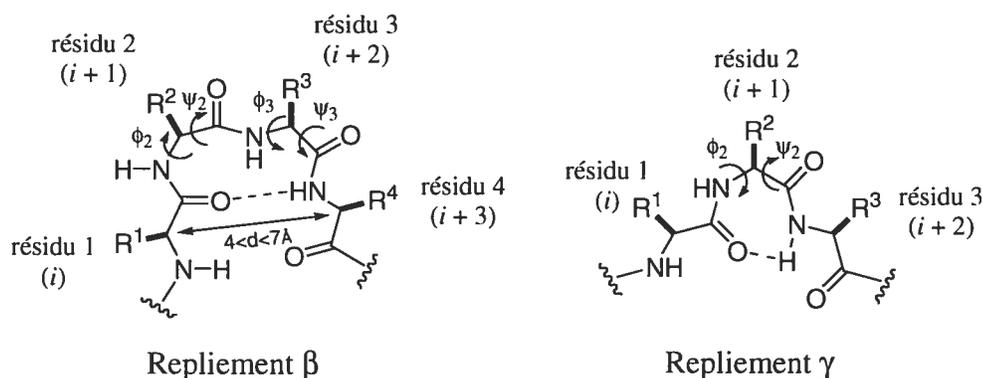
Les peptides possèdent différentes structures, la structure primaire, constituée de l'enchaînement des acides aminés qui composent le peptide, qui est responsable de ses propriétés chimiques. La structure secondaire est définie par les angles dièdres  $\omega$ ,  $\phi$  et  $\psi$  du squelette peptidique (Figure 1), la structure tertiaire par la séquence des structures secondaires d'une seule chaîne peptidique et la structure quaternaire par le mode d'assemblage de plusieurs chaînes peptidiques. L'emphase de la recherche s'est portée sur le design et la synthèse de structures rigides capable d'induire ou de stabiliser les structures secondaires peptidiques.<sup>2</sup>



**Figure 1.** Angles de torsion d'une chaîne peptidique.

Les repliements ( $\beta$  et  $\gamma$ ) sont une des classes les plus importantes des structures secondaires, avec les hélices  $\alpha$  et les feuillets plissés  $\beta$  ( $\beta$ -sheets). Un tour  $\beta$  ou  $\gamma$  est défini comme une région où une chaîne peptidique change sa direction de  $180^\circ$ , se repliant ainsi sur elle-même et pouvant former un pont hydrogène.<sup>3</sup> Quand le renversement de la chaîne a lieu avec un segment de quatre acides aminés, que la distance entre le C $\alpha$  du résidu  $i$  et le C $\alpha$  du résidu  $(i + 3)$  varie entre 4 et 7 Å, on a un

repliement de type  $\beta$ .<sup>4</sup> Dans la plupart des cas on a formation d'un pont hydrogène entre l'oxygène du carbonyle du premier résidu ( $i$ ) et le proton amide NH du quatrième résidu ( $i + 3$ ), donnant ainsi un pseudo-cycle à 10 membres qui stabilise le repliement (Figure 2). Différents types de repliements  $\beta$  existent et sont classés selon les angles de torsion  $\phi$  et  $\psi$  des résidus  $i + 1$  et  $i + 2$  (tableau 1).<sup>5</sup> Si le renversement concerne un segment de trois acides aminés on a un repliement  $\gamma$ , un pont hydrogène peut se former entre l'oxygène du carbonyle du résidu ( $i$ ) et le proton amide NH du résidu ( $i + 2$ ), donnant ainsi un pseudo-cycle à 7 membres qui stabilise le repliement (Figure 2).<sup>6</sup> Un repliement  $\gamma$  sera dit de type normal ou inverse selon les angles de torsion du résidu  $i + 1$  (Tableau 1). Le terme "ouvert" est utilisé pour un repliement  $\beta$  ou  $\gamma$  ne possédant pas de pont hydrogène.



**Figure 2.** Structure générale des repliements  $\beta$  et  $\gamma$ .<sup>4-6</sup>

**Tableau 1.** Valeurs des angles de torsion pour des repliements  $\beta$  et  $\gamma$ <sup>4-6</sup>

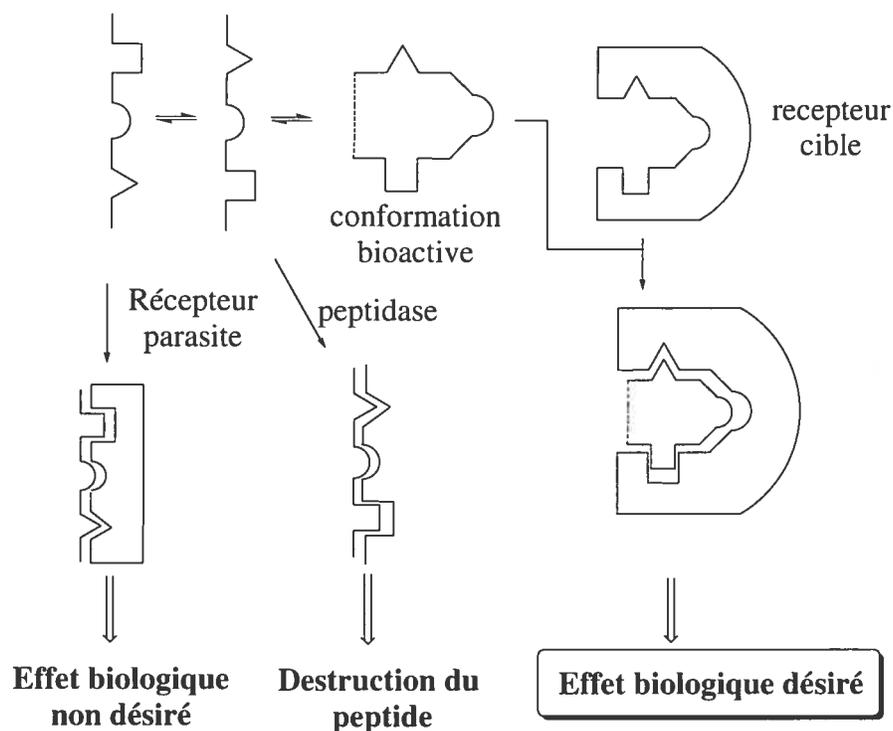
Type de repliement	$\phi_2$	$\psi_2$	$\phi_3$	$\psi_3$
$\gamma$ - normal	70 à 85	-60 à -70	-	-
$\gamma$ - inverse	-70 à -85	60 à 70	-	-
$\beta$ -I	-60	-30	-90	0
$\beta$ -I'	60	30	90	0
$\beta$ -II	-60	120	80	0
$\beta$ -II'	60	-120	-80	0
$\beta$ -III	-60	-30	-60	-30
$\beta$ -III'	60	30	60	30
$\beta$ -IV	un repliement avec 2 angles ou plus différent d'au moins 40° avec les valeurs ci-dessus			
$\beta$ -V	-80	80	80	-80
$\beta$ -V'	80	-80	-80	80
$\beta$ -VI	une liaison <i>cis</i> -Pro à la position 3			
$\beta$ -VIa	-60	120	-90	0
$\beta$ -VIb	-120	120	-60	0
$\beta$ -VII	-60	-30	-120	120
$\beta$ -VIII	une discontinuité dans la chaîne peptidique créée par $\psi_2 \sim 180^\circ$ et $\phi_3 < 60^\circ$ ou $\psi_2 < 60^\circ$ et $\phi_3 \sim 180^\circ$			

Le repliement  $\beta$  est un motif structural commun dans plusieurs peptides cycliques biologiquement actifs et supposé être la conformation active dans de

nombreux cas de peptides linéaires biologiquement actifs.<sup>3</sup> De plus, des études structurales ont révélé que certains peptides plus courts peuvent adopter un repliement de type  $\beta$  ou  $\gamma$  dans leur conformation biologiquement active.<sup>7-10</sup> On retrouve ce type de repliements régulièrement à la surface de protéines globulaires, exposant ainsi les chaînes latérales des acides aminés pouvant agir comme pharmacophores. Ceci a permis d'émettre l'hypothèse que ces types de repliements seraient impliqués dans le processus de reconnaissance moléculaire.<sup>3</sup>

### 1.3 Peptidomimétisme

L'utilisation des peptides en tant que médicament est malheureusement limitée par différents facteurs : (a) pauvre stabilité métabolique envers la protéolyse gastro-intestinale; (b) faible absorption après l'ingestion orale; (c) rapide excrétion par le foie ou les reins; (d) effets secondaires dus à la flexibilité conformationnelle des peptides pouvant se lier à d'autres récepteurs. Le défi est de surmonter ces limitations pour développer de nouveaux agents thérapeutiques. Une des voies utilisées est le développement de peptidomimétiques, qui a permis une meilleure compréhension de la relation entre l'activité biologique et la conformation.<sup>1,11</sup> Un **peptidomimétique** est un composé qui, en tant que ligand d'un récepteur, peut imiter (agoniste) ou bloquer (antagoniste) l'effet biologique d'un peptide. En solution les peptides existent sous différentes conformations qui sont en équilibre dynamique entre elles. Si une restriction conformationnelle est introduite dans la conformation bioactive du peptide, on peut augmenter l'effet biologique désiré (Figure 3).



**Figure 3.** Équilibre conformationnel des peptides.<sup>12</sup>

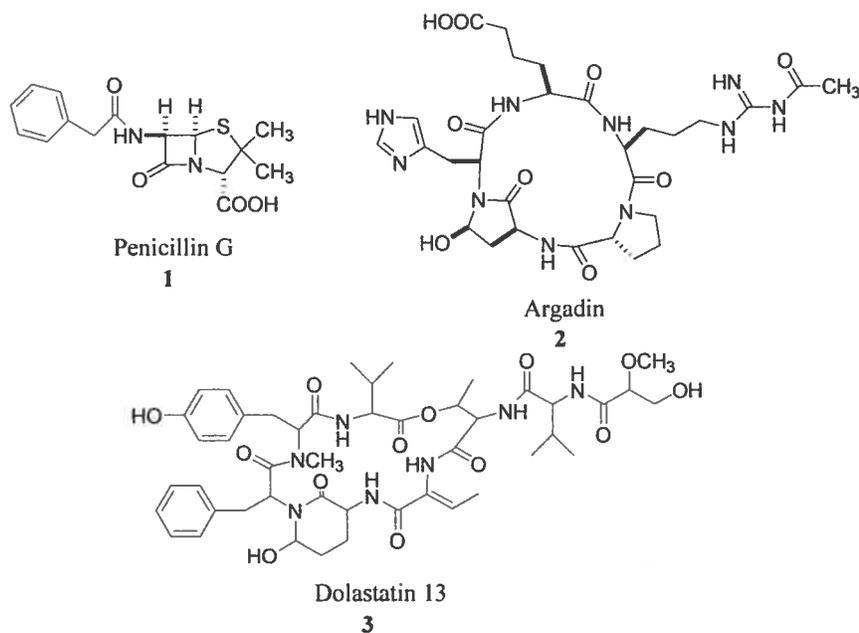
L'introduction de mimes de repliements dans de petits peptides est un outil important pour étudier les conformations bioactives et les relations conformation-activité. En rigidifiant la structure du peptide on bloque l'équilibre conformationnel, diminuant ainsi le nombre de conformations pouvant interagir avec le récepteur. De plus, si le mime peptidique se rapproche de la conformation bioactive du peptide, on a une bonne interaction entre le ligand peptidique et le récepteur, ceci menant à un effet biologique optimal et à une diminution de l'énergie nécessaire lors de la complexation entre le ligand et le récepteur.<sup>11</sup>

## 1.4 Conception de mimes peptidiques

Ainsi, comme les structures peptidiques existent sous la forme de conformères en équilibre, il est important d'en déterminer la conformation bioactive. Plusieurs techniques peuvent être utilisées, tels que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), la résonance magnétique nucléaire (RMN) ainsi que la diffraction des rayons X ou le dichroïsme circulaire (DC). Toutefois, il est souvent impossible de connaître avec exactitude la conformation responsable de l'activité. Ceci a mené au développement du concept de peptidomimétisme. En général, deux types de modifications conformationnelles sont présents dans la nature. Les modifications non-covalentes : incorporation d'acides aminés de configuration D, d'acides aminés N-méthylés, et d'acides aminés alkylés; et les covalentes : formation de peptides cycliques ou polycycliques utilisant la proline, les ponts disulfures ou une cyclisation par l'intermédiaire des liens amides.<sup>13</sup> De plus, on peut aussi y dénoter la présence de lactames : les  $\beta$ -lactames présents comme modification naturelle dans les pénicillines 1 et céphalosporines,<sup>14</sup> un  $\gamma$ -lactame dans l'argadine 2 (un produit fongique),<sup>15</sup> un  $\delta$ -lactame dans la dolastatine 13 (3, un produit naturel marin)<sup>16</sup> (Figure 4).

Un des premiers exemples de peptidomimétisme a été réalisé par Freidinger et son équipe en remplaçant la Gly<sup>6</sup> de LH-RH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone, pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>), une importante hormone de fertilité chez les mammifères, par une  $\gamma$ -lactame (Figure 5).<sup>13a</sup> De nombreux exemples d'analogues de LH-RH ont été synthétisés en incorporant

diverses modifications structurales. Par exemple, le remplacement de la Gly<sup>6</sup> par D-Ala<sup>6</sup> a fourni un analogue 3.7 fois plus actif que le peptide parent,<sup>17</sup> alors qu'avec L-Ala<sup>6</sup> l'activité diminuait.



**Figure 4.** Produits naturels contenant un lactame dipeptidique.<sup>14-16</sup>

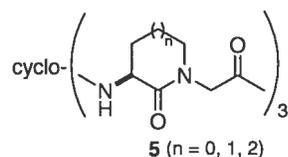
L'incorporation de la Leu<sup>7</sup> *N*-méthylée a aussi entraîné une hausse de la puissance.<sup>18</sup> Cette augmentation de l'activité avec l'incorporation de D-Ala<sup>6</sup> et Leu<sup>7</sup> *N*-méthylée suggère la présence d'un repliement  $\beta$  lors de la liaison avec le récepteur.<sup>19</sup> Des calculs théoriques sur les conformations de basse énergie effectués par Momany suggéraient de même la présence d'un repliement  $\beta$  et prévoyaient la stabilisation de cette conformation avec l'incorporation de D-Ala<sup>6</sup> et une déstabilisation des analogues comprenant la L-Ala<sup>6</sup>.<sup>20</sup>

La préparation de l'analogue 4 de LH-RH incorporant un  $\gamma$ -lactame possédant une activité 8.9 fois supérieure à celle du peptide parent a appuyé l'hypothèse de la présence d'un repliement  $\beta$  lors de la liaison avec le récepteur.<sup>13a</sup> Par la suite, une analyse RMN de cet analogue 4 a effectivement montré que cette contrainte stabilisait la conformation d'un repliement  $\beta$  dans le peptide.<sup>21</sup> Différents résultats ont démontré l'utilité des lactames dipeptidiques, notamment pour l'augmentation de l'activité, de la sélectivité au niveau des récepteurs, ou de l'information sur la conformation biologiquement active.<sup>22-25</sup>



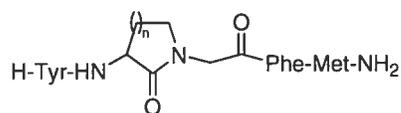
**Figure 5.** Lactame de Freidinger et analogue 4 de LH-RH.<sup>13a</sup>

Dans le même temps, le groupe Merck a utilisé ces lactames pour plusieurs autres cibles biologiques. Par exemple, ils ont employé des hexapeptides cycliques 5 formé d'un trimère de lactames dipeptidiques pour modifier l'activité de la fermentation à l'intérieur du rumen chez les moutons (Figure 6).<sup>26,27</sup>



**Figure 6.** Hexapeptides **5**.

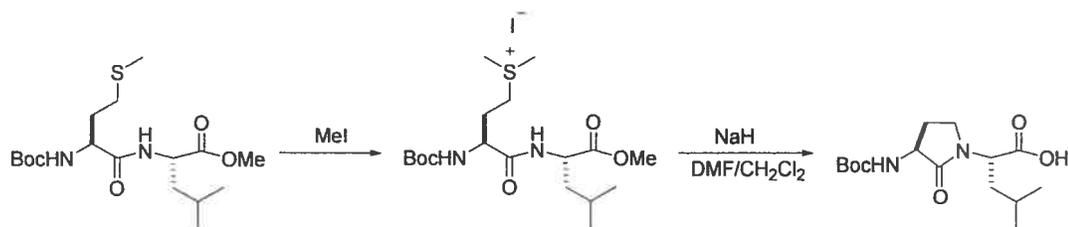
Par la suite, ils ont réalisé différents analogues de l'enképhaline en utilisant des lactames dipeptidiques de configurations D et L et de tailles différentes (5 à 7) (Figure 7).<sup>27</sup> L'étude a montré que l'activité biologique des ces analogues dépendait de leur configuration et de la taille des cycles. En effet, les analogues de configuration D sont plus actifs que leurs homologues L, et seulement les lactames à six membres ont montré une activité appréciable. Toutefois, le meilleur analogue n'atteint que 10% de l'activité du peptide parent, la Met-enképhaline. De nombreux autres exemples, qui ont démontré l'intérêt et l'utilisation de ces lactames comme contrainte conformationnelle, ont été regroupés dans une revue par Aubé.<sup>28</sup> L'incorporation de telles contraintes à différentes places dans un peptide biologiquement actif permettrait de réaliser un criblage et d'obtenir plus d'informations sur la relation structure-activité.



**Figure 7.** Analogues contraints de l'Enképhaline ( $n = 1, 2, 3$ ).

## 1.5 Synthèse et incorporation de lactames de Freidinger

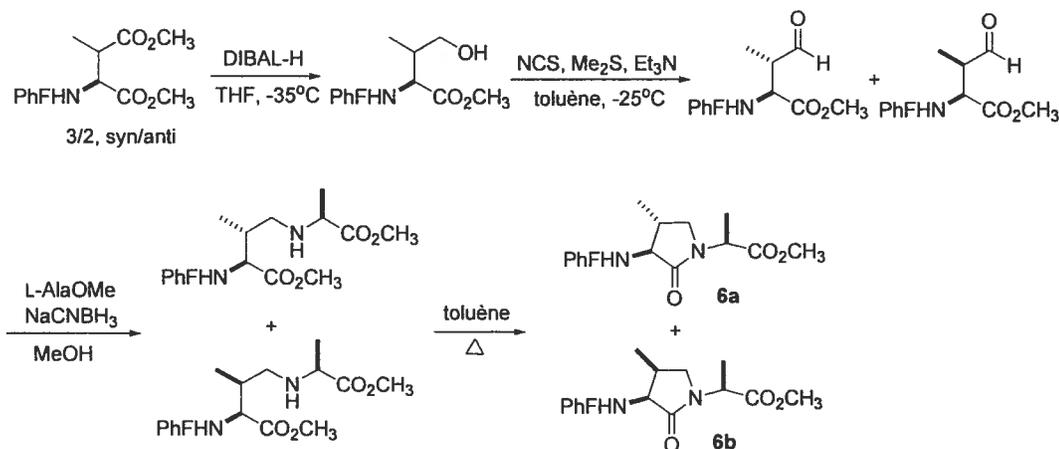
Plusieurs voies de synthèse sont connues,<sup>28</sup> en général, leur incorporation se fait sous la forme dipeptidique. Freidinger et son groupe ont utilisé la méthionine protégée dipeptidique comme composé de départ pour une alkylation intramoléculaire. Le groupement méthylthio peut être converti en un bon groupement partant et ainsi effectuer la cyclisation du sel de sulfonium en condition basique pour synthétiser un  $\gamma$ -lactame avec des rendements variant de 40 à 60% (Schéma 1).<sup>13a,29</sup>



**Schéma 1.** Synthèse d'un lactame dipeptidique avec la méthode au sel de sulfonium.

En général, les sels de sulfonium de la méthionine favorisent plutôt une O-alkylation, mais l'utilisation d'une base forte permet d'orienter la réaction vers une N-alkylation. Cette N-alkylation intramoléculaire permet d'obtenir une grande variété de résidus à l'extrémité C-terminale du peptide en incorporant différents acides aminés. Toutefois, avec la phénylalanine il y a une légère épimérisation de son centre asymétrique au moment de la cyclisation,<sup>29</sup> et la méthionine ainsi que la cystéine pourraient engendrer un problème de régiosélectivité.

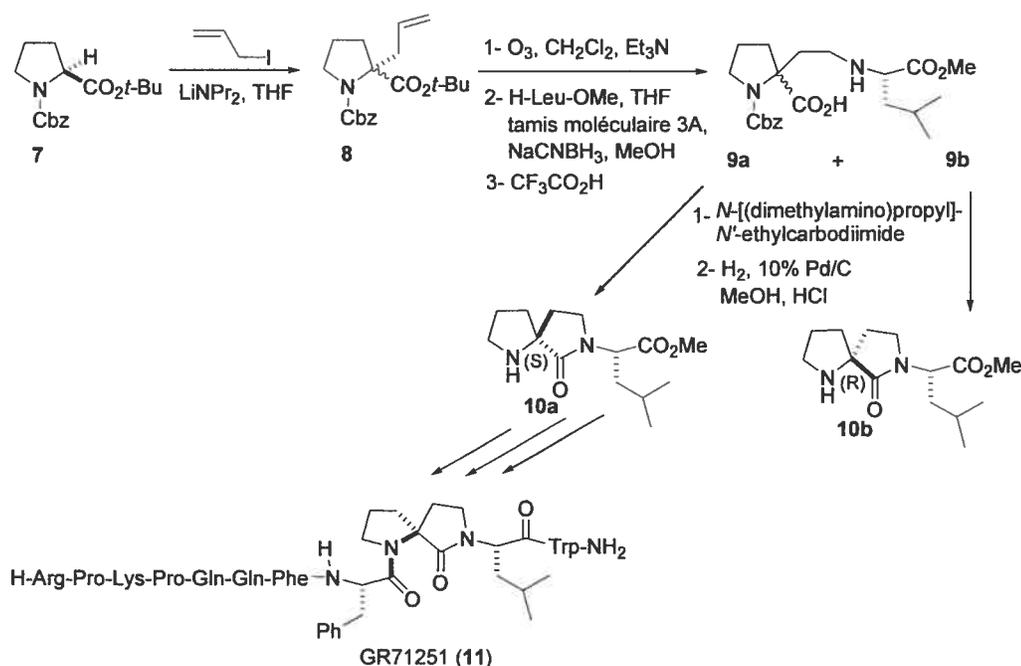
Rapoport et son équipe obtiennent les précurseurs de  $\gamma$ -lactames dipeptidiques en partant de l'acide L-aspartique après une réduction régiospécifique de l'ester méthylique, suivie d'une oxydation et d'une amination réductrice avec l'ester méthylique de l'alanine (Schéma 2).<sup>30</sup> La cyclisation est réalisée par un chauffage à reflux dans le toluène pour donner les  $\gamma$ -lactames **6a** et **6b** substituées en position 4 avec un rendement global de 54% à partir de l'ester  $\alpha,\beta$  diméthyle aspartate.



**Schéma 2.** Synthèse via le diméthyle aspartate.

L'amination réductrice est souvent utilisée pour synthétiser ces composés,<sup>28</sup> entre autre pour la synthèse de spirolactames. Par exemple, Ward et son équipe ont choisi cette méthode pour synthétiser leurs spirolactames (Schéma 3) qu'ils ont incorporé dans un mime peptidique GR71251 (**11**) donnant un des plus puissants antagonistes du récepteur neurokinine NK1 de la Substance P (peptide de onze acides aminés classé dans la famille des tachykinines).<sup>31</sup> Ils effectuent une synthèse racémique à partir du composé **8**, où après avoir oxydé la double liaison en aldéhyde avec une ozonolyse, une amination réductrice suivie d'une hydrolyse acide de l'ester

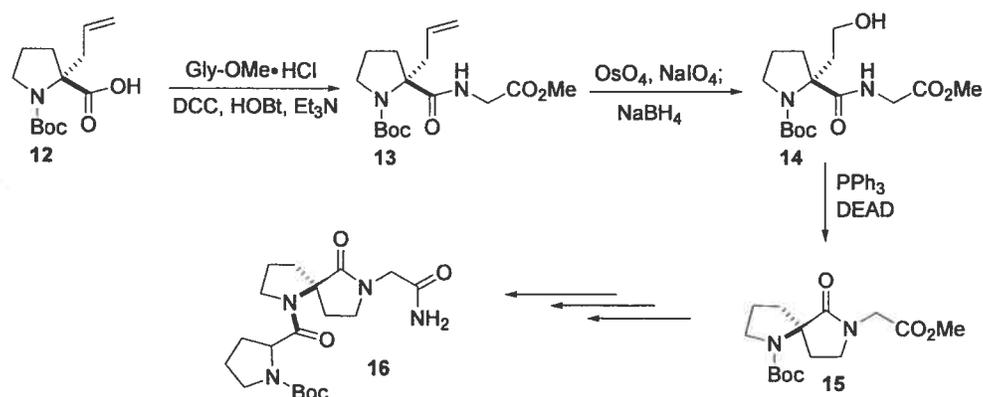
*tert*-butylique permet d'obtenir les deux précurseurs des spirolactames **10a** et **10b**. La cyclisation est réalisée à l'aide d'un agent de couplage suivie d'une hydrogénolyse pour déprotéger la fonction amine et donner un synthon prêt pour son incorporation dans l'analogue peptidique.



**Schéma 3.** Synthèse de spirolactames et de l'analogue peptidique GR71251.

Une autre méthode utilisant aussi un dérivé du composé **8** a été exploitée par Johnson et son équipe.<sup>32</sup> Leur voie de synthèse est la même que celle développée par Hinds et son groupe,<sup>33</sup> ayant comme produit de départ la (*R*)-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-2-allylproline **12** préparée à partir de la (*S*)-proline par une  $\alpha$ -alkylation selon la méthodologie de Seebach<sup>34</sup> suivie d'une protection de l'amine avec un groupement Boc (*tert*-butyloxycarbonyl). La première étape est un couplage

avec le sel d'hydrochlorure de l'ester méthylique de la glycine donnant le dipeptide **13**. Par la suite, l'oxydation de l'ester méthylique suivie d'une réduction permet d'obtenir l'alcool **14** comme précurseur du spirolactame **15**. La cyclisation du composé **14** est réalisée à l'aide d'une réaction de Mitsunobu permettant d'obtenir le (*R*)-4,4-spiro lactame **15** avec un rendement global de 34% (Schéma 4).

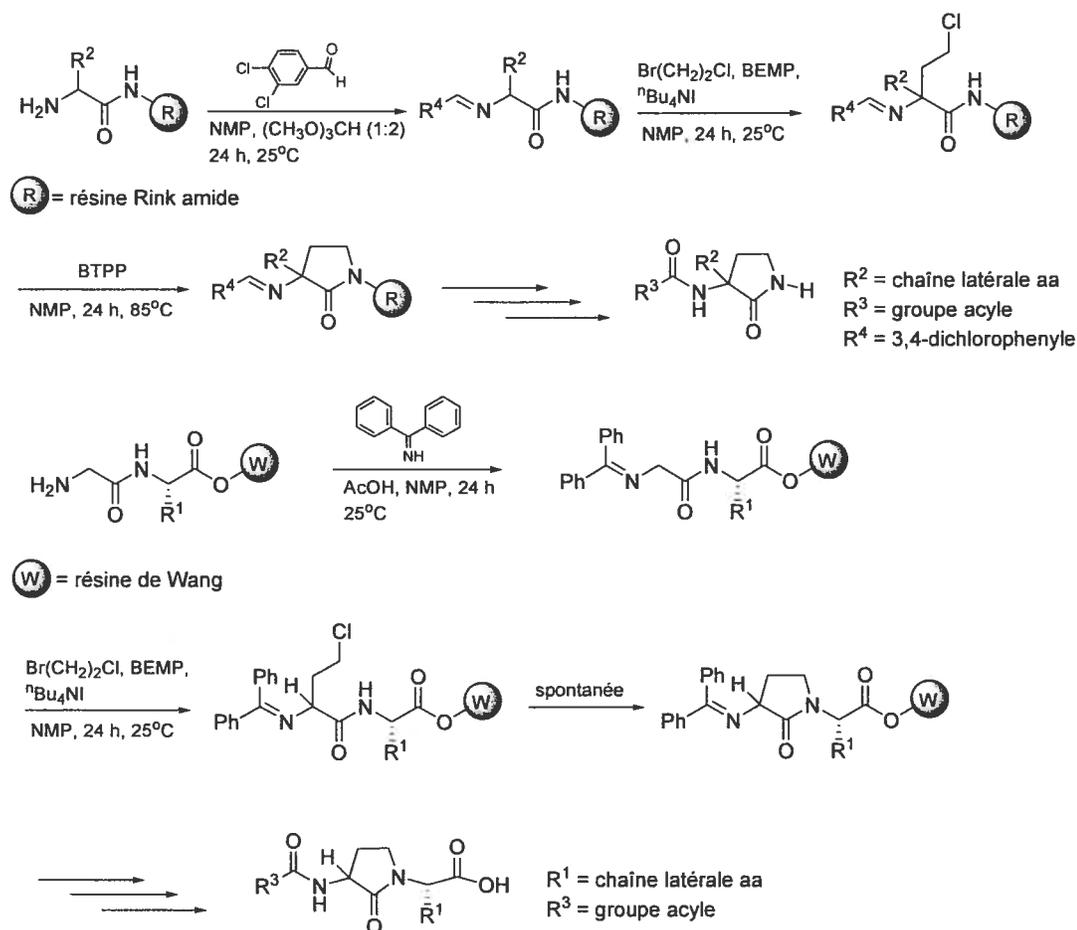


**Schéma 4.** Synthèse du spirolactame **15** et d'un analogue peptidique **16** du tripeptide Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> (PLG).

Après déprotection de l'amine, couplage avec la *N*-(Boc)proline et traitement avec une solution saturée d'ammoniaque dans du méthanol, le mime peptidique est obtenu avec un rendement de 48%.

Plus récemment, le groupe de Scott et O'Donnell a développé une méthodologie en phase solide (Figure 5).<sup>35</sup> Selon que le produit désiré soit un lactame en position terminale ou interne, le choix de la résine diffère. Pour des lactames C-terminales, la résine Rink amide a été choisie, tandis que pour des lactames internes c'est la résine de Wang qui a été utilisée. Toutefois, le protocole est le même pour les deux types de

$\gamma$ -lactames, l'alkylation complète est réalisée en utilisant 10 équivalents de chaque réactif : 1-bromo-2-chloroéthane, 2-*tert*-butylimino-2-diéthylamino-1,3-diméthylperhydro-1,3,2-diazaphosphorine (BEMP), iodure de tétrabutyle ammonium dans de la N-méthylpyridine pendant 24 h et à température ambiante.



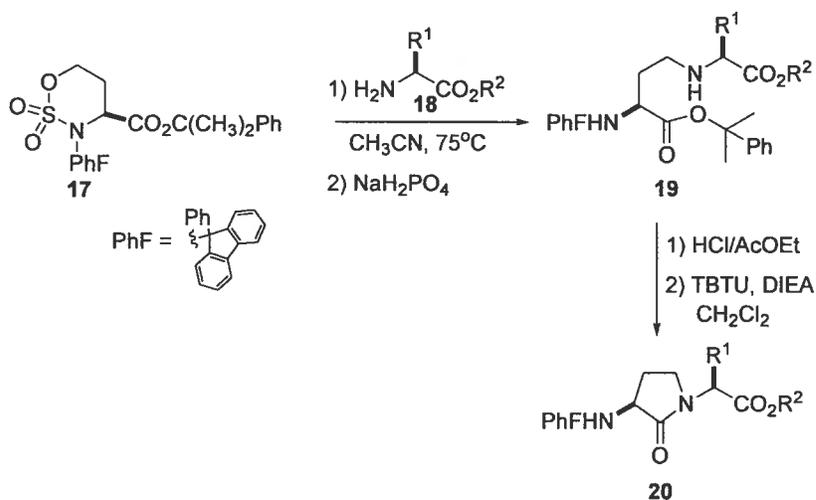
**Schéma 5.** Synthèse de  $\gamma$ -lactames terminales et internes.

Pour la cyclisation, elle est spontanée dans le cas d'un lactame interne et requiert un chauffage à 85°C avec du *tert*-butylimino-tri(pyrrolidino)phosphorane (BTPP) pour

un lactame C-terminale à cause de la faible réactivité de l'azote de la résine Rink amide. Il est à remarquer toutefois, qu'il y a une légère diastéréosélectivité au niveau du site  $\alpha$  de la partie N-terminale du lactame.

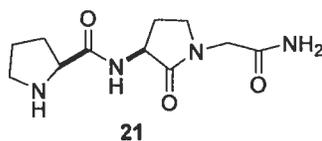
Pour notre part, nous avons opté pour une stratégie différente permettant d'obtenir une variété de  $\gamma$ -lactames dipeptidiques de manière énantiomériquement pure. Nous avons utilisé la réactivité des sulfamidates cycliques à six membres vis à vis des nucléophiles.<sup>36</sup> Le sulfamidate cyclique **17** possède deux centres électrophiles qui peuvent être sélectivement acylés ou alkylés pour donner des hétérocycles pouvant mimer des structures secondaires de peptides.<sup>37</sup>

Dans le chapitre 2, sous forme d'un article, la synthèse du *N*-(PhF)-sulfamidate **17** ainsi que d'une série de  $\gamma$ -lactames dipeptidiques **20** (Schéma 6) y sont décrites.



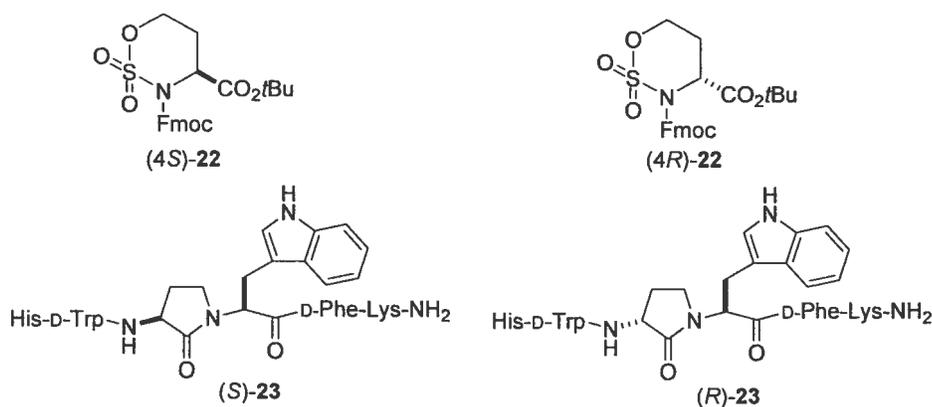
**Schéma 6.** Stratégie générale pour la synthèse de  $\gamma$ -lactames dipeptidiques **20**.<sup>38</sup>

Ces  $\gamma$ -lactames dipeptidiques possèdent différentes chaînes latérales telles que : aliphatique, aromatique, amine, thioéther et carboxylate. De plus, pour illustrer le potentiel de cette méthodologie, un analogue contraint (**21**) du tripeptide Pro-Gly-Leu-NH<sub>2</sub> est synthétisé (Figure 8).



**Figure 8.** Mime peptidique **21** du PLG.<sup>39</sup>

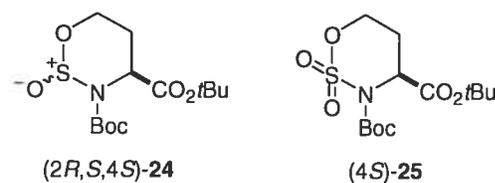
Le chapitre 3 montre, sous la forme d'un article, les synthèses de nouveaux sulfamidates (*4S*)-**22** et (*4R*)-**22** protégés avec un groupement Fmoc (9-fluorénylméthoxy-carbonyl). Ce groupement protecteur a été choisi pour permettre l'utilisation des  $\gamma$ -lactames dipeptidiques sur support solide et ainsi synthétiser les deux analogues peptidiques (*S*)-**23** et (*R*)-**23** du GHRP-6 (Figure 9).



**Figure 9.** Sulfamidates (*4S*)-**22** et (*4R*)-**22** et analogues (*S*)-**23** et (*R*)-**23** du GHRP-6.

Ces deux analogues ont été synthétisés pour effectuer une étude de la relation structure-activité.

Dans le chapitre 4, due à une certaine instabilité des sulfamidates **22** à long terme, des sulfamidites **24** et un sulfamidate **25** protégés par un groupement Boc (*tert*-butyloxycarbonyl) ont été synthétisés pour réaliser une étude structurale (Figure 10).



**Figure 10.** Sulfamidites **24** et sulfamidate **25**.

## 1.6 Conclusion

Les lactames de Freidinger ont depuis leurs premières synthèses et applications démontré leur utilité dans le domaine de la chimie peptidique, et l'étude de la relation structure-activité des peptides biologiquement actifs. De nombreuses voies de synthèse ont été développées au cours des années, montrant l'importance de ces composés pour modifier et rigidifier le squelette des peptides.

Nous avons, tout d'abord, synthétisé de nouveaux sulfamidates cycliques à six membres; puis développé une nouvelle méthodologie pour synthétiser de façon énantiomériquement pure des  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactames pouvant être incorporées dans des peptides. Nous avons également synthétisé deux analogues peptidiques du GHRP-6 sur support solide comportant une  $\gamma$ -lactame pour étudier l'effet de la contrainte géométrique sur son activité et affinité sur le récepteur de la ghréline, un peptide de 28 acides aminés induisant la libération d'hormone de croissance.

## 1.7 Références

- 1- Giannis, A.; Kolter, T. "Peptidomimetics for Receptor Ligands-Discovery, Development, and Medical Perspectives" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244-1267.
- 2- (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) Gillespie, P.; Cicariello, J.; Olson, G. L. "Conformational Analysis of Dipeptide Mimetics" *Biopolymers, Peptide Science* **1997**, *43*, 191-217.
- 3- Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. A. "Turns in Peptides and Proteins" *Adv. Protein. Chem.* **1985**, *37*, 1-109.
- 4- Venkatachalam, C. M. "Stereochemical Criteria for Polypeptides and Proteins. V. Conformation of a System of Three Linked Peptides Units" *Biopolymers*, **1968**, *6*, 1425-1436.

- 5- (a) Ball, J. B.; Andrews, P. F.; Alewood, P. F.; Hughes, R.A. "A One-Variable Topographical Descriptor for The  $\beta$ -Turns of Peptides and Proteins" *FEBS Lett.* **1990**, 273, 15; (b) Ball, J. B.; Alewood, P. F. "Conformational Constraints: Non Peptide  $\beta$ -Turns Mimics" *J. Mol. Recognit.* **1990**, 3, 55.
- 6- (a) Milner-White, E. J.; Ross, B. M.; Ismail, R.; Belhadj-Mostefa, K.; Poet, R. "One Type of  $\gamma$ -Turn, Rather than the Other Gives Rise to Chain-Reversal in Proteins" *J. Mol. Biol.* **1988**, 204, 777; (b) Callahan, J. F.; Newlander, K. A.; Burgess, J. L.; Eggleston, D. S.; Nichols, A.; Wong, A.; Huffman, W. F. "The Use of  $\gamma$ -Turn Mimetics to Define Peptide Secondary Structure" *Tetrahedron* **1993**, 49, 3479.
- 7- (a) Wood, S. P.; Tickle, I. J.; Treharne, A. M.; Pitts, J. E.; Mascarenhas, Y.; Li, J. Y.; Husain, J.; Cooper S.; Blundell, T. L.; Hruby, V. J.; Buku, A.; Fischman, A. J.; Wyssbrod, H. R. "Crystal Structure Analysis of Deamino-Oxytocin: Conformational Flexibility and Receptor Binding" *Science*, **1986**, 633-636; (b) Lippens, G.; Hallenga, K.; Van Delle, D.; Wodak, S. J.; Nirmala, N. R.; Hill, P.; Russell, K. C.; Smith, D. D.; Hruby, V. J. "Transfer Nuclear Overhauser Effect Study of the Conformation of Oxytocin Bound to Bovine Neurophysin" *Biochemistry*, **1993**, 32, 9423-9434.
- 8- (a) Langs, D. A. Smith, G. D.; Stezowski, J. J.; Hughes R. E. "Structure of Pressinoic Acid: The Cyclic Moiety of Vasopressin" *Science*, **1986**, 1240-1242; (b) Wang, J.; Hodges R. S.; Sykes, B. D. "Generating Multiple Conformations of Flexible Peptides in Solution Based on NMR Nuclear Overhauser Effect Data: Application to Desmopressin" *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 8627-8634.

- 9- Guarnieri, F.; Weinstein, H. "Conformational Memories and the Exploration of Biologically Relevant Peptide Conformations: An Illustration for the Gonadotropin-Releasing Hormone" *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 5580-5589.
- 10- (a) Smith, G. D.; Griffin, J. F. "Conformation of [Leu<sup>5</sup>]Enkephalin from X-ray Diffraction: Features Important for Recognition at Opiate Receptor" *Science*, **1978**, 1214-1216; (b) Schmidt, B.; Lindman, S.; Tong, W.; Lindeberg, G.; Gogoll, A.; Lai, Z.; Thörnwall, M.; Synnergren, B.; Nilsson, A.; Welch, C. J.; Sohtell, M.; Westerlund, C.; Nyberg, F.; Karlén, A.; Hallberg, A. "Design, Synthesis, and Biological Activities of Four Angiotensin II Receptor Ligands with  $\gamma$ -Turn Mimetics Replacing Amino Acid residues 3-5" *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 903-919.
- 11- Liskamp, R. M. J. "Conformationally Restricted Amino Acids and Dipeptides, (non) Peptidomimetics and Secondary Structure Mimetics" *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 1-19.
- 12- Veber, D. F.; Freidinger, R. M. "The Design of Metabolically-Stable Peptide Analogs" *Trends Neurosci.*, **1985**, 392-396.
- 13- (a) Freidinger, R. M.; Veber, D. F.; Perlow, D. S.; Brooks, J. R.; Saperstein, R. "Bioactive Conformation of LHRH: Evidence from a Conformationally Constrained Analog" *Science* **1980**, *210*, 656-658; (b) Marshall, G. R. "A Hierarchical Approach to Peptidomimetic Design" *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3547-3558.
- 14- Boyd, D. B. "Conformational Analogy between  $\beta$ -Lactam Antibiotics and Tetrahedral Transition States of a Dipeptide" *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 533-537.

- 15- (a) Arai, N.; Shiomi, K.; Yamaguchi, Y.; Masuma, R.; Iwai, Y.; Turberg, A.; Koelbl, H.; Omura, S. "Argadin, a New Chitinase Inhibitor, Produced by *Clonostachys* sp. FO-7314" *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1442-1446; (b) Houston, D. R.; Shiomi, K.; Arai, N.; Omura, S.; Peter, M. G.; Turberg, A.; Synstad, B.; Eijssink, V. C. H.; Van Aalten, D. M. F. "High-Resolution Structures of a Chitinase Complexed with Natural Product Cyclopentapeptide Inhibitors: Mimicry of Carbohydrate Substrate" *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 9127-9132.
- 16- Pettit, G. R.; Kamano, Y.; Herald, C. L.; Dufresne, C.; Cerny, R. L.; Herald, D. L.; Schmidt, J. M.; Kizu, H. "Antineoplastic Agent. 174. Isolation and Structure of the Cytostatic Depsipeptide Dolastatin 13 from the Sea Hare *Dolabella Auricularia*" *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5015-5017.
- 17- Monahan, M. W.; Amoss, M. S.; Anderson, H. A.; Vale, W. "Synthetic Analogs of the Hypothalamic Luteinizing Hormone Releasing Factor with Increased Agonist or Antagonist Properties" *Biochemistry* **1973**, *12*, 4616-4620.
- 18- Ling, N.; Vale, W. "Analogues of Luteinizing Hormone Releasing Factor (LRF) Synthesis and Biological Activity of [(N<sup>α</sup>-Me)Leu<sup>7</sup>]LRF and [D-Ala<sup>6</sup>, (N<sup>α</sup>-Me)Leu<sup>7</sup>]LRF" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1975**, *63*, 801-806.
- 19- Chandrasekaran, R.; Lakshminarayanan, A. V.; Pandya, U. V.; Ramachandran, G. N. "Conformation of the LL and LD Hairpin Bends with Internal Hydrogen Bonds in Proteins and Peptides" *Biochem. Biophys. Acta* **1973**, *303*, 14-27.
- 20- (a) Momany, F. A. "Conformational Energy Analysis of the Molecule, Luteinizing Hormone-Releasing Hormone. 1. Native Decapeptide" *J. Am. Chem.*

- Soc.* **1976**, 98, 2990-2996; (b) Momany, F. A. "Conformational Energy Analysis of the Molecule, Luteinizing Hormone-Releasing Hormone. 2. Tetrapeptide and Decapeptide Analogues" *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 2996-3000.
- 21- Kopple, K. D. "Peptide Backbone Folding in LHRH and Analogs" Dans *Peptides: Synthesis, Structure, Function: Proceedings of The Seventh American Peptide Symposium*; Rich, D. H., Gross, E., Eds.: Pierce Chemical Compagny: Rockford, IL, 1981, 295-298.
- 22- Cascieri, M. A.; Chicchi, G. G.; Freidinger, R. M.; Colton, C. D.; Perlow, D. S.; Williams, B.; Curtis, N. R.; McKnight, A. T.; Maguire, J. J.; Veber, D. F.; Liang, T. "Conformationally Constrained Tachykinin Analogs Which Are Selective Ligands for the Eledoisin Binding Site" *Mol. Pharmacol.* **1986**, 29, 34-38.
- 23- Freidinger, R. M.; Perlow, D. S.; Randall, W. C.; Saperstein, R.; Arison, B. H.; Veber, D. F. "Conformational Modifications of Cyclic Hexapeptide Somatostatin Analogs" *Int. J. Pept. Protein. Res.* **1984**, 23, 142-150.
- 24- (a) Thorsett, E. D.; Harris, E. E.; Aster, S. D.; Peterson, E. R.; Taub, D.; Patchett, A. A. "Dipeptide Mimics. Conformationally Restricted Inhibitors of Angiotensin-Converting Enzyme" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 111, 166-171 ; (b) Thorsett, E. D.; Harris, E. E.; Aster, S. D.; Peterson, E. R.; Tristram, E. W.; Snyder, J. P.; Springer, J. P.; Patchett, A. A. "Conformationally Restricted Inhibitors of Angiotensin-Converting Enzyme" Dans *Peptides, Structure and Function: Proceedings of The Eighth American Peptide Symposium*; Pierce Chemical Compagny: Rockford, IL, 1983, 555-558.
- 25- Wyvratt, M. J.; Tischler, M. H.; Ikeler, T. J.; Springer, J. P.; Trsitram, E. W.; Patchett A. A. "Bicyclic Inhibitors of Angiotensin-Converting Enzyme" Dans

- Peptides, Structure and Function: Proceedings of The Eighth American Peptide Symposium*; Pierce Chemical Compagny: Rockford, IL, 1983, 551-554.
- 26-Freidinger, R. M.; Veber, D. F.; Hirschmann, R.; Paege, L. M. "Lactam Restriction of Peptide Conformation in Cyclic Hexapeptides Which Alter Rumen Fermentation" *Int. J. Pept. Protein Res.* **1980**, *16*, 464-470.
- 27-Freidinger, R. M. "Computer Graphics and Chemical Synthesis in The Study of Conformation of Biologically Active peptides" Dans *Peptides: Synthesis, Structure, Function*; Rich, D. H.; Gross, E., Eds.; Pierce Chemical Compagny: Rockford, IL, 1981, 673-683.
- 28- Aubé, J. "Synthetic Routes to Lactam Peptidomimetics" Dans *Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics*; JAI Press Inc.; Greenwich, CT, 1997, *1*, 193-232.
- 29-Freidinger, R. M.; Perlow, D. S.; Veber, D. F. "Protected Lactam-Bridged Dipeptides for Use as Conformational Constraints in Peptides" *J. Org. Chem.* **1982**, *42*, 104-109.
- 30- Wolf, J.- P.; Rapoport, H. "Conformationally Constrained Peptides, Chirospecific Synthesis of 4-Alkyl-Substituted  $\gamma$ -Lactam-Bridged Dipeptides from L-Aspartic Acid" *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3164-3173.
- 31- Ward, P.; Ewan, G. B.; Jordan, C. C.; Ireland, S. J.; Hagan, R. M.; Brown J. R. "Potent and Highly Selective Neurokinin Antagonists" *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1848-1851.

- 32- Genin, M. J.; Ojala, W. H.; Gleason, W. B.; Johnson, R. L. "Synthesis and Crystal Structure of a Peptidomimetic Containing the (*R*)-4,4-Spiro Lactam Type-II  $\beta$ -Turn Mimic" *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2334-2337.
- 33- Hinds, M. G.; Richards, N. G. J.; Robinson, J. A. "Design and Synthesis of a Novel Peptide  $\beta$ -Turn Mimetic" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1447-1449.
- 34- Seebach, D.; Boes, M.; Naef, R.; Schweizer, W. B. "Alkylation of Amino Acids without Loss of the Optical Activity : Preparation of  $\alpha$ -Substituted Proline Derivatives. A Case of Self-Reproduction of Chirality" *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5390-5398.
- 35- Scott, W. L.; Alsina, J.; Kennedy, J. H.; O'Donnell, M. J. "Solid-Phase Synthesis of Constrained Terminal and Internal Lactam Peptidomimetics" *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1629-1632.
- 36- Revue dans: Melendez, R.; Lubell, W. D. "Synthesis and Reactivity of Cyclic Sulfamidites and Sulfamidates" *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2581-2616.
- 37- Atfani, M; Wei, L.; Lubell, W. D. "*N*-[9-(9-Phenylfluorenyl)]homoserine-Derived Cyclic Sulfamidates: Novel Chiral Educs for the Synthesis of Enantiopure  $\gamma$ -Substituted  $\alpha$ -Amino Acids" *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2965-2968.
- 38- Galaud, F.; Lubell, W. D. "Homoserine-Derived Cyclic Sulfamidate as Chiral Educt for The Diversity Oriented Synthesis of Lactam-Bridged Dipeptides" *Biopolymers, Peptide Science* sous presse.

39- Yu, K. -L.; Rajakumar, G.; Srivastava, L. K.; Mishra, R. K.; Johnson, R. L.

“Dopamine Receptor Modulation by Conformationnaly Constrained Analogues of

Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>” *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1430-1436.

## CHAPITRE 2

### Article 1 :

Galaud, F.; Lubell, W. D. 'Homoserine-Derived Cyclic Sulfamidate as Chiral  
Educt for The Diversity Oriented Synthesis of Lactam-Bridged Dipeptides'  
*Biopolymers, Peptide Science* **2005**, *80*, 665-674.

## Homoserine-Derived Cyclic Sulfamidate as Chiral Educt for The Diversity Oriented Synthesis of Lactam-Bridged Dipeptides

Fabrice Galaud and William D. Lubell\*

Département de Chimie, Université de Montréal, C.P.6128. Succursale Centre Ville.  
Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

### 3.1 Abstract

Introduction of structural constraint into peptides is an effective way for studying their conformation-activity relationships. Conformationally restrained dipeptidyl lactams, important building blocks for the synthesis of peptidomimetics, have now been synthesized from *N*-(9-(9-phenylfluorenyl))-L-aspartic acid  $\alpha$ -cumyl  $\beta$ -methyl diester as an inexpensive chiral educt. After selective reduction of the  $\beta$ -methyl ester with diisobutylaluminum hydride (DIBAL-H), homoserine **6** was treated with thionyl chloride, imidazole and triethylamine to give sulfamidites **7**. Diastereoisomers **7** were separated by chromatography and oxidation of the major sulfamidite (*2R,4S*)-**7** with catalytic ruthenium trichloride afforded sulfamidate **8**. A series of  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptides was then obtained by ring opening of sulfamidate cumyl ester **8** with a series of amino esters, selective cumyl ester removal and lactam formation. The resulting dipeptidyl lactams possessed aliphatic, aromatic, amino, thioether, and carboxylate side chains. A  $\gamma$ -lactam analog of Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>

(PLG), **16** was synthesized to illustrate the potential for using this approach in the synthesis of biologically active peptide mimics.

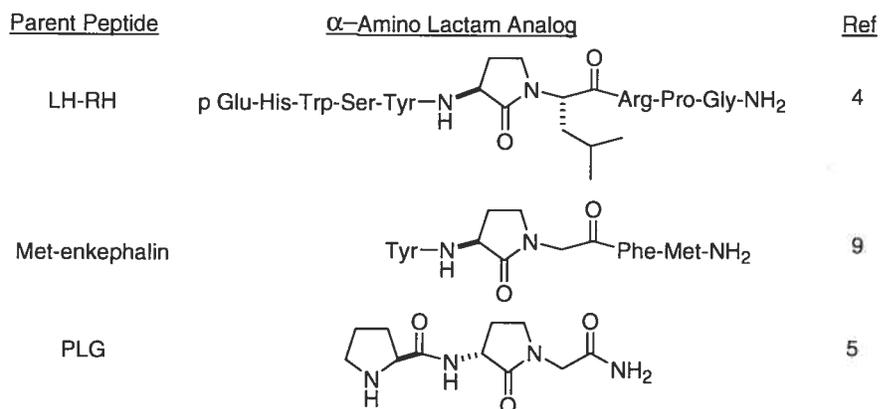
**Keywords:** homoserine-derived cyclic sulfamidate;  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptides;  $\gamma$ -lactam Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> (PLG) analog, Freidinger lactam, peptide mimicry.

## 3.2 INTRODUCTION

The placement of an  $\alpha$ -amino lactam (“Freidinger lactam”) moiety into a peptide chain is an effective means of constraining conformational liberty. Peptide analogs possessing  $\alpha$ -amino lactams have exhibited improved potency and efficacy.<sup>1-</sup><sup>3</sup> Such Freidinger lactams have thus become important tools for characterizing the biological conformations of native peptides and for accelerating the development of peptide leads into peptide mimic candidates in drug discovery programs.

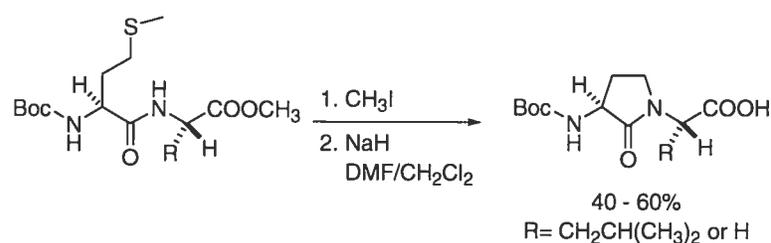
Since pioneering research on the hypothalamic hormone, leutinizing-hormone-releasing hormone (LH-RH), in which replacement of Gly by an  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam produced a constrained analog exhibiting 8.9 times higher potency than the native hormone for releasing LH in pituitary cells,<sup>4</sup> Freidinger lactams have been employed to study a wide range of biologically active peptides. For example, insertion of a (3*R*)- $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam in place of Leu in the tripeptide dopamine receptor modulator Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> (PLG) produced 10<sup>4</sup>-fold enhancement of the

binding of the dopamine receptor agonist ADTN (2-amino-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphtalene) to the dopamine receptor (Figure 1).<sup>5</sup>



**FIGURE 1** Representative examples of structurally constrained analogs of biologically active peptides that possess Freidinger Lactams.

Introduction of an  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam into an analog of the pressor peptide hormone angiotensin II gave Sar-Arg-Val-Tyr-Ile-His-L,L-lactam-Phe-Ile which was devoid of agonist activity *in vitro* and *in vivo*, and was a potent antagonist ( $pA_2 = 8.3$ ).<sup>6,7</sup> Furthermore, replacement of Lys<sup>4</sup>-Gly<sup>5</sup> for (*R*)-3-amino-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid in the pheromonal **a**-factor peptide [YIIKGVFWDPA(S-farnesyl)-OCH<sub>3</sub>], which is involved in the sexual reproduction of eukaryotic yeast, gave a super agonist with a bioactivity 32-fold higher than that of the native peptide in assays for both cell growth arrest and mating restoration.<sup>8</sup>



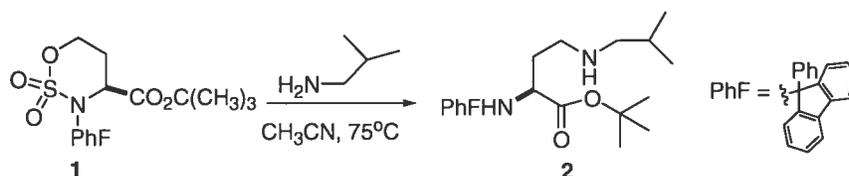
**SCHEME 1** Synthesis of  $\gamma$ -lactam using protected methionine dipeptides.<sup>4</sup>

Several routes have been developed for preparing and inserting  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactams into peptides.<sup>2</sup> Originally,  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactams were introduced into peptides by alkylation of the thioether of an *N*-Boc-methionyl dipeptide ester followed by intramolecular displacement of the resulting sulfonium ion under basic conditions (Scheme 1).<sup>3-4,9-10</sup>

These conditions and related methods<sup>11-15</sup> involving intramolecular displacement of a leaving group by an amide may, however, be intolerant of certain amino acids (i.e. a second Met residue), and O-alkylation may compete with N-alkylation to form a cyclic imidate instead of the desired lactam. Alternatively, peptide analogues possessing  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactams have been synthesized by reductive amination of imine generated by condensation of the C-terminal amino ester and an aspartate  $\beta$ -aldehyde, followed by lactam cyclization.<sup>16</sup>

In the context of our research in peptide mimicry, we became interested in developing a general method for synthesizing enantiomerically pure  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam bridged dipeptides. Previously, we had demonstrated that homoserine-derived cyclic sulfamidate **1** can serve as an effective building block for the synthesis of a

variety of  $\gamma$ -substituted  $\alpha$ -amino acid analogues.<sup>17,18</sup> In particular, the reaction of cyclic sulfamidate **1** with amine nucleophiles has provided a set of enantiopure  $\alpha,\gamma$ -diamino acid analogues.<sup>17</sup> For example, treatment of **1** with isobutylamine at 75°C in CH<sub>3</sub>CN gave  $\alpha,\gamma$ -diamino ester **2** in 91% yield (Scheme 2).

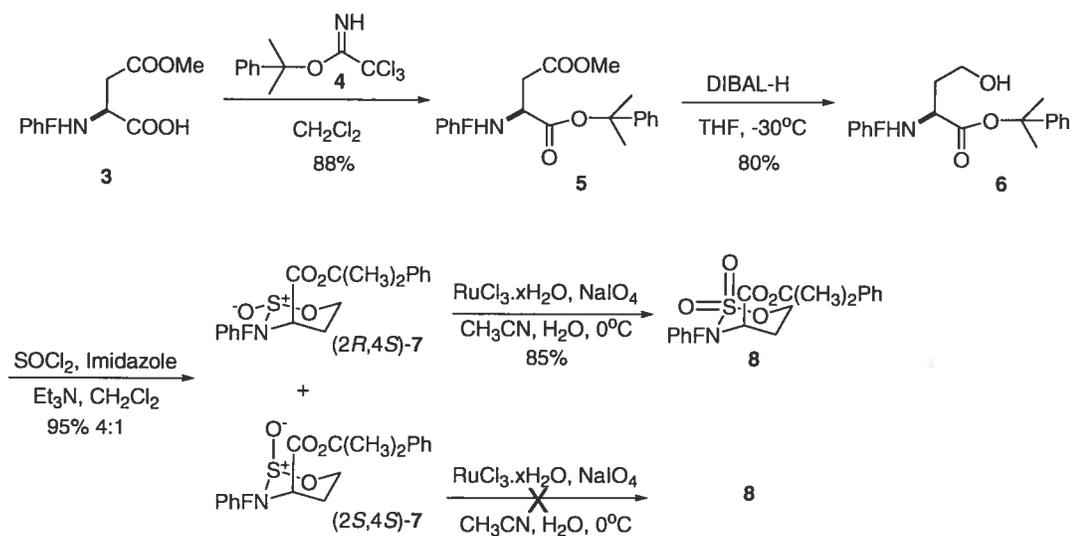


**SCHEME 2** 6-Membered cyclic sulfamidate ring opening with an amine nucleophile.<sup>17</sup>

Considering that ester removal and lactam formation would lead to N-protected  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactams, cyclic sulfamidate **8** was prepared possessing a cumyl ester in order to selectively deprotect the  $\alpha$ -acid without cleavage of the phenylfluorenyl protection.<sup>19</sup> In pursuit of a general process for inserting Freidinger lactams at any position of a peptide chain, 6-membered cyclic sulfamidate **8** has now been reacted with a series of amino esters to evaluate the reactivity of the nitrogen nucleophiles and side chains. After ring-opening, selective cumyl ester removal and lactam formation have provided a library of protected  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptides. Moreover,  $\gamma$ -lactam PLG analog **16** was constructed to illustrate the potential of this method by the synthesis of a peptide mimic.

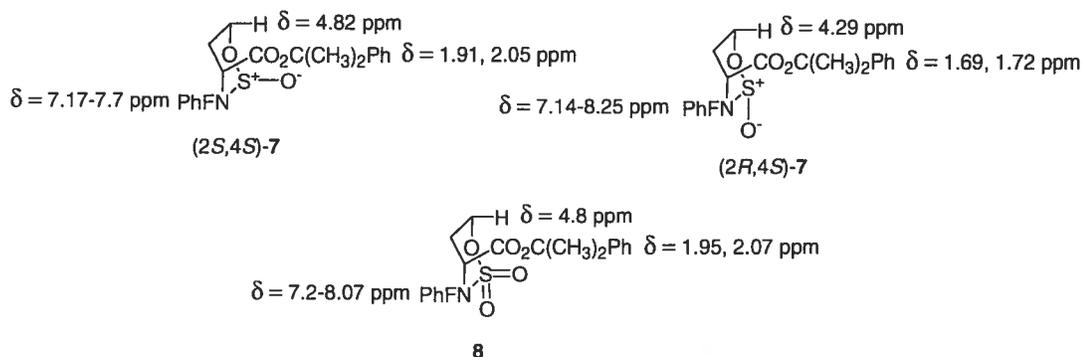
### 3.3 RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis of homoserine-derived cyclic sulfamidate cumyl ester **8** was performed from *N*-(PhF)aspartate  $\beta$ -methyl ester (PhF = 9-(9-phenylfluorenyl)) in a similar way as its *tert*-butyl ester counterpart in 46% overall yield (Scheme 3).<sup>17</sup> 2-Phenyl-2-propyl trichloroacetimidate **4** was synthesized by treatment of methyl benzoate with methyl magnesium bromide in anhydrous ether followed by acylation of the resulting alcohol with trichloroacetonitrile and sodium hydride in anhydrous ether.<sup>20</sup> Esterification of  $\beta$ -methyl *N*-(PhF)aspartate **3** with imidate **4** in dichloromethane gave cumyl ester **5** in 88% yield after purification by chromatography using 10% EtOAc in hexanes containing 1% Et<sub>3</sub>N as eluant.<sup>21,22</sup> Homoserine **6** was synthesized by selective reduction of the  $\beta$ -methyl ester with diisobutylaluminum hydride (DIBAL-H) in THF at  $-30^{\circ}\text{C}$ .<sup>23</sup> Treatment of homoserine **6** with thionyl chloride, imidazole and triethylamine in dichloromethane gave a 4:1 mixture of diastereomeric sulfamidites **7**.<sup>24</sup>



**SCHEME 3** Synthesis of sulfamidate cumyl ester **8**.

Diastereomeric sulfamidites **7** were separated by chromatography on silica gel using an eluant of 10% EtOAc in hexanes. Oxidation of the major sulfamidite  $(2R,4S)$ -**7** with catalytic ruthenium trichloride and sodium periodate in acetonitrile and water at  $0^\circ\text{C}$  afforded sulfamidate **8**.<sup>24</sup> As previously observed in the *tert*-butyl ester series,<sup>17</sup> treatment of the minor sulfamidite  $(2S,4S)$ -**7** under the same conditions did not give the oxidized product and the starting material was recovered.



**FIGURE 2** Influence of S-O bond anisotropy on chemical shift in sulfamidites **7** and sulfamidate **8**.

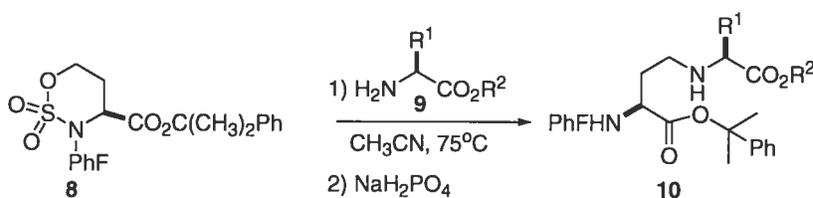
The configurational assignments for sulfamidites **7** were made on the basis of their proton NMR spectra with comparison to sulfamidate **8** (Figure 2).<sup>17</sup> Saturated *N*-PhF-amino six-membered heterocycles such as **7** and **8** adopt normally chair conformations in which the  $\alpha$ -carboxylate and PhF groups are oriented axial and equatorial, respectively.<sup>17, 25-29</sup> In the proton spectrum of **8**, the axial cumyl ester singlets (1.95, 2.07 ppm), the C-6  $\beta$ -proton (4.80 ppm), and the PhF resonances (7.20-8.07 ppm), all were shifted downfield because of the anisotropy of the sulfamidate. In the spectrum of (2*S*,4*S*)-**7**, the cumyl ester singlets (1.91, 2.05 ppm) and C-6  $\beta$ -proton (4.82 ppm) were shifted downfield due to the presence of the axial sulfoxide oxygen. In the spectrum of (2*R*,4*S*)-**7**, only the PhF resonances (7.14-8.25 ppm) were downfield shifted by the presence of the equatorial sulfoxide oxygen; the signals for the cumyl ester singlets (1.69, 1.72 ppm) and C-6  $\beta$ -proton (4.29 ppm) remained relatively upfield. Moreover, the fact that only the (2*R*,4*S*)-**7** sulfamidite was oxidized to sulfamidate **8** may be explained by the S<sup>+</sup>-O<sup>-</sup> group sitting in an axial

position in sulfamidite (2*S*,4*S*)-**7** and access of the oxidant to the sulfur being blocked by the PhF group.

Ring opening of sulfamidate cumyl ester **8** was performed with a series of amino esters. Benzyl esters **9c-f, j** were examined such that the ester and PhF groups could be removed by hydrogenation after lactam formation to provide an amino acid analog for subsequent N-protection. Benzyl esters of Val, Ala, Leu and Phe were prepared from the corresponding amino acid, benzyl alcohol and *p*-toluenesulfonic acid (pTSA) in DMF.<sup>30</sup>  $\alpha$ -Benzyl  $\gamma$ -*tert*-butyl-L-glutamate **9j** was synthesized by alkylation of  $\gamma$ -*tert*-butyl-*N*-(Fmoc)glutamate with benzylbromide and potassium carbonate in DMF (Fmoc : 9-fluorenylmethoxycarbonyl), followed by Fmoc group removal with 1-octanethiol and 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene (DBU) in DMF.<sup>31</sup> The methyl ester of Orn (**9h**) was prepared by treating the cesium salt of  $N_{\alpha}$ -Boc- $N_{\delta}$ -Cbz-L-ornithine with methyl iodide in DMF,<sup>32</sup> followed by Boc group removal with 50% trifluoroacetic acid in dichloromethane.  $\alpha$ -*tert*-Butyl  $\beta$ -methyl-L-aspartate **9i** was prepared from  $\alpha$ -*tert*-butyl  $\beta$ -methyl *N*-(PhF)aspartate<sup>17</sup> by hydrogenolytic cleavage of the PhF group using H<sub>2</sub> (5 atm) and Pd/C in MeOH/AcOH (15:1). Amino esters **9** were liberated from their corresponding salts by partitioning between CHCl<sub>3</sub> and aq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. An earlier attempt to liberate ValOMe-HCl with DIEA *in situ* failed to provide  $\alpha,\gamma$ -diamino ester; instead,  $\alpha$ -cumyl  $\gamma$ -chloro *N*-(PhF)aminobutyrate was isolated.

Sulfamidate **8** and the amino esters **9** were heated at 75°C in acetonitrile until complete consumption of starting material ( $R_f = 0.6$  in 3:7 EtOAc/hexanes) was observed by TLC or after 60 h (Scheme 4). The reaction mixture was cooled, poured

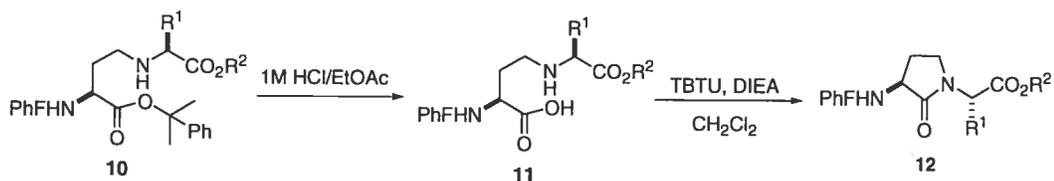
into a 1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  solution with agitation to hydrolyse the sulfamic acid intermediate. After extraction with EtOAc and purification on silica gel,  $\gamma$ -substituted  $\alpha$ -*N*-(PhF)amino esters **10** were obtained in 49-94% yields (Table I). Attempts to react histidine methyl ester and serine methyl ester without side-chain-protection gave multiple products as observed by TLC analysis. On the other hand, tryptophan methyl ester reacted without indole-NH protection.



**SCHEME 4** Ring opening of six-membered sulfamidate **8**.

With secondary amine **10** in hand, conversion to the protected lactam was next examined by a two step process featuring selective cumyl ester cleavage and carboxylate activation. Earlier attempts to remove the cumyl ester with 2-5% TFA in DCM produced the desired acid along with additional UV-active products observed by TLC, presumably due to competitive loss of the PhF group. Ester solvolysis without loss of PhF group was effected by switching to 1M HCl in EtOAc at 0°C;<sup>19</sup> however, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis of the acid product showed an additional ion corresponding to the formation of lactam **12**. Lactam formation without isolation of the intermediate acid **11** was thus explored by treatment of the crude acid mixture with TBTU and DIEA in dichloromethane at room temperature (Scheme 5). In this way, protected  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam-bridged

dipeptides **12** were obtained after purification on silica gel in 63-95% overall yields for the two steps (Table 1).

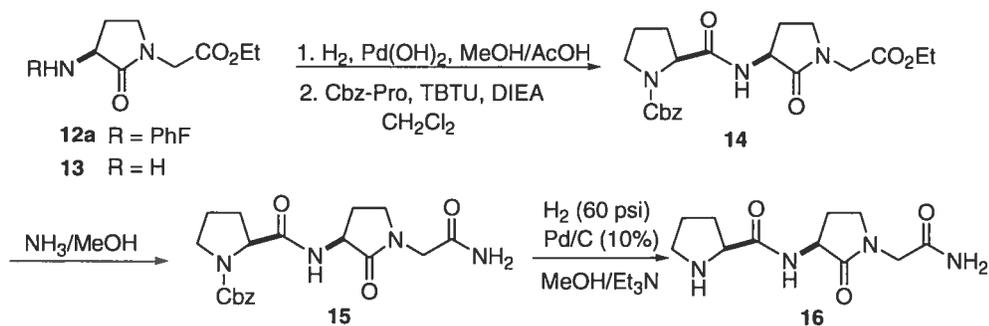


**SCHEME 5** Synthesis of  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam dipeptides **12**.

**Table I.** Yields for the synthesis of secondary amine **10** and lactam **12**

Entry	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	<b>10</b> (%)	<b>12</b> (%)
a	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	64	84
b	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	94	80
c	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	81	93
d	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	92	90
e	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	88	88
f	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> Ph	79	85
g	CH <sub>2</sub> -3-indolyl	CH <sub>3</sub>	78	95
h	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCbz	CH <sub>3</sub>	71	86
i	CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	69	63
j	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	49	72
k	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	71	86

Although the PLG (3*R*)-lactam analog was shown to be more potent and efficacious than the parent peptide in enhancing dopamine receptor function, with  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptide **12a** in hand, lactam **16** possessing the 3*S*-stereochemistry was pursued in order to demonstrate the utility of our methodology. After removal of the phenylfluorenyl protection by hydrogenation, *N*-Cbz-L-Pro was coupled to the resulting amine **13** using TBTU, HOBt and DIEA to afford tripeptide **14**. Aminolysis of ester **14** with ammonia in methanol gave the amide **15** and, finally, the Cbz group was removed by hydrogenation to furnish the desired PLG  $\gamma$ -lactam analogue **16** in 25 % overall yield from **12a** (Scheme 6).



**SCHEME 6** PLG analogue synthesis.

### 3.4 CONCLUSION

Effective methodology for synthesizing enantiomerically pure  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactam-bridged dipeptides, has been developed featuring ring opening of homoserine-

derived cyclic sulfamidate **8** with different amino esters to give  $\gamma$ -substituted  $\alpha$ -amino esters **10**. Conversion of the resulting secondary amines **10** to the lactam-bridged dipeptides **12** afforded a variety of constrained dipeptides possessing aliphatic, aromatic, amino, thioether and carboxylate side chains. Application of the constrained dipeptide **12** was demonstrated by the synthesis of PLG  $\gamma$ -lactam analog **16** in 4 steps and 25% overall yield. This methodology and the resulting building blocks should find general application for introducing conformational constraint into biologically active peptides to study structure-activity relationships.

### 3.5 EXPERIMENTAL

#### General

Unless otherwise noted, all reactions were run under nitrogen atmosphere and distilled solvents were transferred by syringe. Triethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) and DIEA were distilled first from ninhydrin then from  $\text{CaH}_2$ . Dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\text{CH}_3\text{CN}$ , DMF,  $\text{Et}_2\text{O}$  and THF, all were obtained from a Solvent Dispensing System (GlassContour<sup>TM</sup>). Final reaction mixture solutions were dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Chromatography was performed on 230-400 mesh silica gel; TLC on aluminum-backed silica plates. Melting points are uncorrected. Specific rotations are reported as follows:  $[\alpha]_D^{25}$ , concentration ( $c$  in g/100 mL), and solvent. Mass spectral data, HRMS (ESI and FAB), were obtained by the Université de Montréal Mass Spectrometry Facility.  $^1\text{H}$  NMR (300/400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (75/100 MHz) spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$ . Chemical shifts are reported in ppm (units) downfield from

tetramethylsilane ((CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Si), residual CHCl<sub>3</sub> ( $\delta$  7.27 and 77.2), residual MeOH ( $\delta$  3.31 and 49.0) or residual DMSO ( $\delta$  2.50 and 39.5). Coupling constants are given in Hz. Chemical shifts for aromatic carbons are not reported for compounds possessing PhF groups.

**Methyl-1-phenylethyl-2,2,2-trichloro acetimidate (4).** To a solution of methyl benzoate (48g, 353 mmol) in 300 mL of anhydrous ether, 353 mL of a solution of 3M methyl magnesium bromide in ether (1.06 mol) was added dropwise at 0°C. The reaction was brought to 45°C with a warm water bath. After 2 h, TLC (3:7 EtOAc/hexanes) demonstrated complete conversion of the ester to 2-phenyl-propan-2-ol (R<sub>f</sub> = 0.43). The reaction mixture was poured slowly into an ice cooled saturated solution of NH<sub>4</sub>Cl, extracted with EtOAc (3 x 50 mL). The organic phases were washed with brine (2 x 25 mL), dried, filtered and evaporated to afford 46.9 g (98%) of 2-phenyl-propan-2-ol: <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.60 (s, 6H), 1.75 (s, 1H), 7.26 (t, 1H, *J* = 7.1), 7.36 (t, 2H, *J* = 7.5), 7.5 (d, 2H, *J* = 7.4); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  32.2, 72.5, 124.8, 127.1, 128.6, 150.0. Sodium hydride (1.32g of a suspension in oil, 33 mmol) was suspended in anhydrous ether (50 mL) under nitrogen atmosphere, treated dropwise with stirring with 2-phenyl-2-propanol (45g, 330 mmol) in ether (90 mL). After 20 min, the solid had dissolved. The solution was cooled to 0°C with a salt-ice bath, treated dropwise with trichloroacetonitrile (31.5 mL, 314 mmol) over 20 min, allowed to warm to room temperature over 60 min, concentrated to a syrup, that was treated with pentane (30 mL) containing anhydrous methanol (33 mmol) shaken vigorously, and filtered. The filtrate was evaporated and washed with pentane (2 x 30 mL), and after filtration

and evaporation the resulting imidate was obtained as a brown oil and used without further purification.  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.92 (s, 6H), 7.30-7.54 (m, 5H), 8.24 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  28.6, 85.4, 124.8, 127.6, 128.7, 145.5.

**$\beta$ -Methyl  $\alpha$ -Cumyl *N*-(PhF)aspartate (5).** A stirred suspension of  $\beta$ -methyl *N*-(PhF)aspartate (5g, 12.92 mmol, prepared according to ref 23) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) was treated with *O*-cumyl trichloroacetimidate **4** (3.6g, 12.92 mmol), stirred for 2 h, treated with another 3.6g of **4**, stirred for 2 h, filtered, treated with 3.6g of **4**, stirred for 2 h, filtered and evaporated to a residue that was purified by chromatography (10% EtOAc in hexanes with 1%  $\text{Et}_3\text{N}$ ). Evaporation of the collected fractions gave diester **5** (5.8g, 88%) as an oil:  $[\alpha]_D^{25} -204$  (c 0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.50 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 2.35 (dd, 1H,  $J = 4.7, 10.2$ ), 2.50 (dd, 1H,  $J = 4.7, 10.2$ ), 2.97 (s, 1H), 3.40 (s, 1H), 3.57 (s, 3H), 7.07-7.36 (m, 16H), 7.65 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  28.1, 40.3, 51.4, 53.3, 73.0, 77.4, 82.6, 171.1, 172.1; HRMS calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{NO}_4$  ( $\text{MH}^+$ ) 506.2325, found 506.2329.

**(2*S*)-Cumyl 2-[*N*-(PhF)Amino]-4-hydroxybutanoate (6).** A stirred solution of diester **5** (8.2 g, 16.2 mmol) in THF (400 mL) at  $-30^\circ\text{C}$  was treated dropwise with DIBAL-H (48.7 mL, 48.7 mmol, 1.0 M in hexanes), stirred for 1 h, treated with acetone (2.3 mL), diluted with MeOH (10 mL), allowed to warm to room temperature and evaporated. The residue was dissolved in ether (150 mL), treated with 1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (150 mL) and sodium-potassium tartrate (8g), stirred vigorously for 30 min, and filtered. The biphasic filtrate was saturated with solid NaCl. The layers were

separated and the aqueous layer was extracted with ether until TLC showed no presence of UV-active material. The combined organic layer was washed with brine, dried, filtered and evaporated to a residue that was purified by chromatography (15-20% EtOAc in hexanes with 1% Et<sub>3</sub>N) to afford alcohol **6** as a white solid (6.2 g, 80%):  $R_f = 0.37$  (30% EtOAc in Hexanes); mp: 129-131°C;  $[\alpha]_D^{25} -263$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.45 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.66 (t, 2H, *J* = 5.2), 2.81 (t, 1H, *J* = 6.5), 3.60 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 7.08-7.47 (m, 17H), 7.71 (d, 2H, *J* = 7.5); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  27.0, 29.4, 35.8, 55.8, 61.3, 73.2, 82.6, 174.2; HRMS calcd for C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>) 478.2376, found 478.2394.

**(2*R*,4*S*)- and (2*S*,4*S*)-Cumyl 2-Oxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [(2*R*,4*S*)- and (2*S*,4*S*)-7].** A solution of (2*S*)-cumyl-2-[*N*-(PhF)amino]-4-hydroxybutanoate (**6**, 3.6 g, 7.68 mmol) in 80 mL of dichloromethane was cooled to 0°C, treated with imidazole (2.1 g, 30.7 mmol) followed by triethylamine (2.14 mL, 15.4 mmol), stirred for 10 min, treated with thionyl chloride (0.615 mL, 8.4 mmol), and stirred for 2 h, when complete consumption of starting material ( $R_f = 0.37$  in 3:7 EtOAc/hexanes) was observed by TLC. The solution was diluted with 60 mL of water. The phases were separated. The aqueous phase was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic fraction was washed with water (2 x 30 mL), dried, filtered and evaporated to a residue that was purified by chromatography on silica gel with 10% EtOAc in hexanes containing 1% Et<sub>3</sub>N as eluant to provide 3.07 g (76%) of (2*R*,4*S*)-**7** and 0.76 g (19%) of (2*S*,4*S*)-**7**. First to elute was (2*S*,4*S*)-**7**:  $R_f = 0.22$  (10% EtOAc in hexane); mp 169-170 °C;  $[\alpha]_D^{25} +187$

(*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR δ 1.20 (t, 1H, *J* = 13.2), 1.68 (d, 1H, *J* = 13.8), 1.91 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 3.18 (s, 1H), 3.47 (d, 1H, *J* = 8.6), 4.82 (t, 1H, *J* = 11.8), 7.17-7.7 (m, 18H); <sup>13</sup>C NMR δ 22.6, 26.1, 30.4, 49.6, 54.5, 77.4, 83.1, 169.6; MS (FAB+) *m/z* 524.1 (M + H)<sup>+</sup>; HRMS calcd for C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub>S (M + Na) 546.1709, found 546.1714. Second to elute was (2*R*,4*S*)-7: R<sub>f</sub> = 0.19 (10% EtOAc in hexane); mp 173-175°C; [α]<sup>25</sup><sub>D</sub> -12.3 (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR δ 1.69 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 2.19 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 3.32 (s, 1H), 3.80 (q, 1H, *J* = 8.5, 10.3), 4.29 (t, 1H, *J* = 9.1), 7.14-7.5 (m, 16H), 8.25 (d, 2H, *J* = 7.2); <sup>13</sup>C NMR δ 26.8, 27.9, 28.4, 54.2, 56.8, 77.0, 82.8, 170.2; HRMS calcd for C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub>S (M + Na) 546.1709, found 546.1711.

**(4*S*)-Cumyl 2,2-Dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate (8).** A solution of sulfamidite (2*R*,4*S*)-7 (2.9 g, 5.62 mmol) in 180 mL of acetonitrile was cooled to 0°C and treated with ruthenium (III) chloride monohydrate (19 mg, 0.09 mmol) followed by sodium periodate (2.33 g, 10.9 mmol). After stirring for 15 min, the reaction mixture was treated with 180 mL of water, stirred for an additional 6 h at 0°C and diluted with 150 mL of ether. The phases were separated and the aqueous phase was extracted with ether (3 x 50 mL). The combined organic fractions were washed with saturated aqueous sodium bicarbonate (2 x 50 mL) and brine (50 mL), dried, filtered and evaporated to a residue that was purified by chromatography on silica gel with a gradient of 10-20% EtOAc in hexanes with 1% Et<sub>3</sub>N as eluant to provide 2.6 g (85%) of **8**: mp 159-160 °C; [α]<sup>25</sup><sub>D</sub> +288 *c* 1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR δ 1.01 (m, 1H), 1.65 (d, 1H, *J* = 14.4), 1.95 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 3.86 (d, 1H, *J* = 5.2), 4.07 (m, 1H), 4.80 (t, 1H, *J* = 11.2), 7.20-7.70 (m, 16H), 8.07 (d, 2H, *J* = 7.6); <sup>13</sup>C NMR δ 22.8, 25.9, 31.2,

58.9, 71.2, 79.2, 84.2, 168.3; HRMS calcd for C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub>NS 539.1753, found 539.1766. Anal. Calcd for C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub>NS: C, 71.22; H, 5.42; N, 2.6; S, 5.94. Found: C, 70.92; H, 5.43; N, 2.65; S, 6.1.

### General Procedure for nucleophilic opening of sulfamidate **8**.

A 0.14 M solution of sulfamidate **8** (100 mol%) in CH<sub>3</sub>CN was treated with amino ester **9** (300 mol%), heated at 75°C until complete consumption of starting material (R<sub>f</sub> = 0.6 in 3:7 EtOAc/hexanes) was observed by TLC (or after 60 h), cooled to room temperature, poured into 1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (5 mL) and extracted with EtOAc (3 x 15 mL). The combined organic phases were washed with brine (2 x 10 mL), dried, filtered and evaporated to a residue that was chromatographed on silica gel to afford compound **10**.

### (3'S)-Ethyl *N*-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-(PhF)amino]propyl]glycinate (**10a**).

Glycine ethyl ester hydrochloride was dissolved in water, saturated with K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and extracted several times with CHCl<sub>3</sub>. The combined organic phases were dried, filtered and evaporated to afford the free amine which was employed in the ring opening step without further purification. Chromatography was performed with a gradient of 20-40% EtOAc in hexanes containing 1% Et<sub>3</sub>N. Concentration of the collected fractions provided 283.6 mg (64%) of **10a** as a thick clear oil: R<sub>f</sub> = 0.15 (40% EtOAc in hexane); [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -178.8 (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR δ 1.23 (t, 3H, *J* = 7), 1.45 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.61 (d, 2H, *J* = 5.8), 2.66 (m, 3H), 3.30 (s, 2H), 4.16 (q, 2H, *J* = 7), 7.22 (m, 17H), 7.66 (t, 2H, *J* = 7.6); <sup>13</sup>C NMR δ 14.3, 27.1, 29.2, 35.3, 45.9, 51.0,

54.3, 60.6, 73.0, 82.0, 172.3, 174.4; HRMS calcd for  $C_{27}H_{29}N_2O_4$  ( $MH^+$ ) 445.2121, found 445.2113.

**(2S, 3'S)-Methyl N-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[N-(PhF)amino]propyl]valinate (10b).** The free aminoester was generated from **9b-HCl** as described for **10a**. Chromatography was performed with 5% EtOAc in  $CHCl_3$  containing 1%  $Et_3N$  as eluant. Concentration of the collected fractions provided 205.1 mg (94%) of **10b** as a thick clear oil:  $R_f = 0.40$  (10% EtOAc in  $CHCl_3$ );  $[\alpha]_D^{25} -178.5$  ( $c$  0.5,  $CHCl_3$ );  $^1H$  NMR  $\delta$  0.90 (d, 6H,  $J = 6.8$ ), 1.45 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.54 (m, 2H), 1.80 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.63 (m, 1H), 2.74 (t, 1H,  $J = 5.8$ ), 2.89 (d, 1H,  $J = 6.1$ ), 3.74 (s, 3H), 7.14-7.43 (m, 17H), 7.72 (t, 2H,  $J = 7.3$ );  $^{13}C$  NMR  $\delta$  18.9, 19.3, 27.2, 29.3, 31.7, 35.3, 45.0, 51.5, 54.2, 67.4, 73.2, 82.0, 174.8, 175.6; HRMS calcd for  $C_{38}H_{43}N_2O_4$  ( $MH^+$ ) 591.3217, found 591.3215.

**(2S, 3'S)-Benzyl N-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[N-(PhF)amino]propyl]valinate (10c).** The free aminoester was generated from **9c-pTSA** as described for **10a**. Chromatography was performed with 5% EtOAc in  $CHCl_3$  containing 1%  $Et_3N$  as eluant. Concentration of the collected fractions provided 198.1 mg (81%) of **10c** as a thick clear oil:  $R_f = 0.44$  (10% EtOAc in  $CHCl_3$ );  $[\alpha]_D^{25} -124.9$  ( $c$  0.37,  $CHCl_3$ );  $^1H$  NMR  $\delta$  0.88 (q, 6H,  $J = 3.3$ ), 1.50 (s, 3H), 1.57-1.65 (m, 5H), 1.86-1.93 (m, 1H), 2.50-2.60 (m, 1H), 2.70-2.77 (m, 1H), 2.82 (t, 1H,  $J = 5.9$ ), 3.00 (d, 1H,  $J = 6$ ), 5.20 (s, 2H), 7.14-7.40 (m, 22H), 7.73 (t, 2H,  $J = 7$ );  $^{13}C$  NMR  $\delta$  19.1, 19.7, 27.5, 29.6,

32.1, 45.2, 54.5, 66.7, 67.7, 73.5, 82.4, 175.1, 175.6; HRMS calcd for  $C_{44}H_{47}N_2O_4$  ( $MH^+$ ) 667.3530, found 667.3531.

**(2S, 3'S)-Benzyl N-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[N-(PhF)amino]propyl]alaninate (10d).** The free aminoester was generated from **9d**·pTSA as described for **10a**. Chromatography was performed with 5% EtOAc in  $CHCl_3$  containing 1%  $Et_3N$ . Concentration of the collected fractions provided 131 mg (92%) of **10d** as a yellow oil:  $R_f = 0.28$  (10% EtOAc in  $CHCl_3$ );  $[\alpha]_D^{25} -153.5$  ( $c$  0.5,  $CHCl_3$ );  $^1H$  NMR  $\delta$  1.33 (d, 3H,  $J = 6.9$ ), 1.51 (d, 6H,  $J = 15.2$ ), 1.59-1.69 (m, 2H), 2.63-2.72 (m, 3H), 3.39 (q, 1H,  $J = 6.8$ ), 5.20 (s, 2H), 7.12-7.38 (m, 22H), 7.71 (t, 2H,  $J = 8.9$ );  $^{13}C$  NMR  $\delta$  19.5, 27.6, 30.1, 35.6, 45.0, 54.9, 57.2, 66.9, 73.5, 82.5, 174.6, 175.8; HRMS calcd for  $C_{42}H_{43}N_2O_4$  ( $MH^+$ ) 639.3195, found 639.3222.

**(2S, 3'S)-Benzyl N-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[N-(PhF)amino]propyl]leucinate (10e).** The free aminoester was generated from **9e**·pTSA as described for **10a**. Chromatography eluting with 5% EtOAc in  $CHCl_3$  containing 1%  $Et_3N$ , and concentration of the collected fractions provided 166 mg (88%) of **10e** as a thick clear oil:  $R_f = 0.62$  (10% EtOAc in  $CHCl_3$ );  $[\alpha]_D^{25} -141.2$  ( $c$  0.5,  $CHCl_3$ );  $^1H$  NMR  $\delta$  0.84 (d, 3H,  $J = 6.5$ ), 0.91 (d, 3H,  $J = 6.6$ ), 1.40-1.64 (m, 11H), 2.56-2.59 (m, 1H), 2.64-2.70 (m, 1H), 2.74 (t, 1H,  $J = 6$ ), 3.28 (t, 1H,  $J = 7.2$ ), 5.16 (d, 2H,  $J = 2.7$ ), 7.11 (d, 2H,  $J = 7.2$ ), 7.18-7.4 (m, 19H), 7.70 (t, 2H,  $J = 7.7$ );  $^{13}C$  NMR  $\delta$  22.7, 23.1, 25.1, 27.5, 29.6, 43.2, 44.7, 54.5, 60.2, 66.7, 73.5, 82.4, 174.9, 176.3; HRMS calcd for  $C_{45}H_{49}N_2O_4$  ( $MH^+$ ) 681.3692, found 681.3706.

(2*S*, 3'*S*)-Benzyl *N*-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-(PhF)amino]propyl]phenylalaninate (**10f**). The free aminoester was generated from **9f-pTSA** as described for **10a**. Chromatography eluting with 5% EtOAc in CHCl<sub>3</sub> containing 1% Et<sub>3</sub>N, and concentration of the collected fractions provided 126 mg (79%) of **10f** as a yellow oil:  $R_f = 0.40$  (10% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -112.5$  ( $c$  0.38, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.47 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.57-1.60 (m, 2H), 2.60-2.66 (m, 2H), 2.70 (t, 1H,  $J = 5.9$ ), 2.84-3.00 (m, 2H), 3.50 (t, 1H,  $J = 7$ ), 5.07 (s, 2H), 7.1-7.30 (m, 26H), 7.70 (dd, 2H,  $J = 7.6, 12.9$ ); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  27.2, 29.2, 39.9, 44.8, 54.5, 63.4, 66.5, 73.2, 82.2, 174.5; HRMS calcd for C<sub>48</sub>H<sub>47</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (MH<sup>+</sup>) 715.3525, found 715.3535.

(2*S*, 3'*S*)-Methyl *N*-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-(PhF)amino]propyl]tryptophanate (**10g**). The free aminoester was generated from **9g-HCl** as described for **10a**. Chromatography was performed with 10% EtOAc in CHCl<sub>3</sub> containing 1% Et<sub>3</sub>N. Concentration of the collected fractions provided 590 mg (78%) of **10g** as a white foam:  $R_f = 0.18$  (10% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -49.2$  ( $c$  0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.44 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.60-1.64 (m, 2H), 2.52-2.54 (m, 1H), 2.60-2.70 (m, 2H), 3.03-3.10 (m, 1H), 3.17-3.20 (m, 1H), 3.60 (t, 1H,  $J = 6.6$ ), 3.65 (s, 3H), 6.94-7.40 (m, 21H), 7.60-7.30 (m, 3H), 7.78 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  27.3, 29.7, 45.6, 52.2, 55.3, 62.7, 73.5, 82.5, 174.8, 175.8; HRMS calcd for C<sub>44</sub>H<sub>44</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (MH<sup>+</sup>) 678.3331, found 678.3353.

**(2*S*,3'*S*)-Methyl  $N_{\alpha}$ [3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-PhF)Amino]propyl]- $N_{\beta}$ [benzyloxycarbonyl]ornithinate (10h).** The free aminoester was generated from **9h·TFA** as described for **10a**. Chromatography eluting first with 40% EtOAc in hexanes containing 1% Et<sub>3</sub>N, followed by 30% EtOAc in CHCl<sub>3</sub> containing 1% Et<sub>3</sub>N, and concentration of the collected fractions provided 194 mg (71%) of **10h** as a thick clear oil:  $R_f = 0.32$  (30% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -115.1$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.45-1.62 (m, 12H), 2.48-2.54 (m, 1H), 2.57-2.64 (m, 1H), 2.70 (t, 1H, *J* = 5.8), 3.10-3.14 (m, 3H), 3.70 (s, 3H), 5.00-5.05 (m, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.07-7.40 (m, 21H), 7.70 (t, 2H, *J* = 7.4); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  26.2, 27.1, 29.2, 30.7, 35.0, 40.7, 44.5, 51.9, 54.3, 61.0, 66.6, 73.0, 82.1, 156.4, 174.5, 175.8; HRMS calcd for C<sub>46</sub>H<sub>50</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) 740.3694, found 740.3707.

**(2*S*, 3'*S*)- $\alpha$ -*tert*-Butyl  $\beta$ -Methyl  $N$ -[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-PhF)amino]propyl]aspartate (10i).** The free aminoester was generated from **9i·AcOH** as described for **10a**. Chromatography was performed with 5% EtOAc in CHCl<sub>3</sub> containing 1% Et<sub>3</sub>N. Concentration of the collected fractions provided 170 mg (69%) of **10i** as a yellow oil:  $R_f = 0.31$  (10% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -141.3$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.46-1.66 (m, 17H), 2.50-2.80 (m, 5H), 3.50 (t, 1H, *J* = 6.6), 3.67 (s, 3H), 7.10-7.40 (m, 17H), 7.70 (t, 2H, *J* = 7.8); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  27.3, 28.1, 29.2, 38.2, 44.7, 51.9, 54.3, 58.7, 73.1, 81.7, 82.1, 171.5, 174.4; HRMS calcd for C<sub>41</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (M + Na) 685.3248, found 685.3252.

(2*S*, 3'*S*)- $\alpha$ -Benzyl  $\gamma$ -*tert*-Butyl *N*-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-(PhF)amino]propyl]glutamate (**10j**). Chromatography eluting with 15% EtOAc in Hexanes containing 1% Et<sub>3</sub>N, and concentration of the collected fractions provided 136 mg (49%) of **10j** as a yellow oil:  $R_f = 0.65$  (20% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -121$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.40-1.65 (m, 17H), 1.80-1.85 (m, 1H), 1.90-1.97 (m, 1H), 2.20-2.35 (m, 2H), 2.56-2.60 (m, 1H), 2.64-2.70 (m, 1H), 2.74 (t, 1H, *J* = 5.9), 3.23 (t, 1H, *J* = 6.7), 5.20 (s, 2H), 7.12-7.40 (m, 22H), 7.71 (dd, 2H, *J* = 7.6, 11.7); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  27.2, 28.0, 28.2, 28.6, 29.2, 31.9, 44.6, 54.1, 60.8, 66.6, 80.3, 82.0, 172.5, 174.5, 175.0; HRMS calcd for C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) 753.3891, found 753.3897.

(2*S*, 3'*S*)-Methyl *N*-[3'-Cumyloxycarbonyl-3'-[*N*-(PhF)amino]propyl]methioninate (**10k**). The free aminoester was generated from **9k**·HCl as described for **10a**. Chromatography eluting with 5% EtOAc in CHCl<sub>3</sub> containing 1% Et<sub>3</sub>N, and concentration of the collected fractions provided 123 mg (71%) of **10k** as a yellow:  $R_f = 0.28$  (10% EtOAc in CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} -157.5$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.50 (s, 3H), 1.54-1.61 (m, 5H), 1.73-1.79 (m, 1H), 1.86-1.93 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.40-2.60 (m, 3H), 2.64-2.76 (m, 2H), 3.31 (dd, 1H, *J* = 5.6, 7.6), 3.70 (s, 3H), 7.12-7.40 (m, 16H), 7.71 (t, 2H, *J* = 7.7); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  15.8, 27.6, 29.5, 30.9, 33.3, 35.6, 44.9, 52.2, 54.5, 60.6, 73.5, 82.5, 174.9, 176.0; HRMS calcd for C<sub>38</sub>H<sub>43</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (MH<sup>+</sup>) 623.2928, found 623.2943.

**General procedure for cumyl ester removal and lactam formation.**

Compound **10** was dissolved in a 1M solution of HCl in EtOAc (0.05 M) at 0°C, and stirred until complete consumption of starting material by TLC. The mixture was evaporated, and the residue was partitioned between EtOAc (10 mL) and phosphate/citrate pH=5 buffer (5 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (2 x 5 mL), and the combined organic phases were dried, filtered, and evaporated to a residue, which was directly used for the lactam formation. The residue was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M), treated with TBTU (110 mol%) and DIEA (300 mol%), and stirred under argon atmosphere. After 17h, the mixture was partitioned between CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and water. The organic layer was washed with 10% citric acid and brine, dried, filtered and evaporated to a residue that was chromatographed on silica gel to afford the  $\gamma$ -lactam dipeptide **12**.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidineacetic Acid Ethyl Ester (12a).**

Chromatography eluting with 20% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12a** as a white powder in 84% yield from **10a** (308 mg, 0.72 mmol):  $R_f = 0.12$  (30% EtOAc in hexanes); mp 176-176.8 °C;  $[\alpha]_D^{25} -265.4$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  1.20 (t, 3H,  $J = 7.1$ ), 1.57 (quin, 1H,  $J = 10.6$ ), 2.80 (dd, 1H,  $J = 8, 10.4$ ), 2.90-3.05 (m, 2H), 3.25 (br, 1H), 3.83 (d, 1H,  $J = 17.6$ ), 4.05-4.13 (m, 3H), 7.14-7.44 (m, 12H), 7.65 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.72 (d, 1H,  $J = 7.3$ ); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  14.2, 30.6, 44.3, 44.8, 54.1, 61.3, 73.0, 168.4, 175.3; HRMS calcd for C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>) 427.2002, found 427.2021.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-methyl-2'-butanoic Acid Methyl Ester (12b).** Chromatography eluting with 15% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12b** as a white solid in 80% yield from **10b** (108 mg, 0.24 mmol):  $R_f = 0.35$  (30% EtOAc in hexanes); mp 141.9-142.9 °C;  $[\alpha]_D^{25} -279.8$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR } \delta$  0.62 (d, 3H,  $J = 6.7$ ), 0.78 (d, 3H,  $J = 6.7$ ), 1.06 (quin, 1H,  $J = 6.7$ ), 1.37-1.50 (m, 1H), 1.92-2.00 (m, 1H), 2.70-2.80 (m, 2H), 3.34 (t, 1H,  $J = 9.3$ ), 3.60 (s, 3H), 4.32 (d, 1H,  $J = 10$ ), 7.02-7.47 (m, 12H), 7.57 (d, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.65 (d, 1H,  $J = 7.5$ );  $^{13}\text{C NMR } \delta$  19.0, 28.2, 30.6, 41.2, 51.7, 54.0, 60.0, 72.8, 170.9, 175.0; HRMS calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) 477.2148, found 477.2148.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-methyl-2'-butanoic Acid Benzyl Ester (12c).** Chromatography eluting with 15% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12c** as a white foam in 93% yield from **10c** (105 mg, 0.2 mmol):  $R_f = 0.53$  (30% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -245$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR } \delta$  0.72 (d, 3H,  $J = 6.7$ ), 0.86 (d, 3H,  $J = 6.6$ ), 1.12 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.47 (t, 1H,  $J = 10.6$ ), 2.04-2.13 (m, 1H), 2.80-2.91 (m, 2H), 3.37 (t, 1H,  $J = 9.3$ ), 4.48 (d, 1H,  $J = 9.8$ ), 5.16 (q, 2H,  $J = 11.2, 12.3$ ), 7.19-7.47 (m, 16H), 7.68 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.76 (d, 1H,  $J = 7.4$ );  $^{13}\text{C NMR } \delta$  19.3, 28.5, 30.9, 41.5, 54.2, 60.3, 66.7, 73.0, 170.4, 175.3; HRMS calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{MH}^+$ ) 531.2642, found 531.2648.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-2'-propionic Acid Benzyl Ester (12d).** Chromatography eluting with 15% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12d** as a white foam in 90% yield from **10d** (70 mg, 0.14 mmol):  $R_f = 0.26$  (20% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -212$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.18 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.28 (d, 3H,  $J = 7.5$ ), 1.58 (quin, 1H,  $J = 10.6$ ), 2.80-2.87 (m, 2H), 3.12 (t, 1H,  $J = 9.2$ ), 3.43 (br, 1H), 4.82 (q, 1H,  $J = 7.4$ ), 5.15 (q, 2H,  $J = 5.5, 12.3$ ), 7.21-7.46 (m, 16H), 7.66 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.74 (d, 1H,  $J = 7.4$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  14.9, 30.7, 41.1, 49.7, 54.5, 67.0, 73.1, 171.2, 174.9; HRMS calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{MH}^+$ ) 503.2329, found 503.2323.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-4'-methyl-2'-pentanoic Acid Benzyl Ester (12e).** Chromatography eluting with 15% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12e** as a white foam in 88% yield from **10e** (96.4 mg, 0.18 mmol):  $R_f = 0.36$  (20% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -204$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  0.85 (d, 6H,  $J = 6.6$ ), 1.13 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.53-1.59 (m, 2H), 1.62-1.67 (m, 1H), 2.79 (dt, 1H,  $J = 6.6, 9.9$ ), 2.90 (dd, 1H,  $J = 7.7, 10.5$ ), 3.20 (t, 1H,  $J = 9.2$ ), 3.40 (br, 1H), 4.83 (dd, 1H,  $J = 5, 10.7$ ), 5.17 (d, 2H,  $J = 2.5$ ), 7.20-7.48 (m, 16H), 7.68 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.76 (d, 1H,  $J = 7.4$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  21.5, 23.0, 24.9, 30.8, 37.9, 41.3, 52.6, 54.3, 66.9, 73.0, 171.2, 175.2; HRMS calcd for  $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{MH}^+$ ) 545.2799, found 545.2807.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-phenyl-2'-propionic Acid Benzyl Ester (12f).** Chromatography eluting with 15% EtOAc in hexanes and

concentration of the collected fractions provided **12f** as a gummy solid in 85% yield from **10f** (54 mg, 0.09 mmol):  $R_f = 0.17$  (20% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -180.4$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR } \delta$  1.06 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.50 (br, 1H), 2.64 (dd, 1H,  $J = 7.8$ , 10.6), 2.76 (dt, 1H,  $J = 6.4$ , 9.9), 2.88 (dd, 1H,  $J = 9.9$ , 14.4), 3.10 (t, 1H,  $J = 9.2$ ), 3.24 (dd, 2H,  $J = 6.3$ , 14.4), 4.98 (dd, 1H,  $J = 6.4$ , 9.8), 5.10 (s, 2H), 7.05-7.44 (m, 21H), 7.65 (d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.72 (d, 1H,  $J = 7.5$ );  $^{13}\text{C NMR } \delta$  35.6, 42.2, 54.5, 55.8, 67.4, 73.3, 170.5; HRMS calcd for  $\text{C}_{39}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3$  ( $\text{MH}^+$ ) 579.2642, found 579.2631.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-**

**propionic Acid Methyl Ester (12g).** Chromatography eluting with 30% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12g** as a white solid in 95% yield from **10g** (75.8 mg, 0.14 mmol):  $R_f = 0.15$  (30% EtOAc in hexanes); mp 158.9-159.9 °C;  $[\alpha]_D^{25} -196.2$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR } \delta$  1.06 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.50 (br, 1H), 2.67-2.76 (m, 2H), 3.06-3.18 (m, 2H), 3.32 (dd, 2H,  $J = 5.7$ , 15.5), 3.70 (s, 3H), 5.07 (br, 1H), 6.80 (s, 1H), 7.06-7.50 (m, 15H), 7.63 (d, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.71 (d, 1H,  $J = 7.3$ ), 7.90 (s, 1H);  $^{13}\text{C NMR } \delta$  25.4, 41.9, 52.8, 54.8, 73.3, 171.6, 175.7; HRMS calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3$  ( $\text{MH}^+$ ) 542.2438, found 542.2441.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-5'-benzyloxycarbonylamino-**

**2'-pentanoic Acid Methyl Ester (12h).** Chromatography eluting with 40% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12h** as a white foam in 86% yield from **10h** (116,1 mg, 0.19 mmol):  $R_f = 0.14$  (40% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -189$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR } \delta$  1,17 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.30-1.40 (m, 3H),

1.52-1.66 (m, 2H), 1.85-1.94 (m, 1H), 2.70-2.80 (m, 1H), 2.88 (dd, 1H,  $J = 8, 10.3$ ), 3.10-3.25 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.65 (dd, 1H,  $J = 5.2, 10$ ), 4.80 (br, 1H), 5.06 (s, 2H), 7.20-7.47 (m, 16H), 7.70 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.77 (d, 1H,  $J = 7.4$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  26.3, 26.7, 30.7, 40.3, 41.1, 52.3, 53.8, 54.2, 66.6, 156.3, 171.0, 175.3; HRMS calcd for  $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_5$  ( $\text{MH}^+$ ) 604.2806, found 604.2796.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-2'-succinic Acid 1-tert-Butyl Ester 4'-Methyl Ester (12i).** Chromatography eluting with 20% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12i** as a white foam in 63% yield from **10i** (73.6 mg, 0.14 mmol):  $R_f = 0.36$  (30% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25}$   $-212.1$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.16-1.25 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.50-1.60 (m, 1H), 2.70-2.80 (m, 2H), 2.83-2.90 (m, 2H), 3.18 (t, 1H,  $J = 9$ ), 3.60 (s, 3H), 4.76 (dd, 1H,  $J = 6.1, 7.8$ ), 7.14-7.47 (m, 12H), 7.68 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.74 (d, 1H,  $J = 8$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  27.9, 30.9, 34.4, 43.0, 51.9, 52.6, 54.4, 73.0, 82.5, 168.2, 171.0, 175.2; HRMS calcd for  $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$  ( $\text{MH}^+$ ) 527.2540, found 527.2552.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-2'-glutaric Acid 1-Benzyl Ester 5'-tert-Butyl Ester (12j).** Chromatography eluting with 20% EtOAc in hexanes, and concentration of the collected fractions provided **12j** as a white foam in 72% yield from **10j** (69.6 mg, 0.12 mmol):  $R_f = 0.49$  (30% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25}$   $-213$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.05 (quin, 1H,  $J = 6.5$ ), 1.27 (s, 9H), 1.40-1.50 (m, 1H), 1.70-1.80 (m, 1H), 1.90-2.15 (m, 3H), 2.70-2.80 (m, 2H), 3.00 (t, 1H,  $J = 9.2$ ), 4.58-4.62 (m, 1H), 5.05 (dd, 2H,  $J = 12.3, 21.3$ ), 7.07-7.36 (m, 17H), 7.57 (d, 1H,  $J =$

7.5), 7.65 (d, 1H,  $J = 7.5$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  24.4, 28.2, 30.8, 32.1, 41.5, 53.9, 54.2, 67.1, 73.0, 80.9, 170.2, 171.5, 175.5; HRMS calcd for  $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_5$  ( $\text{MH}^+$ ) 617.3010, found 617.3015.

**(3S)-3-[N-(PhF)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-4'-methylsulfanyl-2'-butanoic Acid Methyl Ester (12k).** Chromatography eluting with 30% EtOAc in hexanes and concentration of the collected fractions provided **12k** as a white foam in 86% yield from **10k** (68.5 mg, 0.09 mmol):  $R_f = 0.31$  (30% EtOAc in hexanes);  $[\alpha]_D^{25} -245.2$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.18 (quin, 1H,  $J = 6.6$ ), 1.61 (br, 1H), 1.84-1.93 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 2.13-2.22 (m, 1H), 2.30 (m, 2H), 2.80-2.90 (m, 2H), 3.20 (t, 1H,  $J = 9.2$ ), 3.38 (br, 1H), 3.72 (s, 3H), 4.75 (dd, 1H,  $J = 5, 10$ ), 7.17-7.45 (m, 11H), 7.67 (d, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.75 (d, 1H,  $J = 7.4$ );  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  15.5, 28.8, 30.7, 41.8, 52.6, 53.7, 54.4, 73.1, 170.9, 175.4; HRMS calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{MH}^+$ ) 487.2050, found 487.2052.

#### **PLG analogue synthesis.**

**(3S)-3-Amino-2-Oxo-1-Pyrrolidineacetic Acid Ethyl Ester (13).** A solution of lactam **12a** (69 mg, 0.162 mmol) in 15:1 MeOH/AcOH (8 mL) was placed into a hydrogenation vessel and treated with  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (35 mg). The vessel was filled, vented and filled three times with hydrogen and the mixture was stirred under 5 atm of hydrogen for 3 h. The catalyst was filtered on Celite<sup>TM</sup>, washed with MeOH and the filtrate and washings were combined and evaporated. The residue was purified by chromatography on silica gel with 20% iPrOH in  $\text{CHCl}_3$  as eluant to provide 23 mg (76%) of **13**:  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  1.25 (t, 3H,  $J = 7.2$ ), 1.73-1.90 (m, 1H), 2.10 (s, 2H), 2.40-

2.50 (m, 1H), 3.31-3.40 (m, 1H), 3.42-3.45 (m, 1H), 3.56 (t, 1H,  $J = 9.1$ ), 3.94 (d, 1H,  $J = 17.6$ ), 4.10-4.20 (m, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  13.4, 28.6, 44.3, 52.4, 61.2, 168.3, 176.3.

**(S)-3-Prolylamino-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide (16)**. A solution of *N*-(Cbz)-Pro (93 mg, 0.371 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL) was cooled to  $0^\circ\text{C}$ , treated with HOBT (51 mg, 0.371 mmol), TBTU (119.2 mg, 0.371 mmol) and DIEA (96.5  $\mu\text{L}$ , 0.55 mmol), stirred for 30 min, treated with a solution of **13** (23 mg, 0.123 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL), and stirred for 2 h allowing the cooling bath to warm to room temperature. The mixture was diluted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) and washed with a 1M aq.  $\text{NaHCO}_3$ , 10% citric acid and brine. The organic phase was dried, filtered and evaporated to a residue that was purified by HPLC using 20-80%  $\text{CH}_3\text{CN}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  containing 0.05% TFA on a reversed-phase  $\text{C}_{18}$  column (RT = 17.2). Evaporation of the collected fractions afforded **14** as an oil which was treated with 20 mL of saturated methanolic ammonia solution and stirred at room temperature for 19 h. Evaporation of the volatiles gave a residue that was purified by HPLC using 20-80%  $\text{CH}_3\text{CN}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  containing 0.05% TFA on a reversed-phase  $\text{C}_{18}$  column (RT = 12.8 min). Evaporation of the collected fractions afforded **15** in 61% overall yield from **13** (29.3 mg, 0.075 mmol): MS (ESI) 389 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ . A solution of **15** (26.2 mg, 0.067 mmol) in MeOH (6 mL) was placed into a hydrogenation vessel and treated with 10% Pd/C as the catalyst (3 mg). The vessel was filled, vented and filled three times with hydrogen and the mixture was stirred under 60 psi of hydrogen for 21 h. The catalyst was filtered on Celite<sup>TM</sup> and washed with MeOH. The filtrate and washings were evaporated. The residue was purified by HPLC using an isocratic solvent system of

2% CH<sub>3</sub>CN : 98% H<sub>2</sub>O containing 0.05% TFA on a reversed-phase column (RT = 5.85 min) to afford 13.2 mg of **16** as a white foam (33 % overall yield from **13**): <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 23.5, 25.6, 29.6, 44.2, 45.4, 45.7, 50.1, 59.0, 168.4, 169.3, 171.5; MS (ESI) 255 (M + H)<sup>+</sup>.

### Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada, the Ministère de l'Éducation du Québec and Boehringer Ingelheim Canada Ltd. We are grateful to Dalbir Sekhon for his assistance in peptide purifications.

### 3.6 REFERENCES

1. Toniolo, C. *Biopolymers* 1989, 28, 247-257.
2. Aubé, J. *Synthetic Routes to Lactam Peptidomimetics*. In *Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics*; JAI Press Inc.: Greenwich, CT, 1997, 1, 193-232.
3. Freidinger, R. M. *J Med Chem* 2003, 46, 5553-5566.
4. Freidinger, R. M.; Veber, D. F.; Perlow, D. S.; Brooks, J. R.; Saperstein, R. *Science* 1980, 210, 656-658.
5. Yu, K. -L.; Rajakumar, G.; Srivastava, L. K.; Mishra, R. K.; Johnson, R. L. *J Med Chem* 1988, 31, 1430-1436.

6. Samanen, J.; Hempel, J. C.; Narindray, D.; Regoli, D. In *Chemistry and Biology: Proceedings of the Tenth American Peptide Symposium*; Marshall, G. R., Ed.; ESCOM, Leiden, 1988, 137-139.
7. Samanen, J.; Cash, T.; Narindray, D.; Brandeis, E.; Adams, W., Jr.; Weideman, H.; Yellin, T.; Regoli, D. *J Med Chem* 1991, 34, 3036-3043.
8. Zhang, Y. L.; Dawe, A. L.; Jiang, Y.; Becker, J. M.; Naider, F. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, 224, 327-331.
9. Freidinger, R. M. In *Peptides: Synthesis, Structure, Functions*; Rich, D. H., Gross, E., Eds.; Pierce Chemical Co.: Rockford, IL, 1981, 673-683.
10. Freidinger, R. M.; Perlow, D. S.; Veber, D. F. *J Org Chem* 1982, 47, 104-109.
11. Hinds, M. G.; Richards, N. G. J.; Robinson, J. A. *J Chem Soc, Chem Commun* 1998, 1447-1449.
12. Ward, P.; Ewan, G. B.; Jordan, C. C.; Ireland, S. J.; Hagan, R. M.; Brown, J. *J Med Chem* 1990, 33, 1848-1851.
13. Genin, M. J.; Gleason, W. B.; Johnson, R. L. *J Org Chem* 1993, 58, 860-866.
14. Genin, M. J.; Ojala, W. H.; Gleason, W. B.; Johnson, R. L. *J Org Chem* 1993, 58, 2334-2337.
15. Scott, W. L.; Alsina, J.; Kennedy, J. H.; O'Donnell, M. *J Org Lett* 2004, 6, 1629-1632.
16. Wolf, J.-P.; Rapoport, H. *J Org Chem* 1989, 54, 3164-3173.
17. Atfani, M.; Wei, L.; Lubell, W. D. *Org Lett* 2001, 3, 2965-2968.
18. Melendez, R.; Lubell, W. D. *Tetrahedron* 2003, 59, 2581-2616.

19. Sieber, P.; Iselin, B. *Helv. Chim. Acta* 1968, 51, 614-622.
20. Wessel, H. P.; Iversen, T.; Bundle, D. R. *J Chem Soc Perkin Trans I* 1985, 2247-2250.
21. Yue, C.; Thierry, J.; Potier, P. *Tetrahedron Lett* 1993, 34, 323-326.
22. Thierry, J.; Yue, C.; Potier, P. *Tetrahedron Lett* 1998, 39, 1557-1560.
23. Gosselin, F.; Lubell, W. D. *J Org Chem* 1998, 63, 7463-7471.
24. Wei, L.; Lubell, W. D. *Org Lett* 2000, 2, 2595-2598.
25. Lohray, B. B. *Synthesis* 1992, 1035-1052.
26. Wood, G.; McIntosh, J. M.; Miskow, M. *Tetrahedron Lett* 1970, 11, 4895-4896.
27. Christie, B. D.; Rapoport, H. *J Org Chem* 1985, 50, 1239-1246.
28. Swarbrick, M. E.; Gosselin, F.; Lubell, W. D. *J Org Chem* 1999, 64, 1993-2002.
29. Swarbrick, M. E.; Lubell, W. D. *Chirality* 2000, 12, 366-373.
30. Zervas, L.; Winitz, M.; Greenstein, J. P. *J Org Chem* 1957, 22, 1515-1521.
31. Sheppeck II, J. E.; Kar, H.; Hong, H. *Tetrahedron Lett* 2000, 41, 5329-5333.
32. Wang, S.-S.; Gisin, B. F.; Winter, D. P.; Makofske, R.; Kulesha, I. D.; Tzougraki, C.; Meienhofer, J. *J Org Chem* 1977, 42, 1286-1290.

## **CHAPITRE 3**

**Synthèse et Biologie d'Analogues de GHRP-6 contenant des  
Lactames de Freidinger.**

### 3.1 INTRODUCTION

L'hormone de croissance (GH), une hormone anabolique, est relâchée d'une façon pulsatile par la glande pituitaire et régulée normalement par deux hormones hypothalamiques : GHRH ("growth hormone releasing hormone") qui stimule, et la somastatine (SST) qui inhibe la libération de GH.<sup>1</sup> Les GHRPs ("Growth hormone-releasing peptides") sont une classe de peptides synthétiques qui stimulent la libération de GH par un mode différent de celui utilisé par le récepteur GHS-R 1a couplé à la protéine G.<sup>2-6</sup> Par exemple, l'hexapeptide GHRP-6 a montré qu'il causait la libération de GH à partir des somatotrophes, et ce d'une manière dose dépendante dans plusieurs espèces incluant les humains.<sup>7</sup> D'autres puissants sécrétagogues de l'hormone de croissance (GHSs) ont plus tard été découverts et étudiés *in vitro* et *in vivo*, incluant GHRP-1, GHRP-2 et hexaréline (Figure 1).<sup>8-10</sup> De plus, plusieurs sécrétagogues nonpeptidiques ont été rapportés, telles que la benzolactame L-692,429<sup>11,12</sup> et la spiropiperidine MK-0677<sup>13</sup> (Figure 1). Ce dernier composé, MK-0677 a démontré une puissante activité *in vitro* ( $EC_{50} = 1.3$  nM) et a élevé les niveaux de GH chez les beagles après une prise orale aussi faible que 0.125 mg/kg.<sup>13</sup>

La ghréline, un peptide de 28 acides aminés [GSS(octanoyl)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR], a été identifiée comme étant le ligand naturel du récepteur GHS-R 1a. Isolée à partir d'estomac de rat<sup>14</sup> et identifiée chez les humains,<sup>15</sup> la ghréline a induit la libération de GH à partir d'une culture de cellules pituitaires d'une manière dose dépendante sans stimuler la

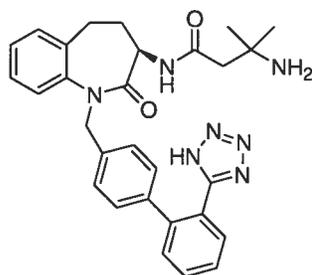
libération d'autres hormones pituitaires. La ghréline a été le premier peptide isolé à partir de sources naturelles qui possédait un groupe hydroxyle de la sérine acylé par l'acide *n*-octanoïque, et la suppression de ce groupe octanoyle a causé une perte de puissance d'un facteur de 100.<sup>14,16</sup>

**GHRP-1** Ala-His-D-βNal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>

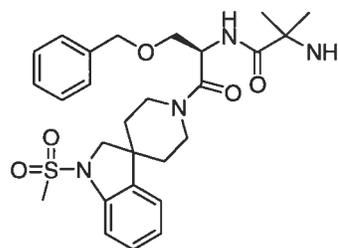
**GHRP-2** D-Ala-D-βNal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>

**GHRP-6** His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>

**Hexarelin** His-D-Mrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>



**L-692,429**



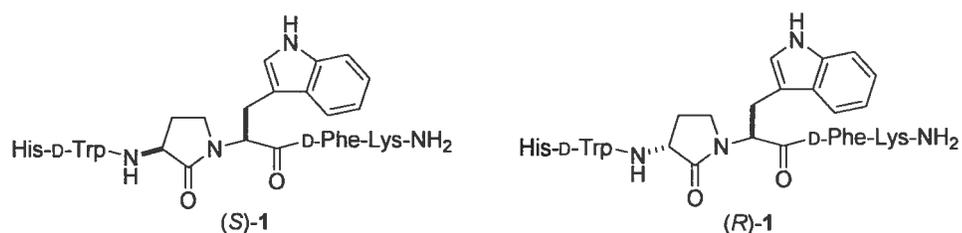
**MK-0677**

**Figure 1.** Structures d'analogues de GHRP, et sécrétagogues non peptidiques de GH.

Les GHRPs possèdent typiquement deux acides aminés centraux de configuration L (Ala-Trp) compris entre deux acides aminés de configuration D. Une alternance similaire de configurations semble favoriser des conformations possédant un repliement de type β.<sup>17</sup> De plus, des études de modélisation moléculaire sur GHRP-6 ont suggéré que la conformation active du peptide adopte une géométrie comprenant un repliement.<sup>18</sup> Une contrainte structurelle a été employée pour réduire la liberté

conformationnelle au niveau des résidus Ala-Trp pour explorer l'importance sur l'activité biologique d'un possible repliement.

Les lactames  $\alpha$ -aminés, appelés lactames de Freidinger, ont été insérés dans des peptides pour induire des repliements  $\beta$ .<sup>19-21</sup> Récemment, nous avons introduit une méthodologie efficace pour synthétiser de façon énantiomériquement pure des  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactames dipeptidiques à partir de sulfamidates cycliques dérivés de l'homosérine.<sup>22</sup> Une variété de dipeptides contraints, possédant des chaînes latérales aliphatiques, aromatiques, aminées, thioétherées et carboxylates, a été produit pouvant servir de "building blocks" pour l'introduction de contrainte conformationnelle dans des peptides biologiquement actifs. En employant cette méthodologie, les résidus centraux (Ala-Trp) de l'hexapeptide GHRP-6 (Figure 2) ont été remplacés par des lactames de Freidinger pour étudier la conformation active de ce sécrétagogue. Deux analogues du GHRP-6, (*S*)- et (*R*)-1, possédant des lactames de Freidinger de différentes configurations ont été synthétisés et évalués pour l'activité et l'affinité.

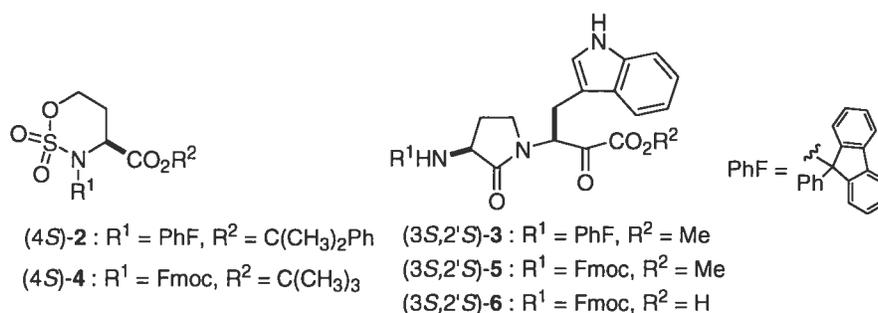


**Figure 2.** Analogues du GHRP-6 possédant des lactames de Freidinger.

## 3.2 RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.2.1 Chimie en solution.

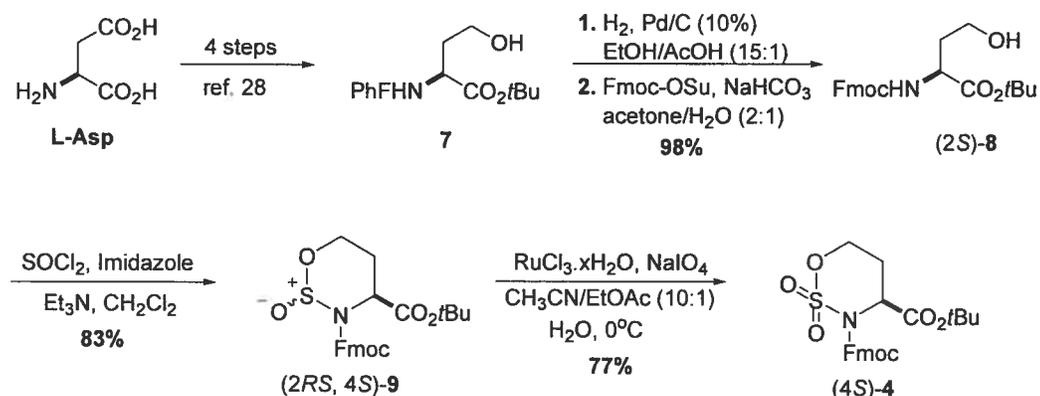
La synthèse des lactames dipeptidiques a été réalisée tout d'abord en solution,<sup>22</sup> puis leur incorporation dans le peptide s'est faite en phase solide. Dans notre précédente stratégie,<sup>21</sup> le sulfamidate cyclique *N*-PhF (4*S*)-2 [PhF = 9-(9-phenylfluorenyl)] a été employé dans la synthèse de l'ester méthylique de l'acide (3*S*)-3-[*N*-(PhF)amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'*S*)-3'-(1*H*-indol-3-yl)-2'-propionique (3*S*,2'*S*)-3 (Figure 3); cependant, le clivage hydrogénéolytique du groupement PhF en utilisant Pd/C (10%) dans EtOH/AcOH (15:1),<sup>23</sup> suivi par la protection de l'azote avec Fmoc-OSu dans acétone/eau n'a permis d'obtenir l'ester correspondant avec l'amine protégée par un groupement Fmoc (3*S*,2'*S*)-5 (Fmoc = 9-fluorénylméthylloxycarbonyle) qu'avec un rendement de 30%. Également, l'hydrolyse de l'ester méthylique (3*S*,2'*S*)-3 avec TMSOK dans de l'éther, suivie par un clivage hydrogénéolytique du groupement PhF et d'une protection par un groupement Fmoc en utilisant les mêmes conditions que précédemment ont donné le lactame dipeptidique (3*S*,2'*S*)-6 avec un rendement de 30% pour trois étapes. A la lumière de ces faibles rendements, en partie dus au fait que l'anneau indolique subissait une réduction durant l'hydrogénation, des stratégies alternatives pour synthétiser les lactames dipeptidiques 5 et 6 protégés par un groupement Fmoc ont été développées à partir de l'ester *tert*-butylique du sulfamidate cyclique Fmoc-protégé 4.



**Figure 3.** Sulfamidates cycliques (4S)-2 et (4S)-4, lactames dipeptidiques (3S,2'S)-3, (3S,2'S)-5 et (3S,2'S)-6.

De la même façon que le sulfamidate cyclique (4S)-2 protégé par un groupement PhF a été synthétisé,<sup>22</sup> les esters *tert*-butyliques (4R) et (4S) des sulfamidates cycliques protégés par un groupement Fmoc (4R)- et (4S)-4 ont été préparés à partir de l'acide aspartique de configuration D et L respectivement. Initialement, l'ester *tert*-butylique de l'homosérine Fmoc-protégée (2S)-8 a été synthétisé dans un rendement de 98% par clivage hydrogénéolytique du groupement PhF de l'ester *tert*-butylique de l'homosérine 7 protégée par un groupe PhF en utilisant du Pd/C (10%) dans EtOH/AcOH (15:1), suivi par la protection de l'amine primaire avec Fmoc-OSu et NaHCO<sub>3</sub> dans acétone/eau (2:1). Le traitement de l'homosérine (2S)-8 avec du chlorure de thionyle, de l'imidazole, et de la triéthylamine dans du dichlorométhane a donné un mélange diastéréomérique de sulfamidites (2RS, 4S)-9 avec un rendement de 83%.<sup>24</sup> L'oxydation des sulfamidites (2RS, 4S)-9 avec une quantité catalytique de trichlorure de ruthénium et du périodate de sodium dans acétonitrile/AcOEt/H<sub>2</sub>O (10/1/11, v/v/v) à 0°C a fourni le sulfamidate (4S)-4 (Schéma 1).<sup>24</sup> Les sulfamidites

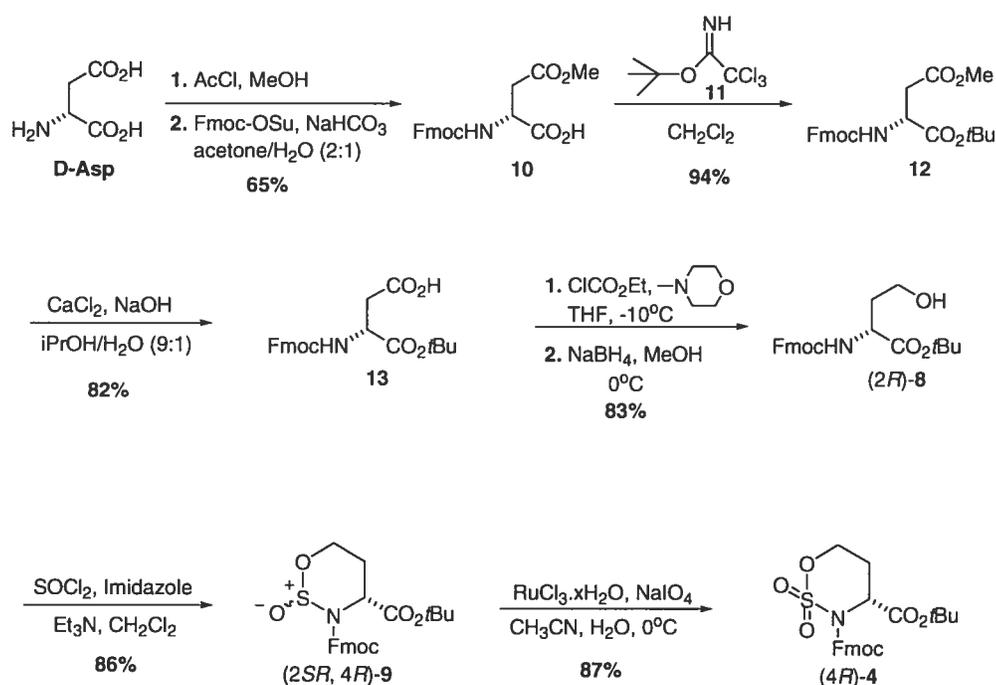
(2*RS*, 4*S*)-**9** et sulfamidate (4*S*)-**4** doivent être gardés à 4°C et sont stables pendant 2 semaines.



**Schéma 1.** Synthèse du sulfamidate (4*S*)-**4** à partir de L-Asp.

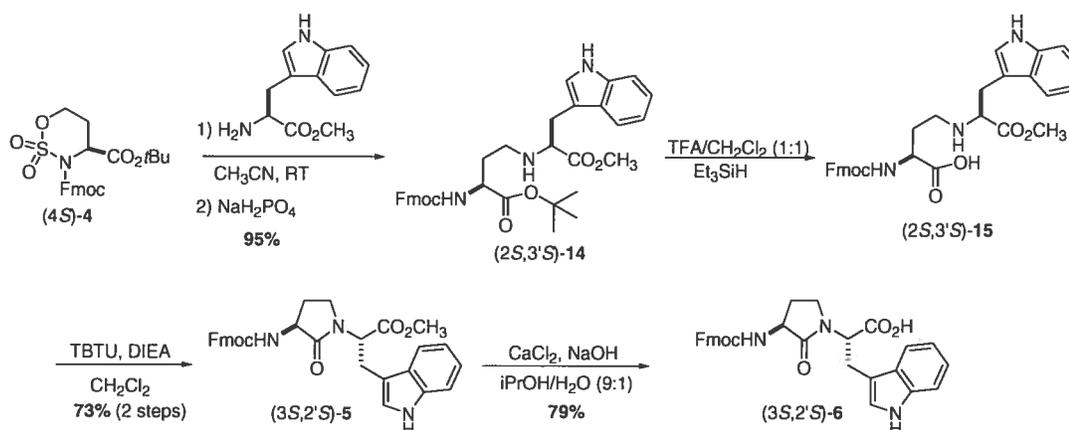
L'homoserine (4*R*)-**4** a été ensuite synthétisée par une autre route en partant de l'acide aspartique D (Schéma 2). L'aspartate de méthyle **10** Fmoc-protégé a été synthétisé dans un rendement de 65% en traitant l'acide aspartique D avec du chlorure d'acétyle dans du méthanol, suivi par une protection de l'amine primaire avec Fmoc-OSu et NaHCO<sub>3</sub> dans un mélange acétone/eau (2:1). Le 2-méthyle-2-propyle trichloroacétimide **11** a été synthétisé par acylation de l'alcool *tert*-butylique avec du trichloroacétonitrile et de l'hydrure de sodium dans de l'éther anhydre.<sup>25</sup> L'estérification de l'aspartate de méthyle **10** avec l'imide **11** dans du dichlorométhane a donné l'ester *tert*-butylique **12** dans un rendement de 94% après purification par chromatographie en utilisant 20% AcOEt dans de l'hexane comme éluant.<sup>26,27</sup> Bien que la conversion du diester β-méthyle α-*tert*-butylique *N*-(PhF)aspartate en l'homosérine correspondante **7** ait été effectuée avec un rendement

de 96%,<sup>28</sup> la réduction de l'analogue Fmoc-protégé **12** avec du DIBAL-H dans du tétrahydrofurane n'a permis d'obtenir le composé désiré, l'homosérine **8**, seulement avec un rendement de 30%. Alternativement, l'hydrolyse de l'ester méthylique **12** avec CaCl<sub>2</sub> et NaOH dans un mélange iPrOH/eau (9:1) a fourni l'acide  $\alpha$ -*tert*-butyle *N*-(Fmoc)-D-aspartique **13** dans un rendement de 82%.<sup>29</sup> L'acide **13** a été converti par la suite en  $\alpha$ -*tert*-butyle *N*-(Fmoc)homosérine (2*R*)-**8** par activation sous la forme d'un anhydride mixte avec du chloroformate d'éthyle et de la *N*-méthylmorpholine et suivie par une réduction chimiosélective en utilisant du borohydrure de sodium dans du tétrahydrofurane avec une addition goutte à goutte de méthanol.<sup>30</sup> Le *N*-(Fmoc)sulfamidate (4*R*)-**4** a été préparé à partir de l'homosérine (2*R*)-**8** d'une façon similaire à son homologue L- avec un rendement de 75% pour les deux étapes (Schéma 2).<sup>24</sup>



**Schéma 2.** Synthèse du *N*-(Fmoc)sulfamidate (4*R*)-**4** à partir de D-Asp.

La synthèse des lactames de Freidinger (3*S*,2'*S*)- et (3*R*,2'*S*)-**6** a commencé respectivement par l'ouverture des sulfamidates (4*S*)- et (4*R*)-**4** dans de l'acétonitrile à température ambiante en utilisant l'ester méthylique du L-tryptophane, qui a été libéré de son sel de HCl par partition entre une solution aqueuse de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et du CHCl<sub>3</sub>. Après deux heures, le mélange réactionnel a été versé dans une solution 1M de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et agité vigoureusement pour hydrolyser l'acide sulfamique, et le  $\alpha$ -*N*-(Fmoc)amino ester **14**  $\gamma$ -substitué a été isolé avec un rendement variant de 90 à 95% par extraction avec de l'acétate d'éthyle et purification sur une colonne chromatographique. L'amine secondaire **14** a été convertie en lactame protégé par une déprotection sélective de l'ester *tert*-butylique avec une solution de TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) contenant du Et<sub>3</sub>SiH, suivie par une activation du carboxylate avec TBTU, DIEA dans du dichlorométhane à température ambiante. L'ester méthylique du lactame dipeptidique Fmoc-protégé **5** a été obtenu après purification sur gel de silice avec un rendement de 70-73% pour les deux étapes. L'hydrolyse de l'ester **5** a été réalisée avec du CaCl<sub>2</sub> et NaOH dans un mélange de *i*PrOH/eau (9:1) pour donner l'acide **6** dans un rendement de 79-82% prêt à être utilisé sur support solide pour la synthèse du peptide (Schéma 3).<sup>29</sup>



**Schéma 3.** Synthèse de  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactame dipeptidique (3*S*,2'*S*)-6.

### 3.2.2 Synthèse peptidique.

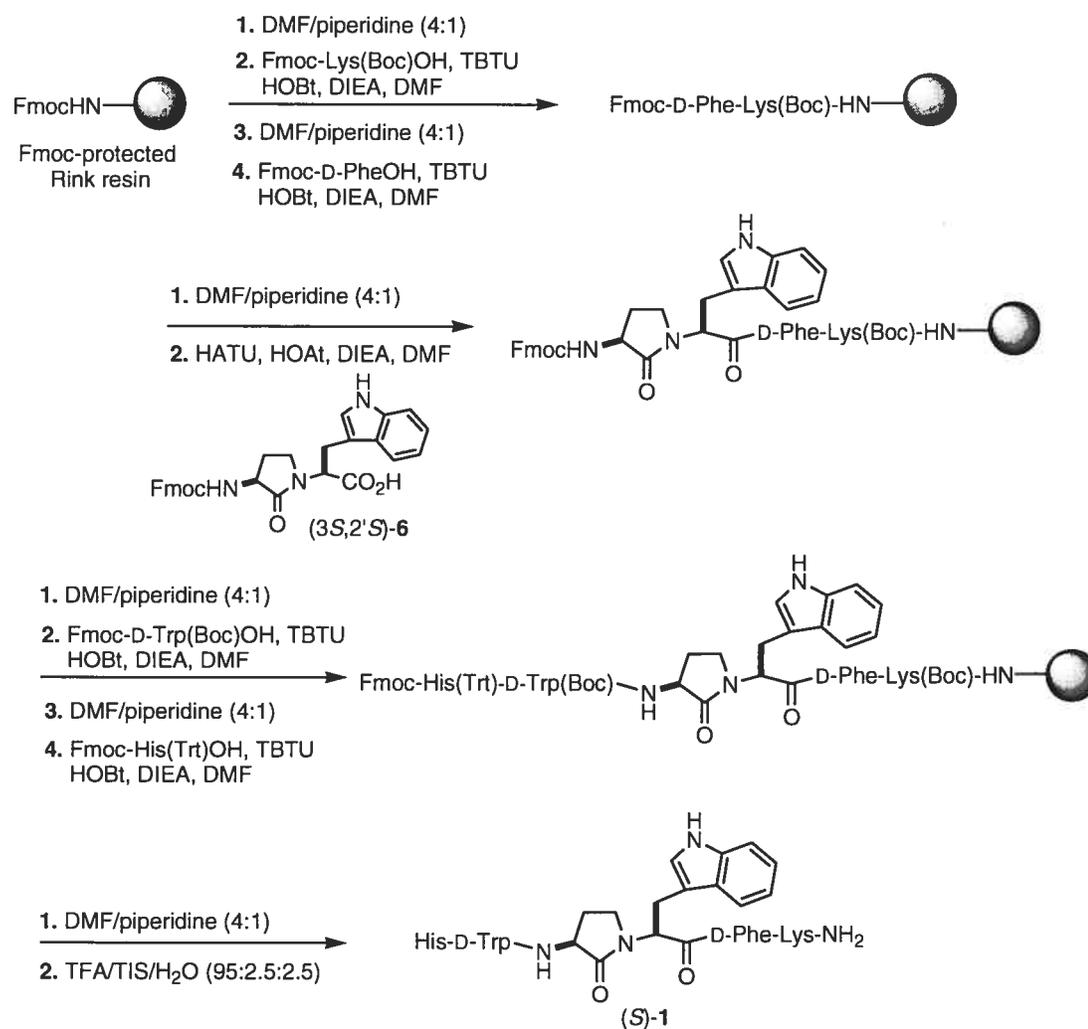
La synthèse des peptides (*S*)- et (*R*)-1 a été réalisée sur la résine Rink en utilisant une stratégie de protection Fmoc comme illustré pour la synthèse de (*S*)-1 dans le Schéma 4.<sup>31</sup> Les acides aminés protégés par un groupement Fmoc (300 mol%) sont couplés en utilisant du TBTU en combinaison avec HOBT et DIEA dans du DMF. Le groupement Fmoc a été clivé à l'aide d'une solution 80/20 (v/v) DMF/pipéridine pendant deux périodes de 15 min. Pour l'insertion des  $\alpha$ -amino  $\gamma$ -lactames dipeptidiques (3*S*,2'*S*)- et (3*R*,2'*S*)-6, seulement 150 mol% de l'acide contraint dipeptidique ont été employées, utilisant HATU<sup>32</sup> comme agent de couplage avec HOAt et DIEA dans du DMF. Durant les réactions de couplage, la conversion a été contrôlée à l'aide du test de Kaiser.<sup>33</sup> Le clivage final des peptides (*S*)- et (*R*)-1 du support solide ainsi que la déprotection des chaînes latérales ont été effectués en traitant la résine avec une solution fraîchement préparée de TFA/TIS/ $\text{H}_2\text{O}$  (95/2.5/2.5,

v/v/v) (TIS = triisopropylsilane). Les peptides ont été isolés sous forme de mousse blanche par précipitation dans l'éther, dissolution dans une solution 1:1 acétonitrile/H<sub>2</sub>O et lyophilisation. La pureté des peptides bruts a été analysée avec un appareil HPLC analytique (avec un gradient de 0-100% acétonitrile dans eau contenant 0.1% TFA sur une colonne C<sub>18</sub> en phase inverse) et estimée être autour de 78% pour chaque peptide. Les peptides ont été purifiés sur un appareil HPLC semi-préparatif en utilisant un gradient d'eau/acétonitrile contenant 0.1% TFA avec une colonne C<sub>18</sub> en phase inverse. L'identité des peptides a été confirmée par spectrométrie de masse (LC-MS et HRMS) et HPLC analytique (Tableau 1).

**Tableau 1.** Caractérisations spectrométriques et chromatographiques des analogues de GHRP-6 contenant une lactame de Freidinger

peptide	formule	calcd: (M + H) <sup>+</sup>	MS: (M + H) <sup>+</sup>	HPLC, <sup>a</sup> min	HPLC, <sup>b</sup> min
(S)-1	C <sub>47</sub> H <sub>56</sub> N <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	885.45	885.45	9.55	13.26
(R)-1	C <sub>47</sub> H <sub>56</sub> N <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	885.45	885.45	9.72	13.76

(a) Eluant 1: acétonitrile / eau (0.1% HCO<sub>2</sub>H) de 0/100 à 65/35 en 20 min. (b) Eluant 2: MeOH / eau (0.1% HCO<sub>2</sub>H) de 0/100 à 65/35 en 20 min.

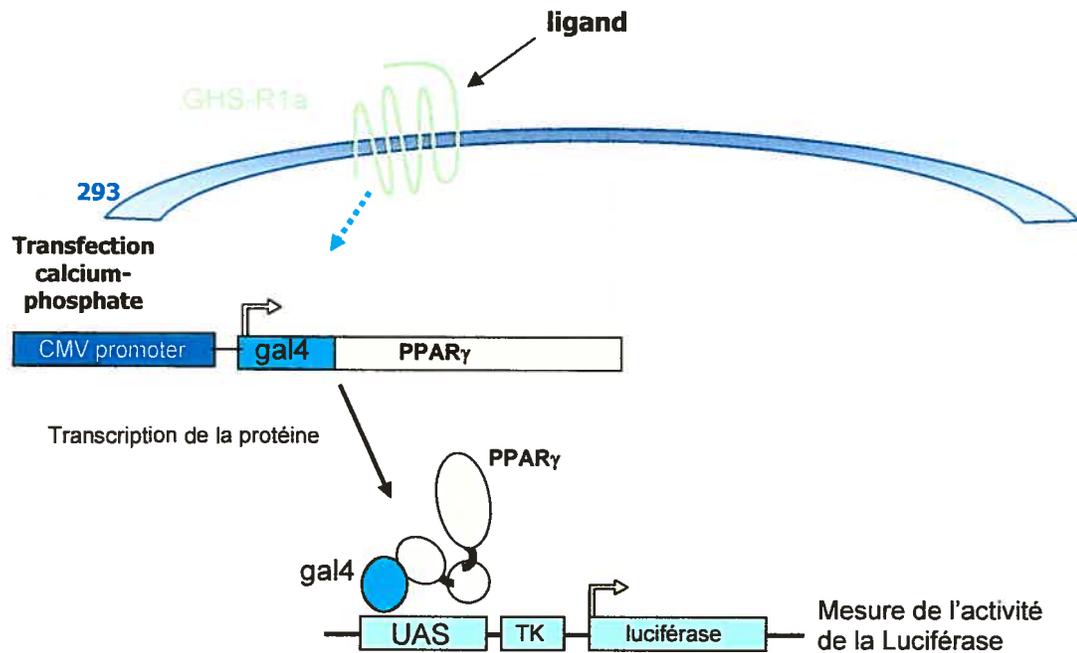


**Schéma 4.** Synthèse sur support solide de l'analogue (S)-1 de GHRP-6.

### 3.2.3 Biologie.<sup>34</sup>

L'activité biologique a été déterminée en utilisant les cellules 293 (les cellules 293 sont des Human Epithelium Kidney 293 cells) transfectées avec GHS-R1a et un plasmide d'expression Gal4-PPAR $\gamma$  en présence du reporteur UAS $\text{tkLuc}$  contenant le

gène de la luciférase sous le contrôle de l'élément de réponse de la levure Gal4 (Figure 4). Après transfection, les cellules sont traitées avec des solutions  $10^{-9}$  M de ghréline (ligand naturel),  $10^{-7}$  M de GHRP-6 (peptide parent), (*S*)-1, (*R*)-1 ou laissées sans traitement pendant 16 h avant d'être récoltées.

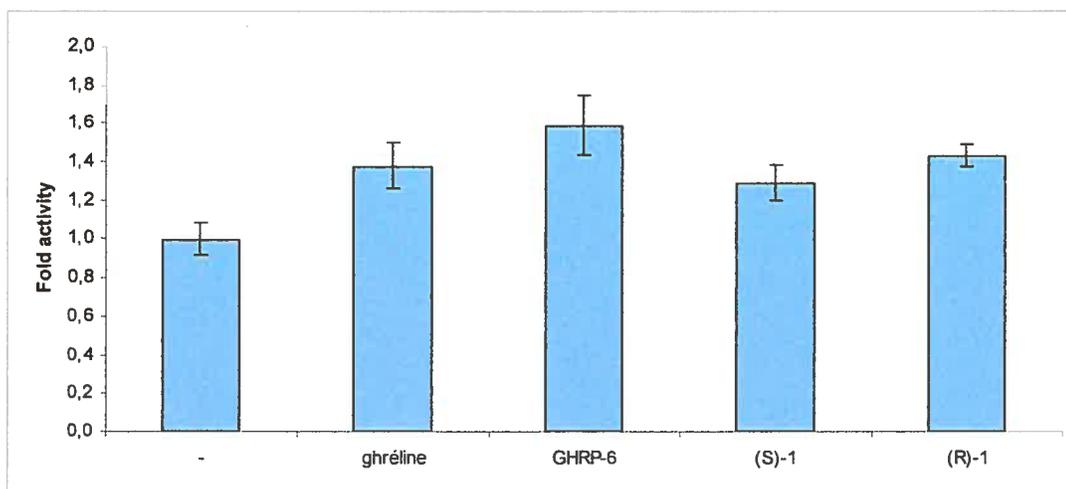


**Figure 4.** Essai de cotransfection.

L'activité de la luciférase a été déterminée à partir des cellules extraites et normalisée à l'activité de la  $\beta$ -galactosidase. Les résultats ont été exprimés en fonction de l'activité des composés en comparaison aux cellules non traitées, auxquelles la valeur 1.0 a été attribuée (Tableau 2).

Bien que leur activité semble inférieure à celle du peptide parent, GHRP-6, une activité agoniste a été observée pour les deux analogues (*S*)- et (*R*)-1 dans un essai de bioluminescence au récepteur couplé. Des essais de liaison ("binding") pour déterminer l'affinité sont actuellement en cours, mais on peut déjà en conclure que l'activité de ces deux analogues montre l'importance d'un repliement dans la conformation active du peptide.

**Tableau 2.** Transactivation par médiation avec GHS-R1a de PPAR $\gamma$  par les analogues



### 3.3 CONCLUSION

Deux nouveaux sulfamidates cycliques (*4S*)- et (*4R*)-4 ont été synthétisés par deux voies différentes, permettant ainsi d'obtenir deux lactames dipeptidiques (*3S,2'S*)- et (*3R,2'S*)-6. L'insertion de ces lactames dipeptidiques à la place des résidus centraux (Ala-Trp) du GHRP-6 a été effectuée sur support solide pour nous

donner deux analogues (*S*)- et (*R*)-1. Des essais de transfection ont permis de mesurer leur activité par rapport au peptide parent. Une activité agoniste a été remarquée ce qui montre qu'un repliement est présent dans la conformation active du peptide.

### 3.4 PARTIE EXPÉRIMENTALE

#### Procédures expérimentales générales

À moins d'indication contraire, toutes les réactions ont été réalisées sous atmosphère inerte (Ar ou N<sub>2</sub>) et les solvants distillés ont été transférés au moyen d'une seringue. La triéthylamine (Et<sub>3</sub>N) et la diisopropyléthylamine (DIEA) ont été distillées d'abord sur ninhydrine, puis sur CaH<sub>2</sub>. Le dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), CH<sub>3</sub>CN, Et<sub>2</sub>O, DMF et THF, ont tous été obtenus à partir d'un système de filtration (GlassContour™). La résine Rink (0.65 mmol/g) a été achetée chez Advanced Chemtech Inc. et le loading de la résine reporté par le manufacturier a été utilisé pour le calcul des rendements des produits finaux. Les purifications par colonne chromatographique ont été réalisées sur un gel de silice de 230-400 mesh; les CCM à l'aide de plaques en aluminium. Les phases organiques sont séchées avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Les points de fusion sont non corrigés. Les pouvoirs spécifiques sont reportés comme suit :  $[\alpha]_D^{25}$ , concentration (*c* en g/100 mL), et le solvant. Les spectres de masse (basse et haute résolution) ont été obtenus au laboratoire de spectroscopie de masse de l'Université de Montréal. À moins d'indication contraire, les spectres RMN <sup>1</sup>H (300/400 Hz) et RMN <sup>13</sup>C (75/100 Hz) ont été enregistrés dans le CDCl<sub>3</sub> et CD<sub>3</sub>OD. Les déplacements chimiques sont rapportés en ppm (unités δ) par rapport à un

standard interne de tétraméthylsilane [(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Si], au pic résiduel du CHCl<sub>3</sub> ( $\delta$  7.26, 77.23 ppm), et du MeOH ( $\delta$  3.31 et 49.0). Les constantes de couplage sont rapportées en Hz.

**(2S)-tert-Butyl 2-[N-(Fmoc)Amino]-4-hydroxybutanoate ((2S)-8).** Une solution de (2S)-tert-butyl 2-[N-(PhF)amino]-4-hydroxybutanoate (**7**, 1.0 g, 2.40 mmol, préparé selon la réf 28) dans 15:1 MeOH/AcOH (16 mL) a été placée dans un appareil à hydrogénation et traitée avec Pd/C (10 wt% de Pd, 450 mg). L'appareil a été rempli, placé sous vide et rempli à nouveau 3 fois sous atmosphère d'hydrogène. Le mélange réactionnel a été agité sous 5 atm d'hydrogène pendant 24 h. Le catalyseur a été filtré sur Celite<sup>TM</sup>, et lavé avec du MeOH. Le filtrat et les lavages ont été combinés et évaporés jusqu'à l'obtention d'un résidu utilisé sans purification pour la réaction suivante. Une solution de (2S)-tert-butyl 2-amino-4-hydroxybutanoate (422 mg, 2.40 mmol) dans 2:1 acétone/eau (10 mL) a été refroidie à 0°C et traitée avec NaHCO<sub>3</sub> (806 mg, 9.60 mmol), diluée avec un mélange 2:1 acétone/eau (10 mL), traitée avec FmocOSu (972 mg, 2.88 mmol), et agitée pendant 18 h. Le mélange réactionnel a été filtré sur du coton et lavé avec du MeOH. Le filtrat a été concentré et partitionné entre AcOEt (50 mL) et de la saumure (40 mL). La phase aqueuse a été extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec une solution 0.1 N HCl (20 mL) et de la saumure (20 mL), filtrées, séchées et évaporées jusqu'à l'obtention d'un résidu qui a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec un éluant de 30% AcOEt dans de l'hexane pour donner 930.4 mg (98%) d'homosérine (2S)-**8**, un solide gommeux : R<sub>f</sub> = 0.12 (30% AcOEt/hexanes);  $[\alpha]_D^{25}$  –

6 (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.48 (s, 9H), 1.70 (m, 1H), 2.16 (dq, 1H, *J* = 4.2, 8.9), 3.16 (br s, 1H), 3.62 (td, 1H, *J* = 3.3, 11.8), 3.71 (td, 1H, *J* = 4.3, 8.8), 4.21 (t, 1H, *J* = 6.9), 4.42 (m, 3H), 5.84 (d, 1H, *J* = 3.6), 7.31 (t, 2H, *J* = 7.1), 7.39 (t, 2H, *J* = 7.4), 7.60 (d, 2H, *J* = 7.4), 7.75 (d, 2H, *J* = 7.5); RMN <sup>13</sup>C δ 27.6, 35.6, 46.8, 51.3, 58.0, 66.8, 82.1, 119.6, 124.7, 126.7, 127.4, 140.9, 143.3, 143.5, 156.6, 171.4; HRMS calc. pour C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 420.1781, obtenu 420.1786.

**(2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-*t*-Butyl 2-Oxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [(2*R*,4*S*)-**9** et (2*S*,4*S*)-**9**].** Une solution de (2*S*)-*tert*-butyl-2-[*N*-(Fmoc)amino]-4-hydroxybutanoate ((2*S*)-**8**, 1.3 g, 3.26 mmol) dans 35 mL de dichlorométhane a été refroidie à 0°C, traitée avec de l'imidazole (0.9 g, 13 mmol) puis par de la triéthylamine (0.9 mL, 6.5 mmol), agitée pendant 10 min, traitée avec du chlorure de thionyle (0.262 mL, 3.6 mmol), et agitée pendant de 2 h, ou quand la disparition totale du produit de départ a été observée par CCM (*R*<sub>f</sub> = 0.12 in 3:7 AcOEt/hexanes). La solution a été diluée avec 20 mL d'eau, et les phases séparées. La phase aqueuse a été extraite avec du dichlorométhane (3 x 20 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec de l'eau (2 x 20 mL), séchées, filtrées et évaporées jusqu'à l'obtention d'un résidu qui a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 15% AcOEt dans de l'hexane comme éluant pour donner 1.2 g (83%) de sulfamidites (2*R*,4*S*)-**9** et (2*S*,4*S*)-**9**, sous forme d'une mousse. Premier à éluer: *R*<sub>f</sub> = 0.40 (25% AcOEt/hexane); [*α*]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 43.2 (*c* 0.416, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.46 (s, 9H), 2.30 (m, 1H), 2.45 (d, 1H, *J* = 13.9), 3.94 (dd, 1H, *J* = 2.3, 11.5), 4.31 (t, 1H, *J* = 6.9), 4.40 (br m, 1H), 4.61 (t, 1H, *J* = 8.2), 4.81 (br s, 1H), 4.95 (t, 1H, *J* = 11.8), 7.34 (t, 2H, *J* =

7.4), 7.42 (t, 2H,  $J = 7.5$ ), 7.64 (br m, 2H), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  24.0, 27.8, 46.9, 50.1, 55.2, 69.3, 83.0, 120.2, 125.3, 127.4, 128.1, 141.4, 143.1, 143.5, 168.4; HRMS calc. pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{NSNa}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  466.1294, obtenu 466.1303. Second à éluer:  $R_f = 0.34$  (25% AcOEt/hexane);  $[\alpha]_D^{25}$  24.4 ( $c$  0.508,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.49 (s, 9H), 2.65 (m, 1H), 2.74 (m, 1H), 4.15 (td, 1H,  $J = 8.6, 10.5$ ), 4.31 (t, 1H,  $J = 7.2$ ), 4.51 (d, 2H,  $J = 6.9$ ), 4.62 (m, 1H), 4.75 (br s, 1H), 7.34 (t, 2H,  $J = 7.4$ ), 7.42 (t, 2H,  $J = 7.4$ ), 7.65 (d, 2H,  $J = 6.5$ ), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  24.8, 27.8, 46.7, 51.8, 57.1, 69.1, 82.8, 119.9, 125.1, 127.1, 127.8, 141.2, 143.2, 168.4; HRMS calc. pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{NSNa}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  466.1294, obtenu 466.1281.

**(2R,4R)- et (2S,4R)-tert-Butyl 2-Oxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [(2R,4R)- et (2S,4R)-9].** Un mélange de (2R,4R)-9 et (2S,4R)-9 a été obtenu à partir de (2R)-8 (989.3 mg, 2.49 mmol) selon la même procédure décrite pour la synthèse de (2R,4S)-9 et (2S,4S)-9 avec un rendement de 86% (951.1 mg, 2.14 mmol). Les produits obtenus ont l'aspect d'une mousse. Premier à éluer :  $[\alpha]_D^{25}$  37.6 ( $c$  0.241,  $\text{CHCl}_3$ ); HRMS calc. pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{NSNa}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  466.1294, obtenu 466.1296. Second à éluer :  $[\alpha]_D^{25} - 22.9$  ( $c$  0.525,  $\text{CHCl}_3$ ); HRMS calc. pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{NSNa}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  466.1294, obtenu 466.1299.

**(4S)-t-Butyl 2,2-Dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate ((4S)-4).** Une solution de sulfamidites (2R,4S)-9 et (2S,4S)-9 (0.44 g, 1.01 mmol, un mélange 3:1) dans 24 mL d'acétonitrile/AcOEt (10:1) a été refroidie à 0°C et traitée avec une quantité catalytique de chlorure de ruthénium (III) monohydraté (3.65 mg, 0.017

mmol) puis du périodate de sodium (0.46 g, 2.13 mmol). Après 15 min d'agitation, le mélange réactionnel a été traité avec 24 mL d'eau, agité pendant 2 h additionnelles à 0°C et dilué avec 50 mL d'éther. Les phases ont été séparées et la phase aqueuse a été extraite avec de l'éther (3 x 20 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec une solution saturée de bicarbonate de sodium (2 x 20 mL) et de la saumure (20 mL), séchées, filtrées et évaporées jusqu'à l'obtention d'un résidu qui a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 30% AcOEt dans de l'hexane comme éluant pour donner 0.388 g (77%) de (4*S*)-**4** sous forme d'une mousse blanche:  $R_f = 0.33$  (30% AcOEt/Hexanes);  $[\alpha]_D^{25} - 33.1$  (*c* 0.541, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.50 (s, 9H), 2.46 (m, 1H), 2.63 (m, 1H), 4.39 (t, 1H, *J* = 7.5), 4.55 (d, 2H *J* = 7.5), 4.71 (m, 1H), 4.84 (td, 1H, *J* = 5.3, 11.1), 5.20 (dd, 1H, *J* = 2.4, 5.3), 7.36 (t, 2H, *J* = 7.4), 7.44 (t, 2H, *J* = 7.4), 7.78 (m, 4H) ; RMN <sup>13</sup>C δ 24.5, 27.8, 46.6, 58.4, 70.8, 71.2, 84.0, 120.1, 125.5, 127.4, 128.1, 141.3, 143.2, 152.3, 167.1; HRMS calc. pour C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>O<sub>7</sub>NSNa (M + Na)<sup>+</sup> 482.1233, obtenu 482.1243.

**(4*R*)-tert-Butyl 2,2-Dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate (4*R*-4).**

D'une manière similaire, 755.3 mg of (4*R*)-**4** ont été préparés à partir d'un mélange de (2*R*,4*R*)-**9** et (2*S*,4*R*)-**9** (833.1 mg, 1.88 mmol) avec un rendement de 87% :  $[\alpha]_D^{25} 35.4$  (*c* 0.575, CHCl<sub>3</sub>).

**(2*R*)-β-Methyl N-(Fmoc)Aspartate (10).** Le chlorure d'acétyle (7.5 mL, 105.2 mmol) a été ajouté goutte à goutte à du MeOH (21 mL) à 0°C. Le mélange a par la suite été ajouté goutte à goutte à une suspension d'acide aspartique D (10 g, 75.13

mmol) dans du MeOH (21 mL) à 0°C. La réaction a été agitée pendant 3 h à 0°C et 15 h à température ambiante. De l'éther (120 mL) a été ajouté au mélange, agité pendant 3 h pour obtenir un précipité. La solution a été filtrée pour obtenir le  $\beta$ -méthyle aspartate, qui a été séché sous vide et utilisé sans aucune autre purification. Une solution de  $\beta$ -méthyle aspartate (9.71 g, 52.92 mmol) dans de l'acétone/H<sub>2</sub>O 2:1 (441 mL) à 0°C a été traitée avec NaHCO<sub>3</sub> (17.8 g, 211.68 mmol), suivie par Fmoc-OSu (21.42 g, 63.5 mmol), et agitée pendant 24 h. Une solution 2M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a été additionnée au mélange pour obtenir un pH = 8. Les solvants ont été évaporés par évaporation rotative et les phases aqueuses restantes ont été extraites avec Et<sub>2</sub>O (3 x 50 mL), refroidies à 0°C, acidifiées avec une solution 3N HCl jusqu'à pH = 3, et extraites avec AcOEt (3 x 120 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec de la saumure (50 mL), séchées, filtrées et évaporées pour donner 18 g (65%) de  $\beta$ -méthyl *N*-(Fmoc)aspartate **10** sous forme d'un solide blanc:  $R_f = 0.34$  (10% MeOH/CHCl<sub>3</sub> contenant 0.1% AcOH); pf : 120.6-121.6 °C;  $[\alpha]_D^{25} - 34.8$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  2.94 (dd, 1H, *J* = 4.7, 16.8), 3.13 (dd, 1H, *J* = 4.5, 16.8), 3.74 (s, 3H), 4.25 (t, 1H, *J* = 7.2), 4.43 (m, 2H), 4.74 (m, 1H), 5.96 (d, 1H, *J* = 8.1), 7.34 (t, 2H, *J* = 7.41), 7.43 (t, 2H, *J* = 7.43), 7.62 (d, 2H, *J* = 7.41), 7.78 (d, 2H, *J* = 7.5), 11.12 (br s, 1H); RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  35.8, 46.7, 49.8, 51.9, 67.1, 119.6, 124.8, 126.7, 127.4, 140.9, 143.2, 143.4, 155.9, 171.3, 175.3; HRMS calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 392.1101, obtenu 392.1104.

***tert*-Butyl-2,2,2-trichloro Acetimidate (11).** Sous atmosphère d'azote, une suspension d'hydruure de sodium (0.54g, 60% dans l'huile, 13.4 mmol) a été agitée

dans de l'éther anhydre (10 mL), et traitée goutte à goutte avec du 2-méthyle-2-propanol (5 g, 67 mmol) dans de l'éther (30 mL). Après 20 min, le solide est dissout. La solution a été refroidie à  $0^{\circ}\text{C}$  avec un bain de glace auquel on a ajouté du NaCl solide, traitée goutte à goutte avec du trichloroacétonitrile (6.4 mL, 64 mmol) sur une période de 20 min, laissée revenir à température ambiante sur une période de 60 min, et concentrée jusqu'à l'obtention d'un sirop, qui a été traité avec du pentane (20 mL) contenant du méthanol anhydre (14 mmol), agitée vigoureusement, et filtrée. Le filtrat a été évaporé, et le résidu a été trituré avec du pentane (2 x 30 mL) et filtré. L'évaporation du pentane a donné une huile brune qui a été utilisée sans aucune autre purification. RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.60 (s, 9H), 8.24 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  27.4, 84.2, 124.8, 160.8.

**$\beta$ -Methyl  $\alpha$ -*tert*-Butyl *N*-(Fmoc)-*D*-aspartate (12).** Une suspension de  $\beta$ -méthyle *N*-(Fmoc)-*D*-aspartate **10** (8g, 21.7 mmol) agitée dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (85 mL) a été traitée avec du *O*-*tert*-butyl trichloroacétimidate **11** (4.8g, 21.7 mmol), agitée pendant 10 h, traitée à nouveau avec 4.8g de **11**, agitée pendant 10 h, filtrée et évaporée jusqu'à l'obtention d'un résidu purifié par chromatographie (20% AcOEt/Hexanes). L'évaporation des fractions recueillies a donné le diester **12** (8.76g, 94%) sous forme d'un solide:  $R_f = 0.2$  (20% AcOEt/Hexanes); pf :  $91.9\text{-}92.9^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_D^{25} - 20$  ( $c$  0.5,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.50 (s, 9H), 2.86 (dd, 1H,  $J = 4.7, 16.8$ ), 3.01 (dd, 1H,  $J = 4.5, 16.8$ ), 3.74 (s, 3H), 4.25 (t, 1H,  $J = 7.2$ ), 4.41 (m, 2H), 4.57 (m, 1H), 5.81 (d, 1H,  $J = 8.1$ ), 7.34 (t, 2H,  $J = 7.41$ ), 7.43 (t, 2H,  $J = 7.43$ ), 7.63 (d, 2H,  $J = 7.41$ ), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  28.0, 36.9, 47.2, 51.0, 52.0, 67.3, 82.8, 120.1, 125.3, 127.2,

127.8, 141.4, 143.9, 144.0, 156.0, 169.7, 171.4; HRMS calc. pour  $C_{24}H_{27}NO_6Na$  ( $M + Na$ )<sup>+</sup> 448.1741, obtenu 448.1730.

**$\alpha$ -tert-Butyl N-(Fmoc)-D-aspartate (13).** Le  $\beta$ -Méthyle  $\alpha$ -tert-butyle N-(Fmoc)-D-aspartate (**12**, 1.2 g, 2.83 mmol) a été dissout dans une solution 0.8 M iPrOH/H<sub>2</sub>O (9:1) de CaCl<sub>2</sub> (94 mL), et traitée avec une solution 0.5 M de NaOH (9.7 mL). Le mélange a été agité pendant 20 h ou jusqu'à complète consommation du produit de départ par CCM ( $R_f = 0.2$  dans 2:8 AcOEt/hexanes). De l'eau a été ajoutée jusqu'à l'obtention d'un voile blanc, et la solution a été acidifiée avec une solution 1M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> jusqu'à pH = 5, saturée avec de la saumure et extraite avec AcOEt (3 x 100 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec de la saumure (2 x 50 mL), séchées, filtrées et évaporées jusqu'à l'obtention d'un résidu purifié par chromatographie sur gel de silice avec un gradient de 5-10% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant pour donner 950.7 mg (82%) de l'acide **13** sous forme d'une mousse blanche:  $R_f = 0.55$  (10% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} - 16.8$  ( $c$  1.0, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  1.47 (s, 9H), 2.86 (dd, 1H,  $J = 4.6, 17.3$ ), 3.03 (dd, 1H,  $J = 4.3, 17.2$ ), 4.20 (t, 1H,  $J = 7.2$ ), 4.36 (m, 1H), 4.53 (m, 1H), 5.82 (d, 1H,  $J = 8.1$ ), 7.28 (t, 2H,  $J = 7.4$ ), 7.37 (t, 2H,  $J = 7.4$ ), 7.57 (d, 2H,  $J = 7.4$ ), 7.72 (d, 2H,  $J = 7.5$ ), 9.15 (br s, 1H); RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  27.9, 36.9, 47.2, 50.9, 67.4, 83.1, 120.1, 125.3, 127.2, 127.8, 141.4, 143.8, 156.2, 169.2, 176.5; HRMS calc. pour  $C_{23}H_{25}NO_6Na$  ( $M + Na$ )<sup>+</sup> 434.1572, obtenu 434.1574.

**(2R)-tert-Butyl 2-[N-(Fmoc)Amino]-4-hydroxybutanoate ((2R)-8).** Une solution de  $\alpha$ -t-butyle N-(Fmoc)-D-aspartate (**13**, 905.1 mg, 2.20 mmol) dans du THF (11 mL) à

-10°C a été traitée avec de la *N*-méthyle morpholine (0.269 mL, 2.20 mmol) et du chloroformate d'éthyle (0.210 mL, 2.20 mmol), agitée pendant 15 min, traitée avec NaBH<sub>4</sub> (250 mg, 6.60 mmol) et du MeOH (22 mL) ajouté goutte à goutte sur une période de 15 min à 0°C. La réaction a été agitée pendant 20 min, traitée avec une solution 1M d'acide citrique (22 mL) et extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec une solution 1M d'acide citrique (20 mL), de l'eau (20 mL), NaHCO<sub>3</sub> 5% (20 mL), eau (2 x 20 mL) et de la saumure (20 mL), séchées, filtrées et évaporées jusqu'à un résidu purifié par chromatographie sur gel de silice avec 10% AcOEt dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant pour donner 720 mg (83%) de (2*R*)-**8** sous forme d'un solide gommeux:  $[\alpha]_D^{25}$  1.8 (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>). Les données physiques et spectrales sont identiques à celles de (2*S*)-**8** listées au-dessus.

**(2*S*, 3'*S*)-Methyl *N*-[3'-*tert*-Butyloxycarbonyl-3'-[*N*-(Fmoc)amino]propyl]tryptophanate (2*S*,3'*S*)-14**). Le sel d'hydrochlorure de l'ester méthylique du tryptophane a été dissout dans de l'eau, saturé avec K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et extrait plusieurs fois avec du CHCl<sub>3</sub>. Les phases organiques combinées ont été séchées, filtrées et évaporées pour obtenir l'amine libre qui a été employée pour l'étape d'ouverture du sulfamidate sans aucune autre purification. Une solution de l'ester méthylique du tryptophane (489.4 mg, 2.25 mmol) dans CH<sub>3</sub>CN (5.5 mL) a été ajoutée au sulfamidate (4*S*)-**4** (343.5 mg, 0.75 mmol), et agitée jusqu'à consommation complète du produit départ observée par MS. Le mélange a été versé sur une solution 1M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (6 mL) et extrait avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec de la saumure (2 x 20 mL), séchées, filtrées et

évaporées jusqu'à un résidu purifié par chromatographie sur gel de silice avec 20% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant. La concentration des fractions collectées a fourni 424.4 mg (95%) de (2*S*,3'*S*)-**14** sous forme d'une mousse blanche:  $R_f = 0.45$  (15% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} - 12$  (*c* 0.5, CH<sub>3</sub>OH); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.40 (s, 9H), 2.04 (br m, 1H), 2.16 (br m, 1H), 2.79 (br m, 2H), 3.28 (d, 2H,  $J = 6.2$ ), 3.64 (s, 3H), 3.93 (br m, 1H), 4.30 (m, 2H), 4.58 (br m, 1H), 4.78 (br m, 1H), 7.01 (t, 1H,  $J = 7.3$ ), 7.08 (t, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.16 (s, 1H), 7.31 (m, 5H), 7.50 (d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.72 (m, 4H), 7.92 (s, 1H); RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  28.2, 29.4, 45.6, 47.9, 53.0, 59.9, 62.5, 69.7, 79.5, 83.1, 108.3, 112.5, 119.1, 120.1, 120.8, 122.7, 125.3, 126.4, 126.6, 128.2, 128.3, 128.4, 128.9, 138.1, 142.5, 145.0, 145.1, 156.4, 170.9; HRMS calc. pour C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (M + H<sup>+</sup>) 598.2911, obtenu 598.2920.

(2*S*, 3'*R*)-Methyl *N*-[3'-*tert*-Butyloxycarbonyl-3'-[*N*-**(Fmoc)amino**]propyl]tryptophanate ((2*S*,3'*R*)-**14**). *N*-Propyltryptophanate

(2*S*,3'*R*)-**14** a été préparé à partir de (4*R*)-**4** (193.8 mg, 0.42 mmol) de la même façon décrite au-dessus pour (2*S*,3'*S*)-**14**. La chromatographie a été réalisée avec 15% AcOEt dans CHCl<sub>3</sub>. La concentration des fractions collectées a donné 239.3 mg (95%) de (2*S*,3'*R*)-**14** sous forme de mousse:  $R_f = 0.44$  (15% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} - 47.9$  (*c* 0.5, CH<sub>3</sub>OH); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.40 (s, 9H), 2.09 (br m, 1H), 2.21 (br m, 1H), 2.85 (br m, 1H), 2.92 (br m, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.62 (s, 3H), 4.04 (br s, 1H), 4.32 (m, 2H), 4.60 (br m, 1H), 7.02 (t, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.09 (t, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.17 (s, 1H), 7.29 (m, 5H), 7.51 (d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.74 (br s, 4H), 7.89 (s, 1H); RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  27.9, 28.2, 45.6, 48.0, 53.2, 59.7, 62.6, 69.6, 79.5, 83.1, 108.3, 112.5,

119.1, 120.1, 120.8, 122.7, 125.3, 126.4, 126.6, 128.2, 128.3, 128.4, 128.8, 128.9, 138.1, 142.4, 142.5, 144.9, 145.1, 156.1, 170.7, 172.3; HRMS calc. pour  $C_{35}H_{40}N_3O_6$  ( $M + H^+$ ) 598.2911, obtenu 598.2922.

**(3S)-3-[N-(Fmoc)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-**

**propionic Acid Methyl Ester ((3S,2'S)-5).** L'ester *t*-butylique (2S,3'S)-**14** (377 mg, 0.63 mmol) a été dissout dans une solution 1:1 TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7 mL), traitée avec Et<sub>3</sub>SiH (0.252 mL, 1.58 mmol), et agitée à 0°C jusqu'à complète consommation du produit de départ observée par CCM. Le mélange a été évaporé jusqu'à l'obtention d'un résidu directement utilisé pour la formation de la lactame. Le résidu a été dissout dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL), traité avec TBTU (223 mg, 0.69 mmol) et DIEA (329.2 µL, 1.89 mmol), et agitée sous atmosphère d'argon à température ambiante. Après 1 h, le mélange a été partitionné entre CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et de l'eau (5 mL). La phase organique a été lavée avec une solution d'acide citrique à 10% (5 mL) et de la saumure (5 mL), séchée, filtrée et évaporée jusqu'à un résidu purifié sur gel de silice avec 40% AcOEt dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant. La concentration des fractions collectées a fourni (3S,2'S)-**5** sous forme d'une mousse blanche avec un rendement de 73% à partir de (2S,3'S)-**14** (239.8 mg, 0.46 mmol):  $R_f = 0.38$  (40% AcOEt/CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} 9.6$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.82 (quin, 1H, *J* = 10.4), 2.49 (td, 1H, *J* = 10.9, 12.6), 3.22 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 4.17 (t, 2H, *J* = 6.9), 4.29 (m, 2H), 5.21 (dd, 1H, *J* = 4.1, 11.1), 5.42 (d, 1H, *J* = 5.7), 6.97 (s, 1H), 7.13 (t, 1H, *J* = 7.3), 7.19 (t, 1H, *J* = 7.4), 7.29 (m, 3H), 7.38 (m, 2H), 7.57 (t, 3H, *J* = 8.2), 7.75 (d, 2H, *J* = 7.3), 8.4 (s, 1H); RMN <sup>13</sup>C δ 25.1, 28.2, 41.3, 47.2, 52.5, 52.7, 54.5, 67.2, 110.3, 111.5, 118.2,

119.6, 120.1, 122.0, 122.4, 125.2, 127.1, 127.2, 127.8, 136.2, 141.3, 143.8, 144.0, 156.5, 171.1, 172.9; HRMS calc. pour  $C_{31}H_{29}N_3O_5Na$  ( $M + Na$ )<sup>+</sup> 546.1999, obtenu 546.2012.

**(3R)-3-[N-(Fmoc)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-**

**propionic Acid Methyl Ester ((3R,2'S)-5).** La lactame (3R,2'S)-5 a été préparée à partir de (2S,3'R)-14 en utilisant la même procédure décrite précédemment pour (3S,2'S)-5. La chromatographie a été faite avec 40% AcOEt dans CHCl<sub>3</sub> et la concentration des fractions récoltées a donné (3R,2'S)-5 sous forme de mousse blanche avec un rendement de 74% à partir de (2S,3'R)-14 (365.1 mg, 0.675 mmol):  $R_f = 0.36$  (40% AcOEt/CHCl<sub>3</sub>);  $[\alpha]_D^{25} 0.7$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.61 (td, 1H,  $J = 10.2, 20.5$ ), 2.46 (br m, 1H), 3.31 (m, 3H), 3.50 (dd, 1H,  $J = 4.6, 15.5$ ), 3.78 (s, 3H), 4.15 (m, 1H), 4.31 (d, 3H,  $J = 6.6$ ), 5.24 (dd, 1H,  $J = 4.5, 10.4$ ), 5.45 (br s, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.16 (t, 1H,  $J = 7.3$ ), 7.22 (t, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.36 (m, 5H), 7.56 (t, 2H,  $J = 6.6$ ), 7.62 (d, 1H,  $J = 7.6$ ), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ), 8.50 (s, 1H); RMN <sup>13</sup>C δ 24.1, 27.6, 41.0, 46.9, 52.5, 52.8, 54.5, 66.9, 110.1, 111.4, 118.1, 119.4, 119.9, 122.1, 125.0, 127.0, 127.6, 136.0, 141.2, 143.7, 156.2, 170.8, 172.9; HRMS calc. pour  $C_{31}H_{30}N_3O_5$  ( $M + H^+$ ) 524.2180, obtenu 524.2182.

**(3S)-3-[N-(Fmoc)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-**

**propionic Acid ((3S,2'S)-6).** L'ester (3S,2'S)-5 (161 g, 0.308 mmol) a été dissout dans une solution 0.8 M de CaCl<sub>2</sub> dans iPrOH/H<sub>2</sub>O 7:3 (10 mL), et traitée avec une solution 0.5 M de NaOH (1 mL). Le mélange réactionnel a été agité jusqu'à la

disparition complète du produit de départ observée par CCM ( $R_f = 0.38$  dans 4:6 AcOEt/CHCl<sub>3</sub>). De l'eau a été ajoutée jusqu'à l'apparition d'un voile, et la solution a été acidifiée avec une solution d'acide citrique à 10% jusqu'à pH = 3, saturée avec de la saumure et extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques combinées ont été lavées avec de la saumure (2 x 15 mL), séchées, filtrées et évaporées jusqu'à un résidu purifié par chromatographie sur gel de silice avec 10% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub> contenant 0.5% AcOH. La concentration des fractions collectées et la lyophilisation ont donné 123.4 mg (79%) de l'acide (3*S*,2'*S*)-**6** sous forme de mousse blanche:  $R_f = 0.42$  (20% iPrOH/CHCl<sub>3</sub> contenant 0.1% AcOH);  $[\alpha]_D^{25} - 33.8$  (*c* 0.5, CH<sub>3</sub>OH); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.84 (quin, 1H, *J* = 10.3), 2.20 (m, 1H), 3.23 (m, 2H), 3.44 (m, 2H), 4.14 (t, 2H, *J* = 7.0), 4.27 (m, 2H), 5.02 (br s, 1H), 7.06 (m, 3H), 7.26 (t, 2H, *J* = 7.2), 7.34 (m, 3H), 7.59 (m, 3H), 7.73 (d, 2H, *J* = 7.4); RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  26.0, 27.3, 42.4, 48.2, 53.6, 68.1, 111.3, 112.4, 119.0, 119.8, 120.9, 122.5, 123.6, 126.2, 126.3, 128.1, 128.4, 128.7, 137.9, 142.5, 145.1, 145.3, 158.5, 175.0; HRMS calc. pour C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (M + H)<sup>+</sup> 510.2023, obtenu 510.2008.

**(3*R*)-3-[N-(Fmoc)Amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'*S*)-3'-(1*H*-indol-3-yl)-2'-**

**propionic Acid ((3*R*,2'*S*)-**6**).** Après l'hydrolyse de l'ester (3*R*,2'*S*)-**5** comme décrite au-dessus pour (3*S*,2'*S*)-**5**, la chromatographie éluee avec 20% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub> contenant 0.5% AcOH, la concentration des fractions collectées et la lyophilisation, 172.3 mg de l'acide (3*R*,2'*S*)-**6** ont été obtenus sous forme de mousse blanche avec un rendement de 82% à partir de (3*R*,2'*S*)-**5** (241.6 mg, 0.41 mmol):  $R_f = 0.33$  (20% iPrOH/CHCl<sub>3</sub> contenant 0.1% AcOH);  $[\alpha]_D^{25} 3.4$  (*c* 0.5, CH<sub>3</sub>OH); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD)

$\delta$  1.66 (quin, 1H,  $J = 10.3$ ), 2.26 (m, 1H), 3.26 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 4.14 (t, 1H,  $J = 6.9$ ), 4.24 (m, 3H), 4.98 (dd, 1H,  $J = 4.7, 10.7$ ), 6.98 (t, 1H,  $J = 7.4$ ), 7.06 (m, 2H), 7.24 (m, 2H), 7.31 (m, 3H), 7.55 (m, 3H), 7.72 (d, 2H,  $J = 7.5$ ), 10.25 (s, 1H); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23.6, 25.5, 29.0, 40.6, 46.5, 52.4, 66.4, 109.8, 110.5, 117.3, 118.1, 119.1, 120.7, 122.0, 124.5, 126.4, 127.0, 136.2, 140.8, 143.4, 143.5, 156.8, 173.9; HRMS calc. pour  $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  532.1842, obtenu 532.1834.

### Synthèse peptidique.

Les peptides ont été synthétisés sur de la résine Rink (0.65 mmol/g) avec des conditions standards<sup>31</sup> avec un agitateur automatique. Les couplages des acides aminés Fmoc protégés (300 mol%) ont été réalisés dans du DMF en utilisant du HBTU (300 mol%) comme agent de couplage et de la DIEA (300 mol%) comme base. Les chaînes latérales de Lys et D-Trp ont été protégées par un groupement Boc et pour His avec un groupement Trt. Les déprotections des Fmoc ont été réalisées en traitant la résine avec une solution de 20% pipéridine dans du DMF pour des périodes de 10 min et 20 min. La résine a été lavée après chaque couplage et chaque déprotection en utilisant alternativement DMF (2 x), MeOH (2 x) and DCM (2 x). Les lactames dipeptidiques (3*S*,2'*S*)-**6** et (3*R*,2'*S*)-**6** (150 mol%) ont été insérées en utilisant HATU (150 mol%), HOAt (150 mol%) et DIEA (150 mol%) dans du DMF. La déprotection des chaînes latérales ainsi que le clivage du peptide ont été réalisés avec une solution fraîchement préparées de TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95/2.5/2.5, v/v/v, 20 mL/g résine avec peptide) pendant 2 h à température ambiante. Le mélange réactionnel a été filtré et la résine a été lavée avec du TFA. Le filtrat a été alors concentré et traité

avec de l'éther froid pour faire précipiter les peptides. Les peptides ont été centrifugés, dissous dans CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (1/1, v/v) et lyophilisés. Le matériel brut a été purifié avec un appareil HPLC semi-préparatif (colonne Higgins C18, 20 x 250 mm, taille des particules 5 µm) avec le solvant A, H<sub>2</sub>O (0.1% TFA) et solvant B, CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA). L' HPLC analytique a été réalisé sur une colonne Xterra MS C18 (4.6 x 150 mm, taille des particules 5 µm) avec un débit de 0.5 mL/min et le détecteur centré à 210 nm en utilisant les conditions I, un gradient de 0-65% éluant B (CH<sub>3</sub>CN) dans A (H<sub>2</sub>O contenant 0.1% d'acide formique) sur 20 min, ou conditions II, un gradient de 0-65% éluant B (MeOH) dans A (H<sub>2</sub>O contenant 0.1% d'acide formique) sur 20 min. Le RP-HPLC a été réalisé sur une colonne Targa C 18 (20 x 250 mm, taille des particules 5 µm) avec un débit de 25 mL/min et le détecteur centré à 214 nm en utilisant d'abord, un gradient de 0-10% éluant B (CH<sub>3</sub>CN contenant 0.1% TFA) dans A (H<sub>2</sub>O contenant 0.1% TFA) sur 5 minutes, puis, 10-40% éluant B dans A sur 30 minutes. Les temps de rétention ( $R_t$ ) sont reportés en minutes.

**His-D-Trp-(3S)-3-amino-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-**

**propionyl-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> ((S)-1).** Le peptide a été clivé de la résine (59 mg) selon la procédure décrite au-dessus pour obtenir 17.4 mg de produit qui a montré une pureté de 78% par HPLC. La purification de 17.4 mg de peptide par RP-HPLC et la collection des fractions les plus pures ont donné 8.6 mg de produit qui a montré être pur à >99% HPLC analytique (condition I:  $R_t = 9.55$ ; condition II:  $R_t = 13.26$ ); HRMS calc. pour C<sub>47</sub>H<sub>57</sub>N<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (M + H)<sup>+</sup> 885.4518, obtenu 885.4514.

**His-D-Trp-(3R)-3-amino-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'S)-3'-(1H-indol-3-yl)-2'-propionyl-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> ((R)-1).** Le peptide a été clivé de la résine (241.7 mg) selon la procédure décrite au-dessus pour obtenir 98.7 mg de produit qui a montré une pureté de 78% par HPLC. La purification de 42.1 mg de peptide par RP-HPLC et la collection des fractions les plus pures ont donné 18.8 mg de produit qui a montré être pur à >99% HPLC analytique (condition I:  $R_t = 9.72$ ; condition II:  $R_t = 13.76$ ); HRMS calc. pour C<sub>47</sub>H<sub>57</sub>N<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (M + H)<sup>+</sup> 885.4518, obtenu 885.4523.

### 3.5 Références

- (1) Pour une revue sur GH et sa régulation, voir : (a) Strobl, J. S.; Thomas, M. J. Human Growth Hormone. *Pharmacol. Rev.* **1994**, *46*, 1-34. (b) Rosen, T.; Johannsson, G.; Johannsson, J. O.; Bengtsson, B, A. Consequences of growth hormone deficiency in adults and the benefits and risks of recombinant human growth hormone treatment. *Horm. Res.* **1995**, *43*, 93-99.
- (2) Pour des récentes revue sur GHRP, voir : (a) Ghigo, E.; Arvat, E.; Muccioli, G.; Camanni, F. Growth hormone-releasing peptides. *Eur. J. Endocrinol.* **1997**, *136*, 445-460. (b) Thorner, M. O.; Chapman, I. M.; Gaylinn, B. D.; Pezzoli, S. S.; Hartman, M. L. Growth hormone-releasing hormone and growth hormone-releasing peptide as therapeutic agents to enhance growth hormone secretion in disease and aging. *Recent Prog. Horm. Res.* **1997**, *52*, 215-244. (c) Bowers, C. Y. Growth hormone-releasing peptide (GHRP). *Cell. Mol. Life Sci.* **1998**, *54*, 1316-1329.

- (3) Bowers, C. Y.; Chang, J.; Momany, F.; Folkers, K. Effect of the enkephalins and enkephalin analogs on release of pituitary hormones in vitro. In *Molecular Endocrinology*; MacIntyne, I., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1977; pp 287-292.
- (4) Bowers, C. Y.; Sartor, A. O.; Reynolds, G. A.; Badger, T. M. On the actions of growth hormone-releasing peptide, GHRP. *Endocrinology* **1991**, *128*, 2027-2035.
- (5) Howard, A. D.; Feighner, S. D.; Cully, D. F.; Arena, J. P.; Liberator, P. A.; Rosenblum, C. I.; Hamelin, M. J.; Hreniuk, D. L.; Palyha, O. C.; Anderson, J.; Pares, P. S.; Diaz, C.; Chou, M.; Liu, K.; Mckee, K. K.; Pong, S. S.; Chaung, L. Y.; Elbrecht, A.; Heavens, R.; Rigby, M.; Sirinathsinghji, D. J. S.; Dean, D. C.; Melillo, D. G.; Patchett, A. A.; Nargund, R.; Griffin, P. R.; DeMartino, J. A.; Gupta, S. K.; Schaeffer, J. M.; Smith, R. G.; Van Der Ploeg, L. H. T. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* **1996**, *273*, 974-977.
- (6) Pour un revue détaillée sur GHS, voir : *Growth Hormone Secretagogues*; Ghigo, E.; Boghen, M.; Casanueva, F. F.; Dieguez, C., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1999.
- (7) Bowers, C. Y.; Momany, F. A.; Reynolds, G. A.; Hong, A. On the *in vitro* and *in vivo* activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* **1984**, *114*, 1537-1545.
- (8) Cheng, K.; Chan, W. W.; Barreto, A., Jr.; Convey, E. M.; Smith, R. G. The synergistic effects of His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub> on growth hormone (GH)-releasing factor-stimulated GH release and intracellular adenosine 3',5'-monophosphate accumulation in rat primary pituitary cell culture. *Endocrinology* **1989**, *124*, 2791-2798.

- (9) Bowers, C. Y. Novel GH-releasing peptides. In *Molecular and Clinical Advances in Pituitary Disorders*; Melmed, S., Ed.; Endocrine Research and Education, Inc.: Los Angeles, CA, 1993; pp 153-157.
- (10) Deghenghi, R.; Cananzi, M.; Torsello, A.; Battiati, C.; Muller, E. E.; Locatelli, V. GH-releasing activity of hexarelin a new growth hormone releasing peptide in infant and adult rats. *Life Sci.* **1994**, *54*, 1321-1328.
- (11) Smith, R. G.; Cheng, K.; Schoen, W. R.; Pong, S. S.; Hickey, H.; Jacks, T.; Bulter, B.; Chan, W. W. S.; Chaung, L. Y. P.; Judith, F.; Taylor, J.; Wyvratt, M. J.; Fischer, M. H. A nonpeptidyl growth hormone secretagogue. *Science* **1993**, *260*, 1640-1643.
- (12) Schoen, W. R.; Pisano, J. M.; Prendergast, K.; Wyvratt, M. J.; Fischer, M. H.; Cheng, K.; Chan, W. W. S.; Bulter, B.; Smith, R. G.; Ball, R. G. A novel 3-substituted benzazepinone growth hormone secretagogue (L-692,429). *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 897-906.
- (13) Patchett, A. A.; Nargund, R. P.; Tata, J. R.; Chen, M. H.; Barakat, K. J.; Johnston, D. B. R.; Cheng, K.; Chan, W. W. S.; Bulter, B.; Hickey, G.; Jacks, T.; Schleim, K.; Pong, S. S.; Chaung, L. Y. P.; Chen, H. Y.; Frazier, E.; Leung, K. H.; Chiu, S. H. L.; Smith, R. G. Design and biological activity of L-163,191 (MK-0677): A potent, orally active growth hormone secretagogue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 7001-7005.
- (14) Kojima, M.; Hosoda, H.; Date, Y.; Nakazato, M.; Matsuo, H.; Kangawa, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* **1999**, *402*, 656-660.

- (15) Ariyasu, H.; Takaya, K.; Tagami, T.; Ogawa, Y.; Hosoda, K.; Akamizu, T.; Suda, M.; Koh, T.; Natsui, K.; Toyoda, S.; Shirakami, G.; Usui, T.; Shimatsu, A.; Doi, K.; Hosoda, H.; Kojima, M.; Kangawa, K.; Nakao, K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J. Clin. Endocrinol.* **2001**, *86*, 4753-4758.
- (16) Kojima, M. Ghrelin is a novel growth hormone releasing acylated peptide from stomach (Abstract). Third International Symposium on Growth Hormone Secretagogues, Keystone, CO, Feb 17-19, 2000.
- (17) Haque, T. S.; Little, J. C.; Gellman, S. H. Stereochemical Requirements for  $\beta$ -Hairpin Formation: Model Studies with Four-Residue Peptides and depsipeptides. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6975-6985.
- (18) Momany, F. A. Growth Hormone Secretagogues; Springer-Verlag: New-York, **1996**.
- (19) Freidinger, R. M.; Veber, D. F.; Perlow, D. S.; Brooks, J. R.; Saperstein, R. Bioactive Conformation of LHRH: Evidence from a Conformationally Constrained Analog. *Science* **1980**, *210*, 656-658.
- (20) Freidinger, R. M. Computer Graphics and Chemical Synthesis in The Study of Conformation of Biologically Active peptides. In *Peptides: Synthesis, Structure, Function*; Rich, D. H.; Gross, E., Eds.; Pierce Chemical Compagny: Rockford, IL, 1981, 673-683.
- (21) Valle, G.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Yu, K. -L.; Johnson, R. L. Crystal-state Structures of Boc-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> Hemihydrate and Two Lactam-restricted Analogues. *J. Chem. Soc. Perkin Trans II* **1989**, *1*, 83-87.

- (22) Galaud, F.; Lubell, W. D. Homoserine-Derived Cyclic Sulfamidate as Chiral Educt for The Diversity Oriented Synthesis of Lactam-Bridged Dipeptides. *Biopolymers, Peptide Science* **2005**, *80*, 665-674.
- (23) Wolf, J. P.; Rapoport, H. Conformationally Constrained Peptides. Chiroselective Synthesis of 4-Alkyl-Substituted  $\gamma$ -Lactam-Bridged Dipeptides from L-Aspartic Acid. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3164-3173.
- (24) Wei, L.; Lubell, W. D. Racemization in the Use of *N*-[9-(9-Phenylfluorenyl)]serine-Derived Cyclic Sulfamidates in the Synthesis of  $\delta$ -Keto  $\alpha$ -Amino Carboxylates and Prolines. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2595-2598.
- (25) Wessel, H. P.; Iversen, T.; Bundle, D. R. Acid-Catalysed Benzoylation and Allylation by Alkyl Trichloroacetimidates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1985**, 2247-2250.
- (26) Yue, C.; Thierry, J.; Potier, P. 2-Phenyl Isopropyl Esters as Carboxyl Terminus Protecting Groups in the Fast Synthesis of Peptide Fragments. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 323-326.
- (27) Thierry, J.; Yue, C.; Potier, P. 2-Phenyl Isopropyl and *t*-Butyl Trichloroacetimidates: Useful Reagents for Ester Preparation of *N*-Protected Amino Acids under Neutral Conditions. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1557-1560.
- (28) Gosselin, F.; Lubell, W. D. An Olefination Entry for the Synthesis of Enantiopure  $\alpha$ ,  $\omega$ -Diamino-dicarboxylates and Azabicyclo[X.Y.0]alkane Amino Acids. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7463-7471.

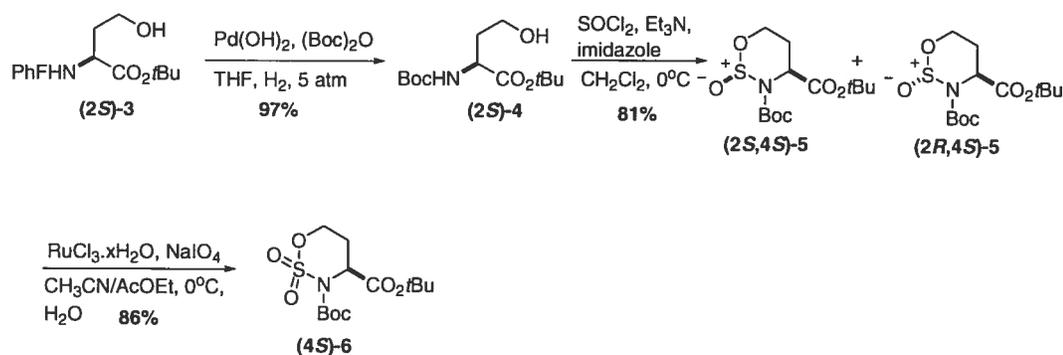
- (29) Pascal, R.; Sola, R. Preservation of the Protective Group under Alkaline Conditions by using  $\text{CaCl}_2$ . Applications in Peptide Synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5031-5034.
- (30) Kokotos, G. A Convenient One-Pot Conversion of *N*-Protected Amino Acids and Peptides into Alcohols. *Synthesis* **1990**, 299-301.
- (31) Meienhofer, J.; Waki, M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Makofske, R. C.; Chang, C. D. Solid Phase Synthesis without Repetitive Acidolysis. Preparation of leucyl-alanyl-glycyl-valine using 9-fluorenylmethoxycarbonylaminoacids. *Int. J. Pept. Protein. Res.* **1979**, *13*, 35-42.
- (32) Carpino, L. A.; Elfaham, A.; Minor, C. A.; Albericio, F. Advantageous Applications of Azabenzotriazole (Triazolopyridine)-based Coupling Reagents to Solid-Phase Peptide Synthesis. *Chem. Comm.* **1994**, 201-203.
- (33) Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. Color Test for Detection of Free Terminal Amino Groups in The Solid-Phase Synthesis of Peptides. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- (34) Les travaux de biologie ont été effectués par Annie Demers et le Pr Ong Huy au Département de Pharmacie de l'Université de Montréal

## **CHAPITRE 4**

### **Synthèse et Caractérisation d'une seconde génération de sulfamidates cycliques**

## 4.1 Synthèse et étude structurale des *N*-acyl sulfamidates cycliques

Comme les temps des réactions pour l'ouverture des sulfamidates (*4R*)- et (*4S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate par attaque nucléophile de l'ester méthylique du L-tryptophane ont été inférieurs à ceux habituellement observés pour l'ouverture du sulfamidate (*4S*)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, et que les réactions ont été effectuées à la température de la pièce et non avec un chauffage à 75°C, des études structurales ont été réalisées pour essayer de comprendre cette différence de réactivité. Tout d'abord, due à une certaine instabilité des sulfamidates protégés par un groupement Fmoc à long terme, les sulfamidites (*2R,4S*)- et (*2S,4S*)-**5** et le sulfamidate (*4S*)-**6** protégés par un groupement Boc (*tert*-butyloxycarbonyl) ont été synthétisés pour réaliser cette étude structurale (Schéma 1).

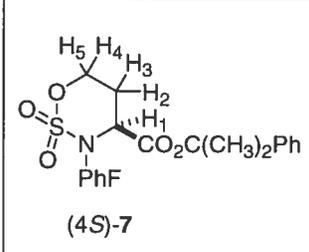
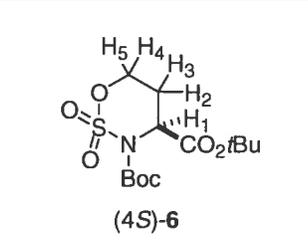


**Schéma 1.** Synthèse des sulfamidites **5** et du sulfamidate (*4S*)-**6**.

Après clivage du groupement PhF par hydrogénolyse de l'homosérine (2*S*)-**3** en utilisant du Pd(OH)<sub>2</sub> dans du THF, suivie par la protection de l'amine primaire par (Boc)<sub>2</sub>O, l'homosérine (2*S*)-**4** a été obtenue avec un rendement de 97%. Le *N*-(Boc)sulfamidate (4*S*)-**6** a été préparé à partir de l'homosérine (2*S*)-**4** d'une façon similaire à son homologue protégé par un groupement Fmoc, synthétisé dans le chapitre 3, avec un rendement de 70% pour les deux étapes.

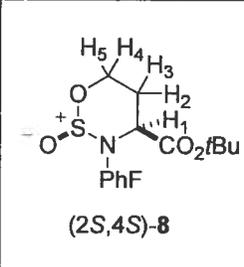
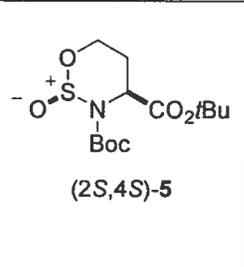
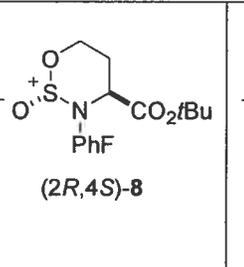
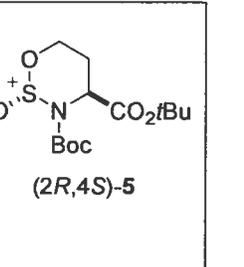
Des études préliminaires en RMN tendent à montrer qu'au contraire des sulfamidites et sulfamidates possédant un groupement PhF sur l'amine, les conformations obtenues pour les sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**5** et le sulfamidate (4*S*)-**6** ne semblent pas être des formes chaises bien définies. Comme on peut le constater dans le Tableau 1, les données spectrales du sulfamidate (4*S*)-**6** diffèrent de celles du sulfamidate (4*S*)-**7** possédant un groupement PhF sur l'amine et connu pour avoir une conformation chaise.<sup>1</sup> La même étude a été effectuée avec les *N*-Boc sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**5** et *N*-PhF sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**8** (Tableau 2).

**Tableau 1.** Données spectrales pour les sulfamidate (4*S*)-**6** et (4*S*)-**7**

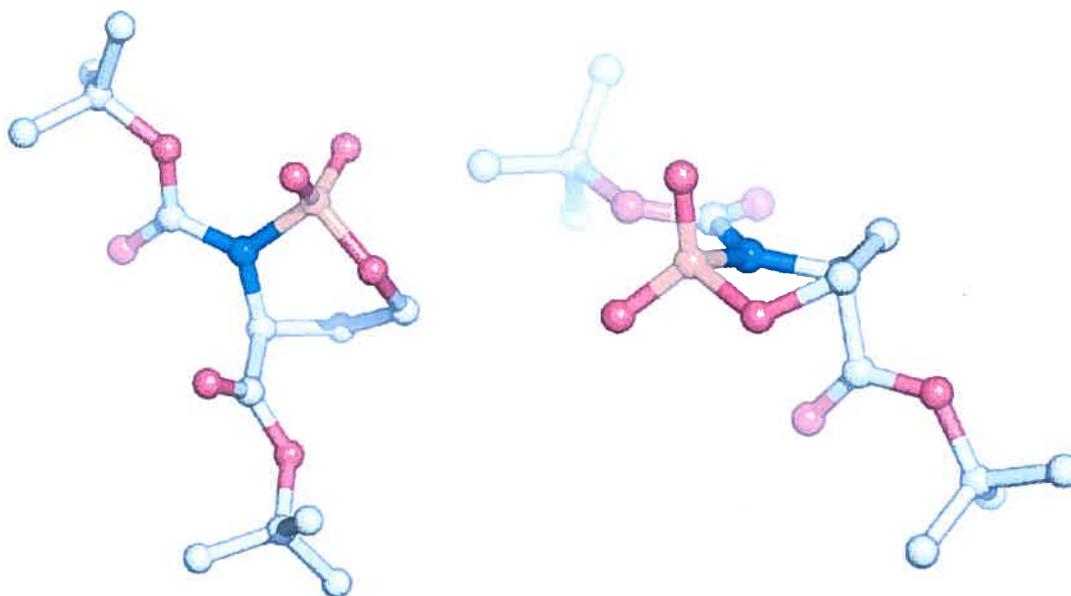
	 (4 <i>S</i> )- <b>7</b>	 (4 <i>S</i> )- <b>6</b>
	δ, mult, <i>J</i> (Hz)	δ, mult, <i>J</i> (Hz)
<b>H</b> <sub>1</sub>	3.90; d; 5.2	5.05; dd; 2.6, 5.5
<b>H</b> <sub>2</sub>	1.71; dd; 0.9, 14.4	2.61; ddt; 2.8, 5.4, 14.2
<b>H</b> <sub>3</sub>	1.07; tt; 5.6, 19.3	2.36; m
<b>H</b> <sub>4</sub>	4.82; dt; 2, 11.3	4.69; dt; 5.4, 11.1
<b>H</b> <sub>5</sub>	4.13; dd, 5.2, 11.3	4.58; m

Les cristaux du sulfamidate (4*S*)-**6** ont été obtenus avec un mélange d'acétate d'éthyle et hexane. L'analyse de la structure cristalline par diffraction aux rayons X a révélé que le système cristallin était orthorhombique, et que les dimensions de la maille étaient de :  $a = 6.1892 \text{ \AA}$  (2),  $b = 10.8110 \text{ \AA}$  (3),  $c = 25.5456 \text{ \AA}$  (7).<sup>2</sup>

**Tableau 2.** Données spectrales pour les sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**5**, et (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**8**

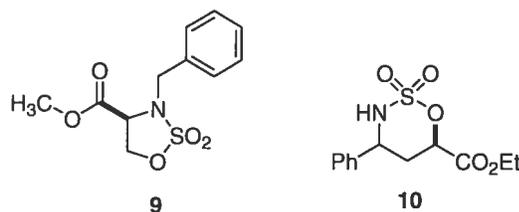
				
	$\delta$ , mult, $J$ (Hz)	$\delta$ , mult, $J$ (Hz)	$\delta$ , mult, $J$ (Hz)	$\delta$ , mult, $J$ (Hz)
<b>H<sub>1</sub></b>	3.17; dd; 2.5, 5.4	4.68; br s	3.31; dd; 3.4, 4.3	4.61; br s
<b>H<sub>2</sub></b>	1.27; m	2.18; m	2.18; m	2.18; m
<b>H<sub>3</sub></b>	1.76; m	2.36; d; 13.4	2.68; m	2.18; m
<b>H<sub>4</sub></b>	4.91; m	4.82; t; 11.6	4.37; m	4.51; m
<b>H<sub>5</sub></b>	3.55; m	3.82; dd; 2.6, 11.6	3.94; ddd; 9.1, 10.9, 16.4	4.03; dt; 8.5, 10.8

En mesurant les angles dièdres entre les différents protons du sulfamidate cyclique (4*S*)-**6** et en utilisant la courbe de Karplus,<sup>3</sup> on obtient des constantes de couplages  $^3J$  qui concordent avec celles obtenues par l'analyse RMN. Ceci vient confirmer que la conformation du sulfamidate (4*S*)-**6** n'est pas une chaise, mais plutôt un bateau croisé comme observé sur le rayon X (Figure 1).



**Figure 1.** Représentations en 3 dimensions du sulfamidate (4*S*)-6. Les hydrogènes ne sont pas représentés.

La géométrie de liaison au niveau de l'atome N(3) est quasiment planaire, car la somme des angles autour de N(3) ( $C(14)-N(3)-C(4) = 119.3^\circ$ ,  $S(2)-N(3)-C(4) = 118^\circ$ ,  $S(2)-N(3)-C(14) = 121.8^\circ$ ) est égale à  $359.1^\circ$  et que l'atome N(3) se trouve seulement à  $0.036 \text{ \AA}$  en dehors du plan formé par les trois atomes auxquels il est relié (voir Annexe 3, page CXXV à CXXIX). Les données obtenues lors d'une analyse aux rayons X d'un cristal de méthyle DL-3-benzyl-2,2-dioxo-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylate (**9**, Figure 2) faisaient état d'une somme égale à  $357.8^\circ$  et que l'azote se trouvait à  $0.130 \text{ \AA}$  au dessus du plan.<sup>4</sup>



**Figure 2.** Sulfamidates cycliques à cinq membres **9** et à six membres **10**.

Les longueurs des liaisons N(3)—S(2) et S(2)—O(1) ainsi que l'angle N(3)—S(2)—O(1) des trois composés sont résumées dans le Tableau 3. Il est à noter que l'amine du sulfamidate **10** n'est pas protégée et que sa conformation est de type chaise, comme les *N*-(PhF) sulfamidates.

**Tableau 3.** Données structurales des différents sulfamidates

Composé	<b>9</b> <sup>4</sup>	<b>10</b> <sup>5</sup>	(4 <i>S</i> )- <b>6</b>
longueur de la liaison S(2)—O(1)	1.565 Å	1.597 Å	1.551 Å
longueur de la liaison N(3)—S(2)	1.612 Å	1.609 Å	1.669 Å
valeur de l'angle N(3)—S(2)—O(1)	95.2°	104.9°	97.8°

Les essais pour cristalliser les *N*-Boc sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**5** ainsi que le *N*-PhF sulfamidate (4*S*)-**7** sont en cours, et leurs études aux rayons X permettront de confirmer probablement leurs conformations.

## 4.2 Tentatives de formation de lactame de Freidinger sur support solide

Des essais de formation de lactames de Freidinger directement sur support solide ont été effectués, car un des objectifs de la méthodologie développée était la possibilité de réaliser un criblage de peptides biologiquement actifs en remplaçant efficacement et systématiquement ses acides aminés par une  $\gamma$ -lactame. Ceci permettrait d'étudier l'importance de la géométrie du peptide sur son activité.

Les premières tentatives ont été réalisées avec l'ester cumylique du sulfamidate protégé avec un groupement PhF (4S)-7. Différentes résines ont été utilisées (résine de Merrifield, résine Hypogel 200 Br, résine Hypogel 200 OH) avec différents solvants ( $\text{CH}_3\text{CN}$ , DMF). Après déprotection de l'amine de l'acide aminé, trois équivalents de (4S)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate ont été ajoutés à la résine en suspension dans de l'acétonitrile. Puis le milieu réactionnel a été chauffé à 75°C pendant 15 h, mais les résultats obtenus n'ont pas été concluants. En effet, après filtration de la résine, la masse de sulfamidate récupéré correspondait à celle utilisée pour la réaction. Tout d'abord le solvant a été changé, le DMF a été utilisé pour permettre un meilleur gonflement de la résine, mais après clivage de la résine une multitude de produits ont été observés par RMN. Par la suite, l'acétonitrile a de nouveau été utilisé mais d'autres acides aminés ont été intercalés (valine) entre la résine et la glycine pour vérifier si ce manque de réactivité ne provenait pas d'une difficulté d'accès du sulfamidate dû à un encombrement stérique. Comme il n'y avait

pas d'amélioration, le problème venait peut-être de la glycine, donc cette dernière a été remplacée par la valine. Mais une fois encore les résultats étaient peu probants. Par conséquent, pour vérifier si le groupement PhF de par son encombrement pouvait gêner l'approche du nucléophile, le (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate a été testé. Toutefois, les conditions de réaction ont été modifiées, car, comme constaté en solution, les sulfamidates protégés par un groupement Fmoc sont plus réactifs. Par conséquent, les réactions ont été effectuées à la température de la pièce. Après déprotection de l'amine du dipeptide Fmoc-D-Phe-Lys(Boc) greffé sur une résine Rink, dont la synthèse a été décrite dans la partie expérimentale du Chapitre 3, par une solution à 20% pipéridine dans DMF, 2 équivalents du sulfamidate dans de l'acétonitrile ont été ajoutés à la résine. Après 20 h la résine est filtrée et un test de Kaiser est réalisé. Ce dernier étant positif, la résine est traitée à nouveau avec 2 équivalents de sulfamidate mais avec du THF, un solvant qui permet un meilleur gonflement de la résine. Après 20 h la résine a été filtrée, lavée et séchée, le test Kaiser<sup>6</sup> était positif mais un clivage a été réalisé avec une solution fraîchement préparée de TFA/TES/H<sub>2</sub>O (95/2.5/2.5, v/v/v) (TES = Triéthylsilane). Une analyse par LC-MS a révélé une quantité non négligeable de produit attendu ( $m/z = 616.3$ ;  $t_R = 13.89$ ; gradient de 20-80% CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA) dans H<sub>2</sub>O (0.1% TFA); débit de 0.5 mL/min; chromatogramme en Annexe 3). Toutefois, il nous fallait changer d'ester car il n'était pas compatible avec la résine utilisée (résine Rink amide). Pour se faire, j'ai synthétisé l'ester cumylique du sulfamidate protégé par un groupement Fmoc (4*R*)-**15** selon la même procédure que celle utilisée pour le (4*R*)-*tert*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate dans le Chapitre 3, à l'exception que cette fois-ci il a été utilisé un *O*-

cumyl trichloroacétimide plutôt qu'un *O*-*t*-butyl trichloroacétimide (Schéma 2). À ce stade-ci, les réactions n'avaient pas été optimisées. Cependant, les essais sur support solide ont été réalisés par le Dr Mandar Bodas sur l'énantiomère (4*S*) et sont en cours d'optimisation.<sup>7</sup>

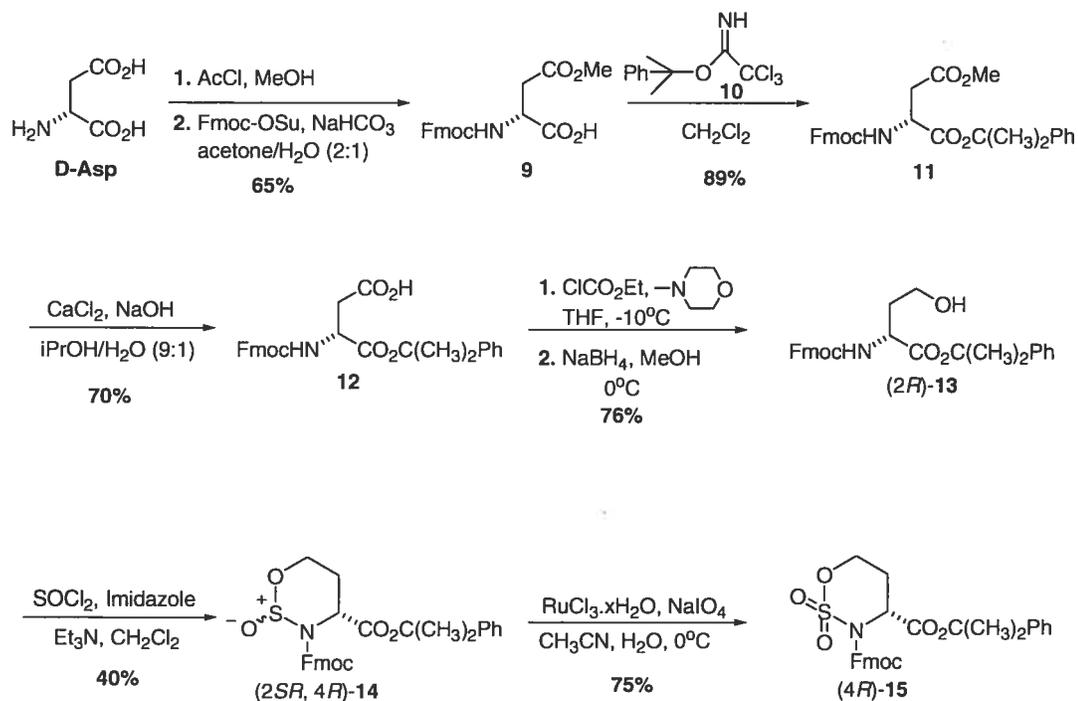


Schéma 2. Synthèse du sulfamidate (4*R*)-15.

### 4.3 Conclusion

Une différence de réactivité entre les *N*-PhF sulfamidates et les *N*-Fmoc sulfamidates m'a amené à étudier leurs conformations respectives. Comme les sulfamidates protégés avec un groupement Fmoc semblaient instables à long terme,

les *N*-Boc sulfamidites (2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-**5** et le *N*-Boc sulfamidate (4*S*)-**6** ont été synthétisés. Une étude RMN a permis de constater que la conformation de ces *N*-acyl sulfamidates n'était pas une chaise comme obtenue avec les *N*-PhF sulfamidites et sulfamidates. L'obtention de cristaux pour le *N*-Boc sulfamidate (4*S*)-**6** a permis de réaliser, pour la première fois, une étude par diffraction de rayons X d'un sulfamidate cyclique à six membres comportant un groupement *N*-acyl. Par le fait même, la structure obtenue a révélé que la conformation du sulfamidate (4*S*)-**6** était plutôt un bateau croisé, ce qui pourrait expliquer une meilleure réactivité.

De plus, des essais de formation de  $\gamma$ -lactames sur support solide ont été effectués. Après des résultats infructueux avec le (4*S*)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, un changement de stratégie s'est imposée. Un nouveau sulfamidate a été testé, le (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, et son utilisation a montré que l'ouverture d'un sulfamidate par une amine primaire d'un acide aminé greffé sur une résine était possible. Ceci pourrait ouvrir la voie à la synthèse d'autres sulfamidates cycliques à six membres et à leur utilisation sur support solide, permettant d'insérer une ou plusieurs  $\gamma$ -lactames dans un peptide, et par conséquent la possibilité d'obtenir de nouveaux mimes peptidiques.

## 4.4 Partie expérimentale

### Procédures expérimentales générales

Les procédures expérimentales générales sont les mêmes que celles décrites dans la partie expérimentale du chapitre 3. La nomenclature des composés est écrite en anglais.

#### **(2*S*)-tert-Butyl 2-[*N*-(Boc)Amino]-4-hydroxybutanoate ((2*S*)-4) :**

Une solution de (2*S*)-tert-butyl 2-[*N*-(PhF)Amino]-4-hydroxybutanoate ((2*S*)-3, 2.33 g, 5.6 mmol préparé selon la référence 8) et de (Boc)<sub>2</sub>O (1.96 g, 9.0 mmol) dans du THF (20 mL) a été placée dans un réacteur à hydrogénation et traitée avec du Pd(OH)<sub>2</sub> (678 mg). L'appareil a été rempli sous atmosphère d'hydrogène, placé sous vide et rempli à nouveau 3 fois. Le mélange réactionnel a été agité durant 48 h sous 5 atm d'hydrogène, puis filtré sur Celite<sup>TM</sup>, et lavé avec du THF (3 x 10 mL) et du MeOH (3 x 10 mL). Le filtrat et les eaux de lavages ont été combinés, séchés, filtrés et évaporés. Le résidu a été purifié par une chromatographie sur gel de silice en utilisant un éluant de 30% AcOEt dans de l'hexanes pour donner 1.5 g (97%) de *N*-Boc homosérine (2*S*)-4, une huile incolore :  $R_f = 0.34$  (30% AcOEt / hexanes); RMN <sup>1</sup>H δ 1.40 (s, 9H), 1.42 (s, 9H), 1.49 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.64 (m, 2H), 4.29 (d, 1H,  $J = 8.8$ ), 5.42 (s, 1H); RMN <sup>13</sup>C δ 27.8, 28.1, 36.2, 50.8, 58.1, 80.0, 82.0, 156.4, 171.8; HRMS calc. pour C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>5</sub> (M + H)<sup>+</sup> 276.1805, obtenu 276.1808.

**(2*R*,4*S*)- et (2*S*,4*S*)-*t*-Butyl 2-Oxo-3-Boc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [(2*R*,4*S*)-5 et (2*S*,4*S*)-5] :**

En utilisant la même procédure que celle décrite pour la synthèse des sulfamidites (2*R*,4*S*)-9 et (2*S*,4*S*)-9 dans la partie expérimentale du chapitre 3, 904.1 mg (3.28 mmol) de *N*-Boc homosérine (2*S*)-4 ont permis d'obtenir un résidu qui a été purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un éluant de 10% de AcOEt dans de l'hexanes pour donner 855.7 mg (81%) de (2*R*,4*S*)-5 et (2*S*,4*S*)-5 sous la forme de solide blanc. Le premier à éluer :  $R_f = 0.18$  (10% AcOEt / hexanes); Pf = 64.6-65.4 °C;  $[\alpha]_D^{25}$  63.1 ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.45 (s, 9H), 1.50 (s, 9H), 2.18 (m, 1H), 2.36 (d, 1H,  $J = 13.4$ ), 3.83 (dd, 1H,  $J = 2.6, 11.6$ ), 4.68 (br s, 1H), 4.82 (t, 1H,  $J = 11.6$ ); RMN <sup>13</sup>C δ 23.7, 27.6, 27.9, 48.9, 54.6, 82.4, 83.4 151.6, 168.6; HRMS calc. pour C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NSO<sub>6</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 344.1138, obtenu 344.1141. Le second à éluer :  $R_f = 0.23$  (10% AcOEt / Hexanes); Pf = 88-89 °C;  $[\alpha]_D^{25}$  -50.9 ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.45 (s, 9H), 1.50 (s, 9H), 2.60 (m, 2H), 4.03 (dt, 1H,  $J = 8.5, 10.8$ ), 4.51 (m, 1H), 4.61 (br s, 1H); RMN <sup>13</sup>C δ 24.7, 27.7, 27.9, 51.5, 56.5, 82.4, 83.5, 151.1, 168.8; HRMS calc. pour C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NSO<sub>6</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 344.1138, obtenu 344.1137.

**(4*S*)-*t*-Butyl 2,2-Dioxo-3-Boc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate ((4*S*)-6) :**

En utilisant la même procédure que pour la synthèse du sulfamidate (4*S*)-4 décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, les sulfamidites (2*R*,4*S*)-5 et (2*S*,4*S*)-5 (711.7 mg, 2.21 mmol) ont été traités avec une quantité catalytique de RuCl<sub>3</sub>·xH<sub>2</sub>O (7.36 mg, 0.035 mmol) et du NaIO<sub>4</sub> (919.9 mg, 4.3 mmol). Le résidu obtenu a été

purifié sur une colonne chromatographique sur gel de silice en utilisant un éluant de 30% AcOEt dans de l'hexane pour donner 640.4 mg (86%) de *N*-Boc sulfamidate (4*S*)-**6** sous la forme d'un solide blanc :  $R_f = 0.45$  (30% AcOEt / Hexanes);  $P_f = 128-129$  °C;  $[\alpha]_D^{25} -43.9$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.47 (s, 9H), 1.54 (s, 9H), 2.36 (m, 1H), 2.59 (ddt, 1H,  $J = 2.7, 5.4, 14.3$ ), 4.60 (m, 1H), 4.68 (dt, 1H,  $J = 5.4, 11.1$ ), 5.05 (dd, 1H,  $J = 2.6, 5.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  24.3, 27.5, 27.8, 57.3, 70.3, 83.4, 85.1, 150.2, 167.3; HRMS calc. pour  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NSO}_7\text{Na}$  ( $M + \text{Na}$ ) $^+$  360.1087, obtenu 360.1083.

**(2*R*)- $\beta$ -Methyl *N*-(Fmoc)Aspartate (9) :**

En utilisant la même procédure que pour le (2*R*)- $\beta$ -méthyle *N*-(Fmoc)aspartate **10** décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, l'acide aspartique D (10 g, 75.13 mmol) a été traité avec du chlorure d'acétyle (7.5 mL, 105.2 mmol) qui avait été ajouté goutte à goutte à du MeOH (21 mL) à 0°C. Par la suite une solution de  $\beta$ -méthyle aspartate (9.71 g, 52.92 mmol) dans de l'acétone/H<sub>2</sub>O 2:1 (441 mL) à 0°C a été traitée avec NaHCO<sub>3</sub> (17.8 g, 211.68 mmol), suivie par Fmoc-OSu (21.42 g, 63.5 mmol). Après évaporation des phases organiques séchées, 18 g (65%) de (2*R*)- $\beta$ -méthyle *N*-(Fmoc)aspartate (**9**) ont été obtenus :  $p_f : 120.6-121.6$  °C;  $[\alpha]_D^{25} - 34.8$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Methyl-1-phenylethyl-2,2,2-trichloro acetimidate (10) :**

Sous atmosphère d'azote, une suspension d'hydruure de sodium (0.54g, 60% dans l'huile, 13.4 mmol), qui a été préalablement lavée avec de l'hexane pour enlever l'huile, a été agitée dans de l'éther anhydre (10 mL), et traitée goutte à goutte avec du

2-phényl-2-propanol (5 g, 67 mmol) dans de l'éther (30 mL). Après 20 min, le solide est dissout. La solution a été refroidie à 0°C, avec un bain de glace auquel on a ajouté du NaCl solide, traitée goutte à goutte avec du trichloroacétonitrile (6.4 mL, 64 mmol) sur une période de 20 min, laissée revenir à température ambiante sur une période de 60 min, et concentrée jusqu'à l'obtention d'un sirop, qui a été traité avec du pentane (20 mL) contenant du méthanol anhydre (14 mmol), agitée vigoureusement, et filtrée. Le filtrat a été évaporé, et le résidu a été trituré avec du pentane (2 x 30 mL) et filtré. L'évaporation du pentane a donné une huile brune qui a été utilisée sans aucune autre purification. RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.92 (s, 6H), 7.30-7.54 (m, 5H), 8.24 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  28.6, 85.4, 124.8, 127.6, 128.7, 145.5, 160.1.

**(2*R*)- $\beta$ -Méthyl  $\alpha$ -Cumyl *N*-(Fmoc)-*D*-aspartate (11):**

En utilisant la même procédure que pour la synthèse du (2*R*)- $\beta$ -méthyl  $\alpha$ -*tert*-butyl *N*-(Fmoc)-*D*-aspartate (12) décrite dans la chapitre 3, une suspension de (2*R*)- $\beta$ -méthyle *N*-(Fmoc)-*D*-aspartate **9** (2.8 g, 7.59 mmol) agitée dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (24 mL) a été traitée deux fois avec du *O*-cumyl trichloroacétimidate **10** (2.12 g, 7.59 mmol). Le résidu est purifié par chromatographie (20% AcOEt/Hexanes contenant 1%  $\text{Et}_3\text{N}$ ), et l'évaporation des fractions recueillies a donné le diester (2*R*)-**11** (3.28g, 89%) sous forme d'un solide:  $R_f = 0.17$  (20% AcOEt/Hexanes); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.82 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 2.91 (dd, 1H,  $J = 4.9, 16.9$ ), 3.08 (dd, 1H,  $J = 4.4, 16.9$ ), 3.74 (s, 3H), 4.25 (t, 1H,  $J = 7.18$ ), 4.41 (m, 2H), 4.65 (dt, 1H,  $J = 4.6, 8.5$ ), 5.80 (d, 1H,  $J = 8.2$ ), 7.36 (m, 9H), 7.61 (d, 2H,  $J = 7.5$ ), 7.79 (d, 2H,  $J = 7.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  28.1, 28.4, 36.7, 47.1, 51.0, 52.0, 67.3, 83.8, 120.1, 124.4, 125.2, 127.1, 127.4, 127.8, 128.4, 141.3, 143.8,

143.9, 144.9, 156.0, 169.1, 171.3; HRMS calc. pour  $C_{29}H_{29}NO_6Na$  ( $M + Na$ )<sup>+</sup> 510.1887, obtenu 510.1888.

**(2R)- $\alpha$ -Cumyl N-(Fmoc)-D-aspartate (12) :**

En utilisant la même procédure que pour la synthèse du (2R)- $\alpha$ -tert-butyl N-(Fmoc)-D-aspartate (13) décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, le diester (2R)-11 (503.5 mg, 1.03 mmol) a été dissout dans une solution 0.8 M iPrOH/H<sub>2</sub>O (9:1) de CaCl<sub>2</sub> (34.5 mL), et traitée avec une solution 0.5 M de NaOH (3.5 mL). Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 10% iPrOH dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant pour donner 339 mg (70%) de l'acide (2R)-12 sous forme d'une huile incolore: RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  1.81 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 2.98 (dd, 1H,  $J = 4.6, 17.3$ ), 3.16 (dd, 1H,  $J = 4.0, 17.3$ ), 4.25 (t, 1H,  $J = 7.1$ ), 4.43 (m, 2H), 4.68 (dt, 1H,  $J = 4.2, 8.2$ ), 5.85 (d, 1H,  $J = 8.1$ ), 7.36 (m, 9H), 7.62 (d, 2H,  $J = 7.3$ ), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ), 10.90 (br s, 1H); RMN <sup>13</sup>C 27.6, 28.1, 46.7, 50.4, 67.0, 83.7, 119.7, 123.9, 124.8, 126.7, 127.1, 127.4, 128.0, 140.9, 143.3, 143.4, 144.4, 155.7, 168.6, 176.1; HRMS calc. pour  $C_{28}H_{27}NO_6Na$  ( $M + Na$ )<sup>+</sup> 496.1730, obtenu 496.1732.

**(2R)-Cumyl 2-[N-(Fmoc)Amino]-4-hydroxybutanoate ((2R)-13):**

En utilisant la même procédure que pour la synthèse du (2R)-tert-butyl 2-[N-(Fmoc)amino]-4-hydroxybutanoate (2R)-8 décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, l'acide (2R)-12 (328.9 mg, 0.7 mmol) dans du THF (3.5 mL) à -10°C a été traitée avec de la N-méthyle morpholine (0.0765 mL, 0.7 mmol) et du chloroformate d'éthyle (0.0665 mL, 0.7 mmol), agitée pendant 15 min, traitée avec NaBH<sub>4</sub> (79 mg,

2.09 mmol) et du MeOH (7 mL) ajouté goutte à goutte sur une période de 15 min à 0°C. Le résidu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 15% AcOEt dans CHCl<sub>3</sub> comme éluant pour donner 243.4 mg (76%) d'homosérine (2*R*)-**13** sous forme d'un solide gommeux: R<sub>f</sub> = 0.21 (15% AcOEt/CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H δ 1.66 (m, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 3.22 (br s, 1H), 3.63 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 4.23 (t, 1H, *J* = 6.9), 4.47 (m, 3H), 5.63 (d, 1H, *J* = 7.6), 7.36 (m, 9H), 7.60 (d, 2H, *J* = 7.4), 7.79 (d, 2H, *J* = 7.5); RMN <sup>13</sup>C δ 27.8, 28.4, 35.5, 46.8, 51.1, 57.9, 66.9, 83.2, 119.7, 123.9, 124.7, 126.8, 127.1, 127.4, 128.1, 141.0, 143.2, 143.4, 144.5, 156.7, 170.8; LRMS (EI) 482.0 (M + Na)<sup>+</sup>.

**(2*R*,4*R*)- et (2*S*,4*R*)-Cumyl 2-Oxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate [(2*R*,4*R*)-**14** et (2*S*,4*R*)-**14**] :**

En utilisant la même procédure que celle utilisée pour la synthèse des sulfamidites (2*R*,4*S*)-**9** et (2*S*,4*S*)-**9** décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, l'homosérine (2*R*)-**13** (97.3 mg, 0.212 mmol) a été traitée avec de l'imidazole (86.6 mg, 1.27 mmol) puis par de la triéthylamine (0.059 mL, 0.424 mmol), agitée pendant 10 min, traitée avec du chlorure de thionyle (0.017 mL, 0.23 mmol). Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 20% AcOEt dans de l'hexane comme éluant pour donner 42.3 mg (40%) de sulfamidites (2*R*,4*R*)-**14** et (2*S*,4*R*)-**14**, sous forme d'une mousse. Premier à éluer: m = 10.7 mg; R<sub>f</sub> = 0.38 (20% AcOEt/hexane); RMN <sup>1</sup>H δ 1.72 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 2.29 (m, 1H), 2.44 (d, 1H, *J* = 13.2), 3.92 (dd, 1H, *J* = 2.9, 11.7), 4.29 (br s, 1H), 4.40 (dd, 1H, *J* = 7.7, 10.4), 4.59 (dd, 1H, *J* = 7.0, 10.4), 4.90 (m, 2H), 7.31 (m, 9H), 7.64 (br s, 2H), 7.78 (d, 2H, *J* =

7.6); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  23.6, 26.5, 28.8, 29.5, 46.7, 55.0, 69.2, 84.1, 119.9, 124.3, 124.9, 127.1, 127.8, 128.1, 141.1, 142.8, 145.1, 167.7. Second à éluer:  $m = 31.6$  mg;  $R_f = 0.30$  (20% AcOEt/hexane); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.79 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 4.11 (q, 1H,  $J = 9.4$ ), 4.30 (t, 1H,  $J = 7.2$ ), 4.52 (d, 2H,  $J = 7.4$ ), 4.60 (m, 1H), 4.82 (br s, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.33 (m, 6H), 7.42 (t, 2H,  $J = 7.5$ ), 7.65 (d, 2H,  $J = 7.2$ ), 7.78 (d, 2H,  $J = 7.5$ ); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  24.8, 28.1, 28.5, 47.0, 51.9, 57.2, 69.4, 84.2, 120.2, 124.4, 125.3, 127.4, 127.5, 128.1, 128.5, 141.4, 143.4, 144.9, 168.1.

**(4*R*)-Cumyl 2,2-Dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate ((4*R*)-15) :**

En utilisant la même procédure que pour la synthèse du sulfamidate (4*S*)-4 décrite dans la partie expérimentale du chapitre 3, les sulfamidites (2*R*,4*R*)-14 et (2*S*,4*R*)-14 (42.3 mg, 0.084 mmol) ont été traités avec une quantité catalytique de  $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (0.3 mg, 0.0013 mmol) et du  $\text{NaIO}_4$  (34.9 mg, 0.163 mmol). Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec 20% AcOEt dans de l'hexane comme éluant pour donner 32.7 mg (75%) de sulfamidate (4*R*)-15 sous forme d'une mousse blanche:  $R_f = 0.14$  (20% AcOEt/Hexanes); RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  1.74 (s, 3H), 1.86 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 4.36 (t, 1H,  $J = 7.5$ ), 4.52 (dd, 2H,  $J = 2.6, 7.5$ ), 4.71 (m, 2H), 5.25 (dd, 1H,  $J = 2.5, 5.3$ ), 7.36 (m, 9H), 7.77 (m, 4H); RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  24.4, 27.2, 28.8, 46.7, 58.3, 70.9, 71.1, 85.0, 120.1, 124.6, 125.6, 127.5, 127.6, 128.1, 128.5, 141.4, 143.2, 143.3, 144.7, 152.4, 166.7;  $[\alpha]_D^{25}$  28.1 ( $c$  0.46,  $\text{CHCl}_3$ ); HRMS calc. pour  $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{NSNa}$  ( $M + \text{Na}$ ) $^+$  544.1400, obtenu 544.1408.

## 4.5 Références

- (1) (a) Galaud, F.; Lubell, W. D. Homoserine-derived cyclic sulfamidate as chiral educt for the diversity-oriented synthesis of lactam-bridged dipeptides. *Biopolymers, Peptide Science* **2005**, sous presse; (b) Atfani, M.; Wei, L.; Lubell, W. D. *N*-(9-(9-Phenylfluorenyl))homoserine-Derived Cyclic Sulfamidates: Novel Chiral Educts for the Synthesis of Enantiopure  $\gamma$ -Substituted  $\alpha$ -Amino Acids. *Org. Lett.* **2001**; 3(19); 2965-2968.
- (2) La structure du sulfamidate (4*S*)-**6** a été résolue au laboratoire de diffraction des rayons X de l'Université de Montréal en utilisant la méthode directe (SHELXS97) et raffinée avec SHELXL97: C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>S; M<sub>r</sub> = 337.38; orthorhombic; colorless crystal; space group P2<sub>12121</sub>; unit cell dimensions (Å) a = 6.1892 (2), b = 10.8110 (3), c = 25.5456 (7); volume of unit cell (Å<sup>3</sup>) V = 1709.29 (9); Z = 4; R<sub>1</sub> = 0.037 for I > 2 sigma (I), wR<sub>2</sub> = 0.1147 for all data; GOF = 1.074.
- (3) (a) Karplus, M. Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments. *J. Chem. Phys.* **1959**, 30, 11-15; (b) Karplus, M. Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2870-2871.
- (4) Gritsonie, P.; Pilkington, M.; Wallis, J. D.; Povey, D. C. Methyl DL-3-Benzyl-2,2-dioxo-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylate. An Intermediate for Amino Acid Synthesis. *Acta Crystallogr.* **1994**, C50, 763-765.

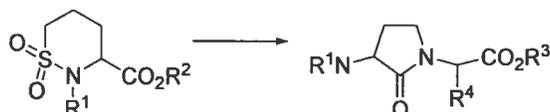
- (5) Espino, C. G.; Wehn, P. M.; Chow, J.; Du Bois, J. Synthesis of 1,3-Difunctionalized Amine Derivatives through Selective C – H Bond Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6935-6936.
- (6) Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. Color Test for Detection of Free Terminal Amino Groups in The Solid-Phase Synthesis of Peptides. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- (7) Boeglin, D. R; Bodas, M. S.; Galaud, F.; Lubell, W. D. Positional Scanning for Peptide Secondary Structure by Solid Phase Synthesis with Aza-amino Acids and Freidinger Lactams. Dans *Peptides 2005 (Proceedings of the 19<sup>th</sup> American Peptide Symposium)*, S. Blondelle, Editor, sous presse.
- (8) Gosselin, F.; Lubell, W. D. An Olefination Entry for the Synthesis of Enantiopure  $\alpha$ ,  $\omega$ -Diamino-dicarboxylates and Azabicyclo[X.Y.0]alkane Amino Acids. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7463-7471.

**CHAPITRE 5**

**Conclusion**

## 5.1 Conclusion

Ce mémoire a été consacré à la synthèse et aux applications de lactames de Freidinger à partir de sulfamidates cycliques à six membres (Figure 1).

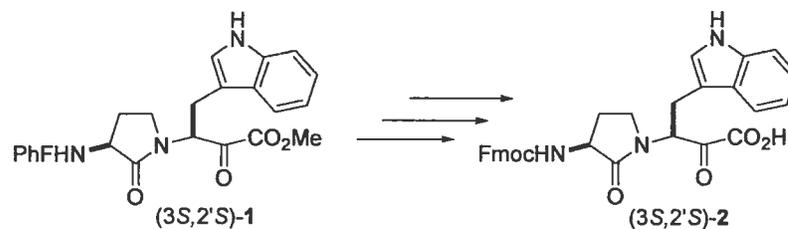


**Figure 1.** Schéma général.

Dans un premier temps, une nouvelle méthodologie a été développée pour la synthèse d'une série de lactames dipeptidiques à partir du (4*S*)-cumyl 2,2-dioxo-3-PhF-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate. Ce dernier a été synthétisé avec un rendement de 46% à partir de l'ester β-méthyle de l'acide *N*-(PhF)aspartique. Les γ-lactames ont été produits, d'abord par l'ouverture du sulfamidate cyclique avec différents esters d'acides aminés, puis par clivage de l'ester cumylique suivi d'une cyclisation à l'aide d'agent de couplage. Cette méthodologie a permis d'obtenir des lactames dipeptidiques de façon énantiomériquement pure, avec des rendements variant de 35 à 83% à partir du sulfamidate, possédant des chaînes latérales variées : aromatiques, aliphatiques, thioéther, carboxylates, aminée. Ces composés, les lactames dipeptidiques, peuvent servir dans l'étude de la relation entre la conformation et l'activité des peptides. Tout d'abord, pour illustrer le potentiel de cette nouvelle méthodologie, un analogue du tripeptide Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> (PLG) a été

synthétisé avec un rendement de 25% à partir du lactame dipeptidique. Ce tripeptide possède une variété d'activités pharmacologiques sur le système nerveux central.<sup>1</sup> Des études sur les animaux ont révélé que le PLG pouvait agir sur les effets comportementaux de la L-Dopa<sup>2</sup> et l'apomorphine,<sup>3</sup> par exemple. De plus, il a été montré que le PLG augmentait sélectivement l'affinité des agonistes de la dopamine (ADTN,<sup>4</sup> apomorphine<sup>5</sup>) aux récepteurs dopaminergiques. Ces études neuropharmaceutiques et biochimiques ont suggérées que le PLG exercerait ses effets sur le système nerveux central à travers la modulation des récepteurs dopaminergiques du système central.<sup>1</sup>

Dans un deuxième temps, nous avons appliqué cette méthode pour synthétiser un analogue contenant un lactame de Freidinger du peptide GHRP-6. Cet hexapeptide fait partie de la famille des peptides synthétiques qui stimulent la libération de l'hormone de croissance.<sup>6</sup> Le GHRP-6 libère l'hormone de croissance à partir des somatotrophes, et ce d'une manière dose dépendante dans plusieurs espèces incluant les humains.<sup>7</sup> Cependant, le rendement obtenu pour la transformation du composé **1**, l'ester méthylique de l'acide (3*S*)-3-[*N*-(PhF)amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'*S*)-3'-(1*H*-indol-3-yl)-2'-propionique, en **2**, l'acide (3*S*)-3-[*N*-(Fmoc)amino]-2-oxo-1-pyrrolidine-(2'*S*)-3'-(1*H*-indol-3-yl)-2'-propionique, n'a été que de 30% (Figure 2). Un changement de stratégie a alors été envisagé, la synthèse du (4*S*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate a été réalisée.



**Figure 2.** Synthèse du *N*-(Fmoc)amino lactame (3S,2'S)-2 à partir de l'ester méthylique du lactame dipeptidique *N*-(PhF) (3S,2'S)-1.

Pour vérifier si une différence de conformation au niveau du  $\gamma$ -lactame pouvait induire des changements au niveau de l'activité du peptide, c'est-à-dire avoir un agoniste avec une conformation et un antagoniste avec l'autre conformation par exemple, des analogues diastéréomériques du GHRP-6 ont été synthétisés. Pour ce faire, les sulfamidates cycliques à six membres (4*S*)- et (4*R*)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Fmoc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate ont été réalisés à partir des acides aspartiques L et D. L'insertion de ces deux  $\gamma$ -lactames dans le peptide a été effectuée sur support solide, pour nous donner après clivage et purification deux analogues peptidiques de GHRP-6 qui ont servi à l'étude de la relation conformation-activité. Des résultats préliminaires ont montré que ces deux analogues possédaient une activité agoniste et par conséquent, que la conformation active du peptide parent devrait comporter un repliement de type  $\beta$ . Les études d'affinité sont en cours.

En résumé, nous avons mis au point une méthodologie permettant de synthétiser des lactames dipeptidiques énantiomériquement purs, et prouver le concept en synthétisant des analogues peptidiques du PLG et de GHRP-6.

Dans un dernier chapitre, une nouvelle génération de sulfamidates cycliques a été synthétisée. Tout d'abord, pour en étudier la conformation et par la suite, pour adapter la méthodologie sur support solide. Pour la première fois, à ma connaissance, un cristal et une analyse aux rayons X d'un sulfamidate cyclique à six membres possédant un carbamate, le (4S)-*t*-butyl 2,2-dioxo-3-Boc-1,2,3-oxathiazinane-4-carboxylate, ont été réalisés. Ainsi, il a été constaté que la conformation de ce dernier n'était pas une chaise, mais semblait être plutôt un bateau croisé.

Les travaux présentés dans ce mémoire montrent la synthèse de nouveaux sulfamidates ainsi qu'une nouvelle application de ces derniers. En effet, c'est la première fois que des lactames dipeptidiques énantiomériquement purs ont été synthétisés à partir de sulfamidates cycliques à six membres. Cette méthodologie, qui est toujours en développement au niveau de la phase solide, permettra de réaliser un criblage systématique de différents peptides possédant une activité biologique pour en étudier la relation activité-conformation. Ainsi, une nouvelle voie a été ouverte pour la synthèse de peptidomimétiques, ce qui amènera sûrement à une meilleure compréhension des mécanismes intervenant lors de la complexation entre le ligand peptidique et le récepteur. De plus, de nouveaux sulfamidates cycliques à six membres ont été synthétisés tels que l'ester *tert*-butylique du sulfamidate protégé par un groupement Boc, pour lequel des données rayons X ont été établies pour la

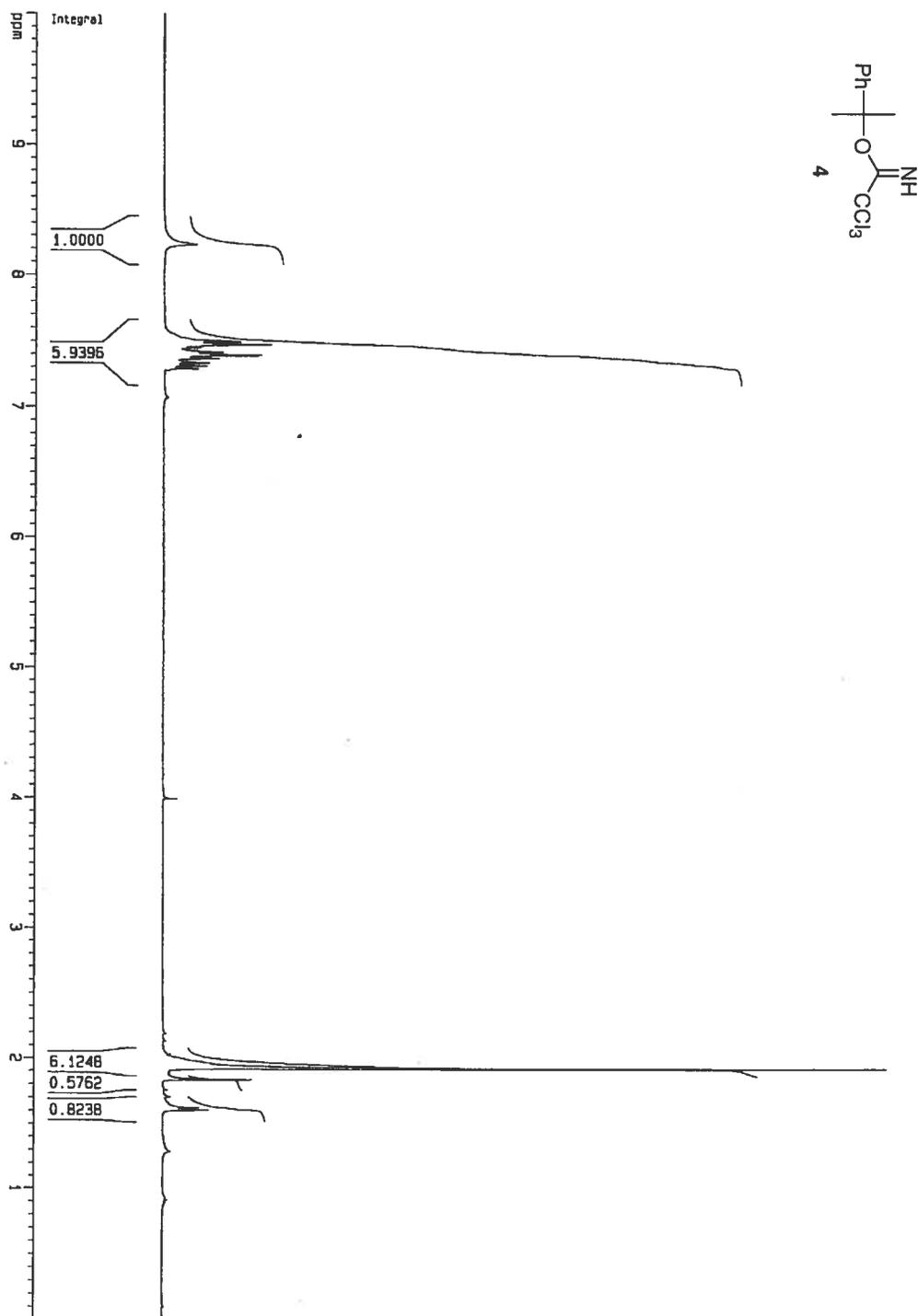
première fois, et l'ester cumylique du sulfamidate protégé par un groupement Fmoc. Des études spectroscopiques RMN (NOESY, COSY) et aux rayons X des différents sulfamidates et sulfamidites synthétisés permettraient d'établir les différentes conformations adoptées par ces composés, et ainsi obtenir une meilleure connaissance de leur réactivité.

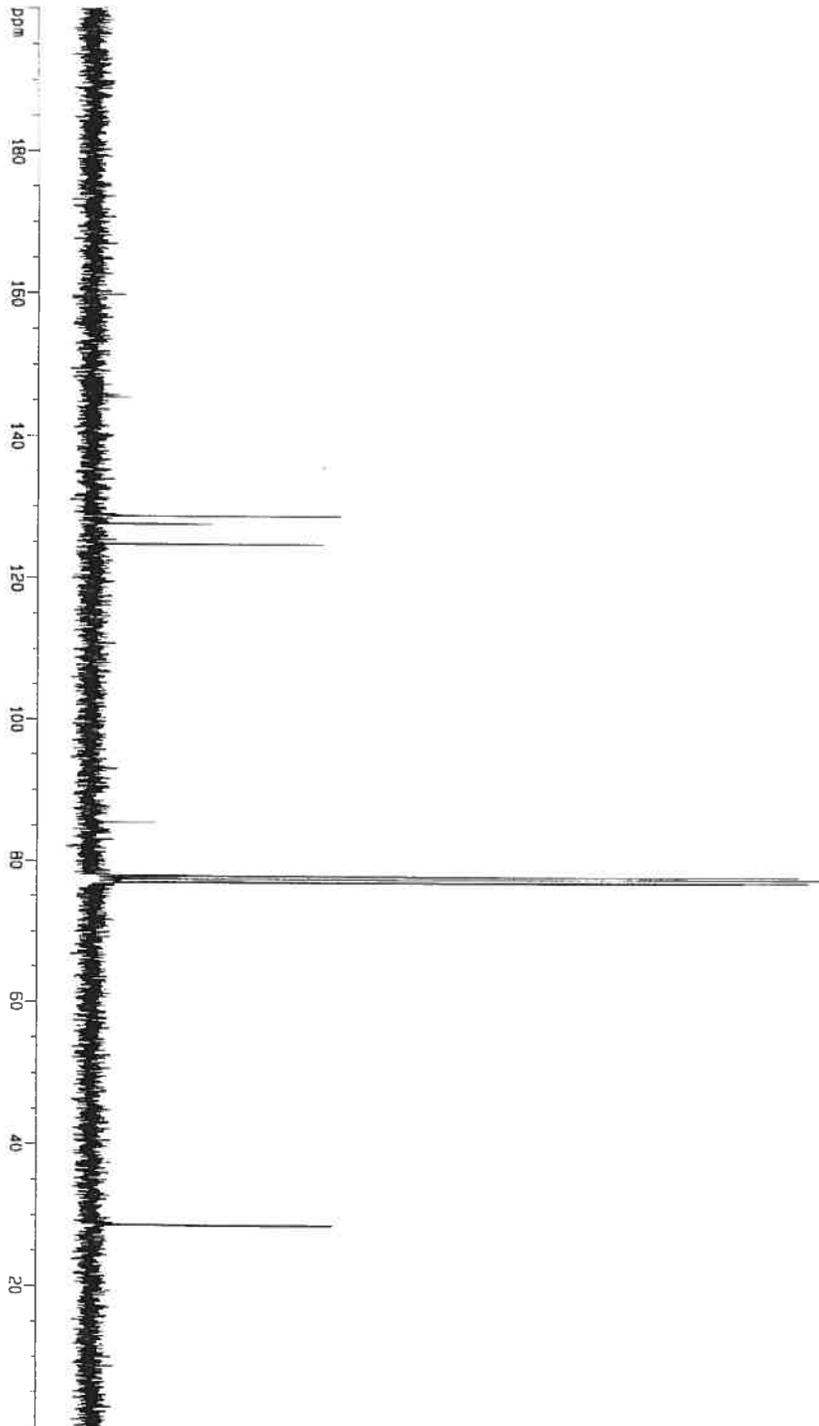
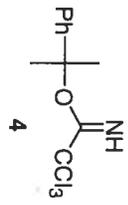
## 5.2 Références

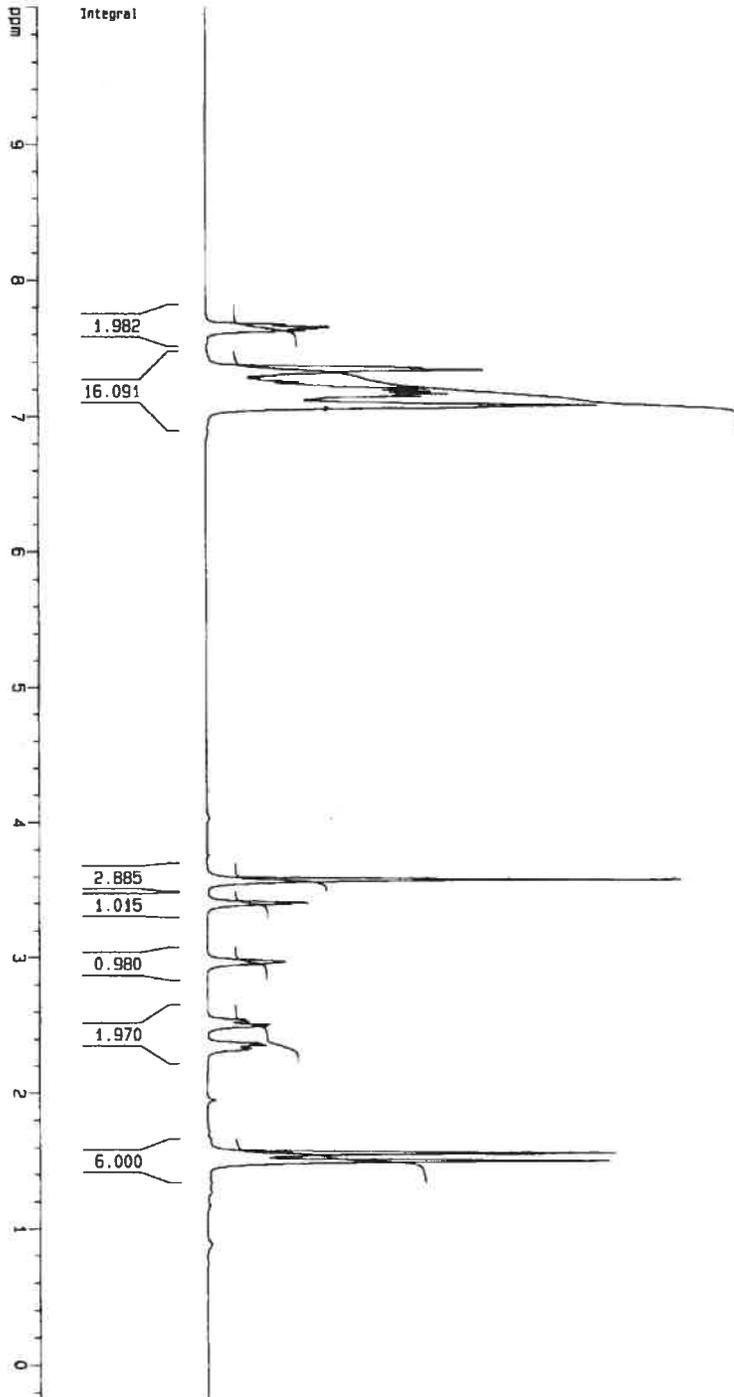
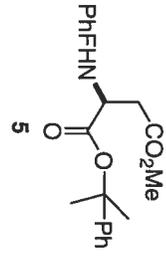
- (1) Mishra, R. K.; Chiu, P.; Mishra, C. P. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **1983**, *5*, 203.
- (2) Plotnikoff, N. P.; Kastin, A. J.; Anderson, M. J.; Schally, A. V. *Life Sci.* **1971**, *10*, 1279.
- (3) Plotnikoff, N. P.; Kastin, A. J. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **1974**, *211*, 211.
- (4) Jonhson, R. L.; Rajakumar, G.; Mishra, R. K. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2100.
- (5) Chiu, S.; Paulose, C. S.; Mishra, R. K. *Peptides* **1981**, *2*, 105.
- (6) Bowers, C. Y.; Sartor, A. O.; Reynolds, G. A.; Badger, T. M. *Endocrinology* **1991**, *128*, 2027.
- (7) Bowers, C. Y.; Momany, F. A.; Reynolds, G. A.; Hong, A. *Endocrinology* **1984**, *114*, 1537.

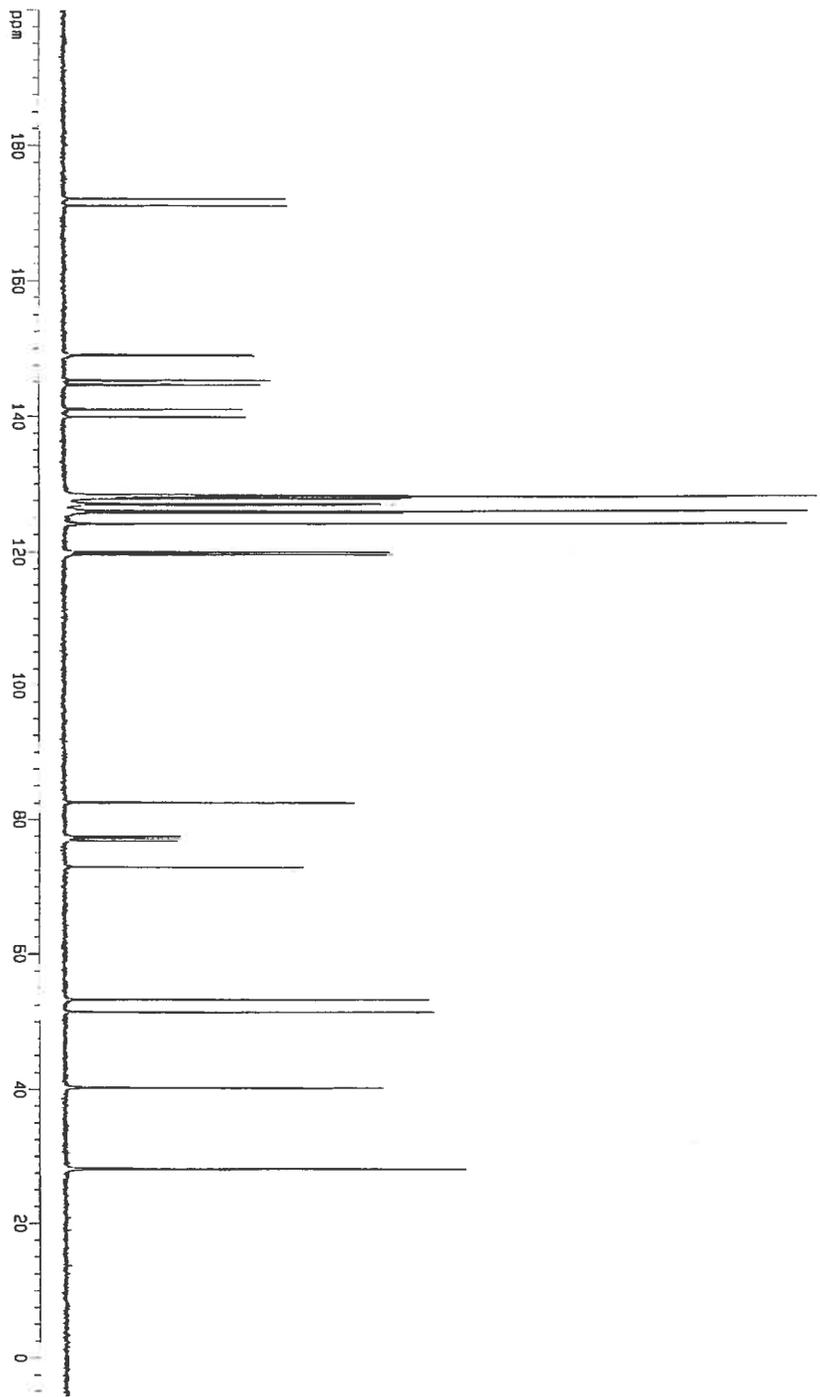
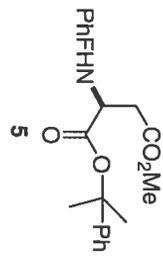
**ANNEXE 1**

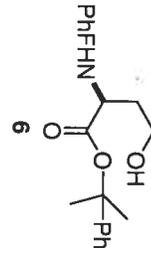
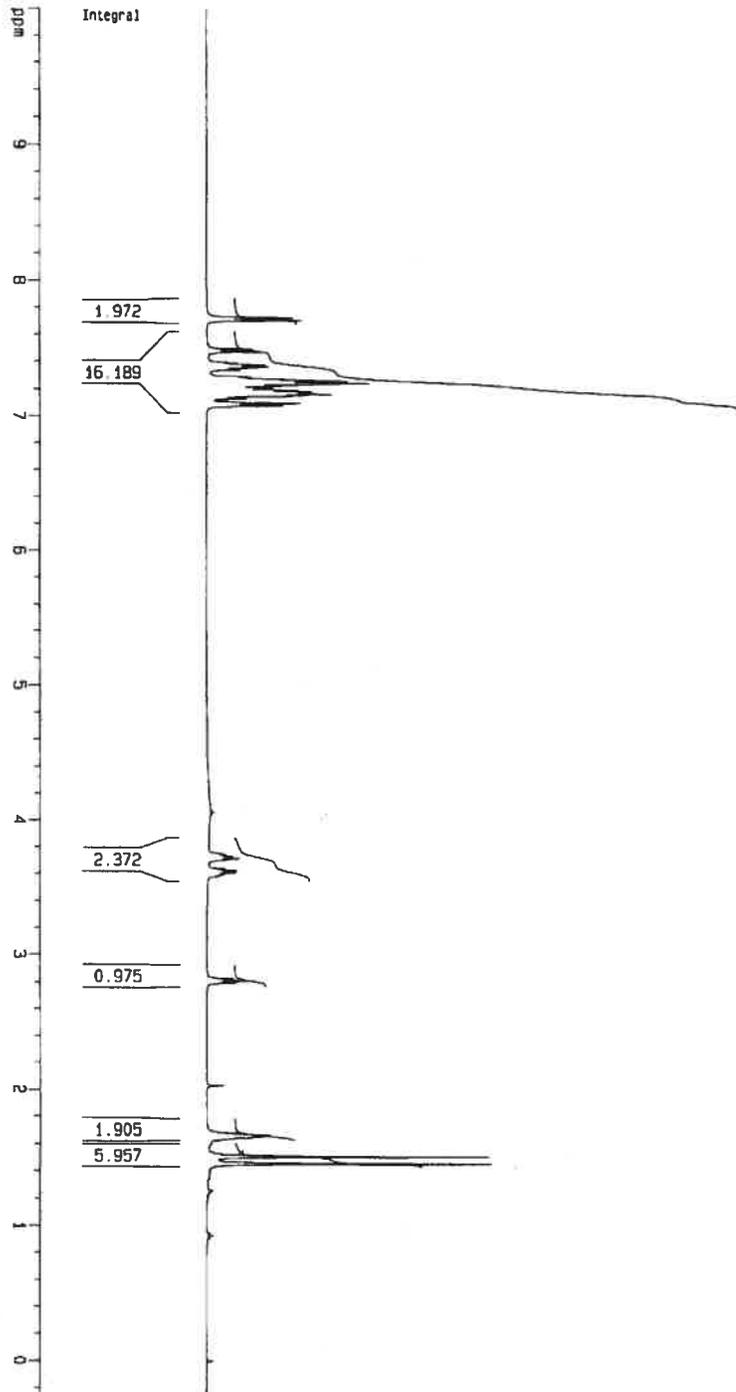
**Données spectrales de l'article 1 du chapitre 2**

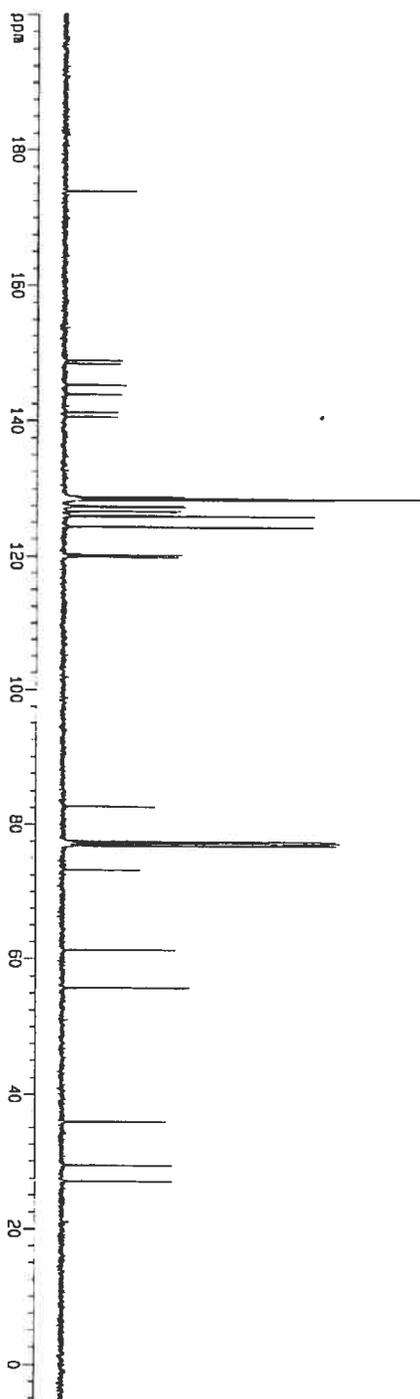
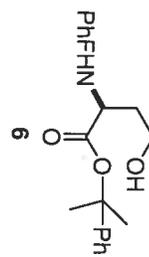


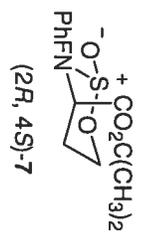
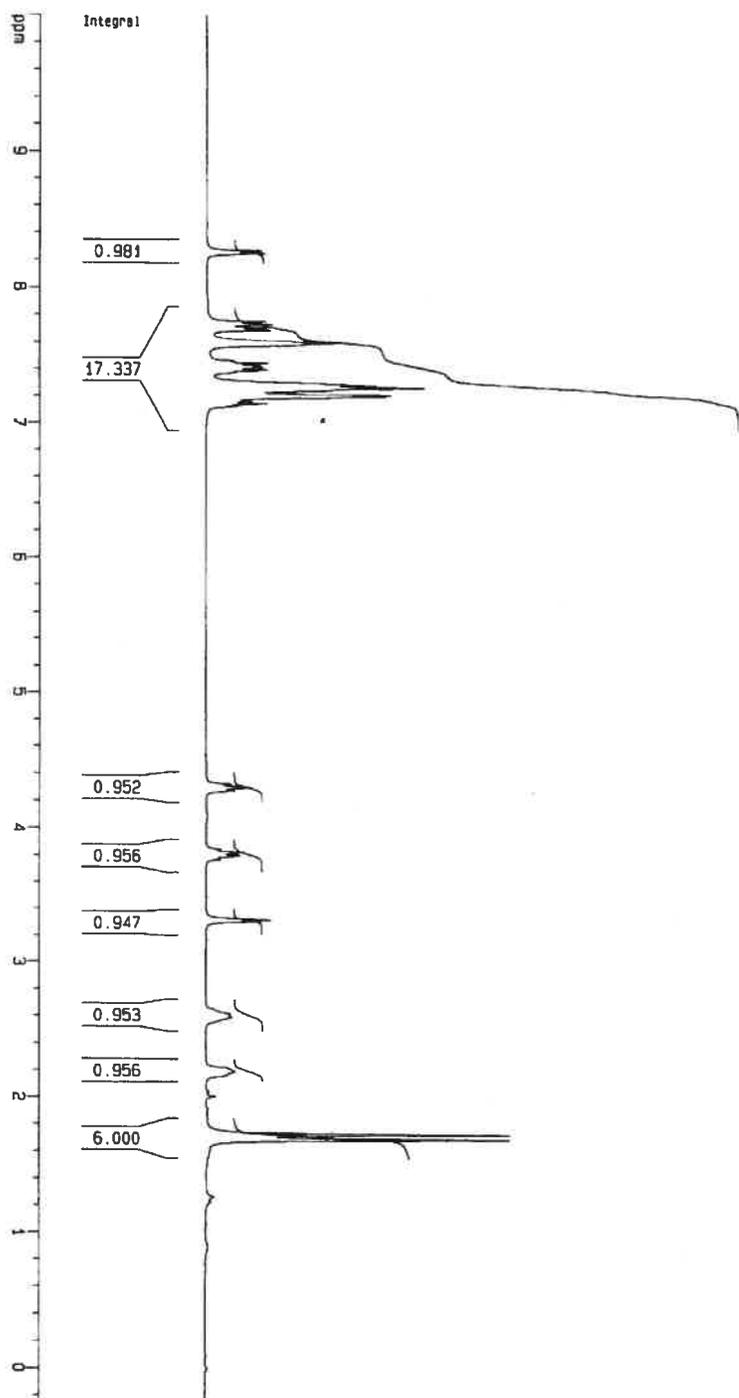


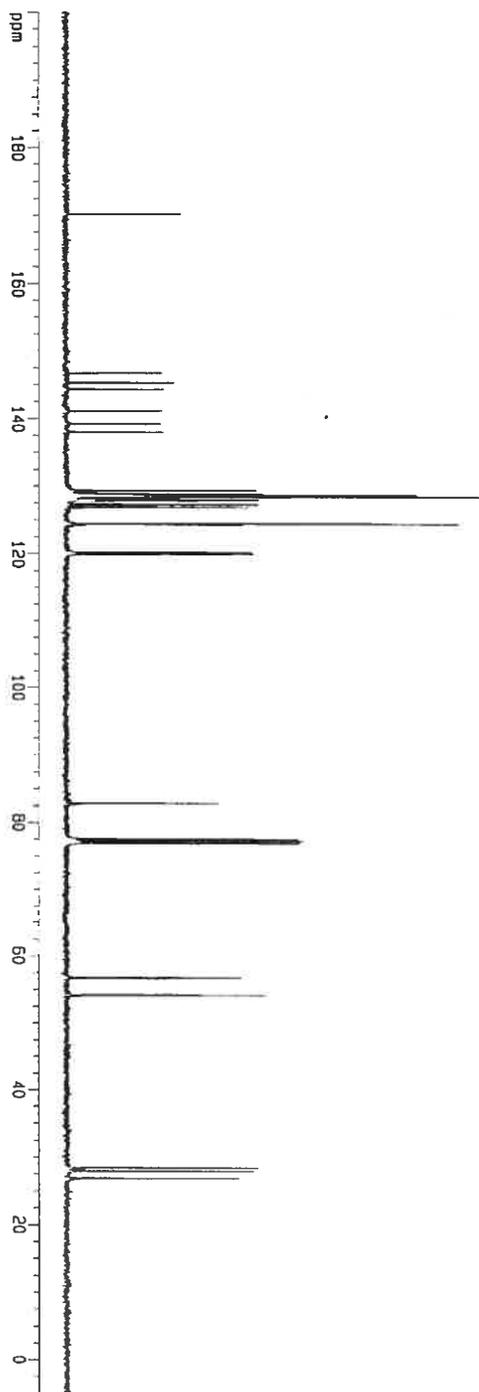
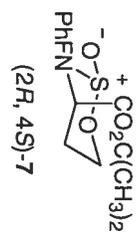


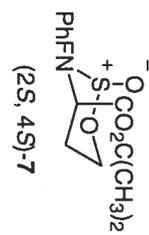
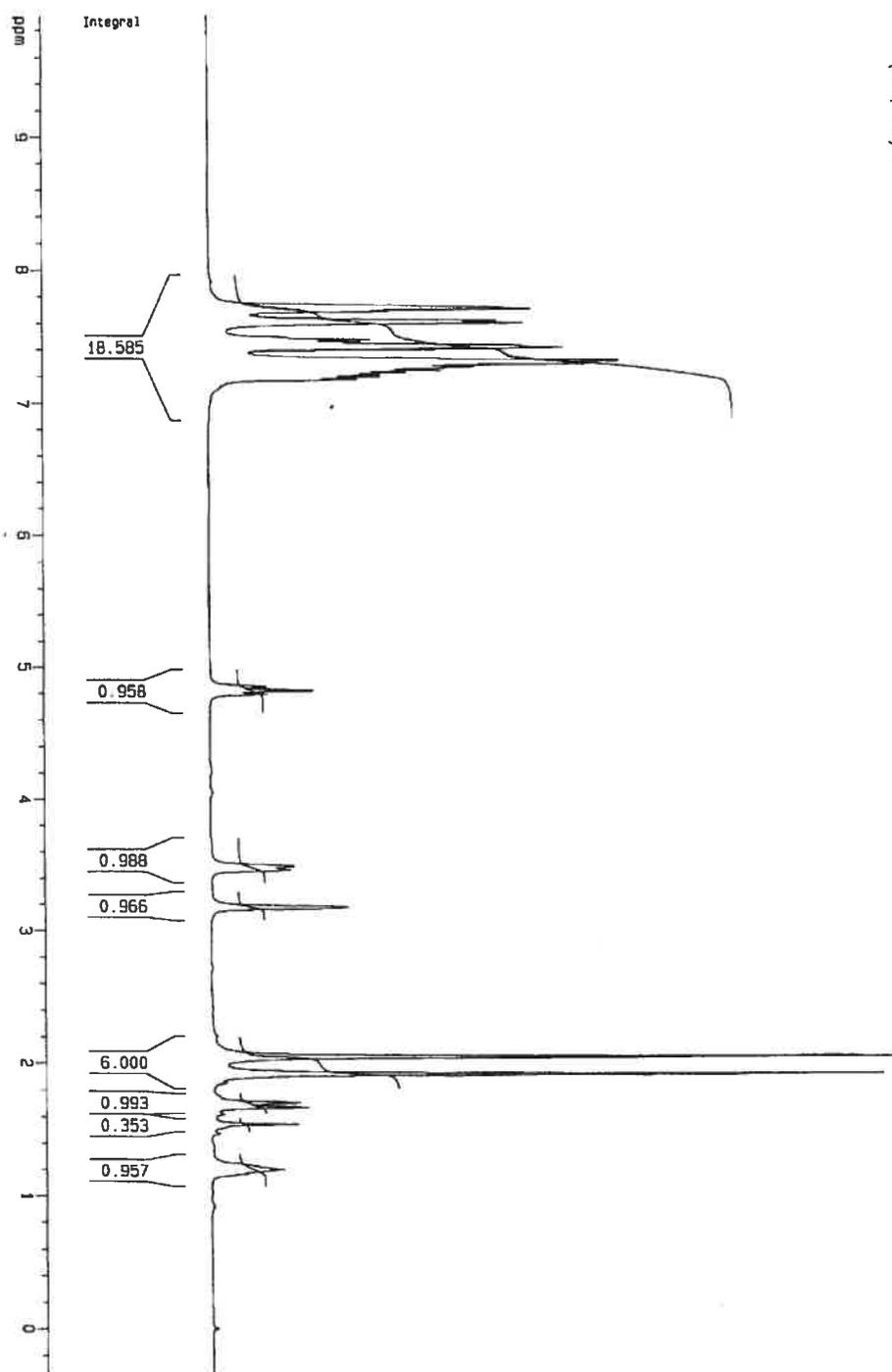


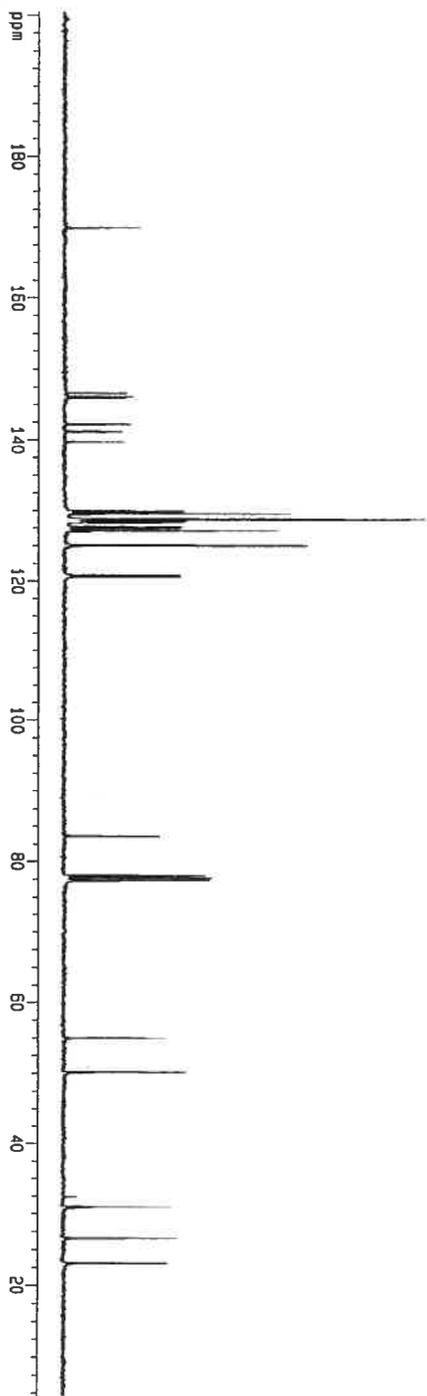
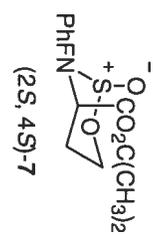


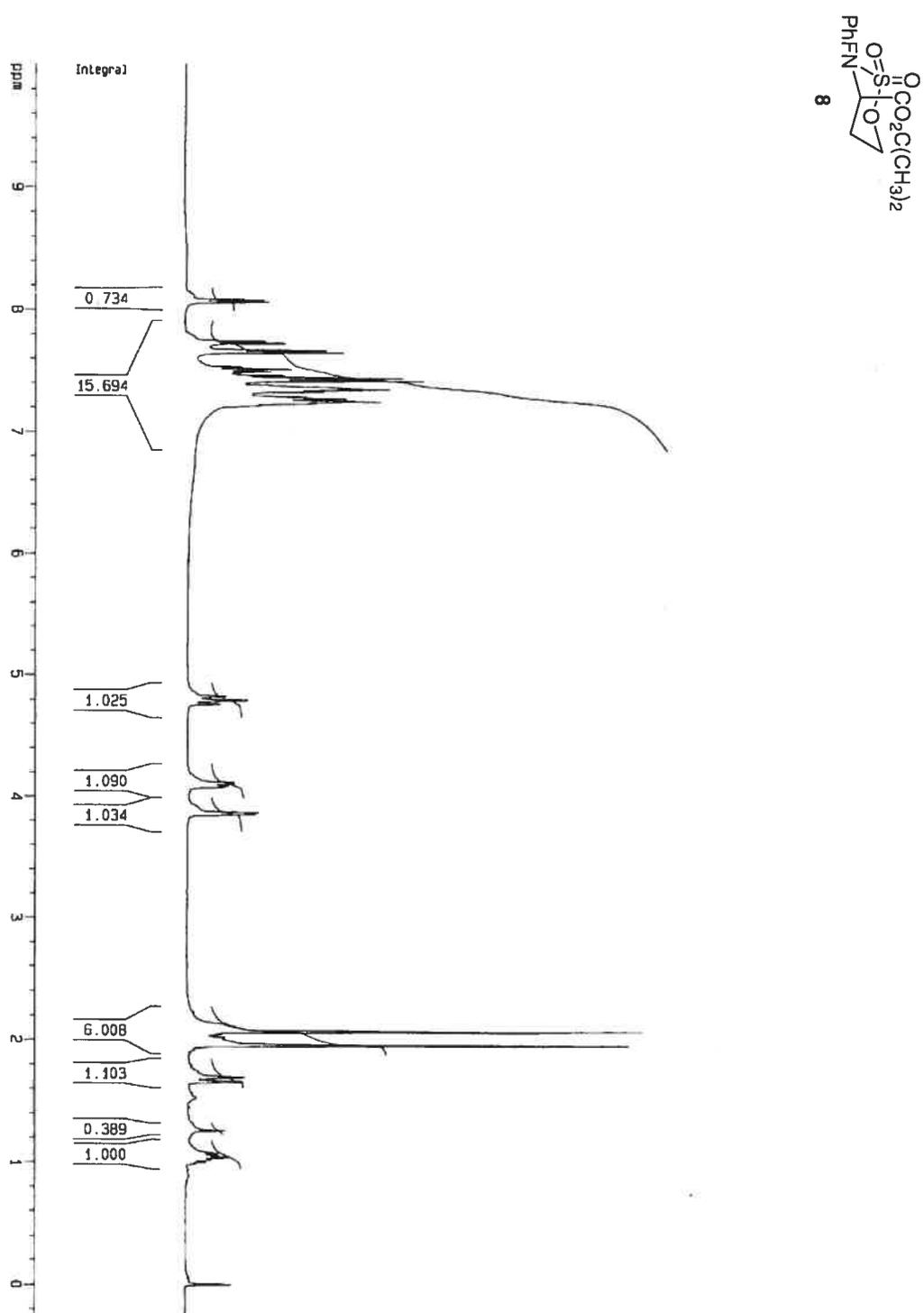


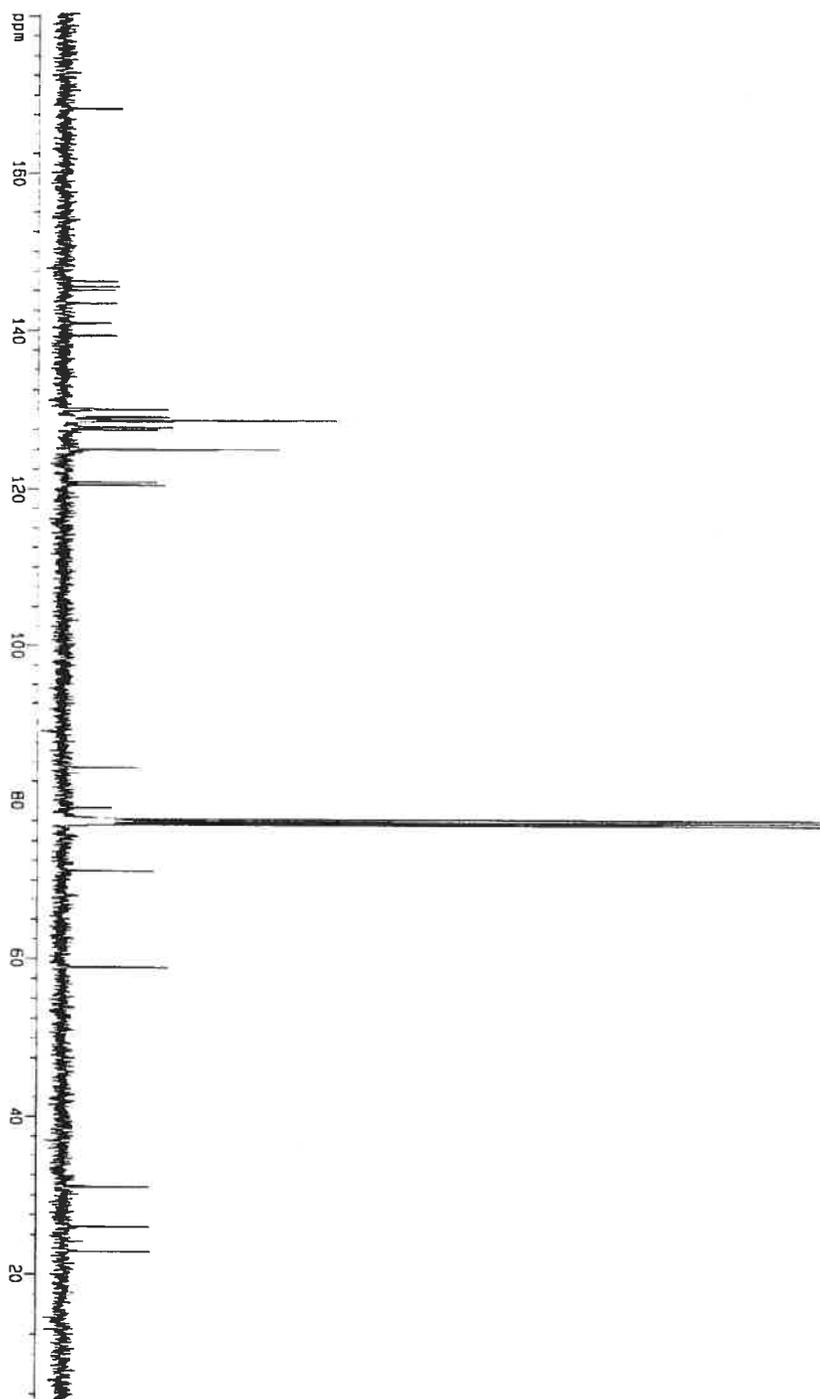
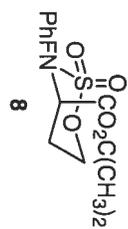


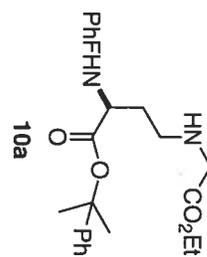
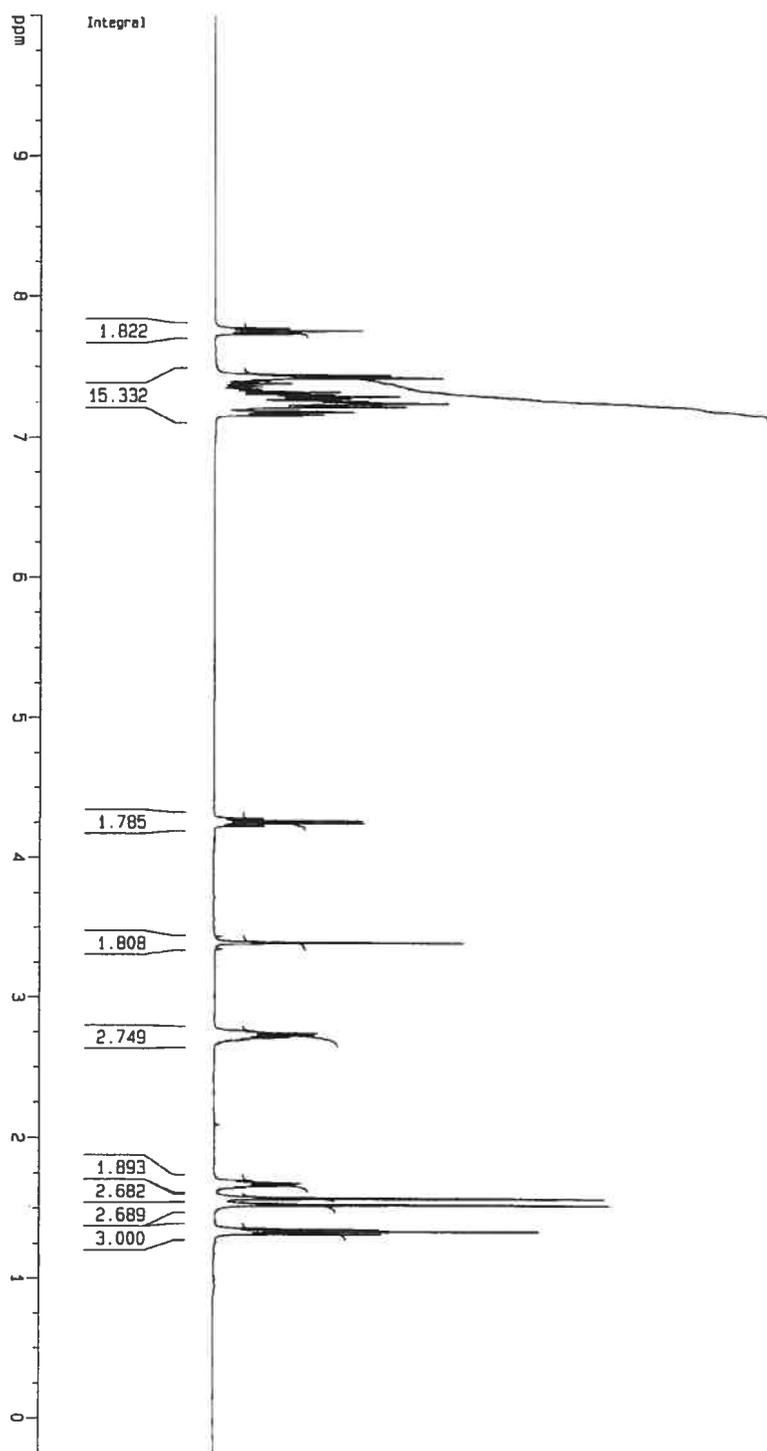


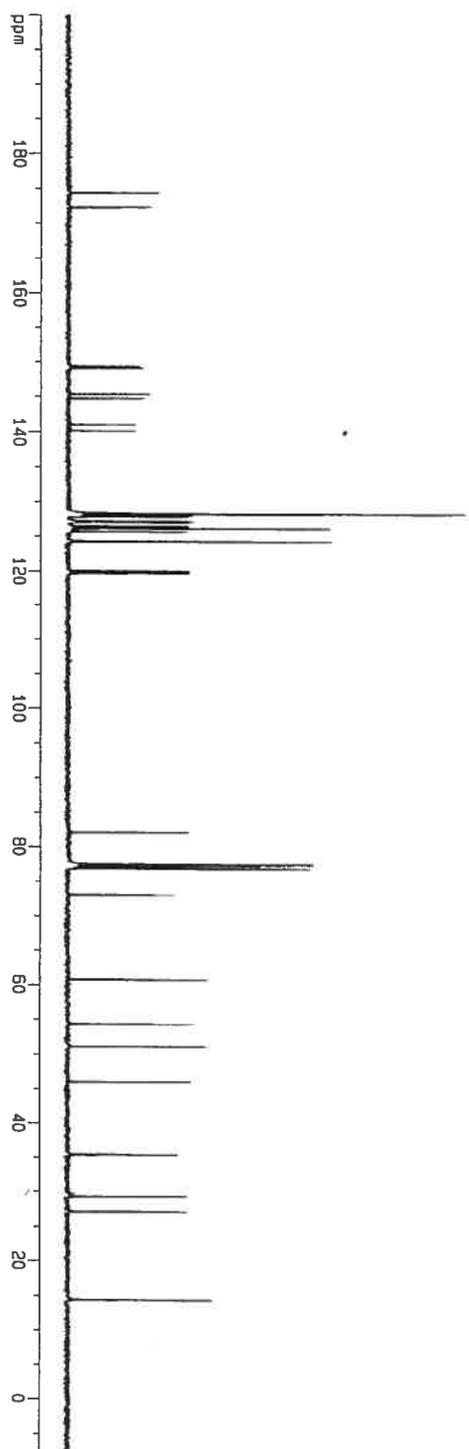


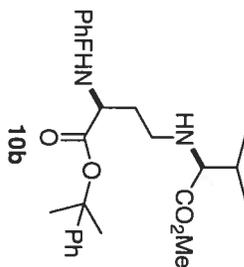
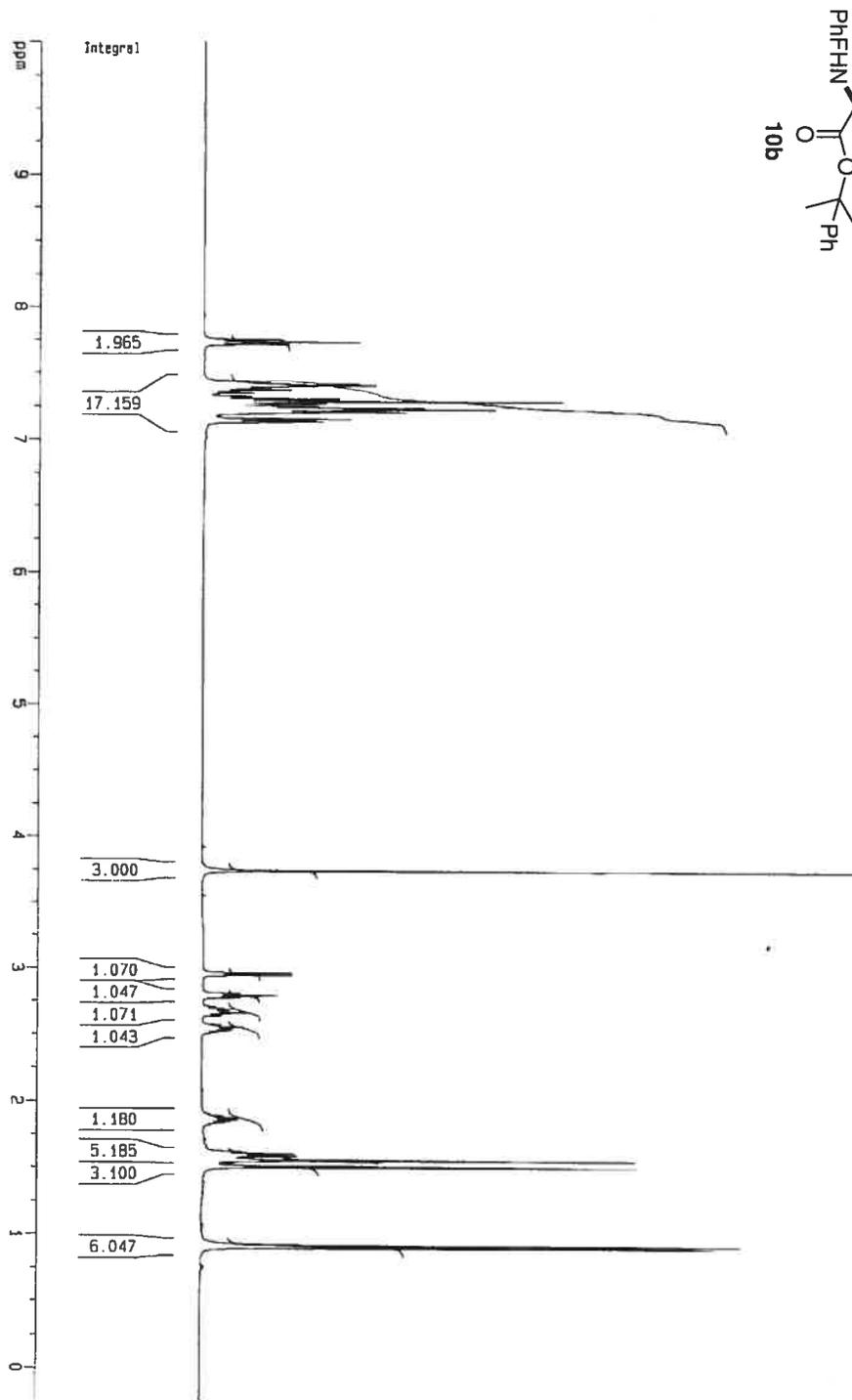


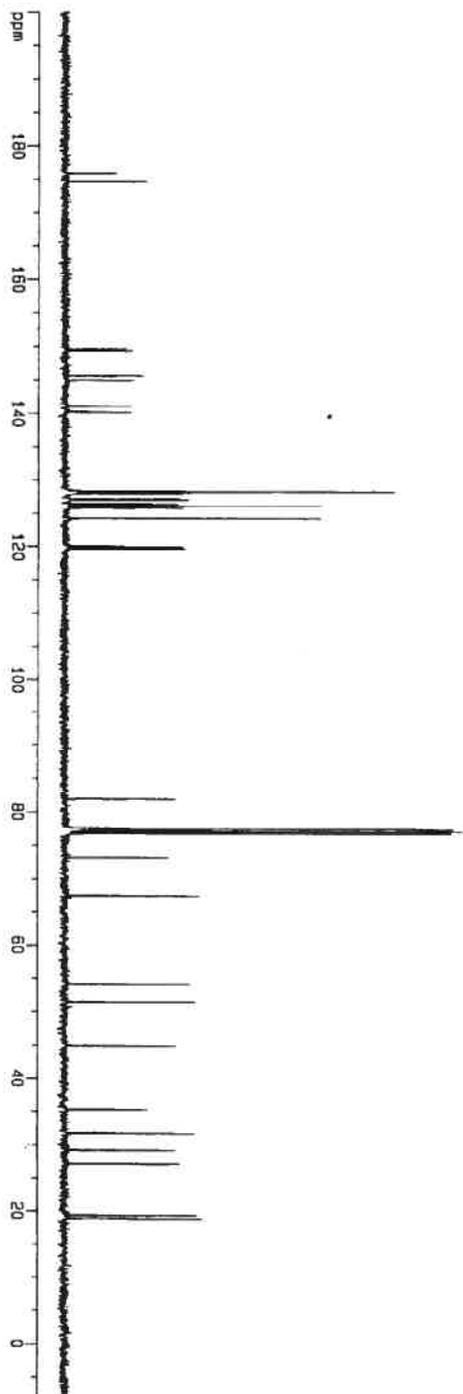
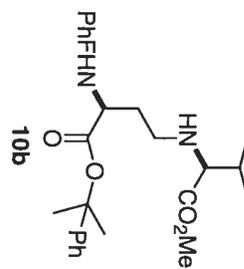


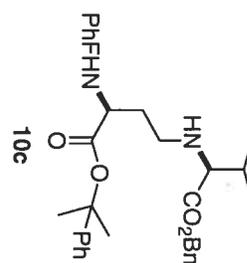
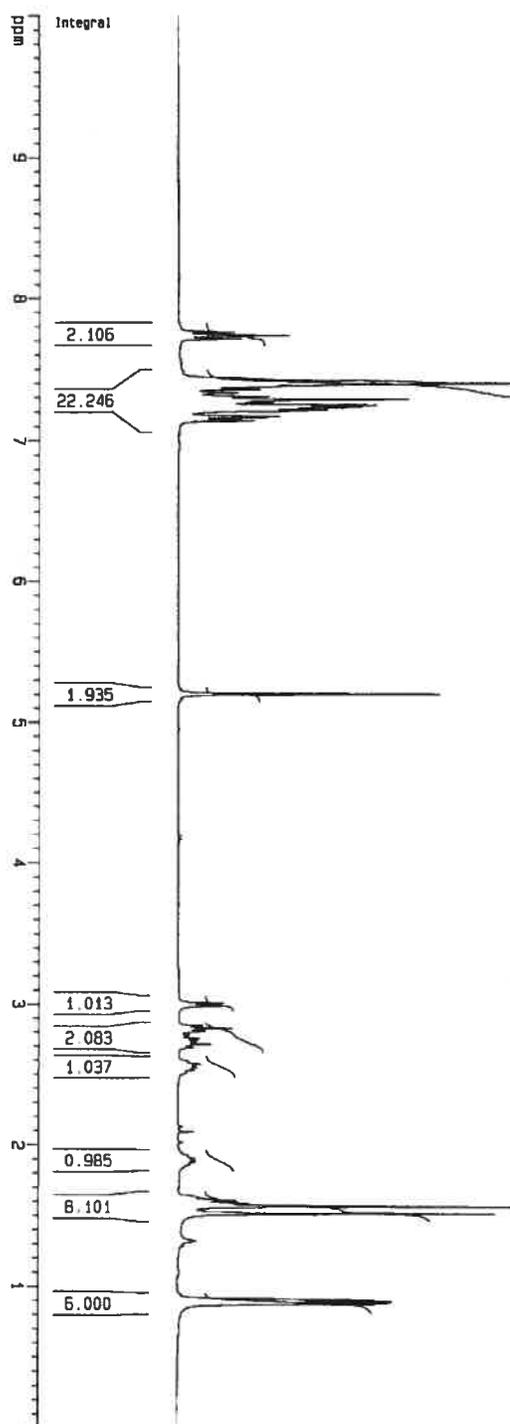


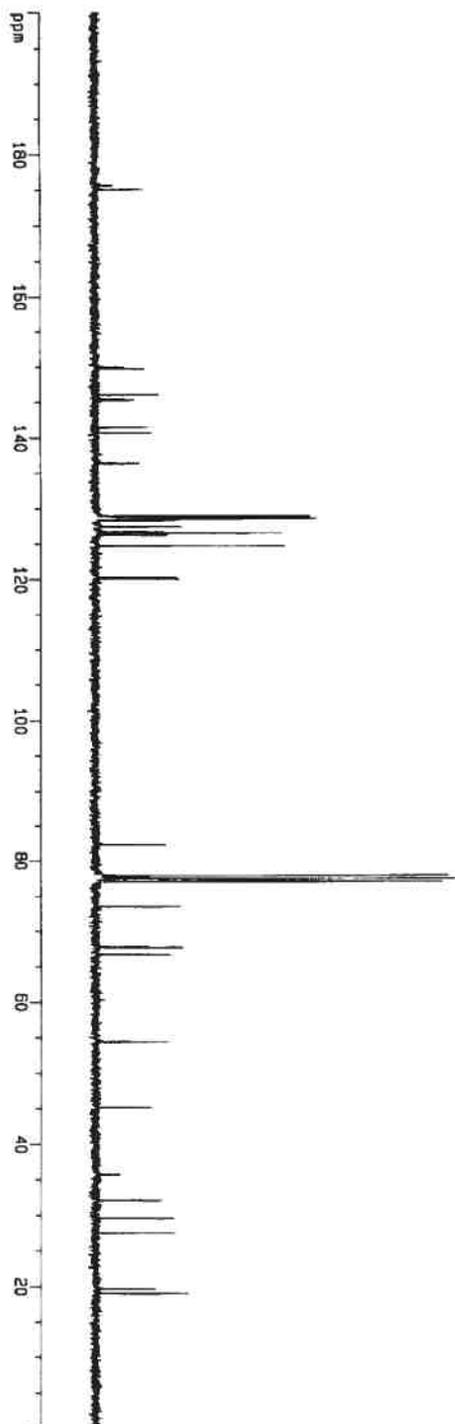
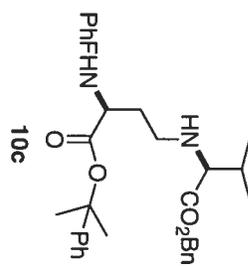


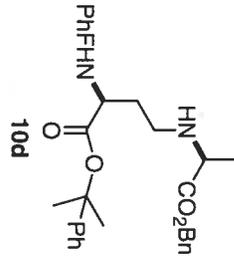
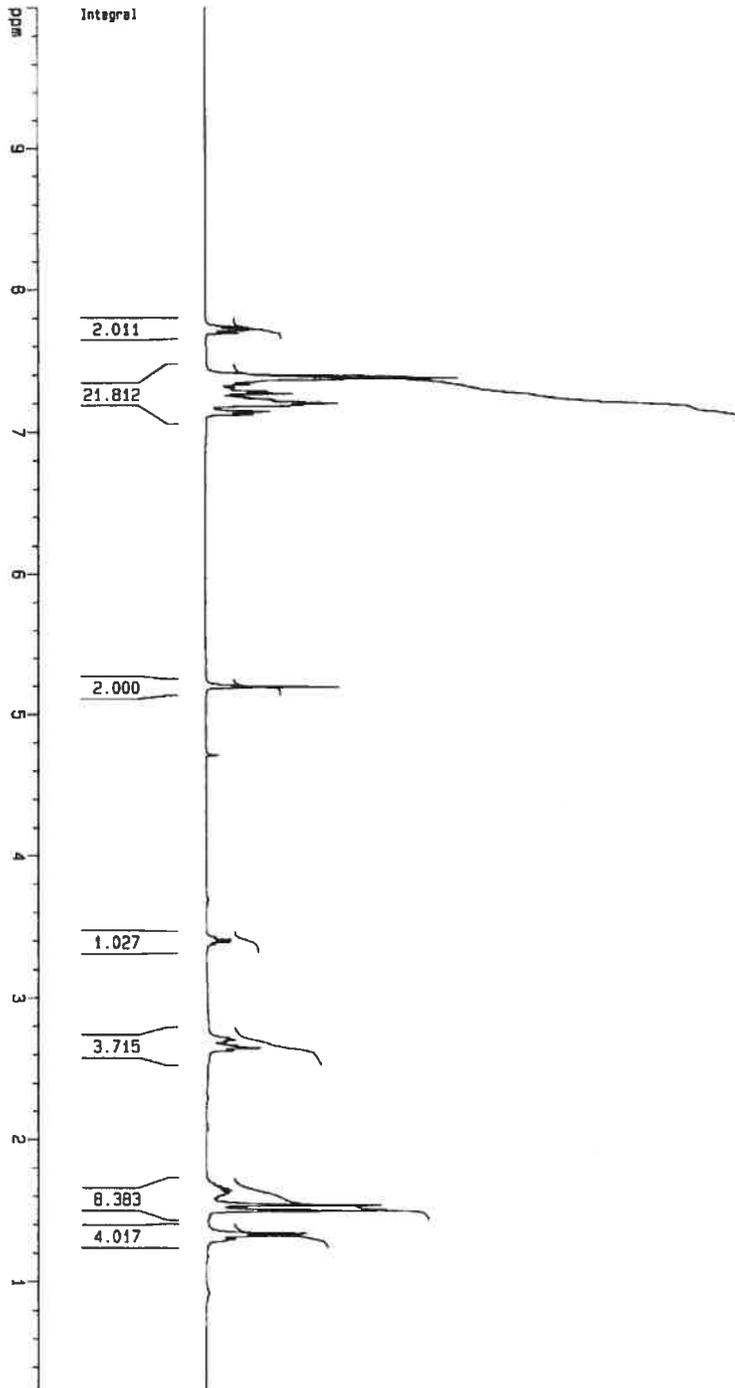


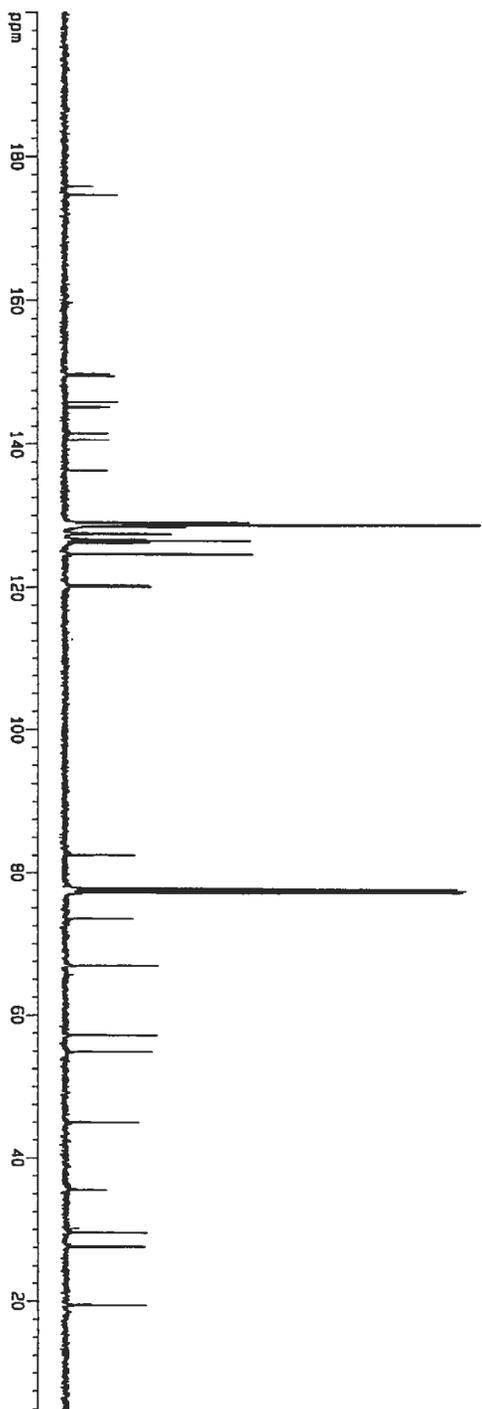
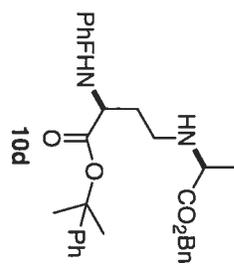


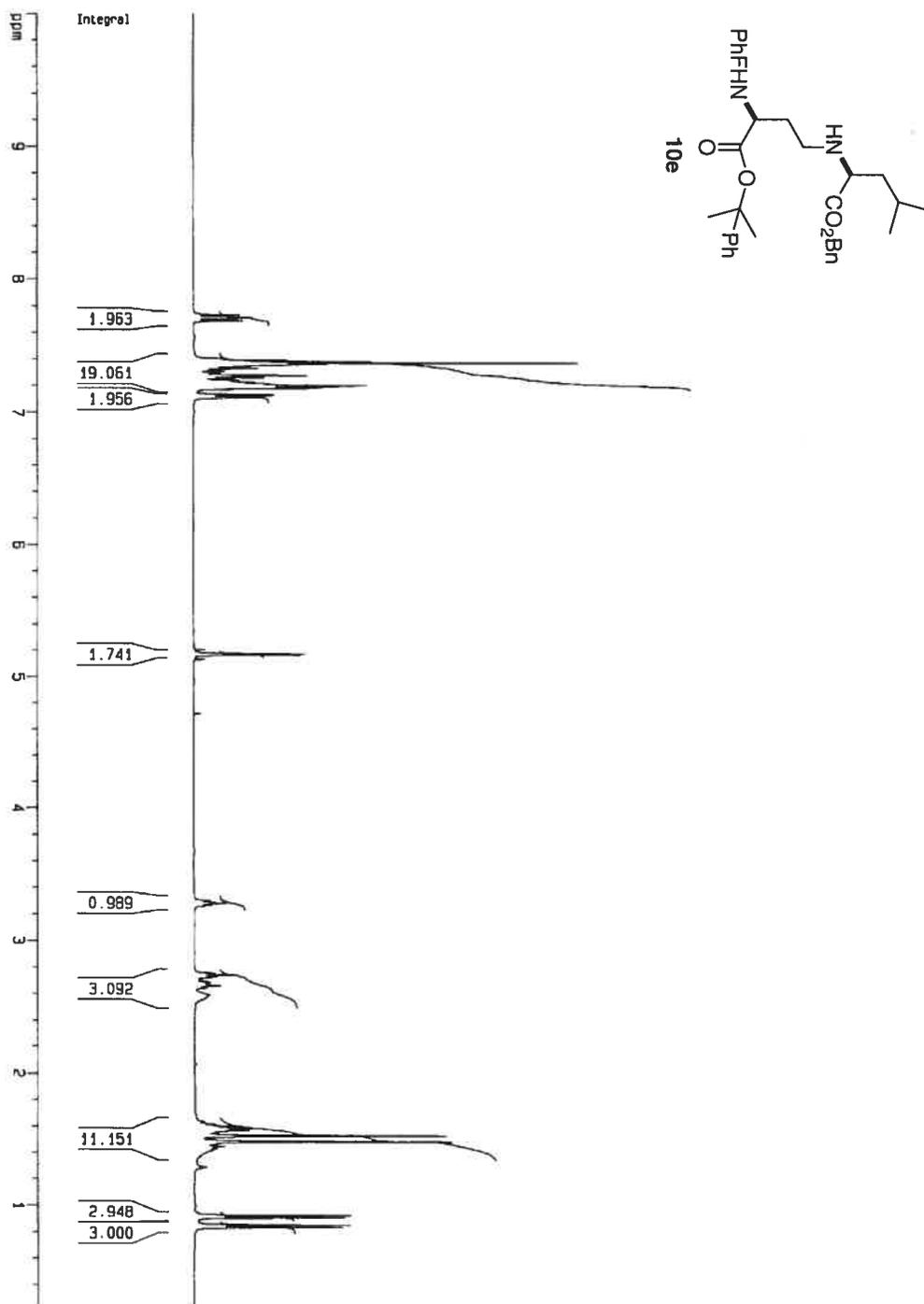


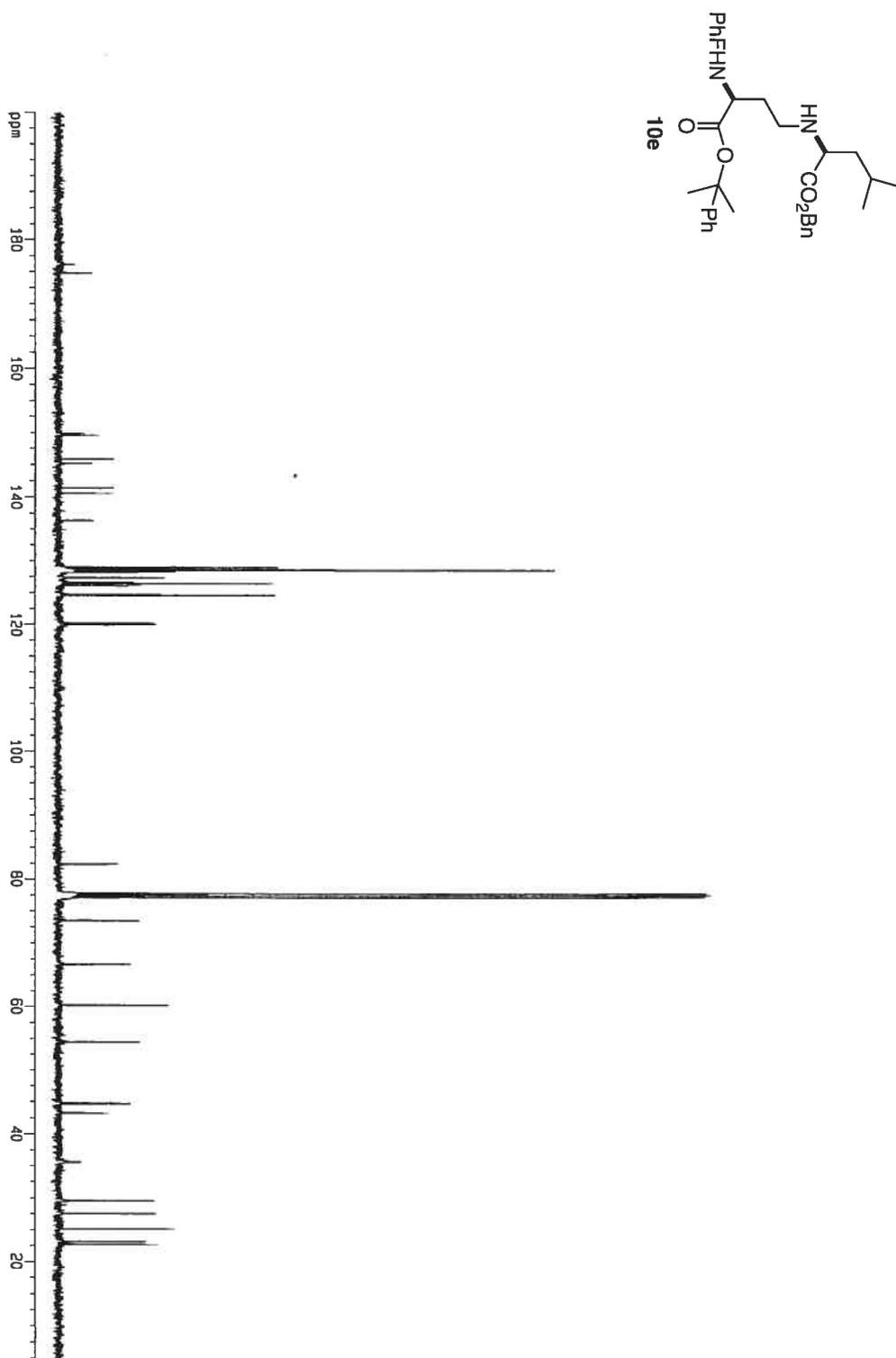


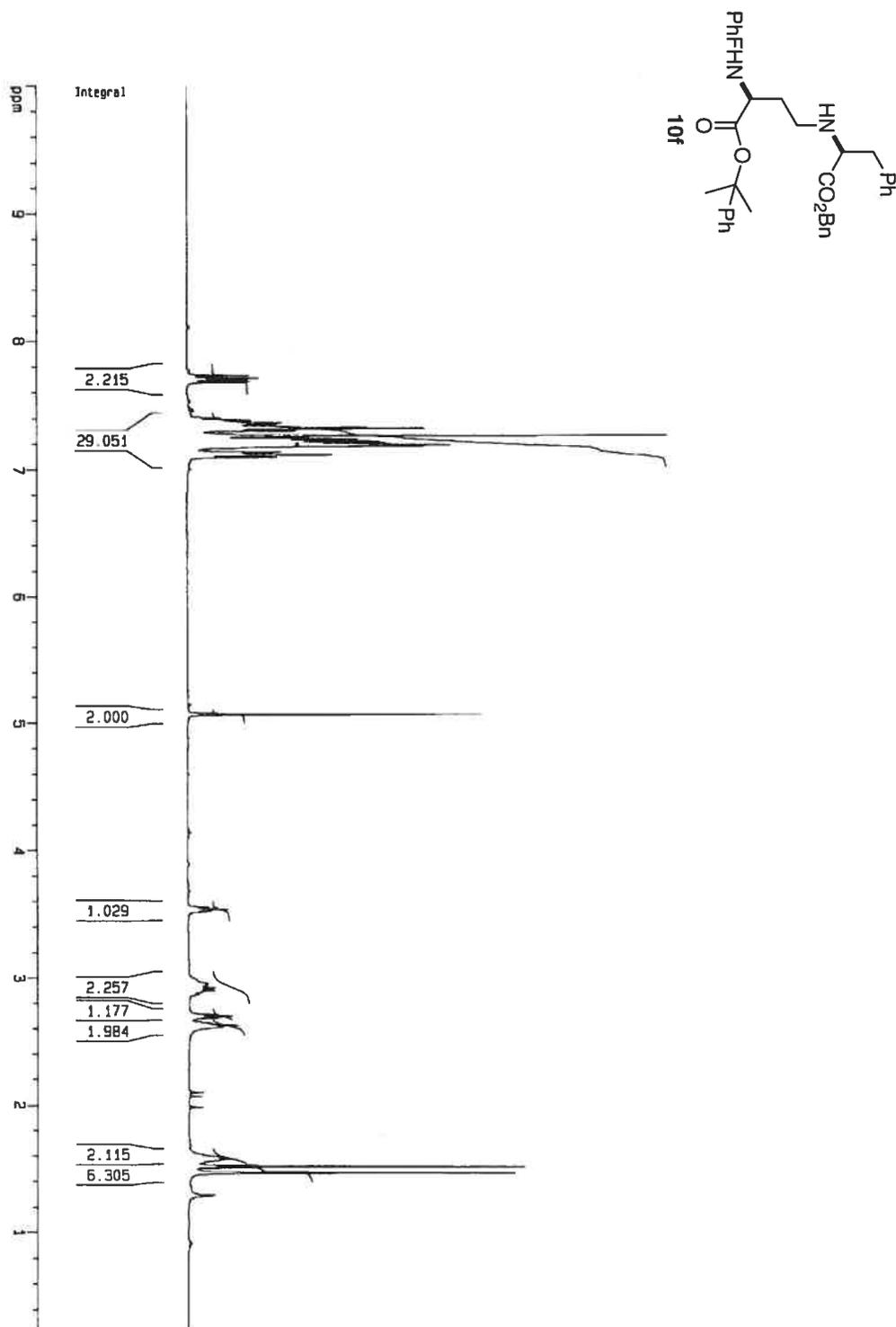


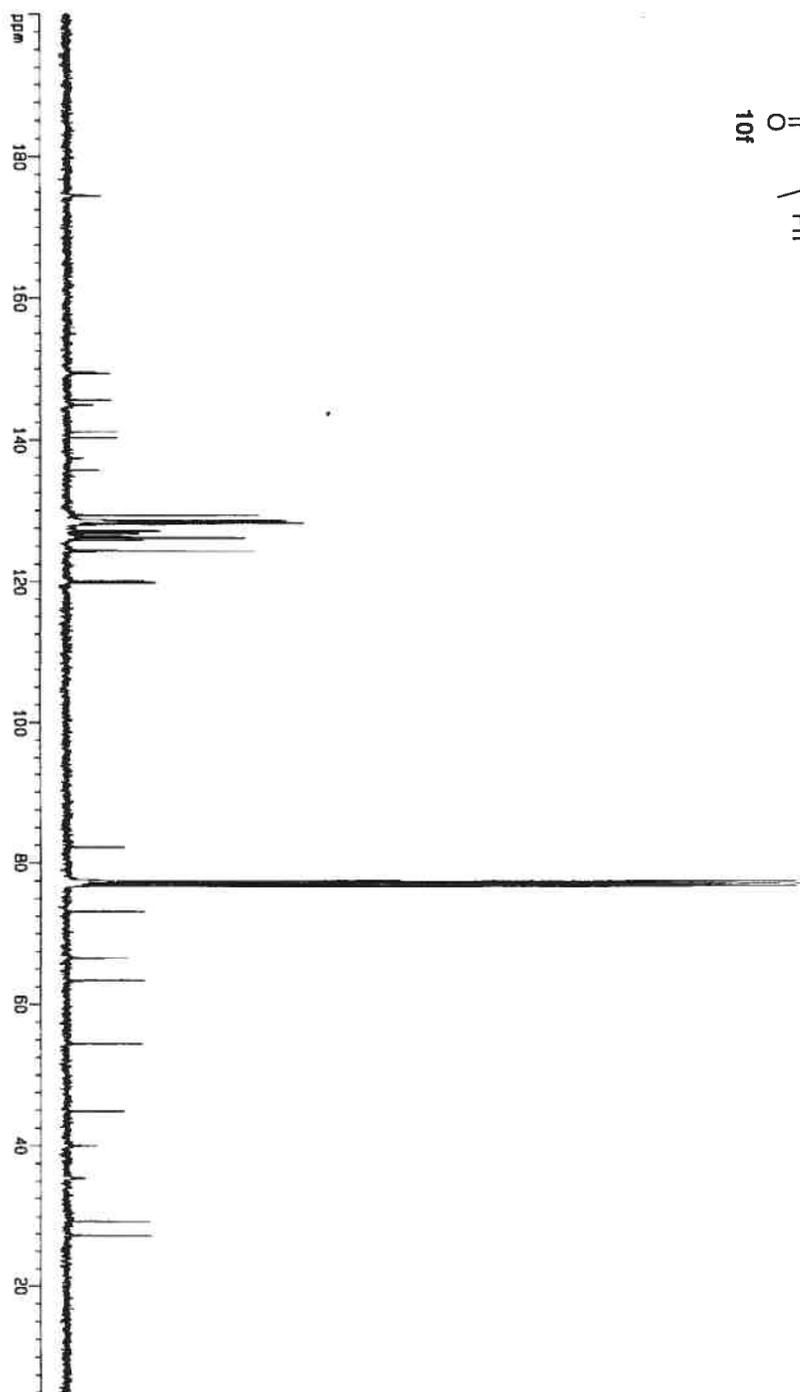
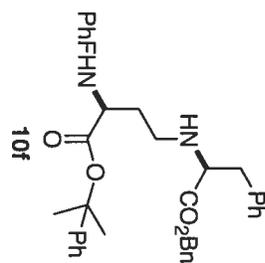


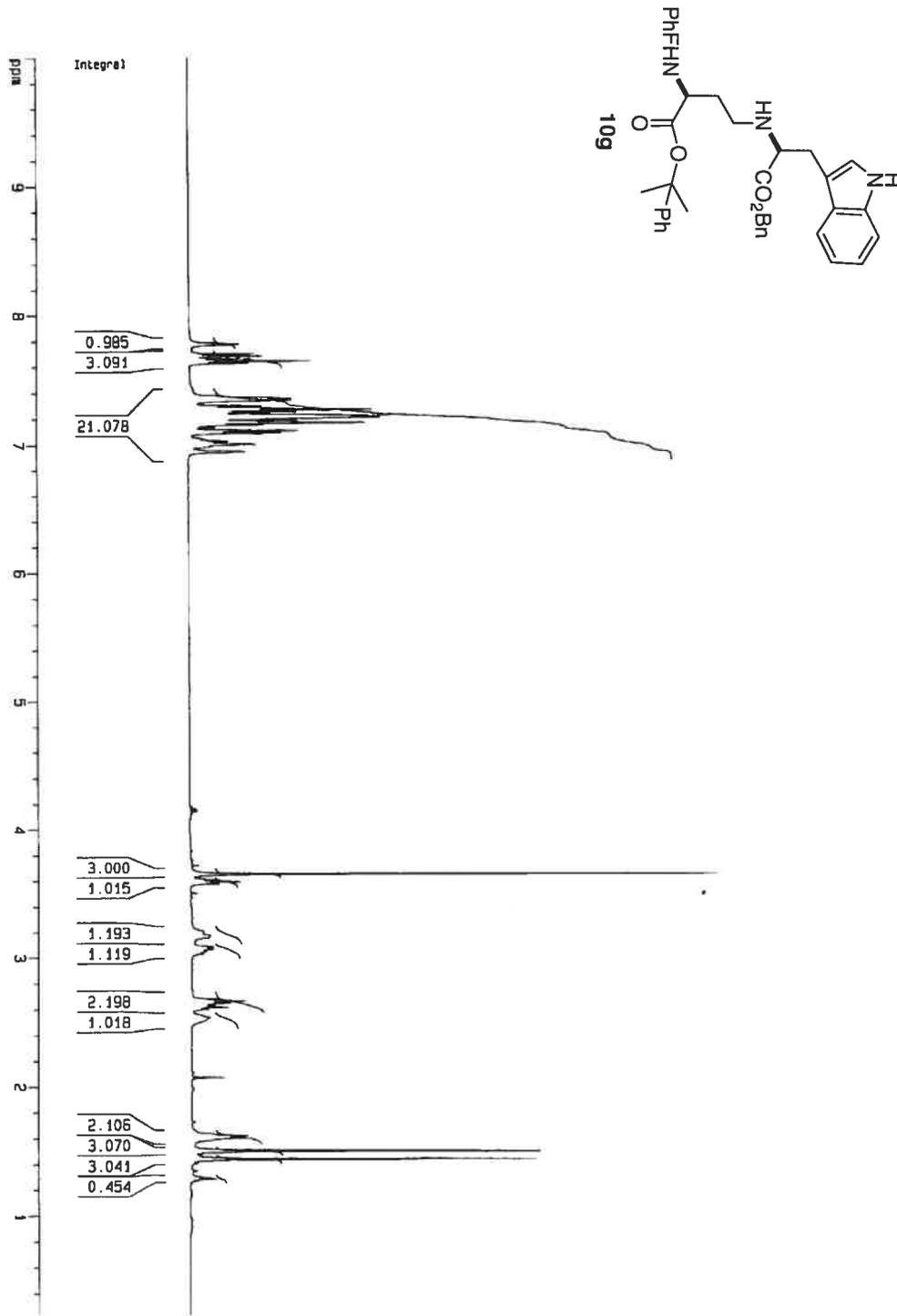


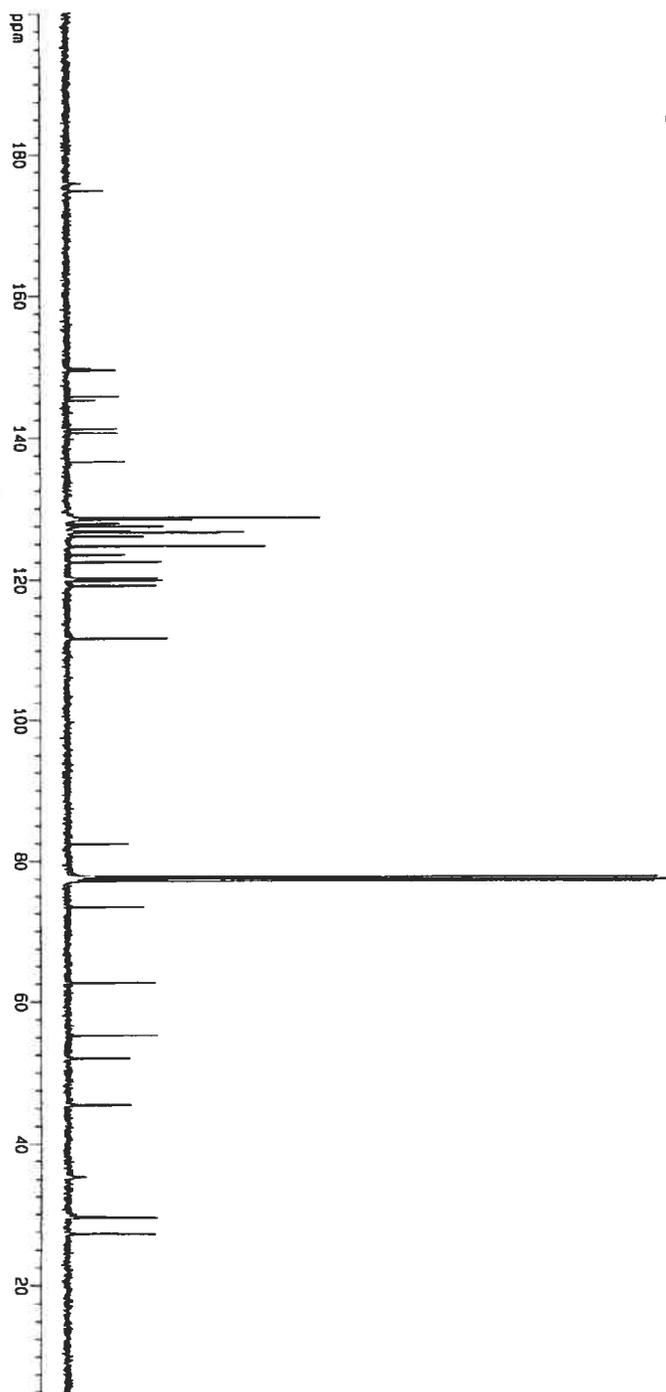
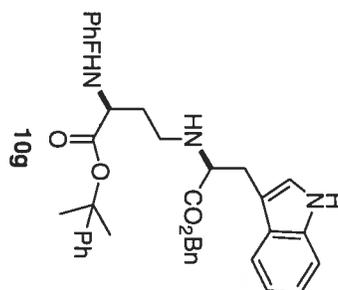


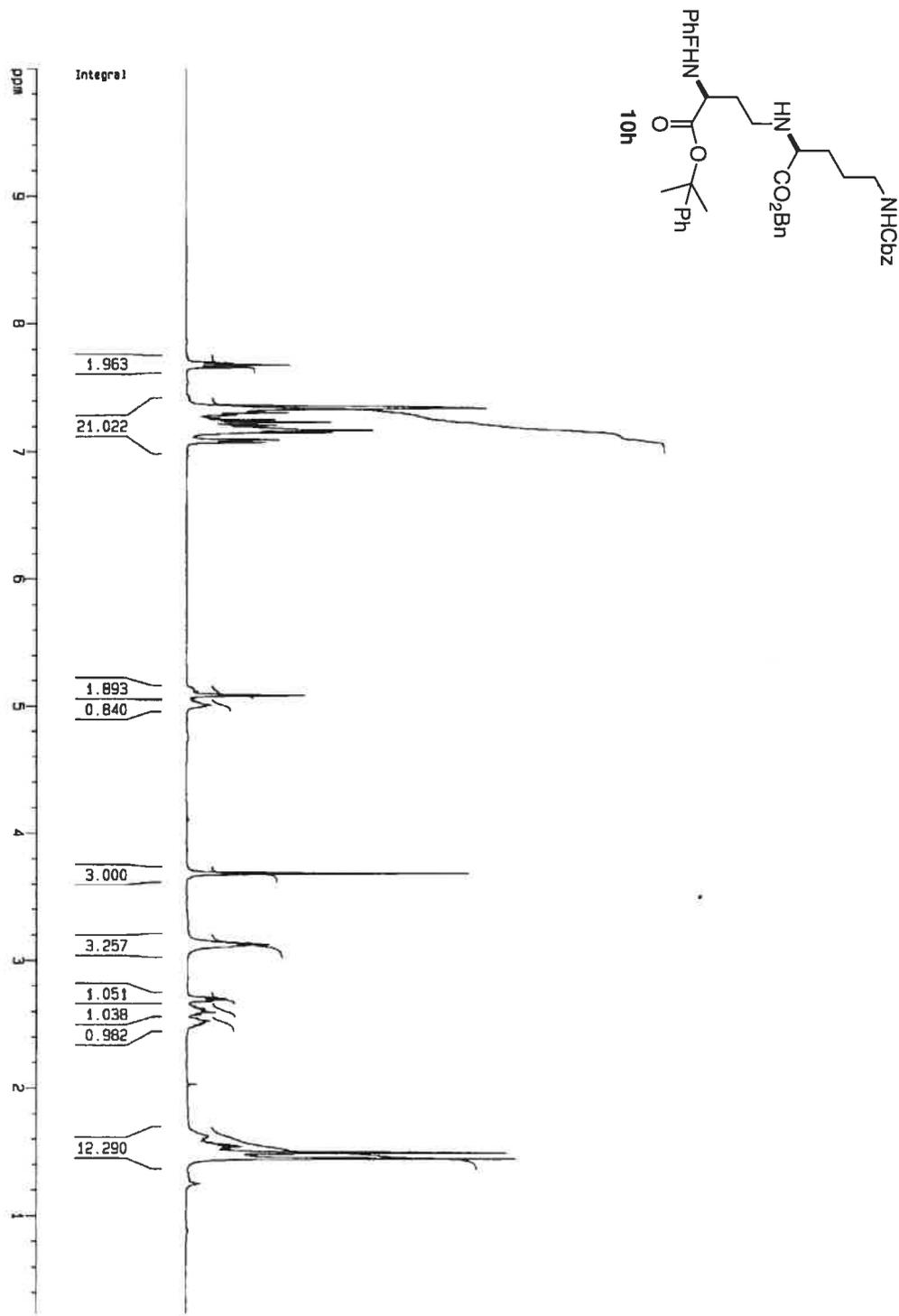


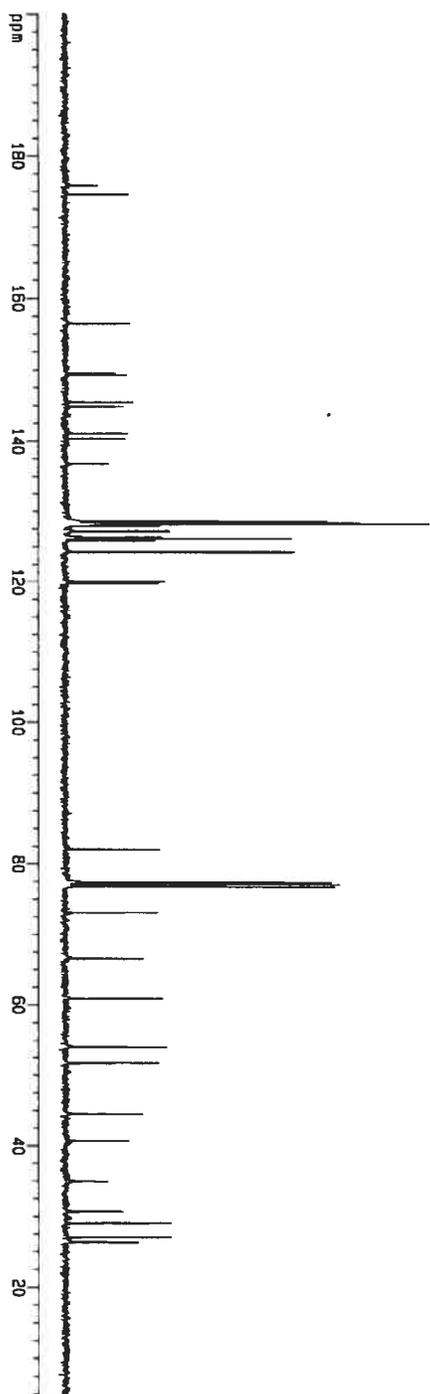
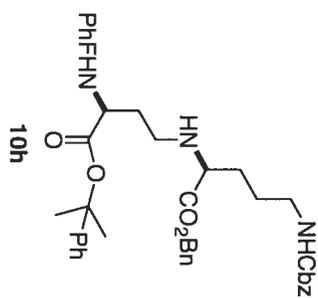


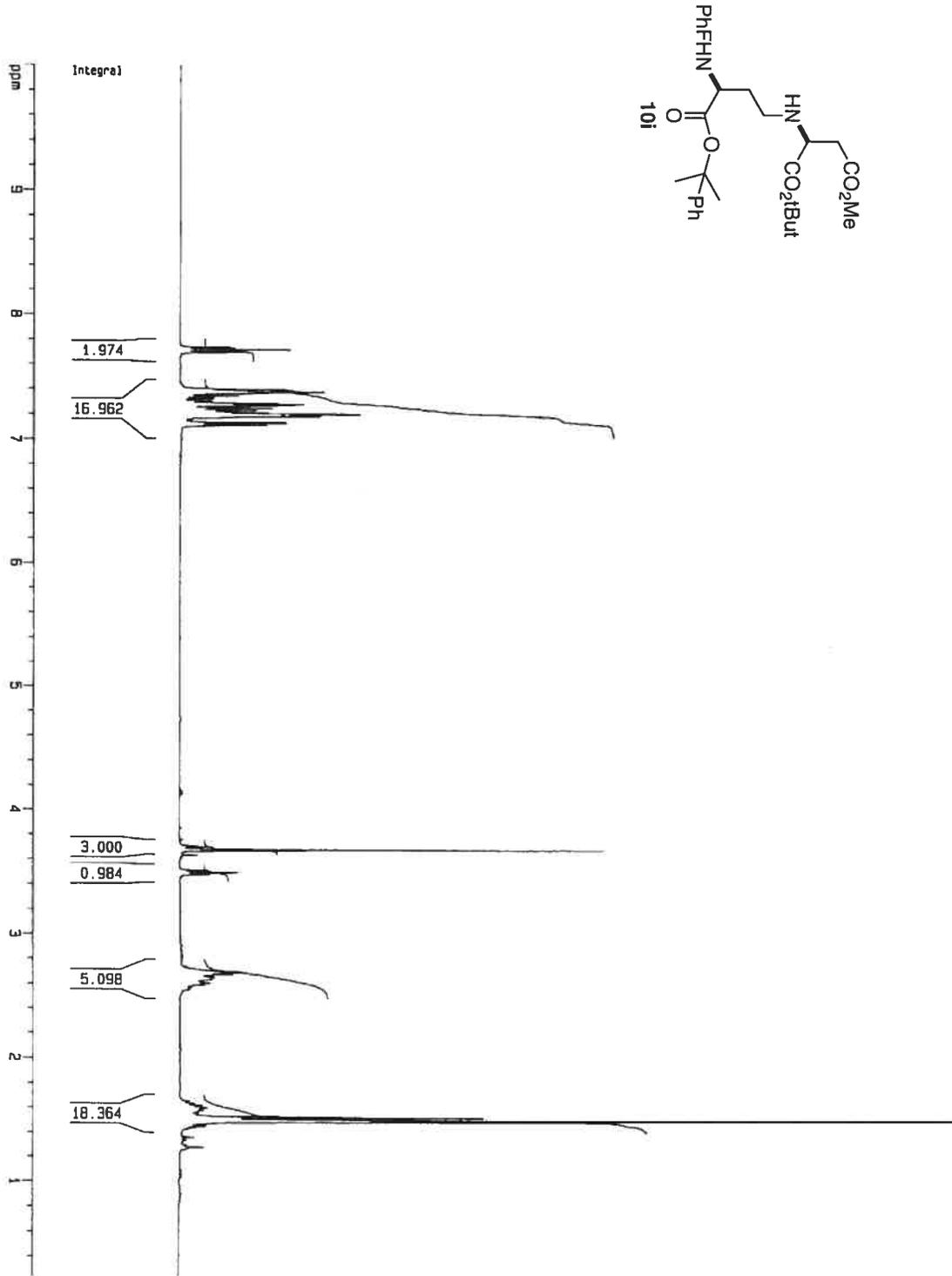


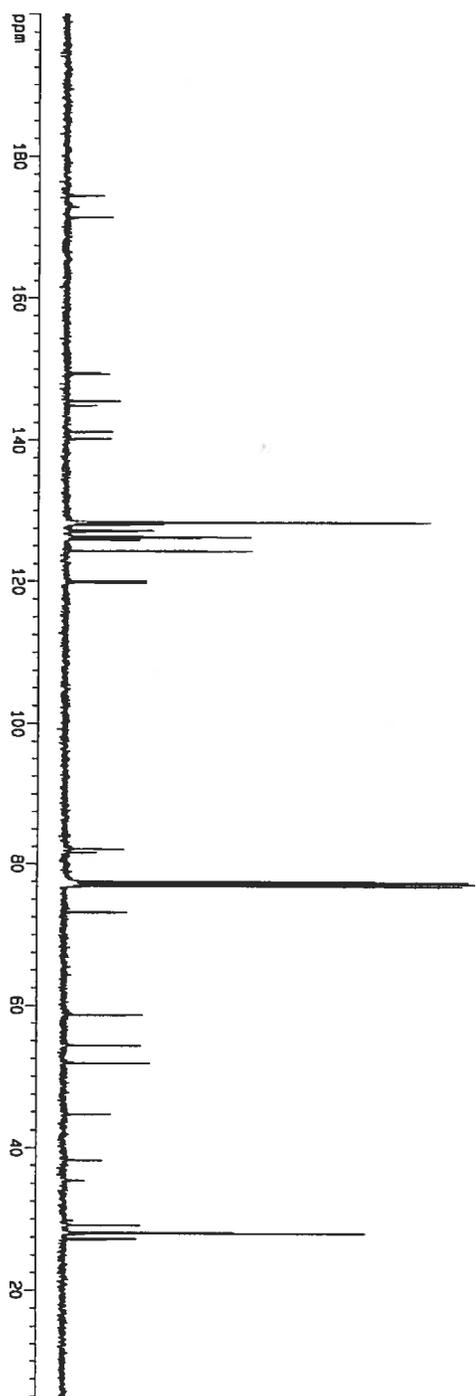
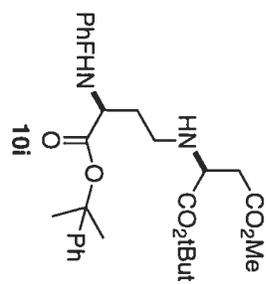


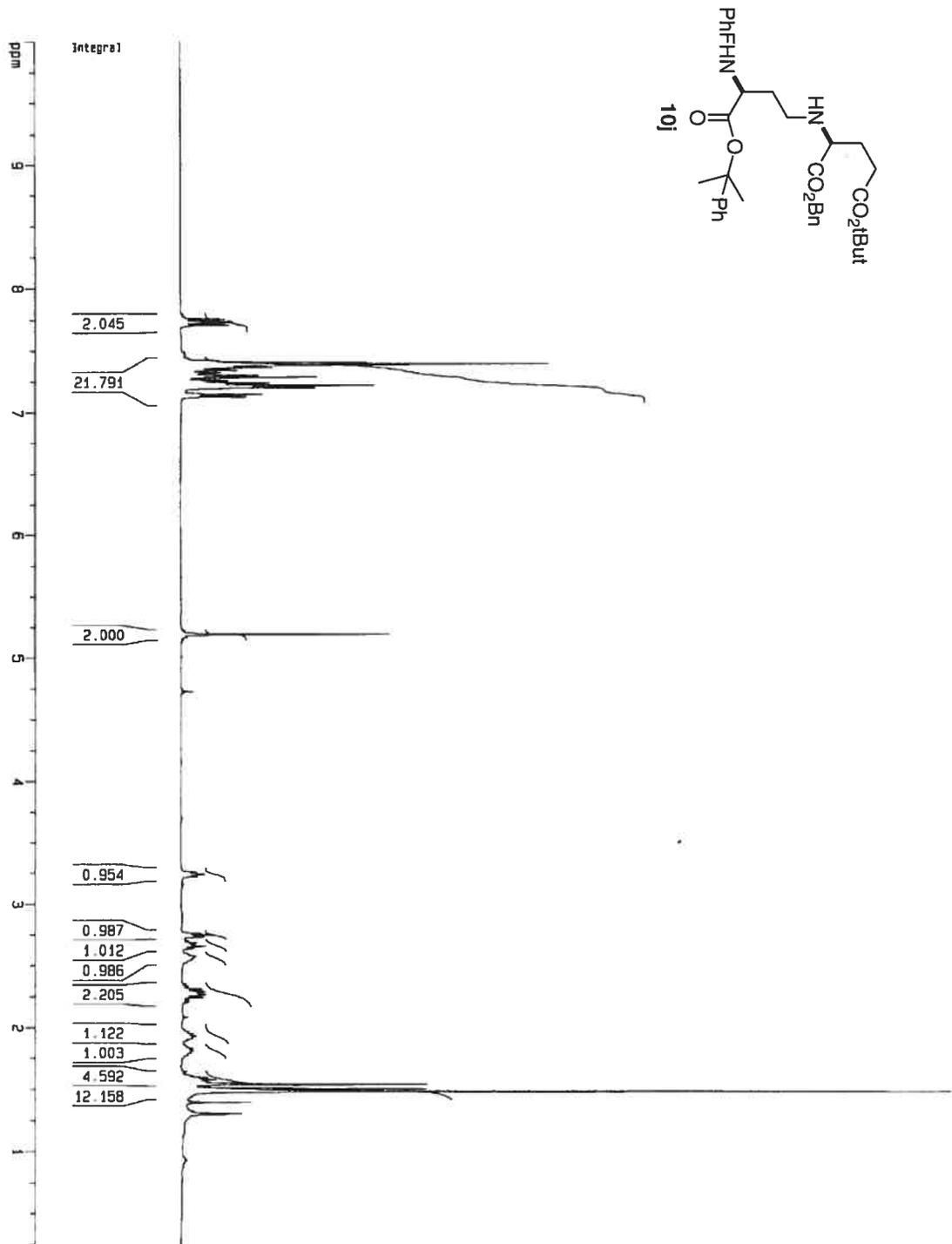


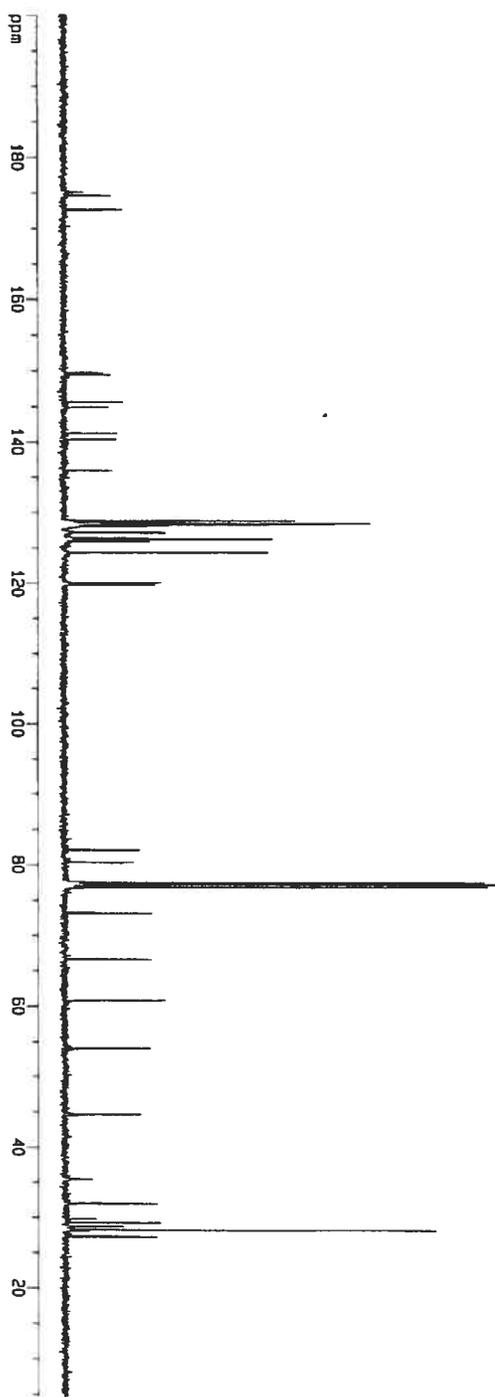
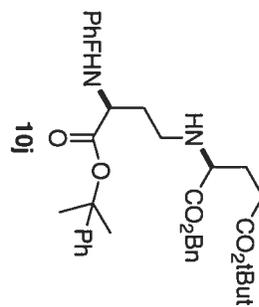


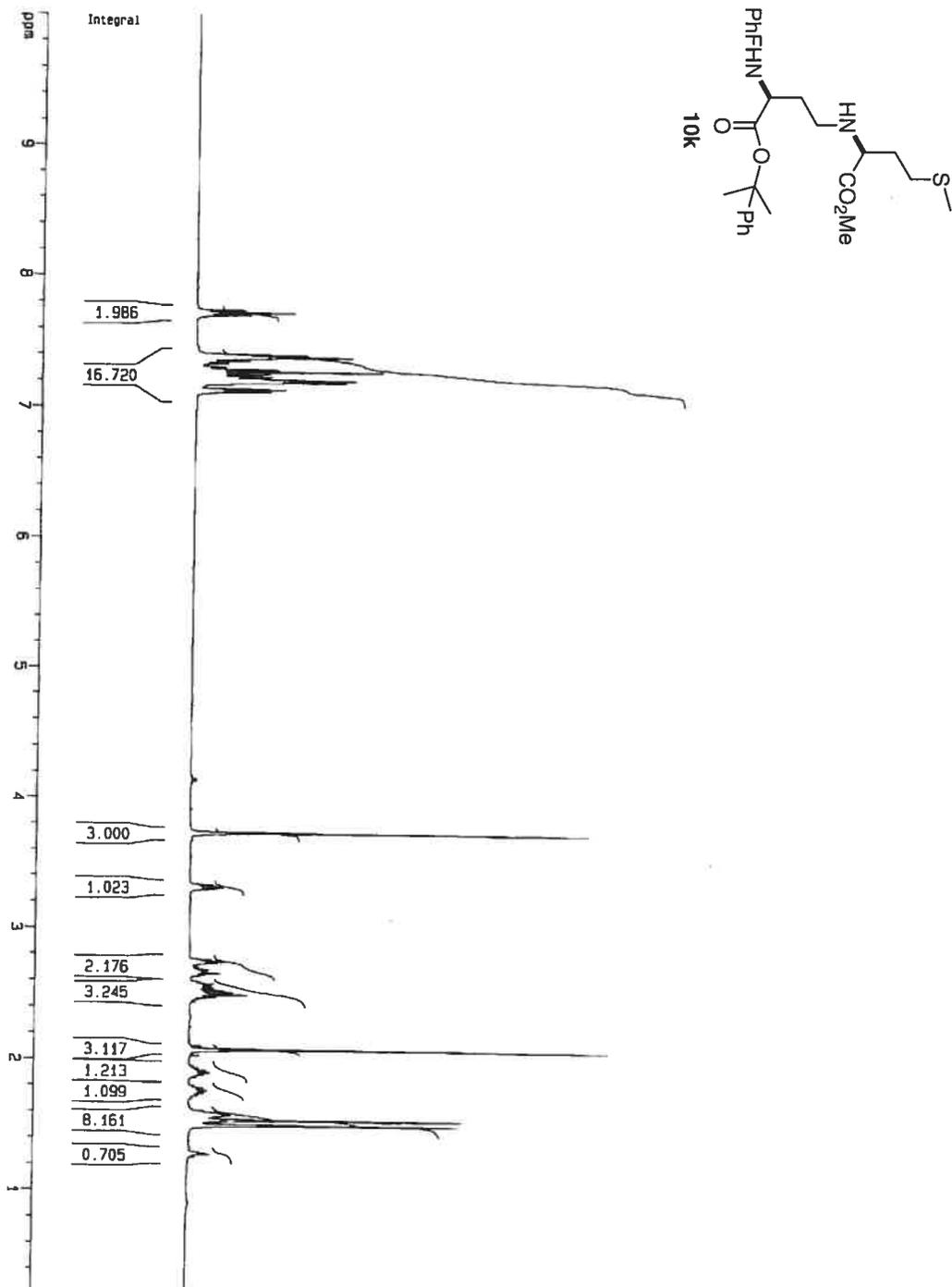


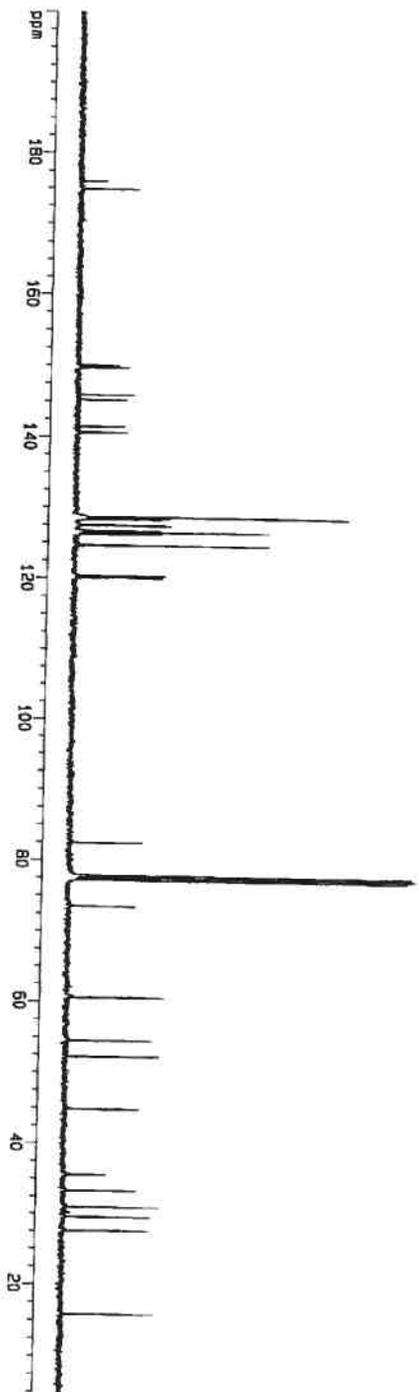
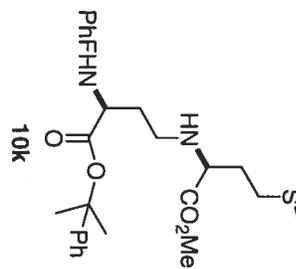


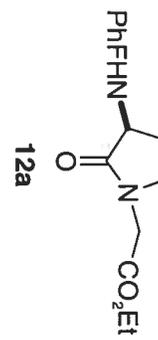
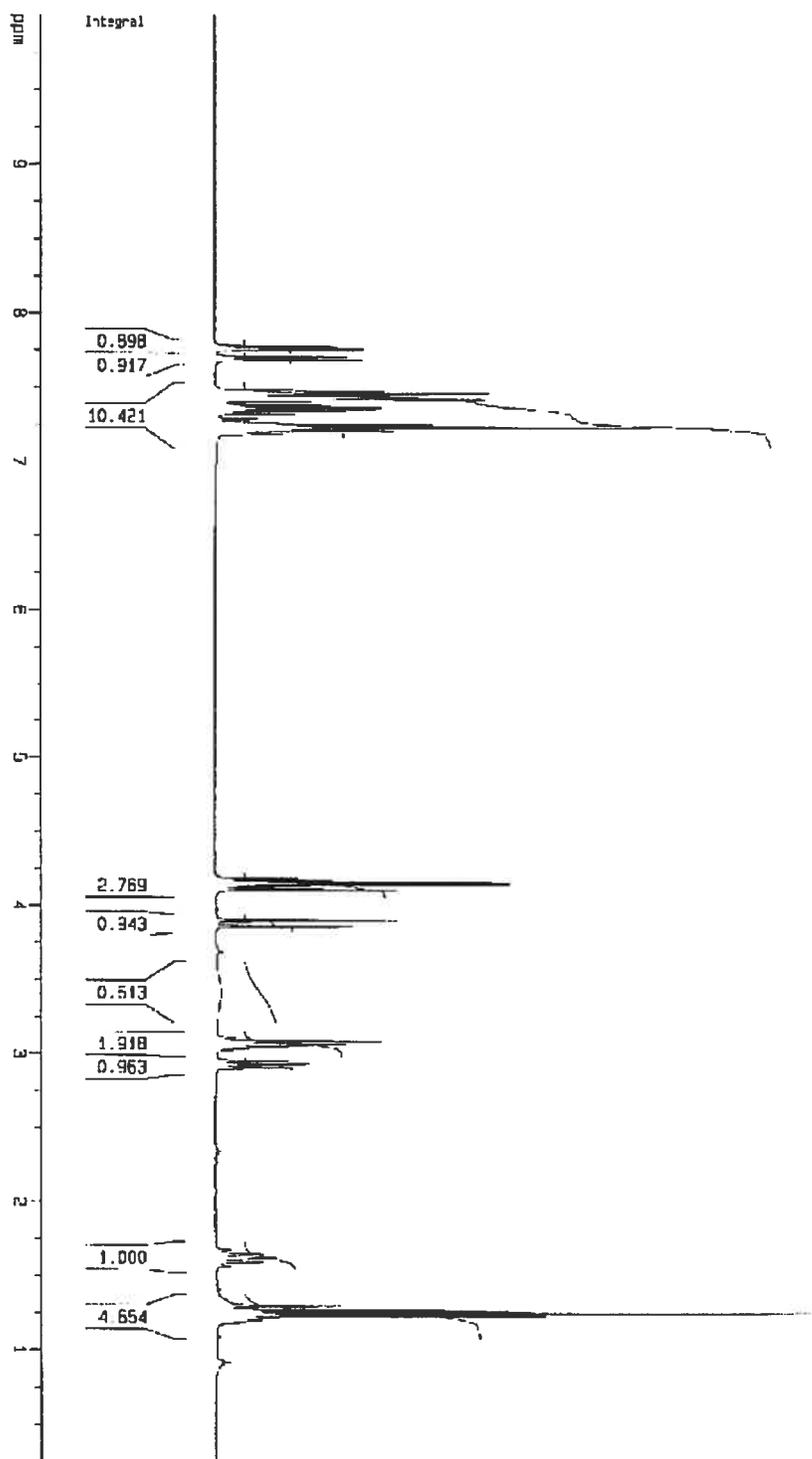


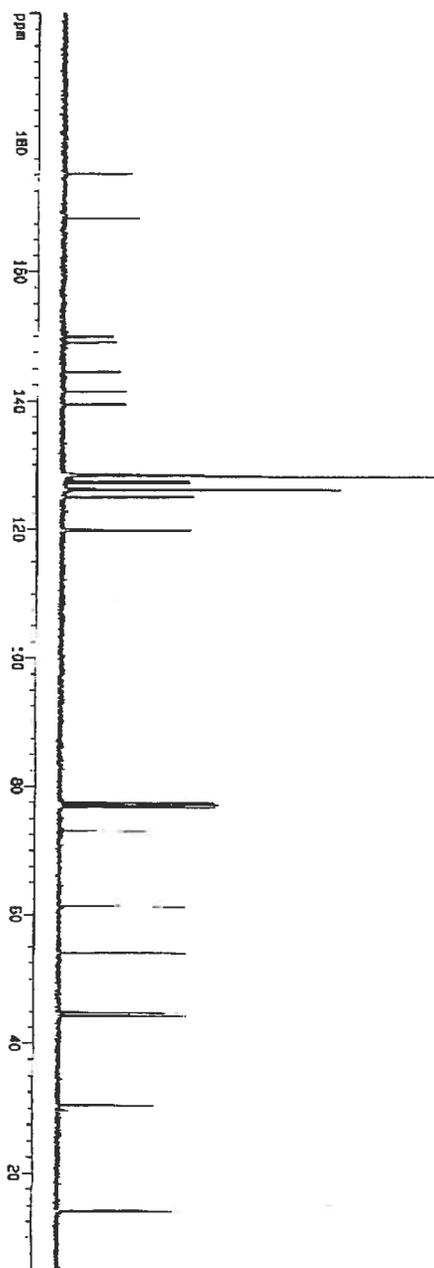
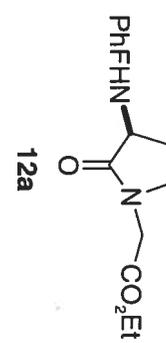


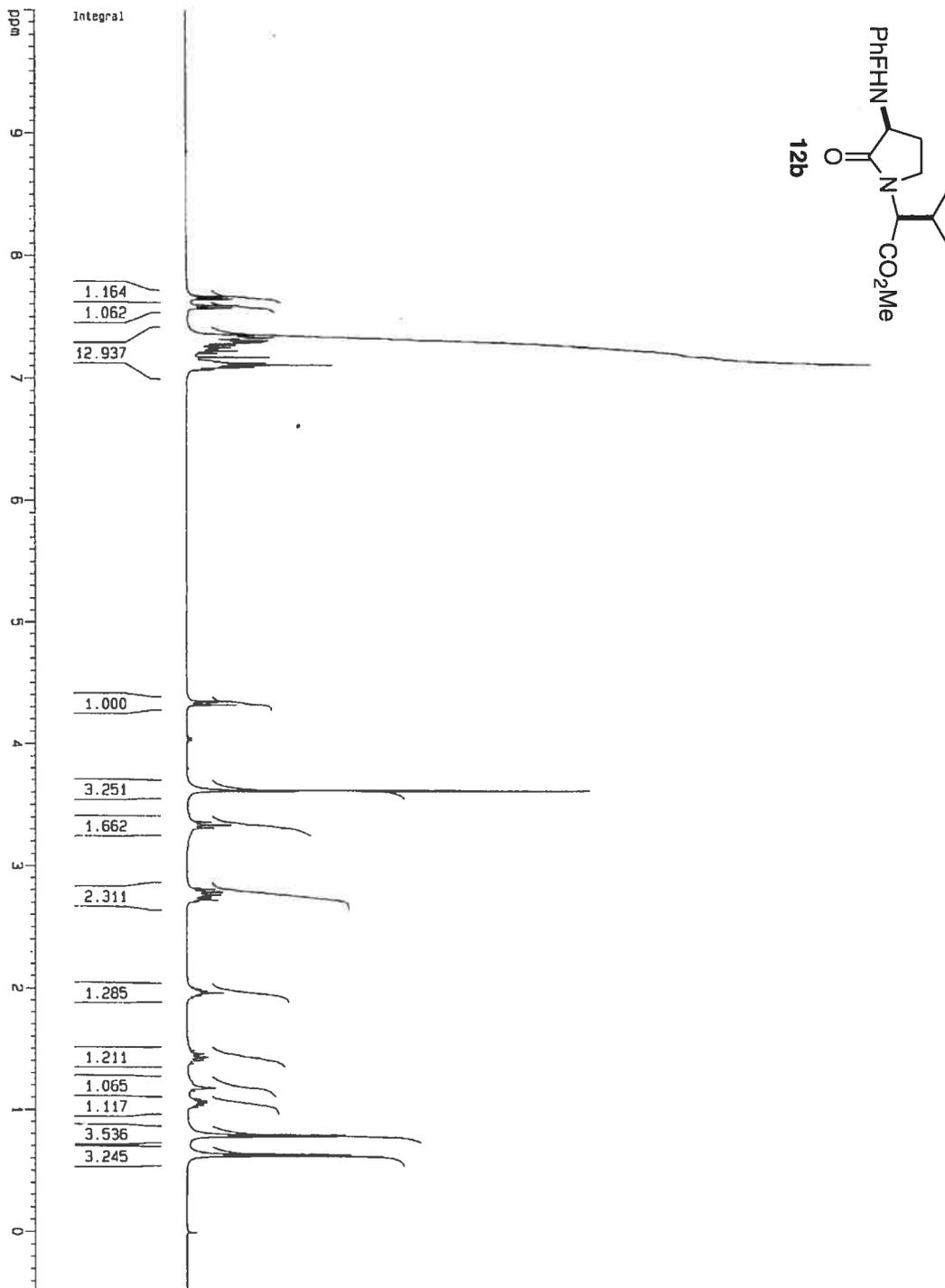


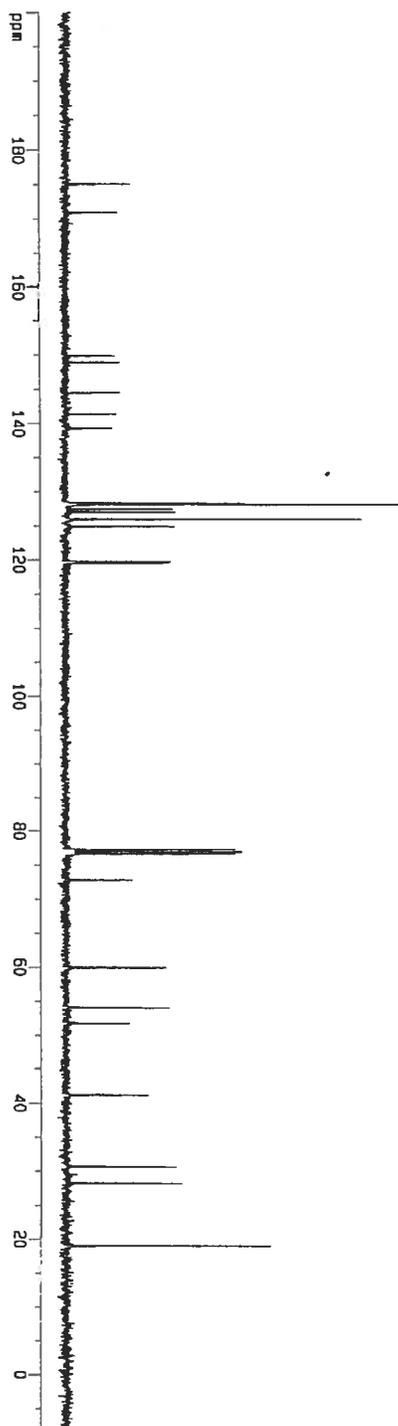
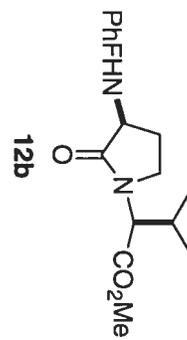


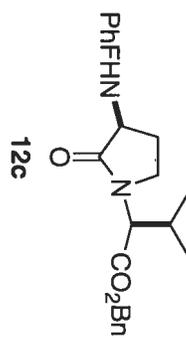
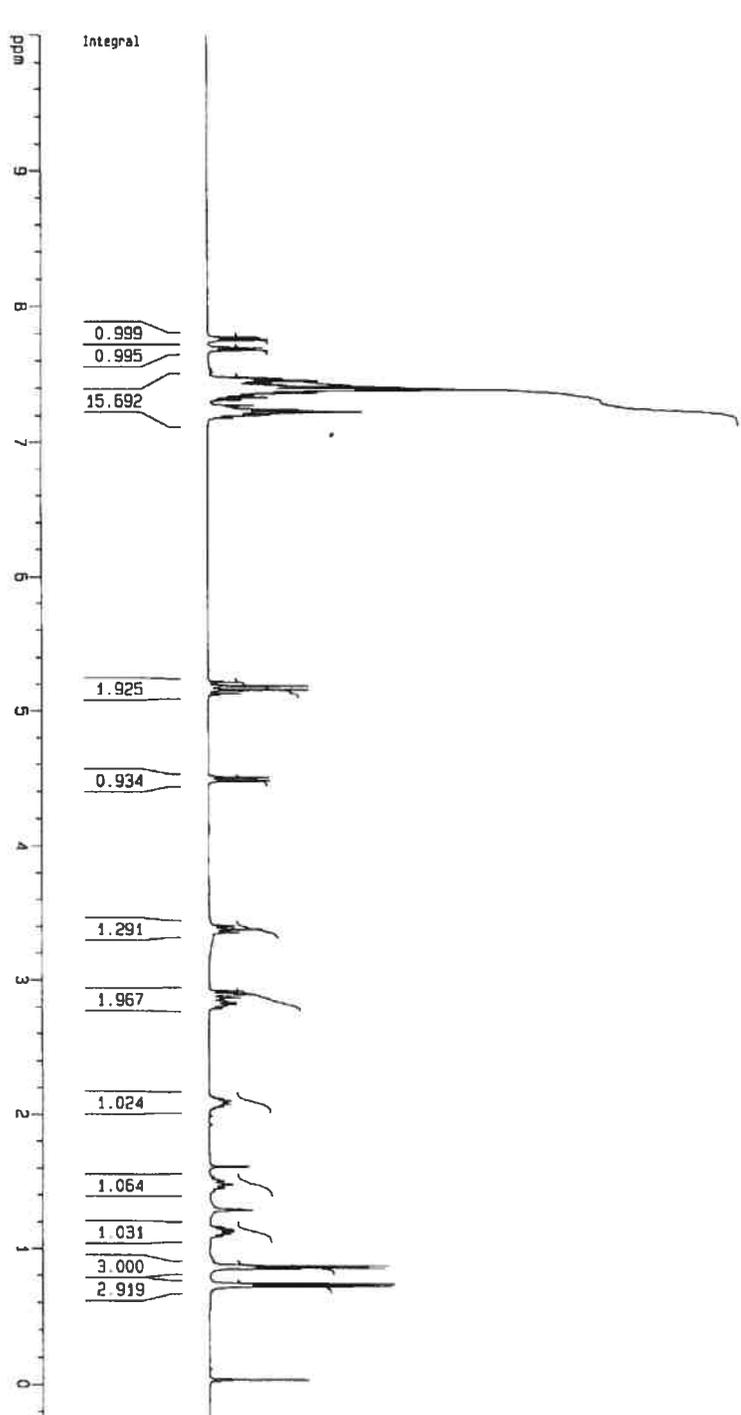


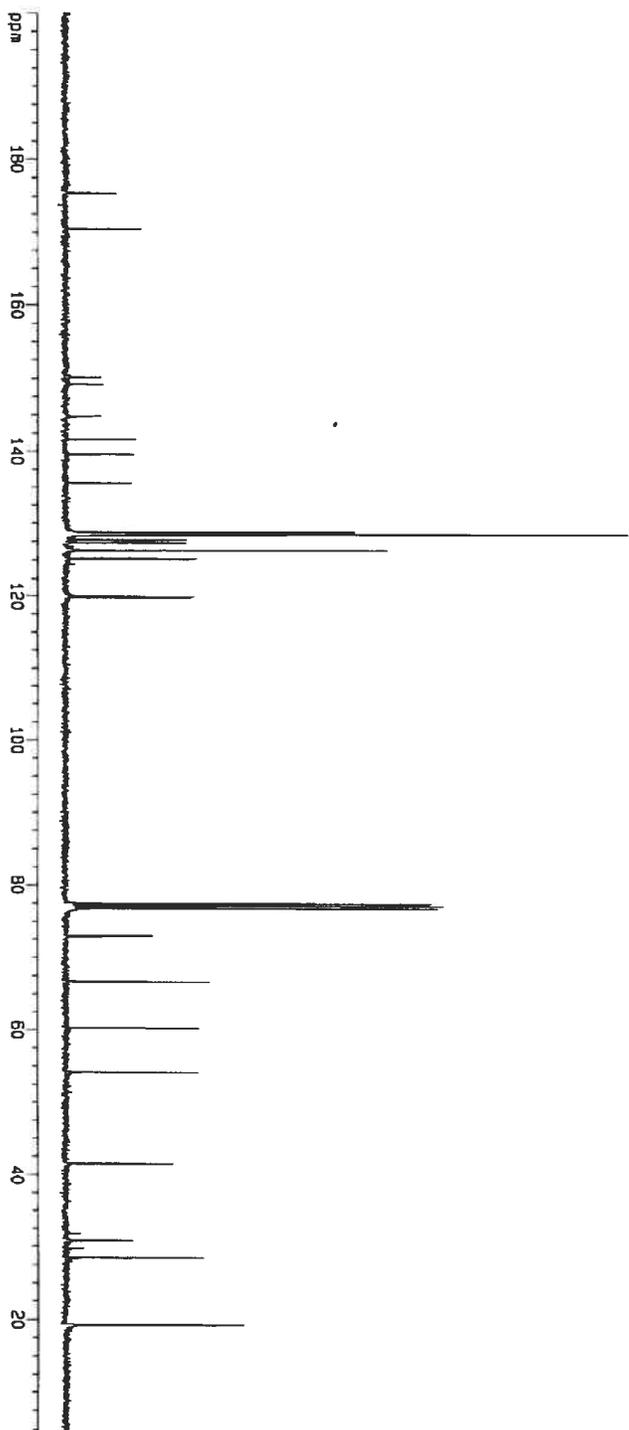
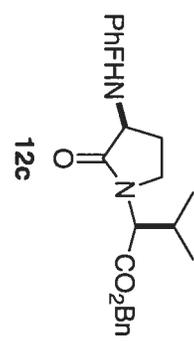


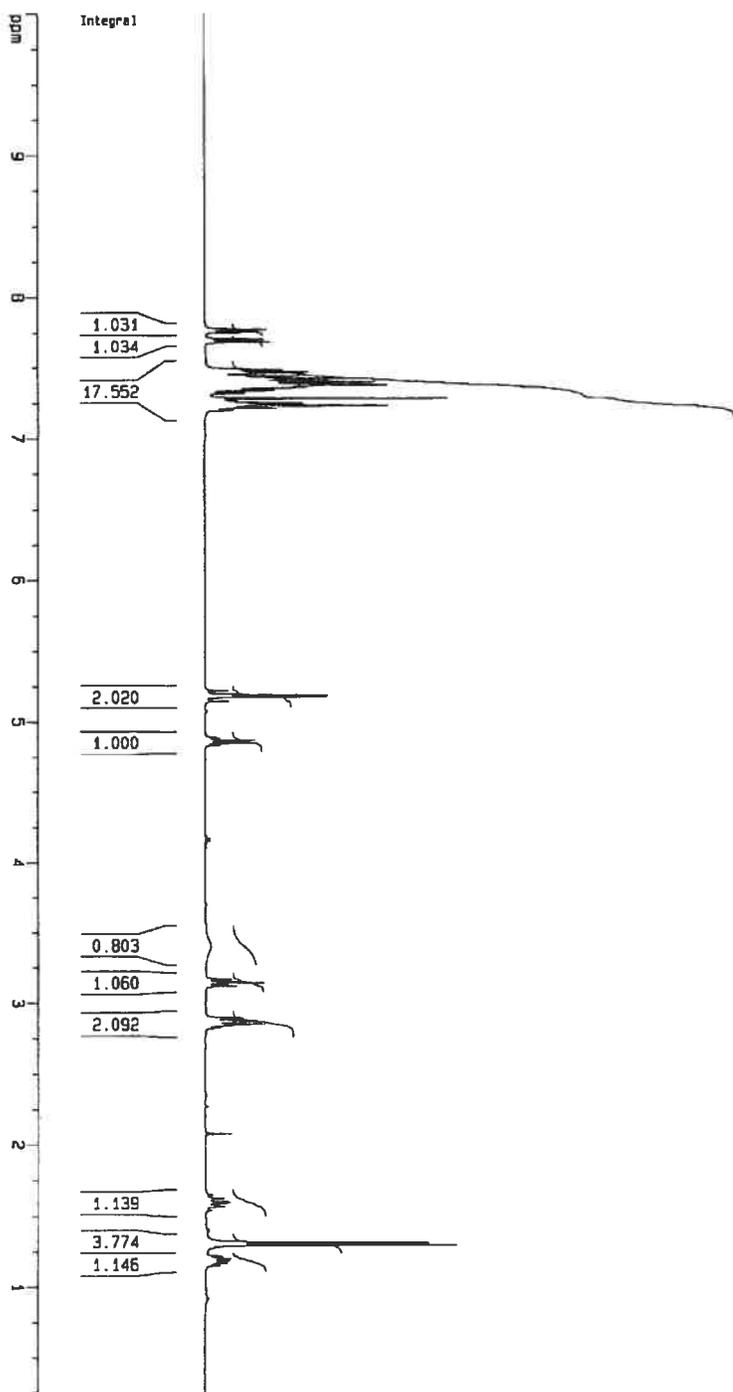
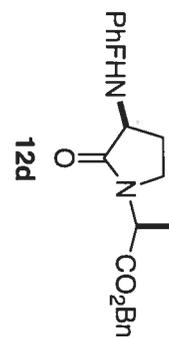


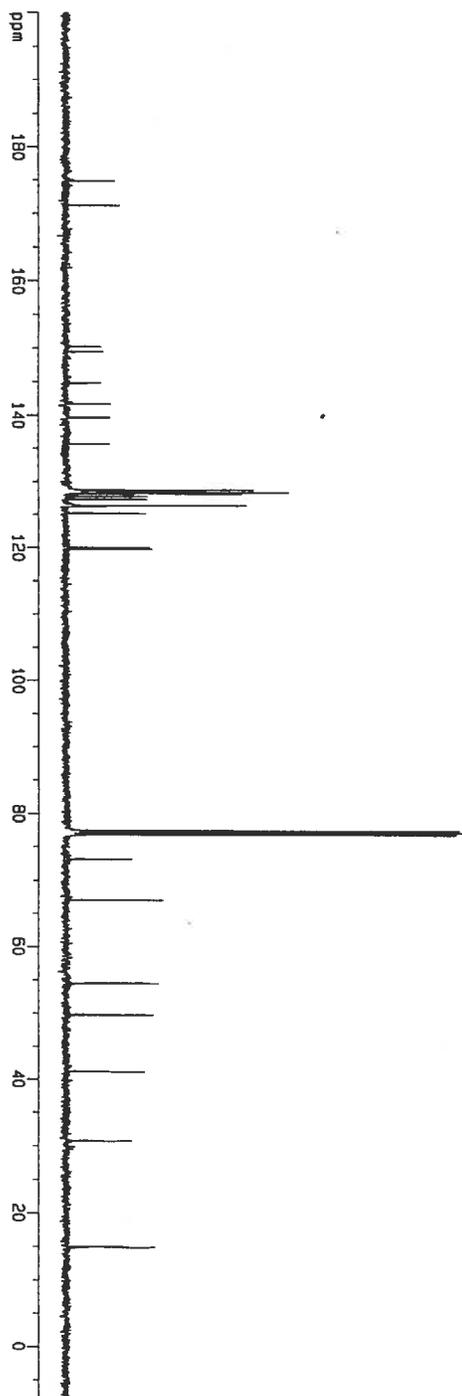
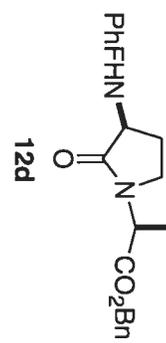


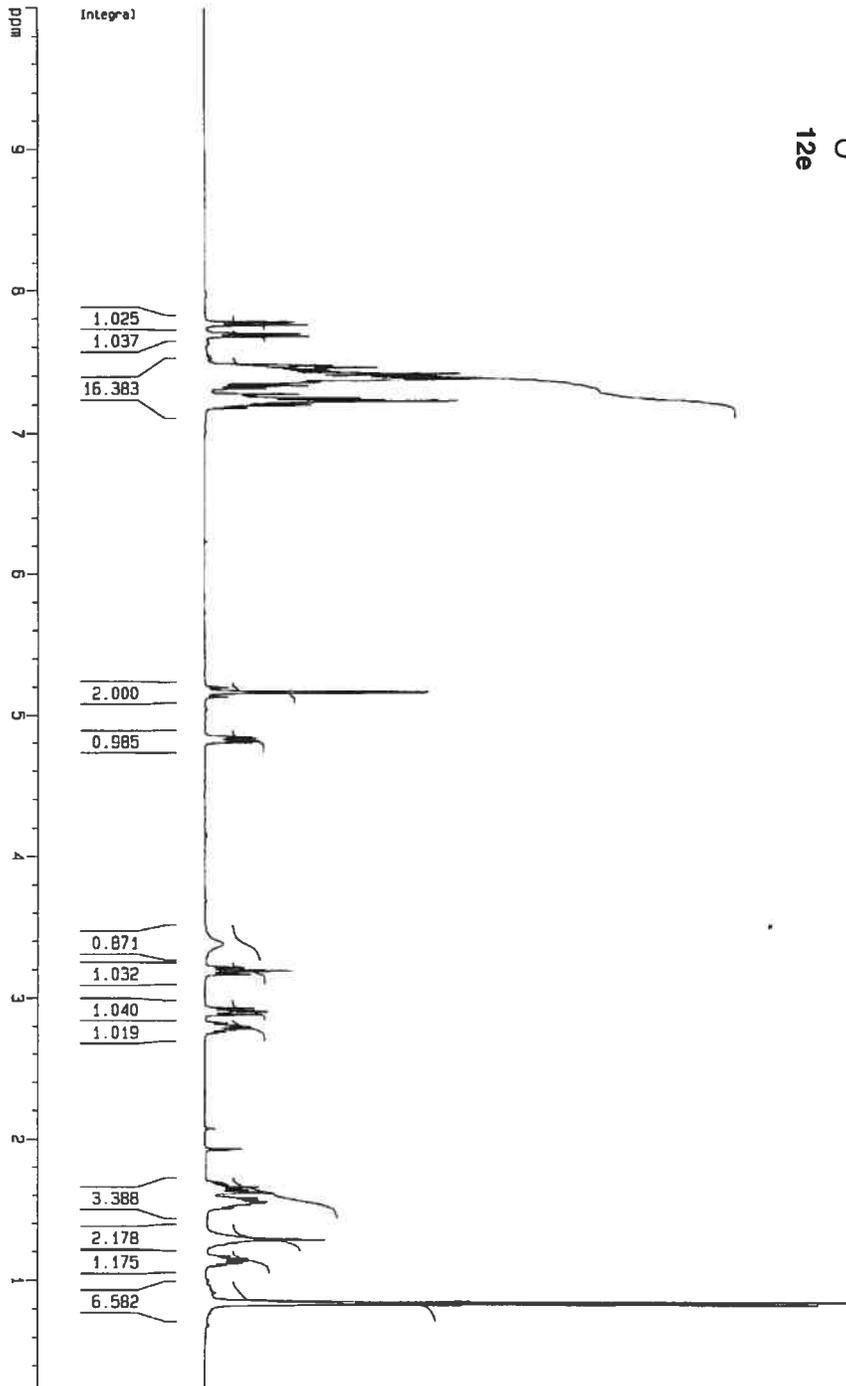
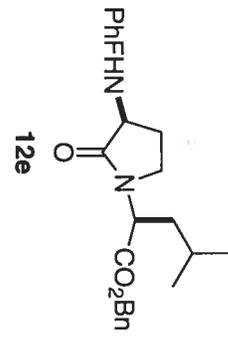


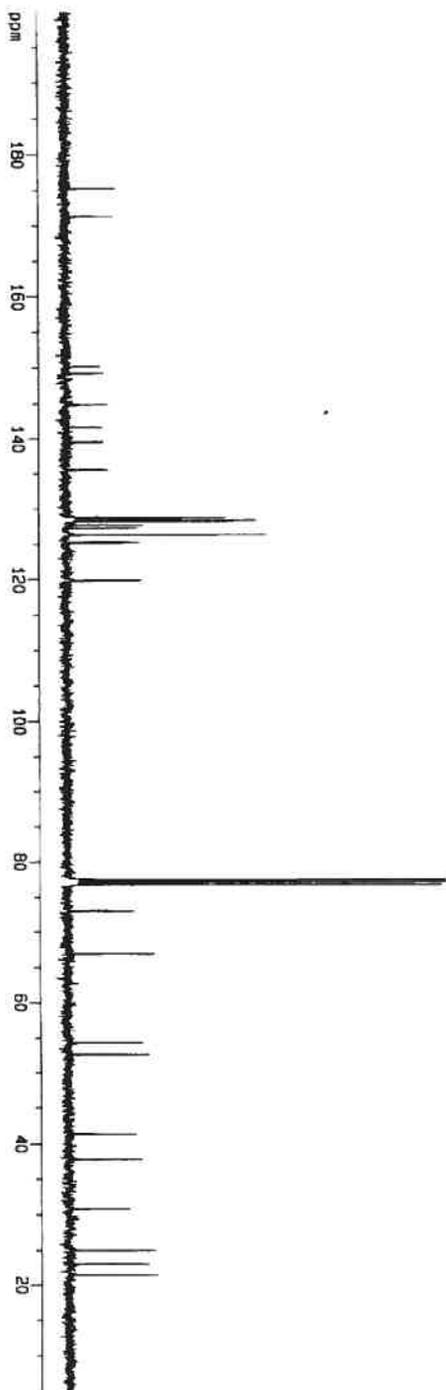
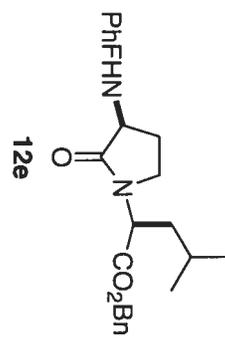


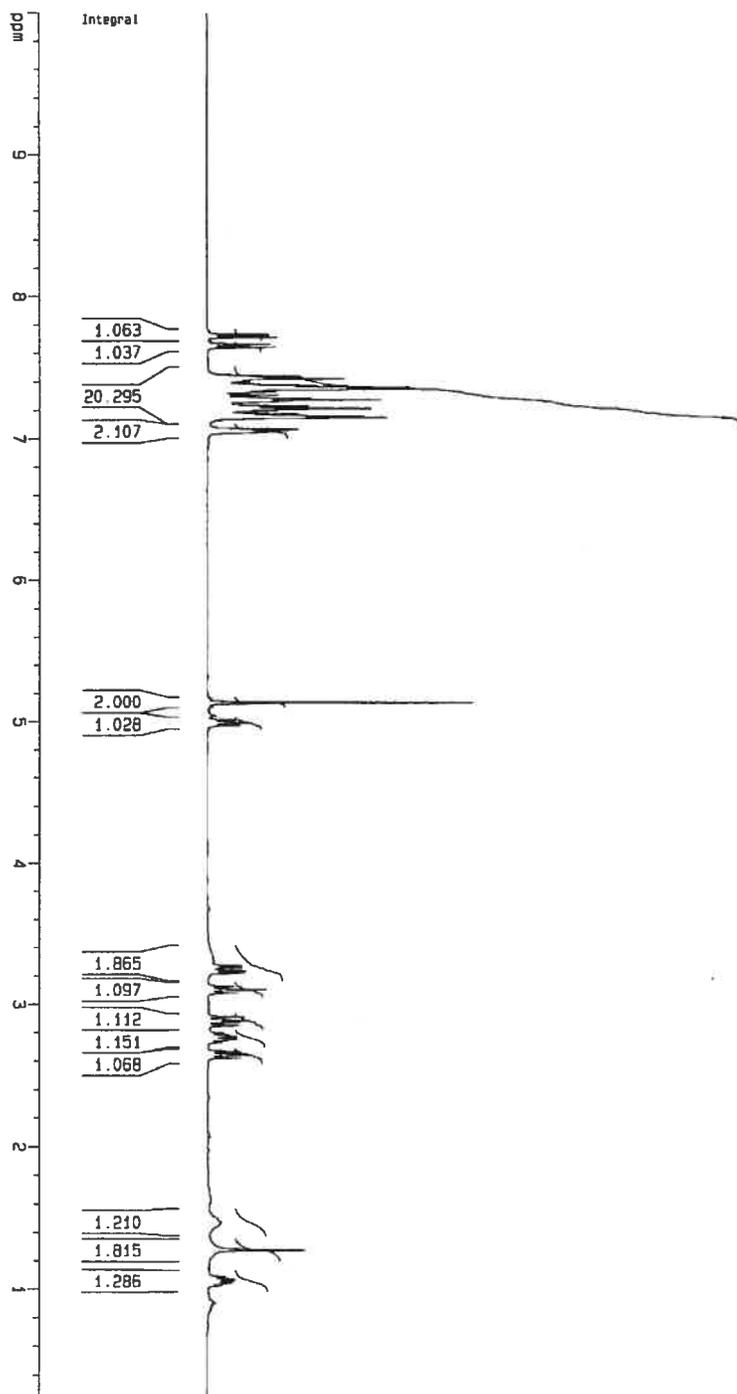
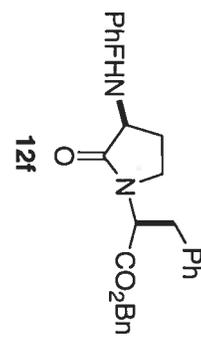


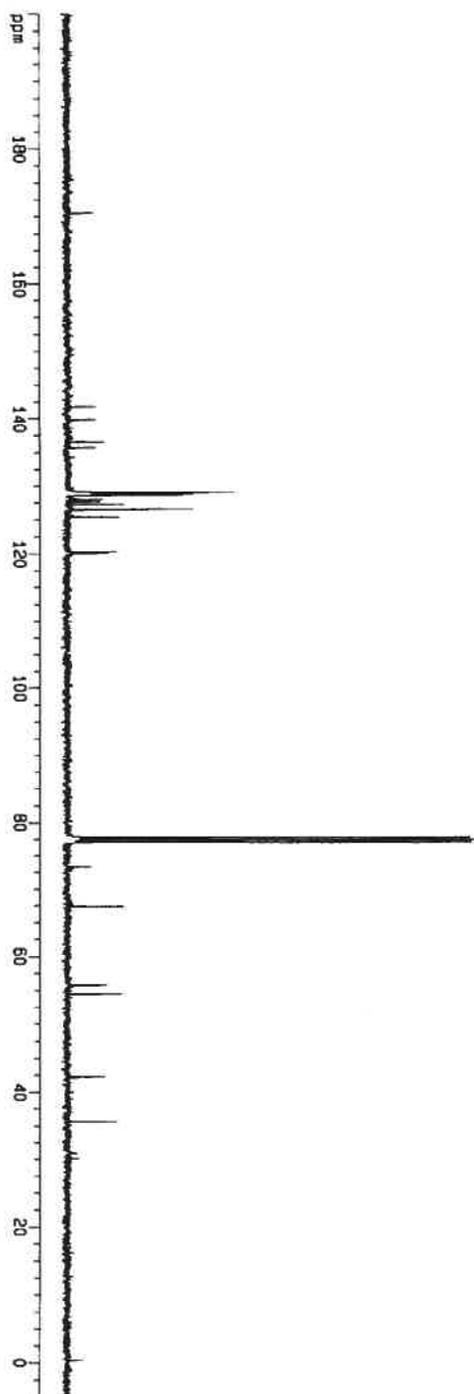
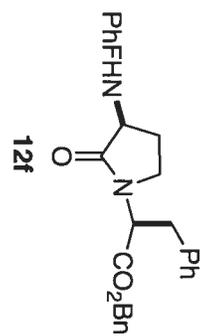


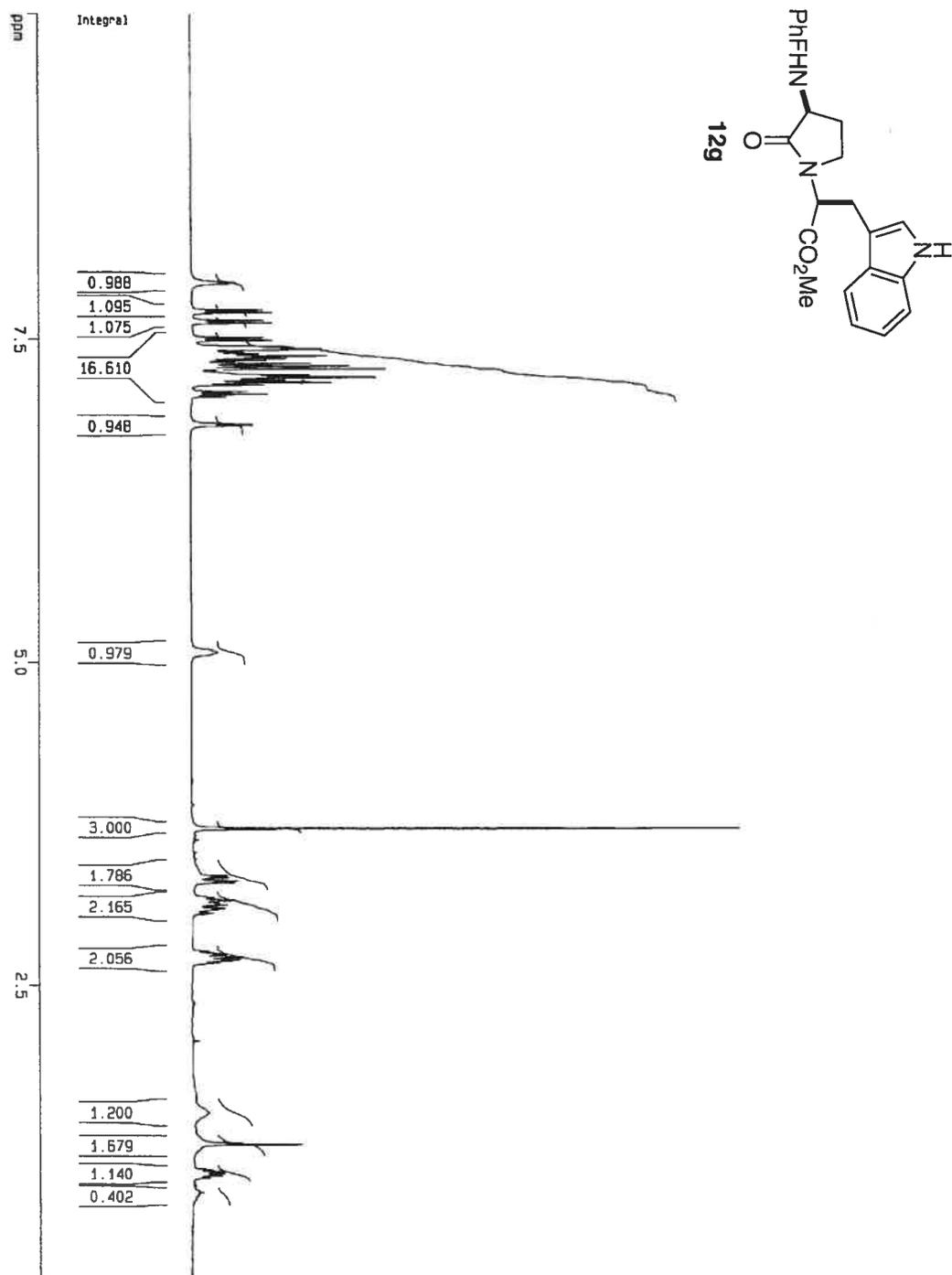


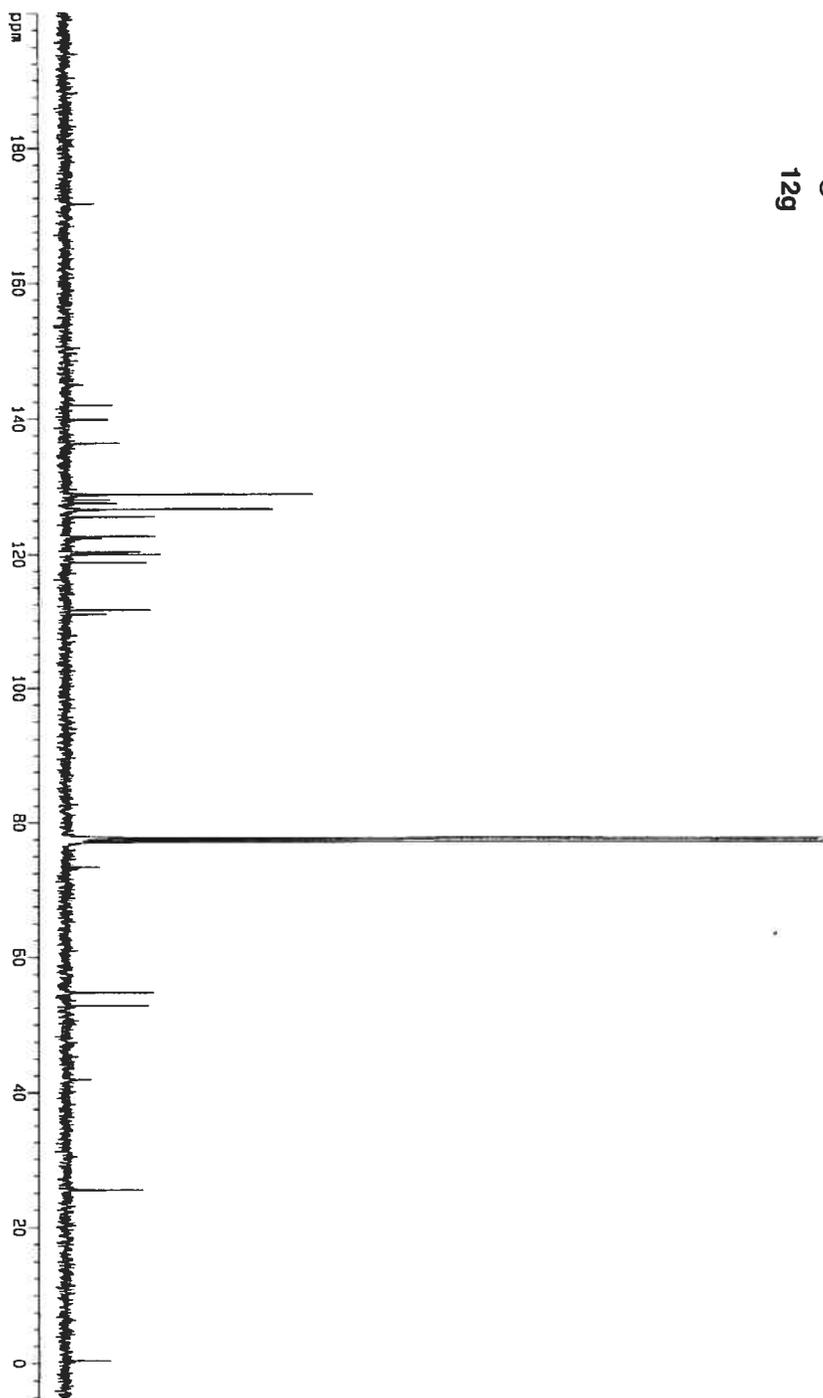
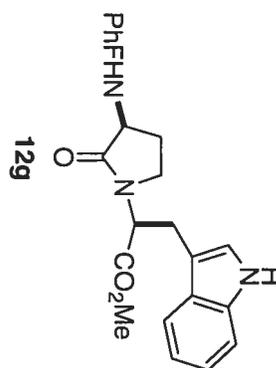


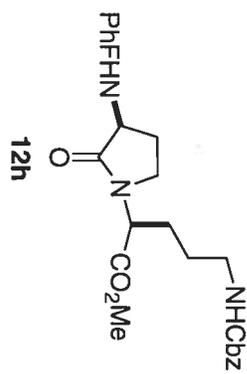
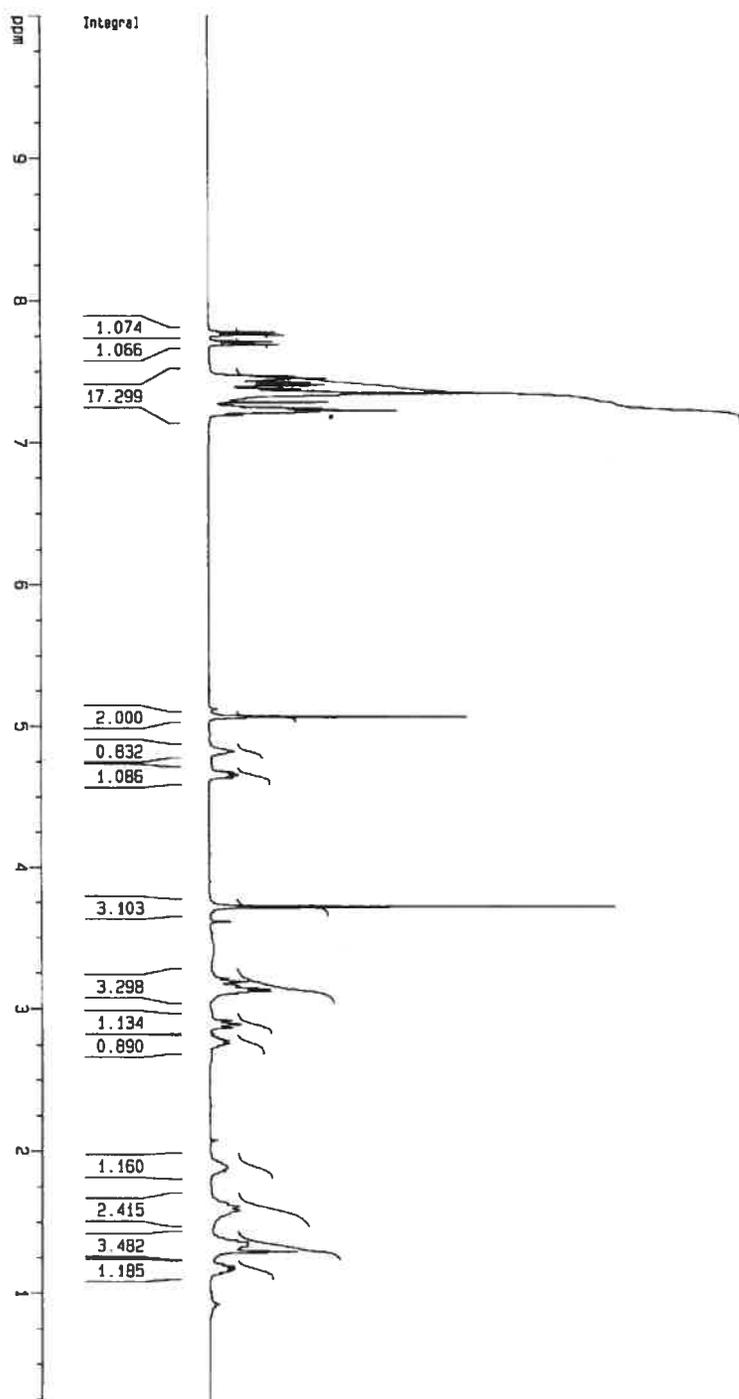


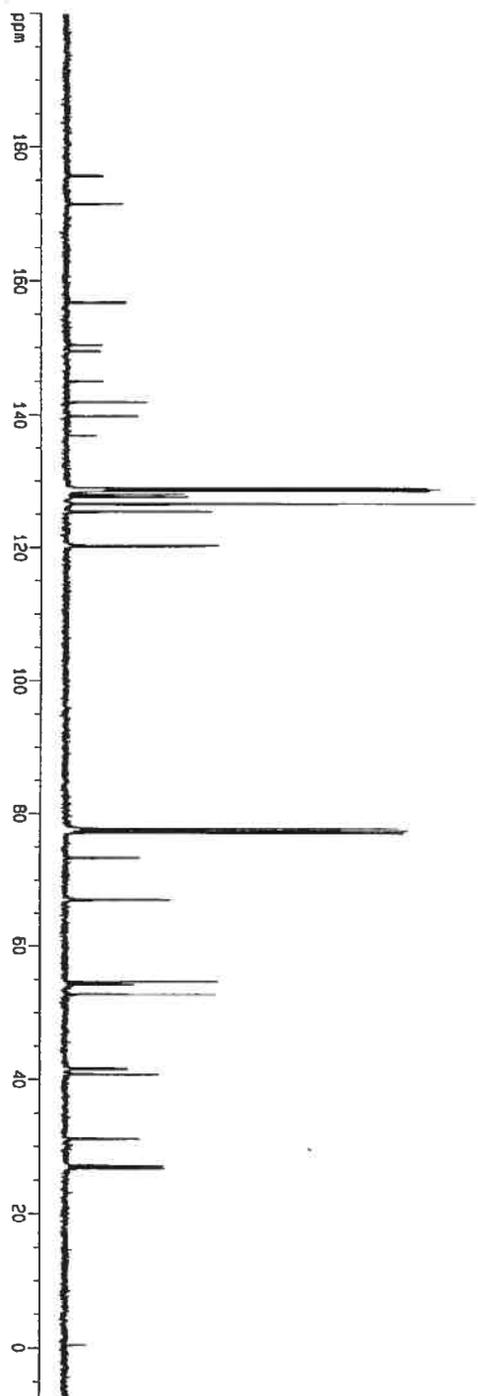
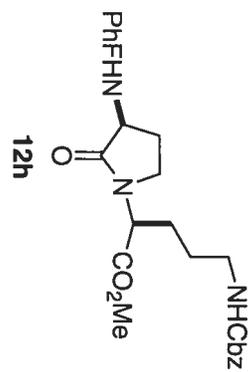


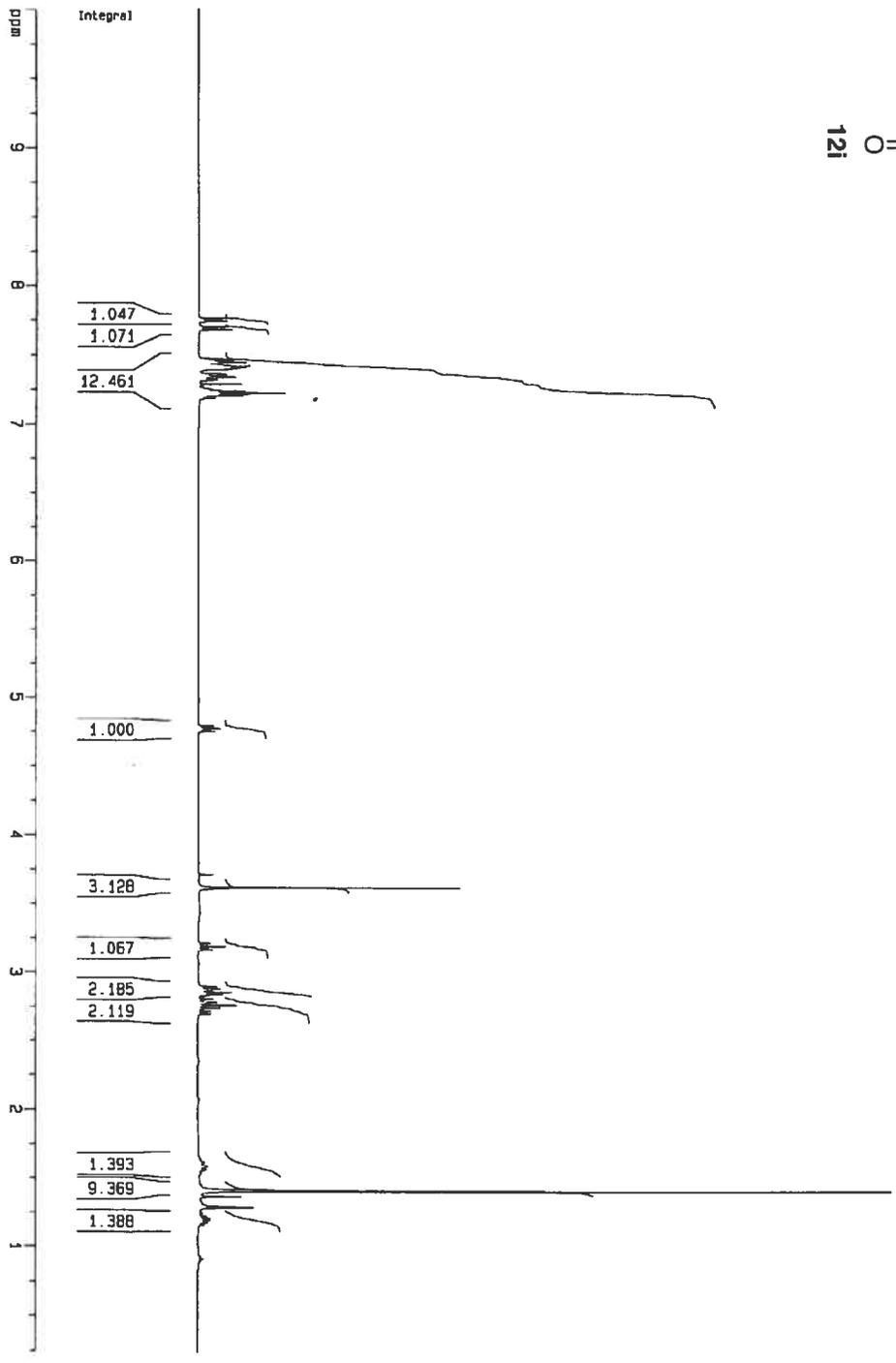
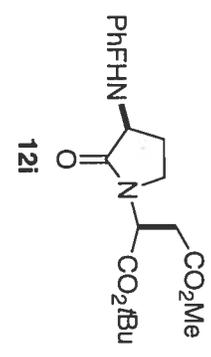


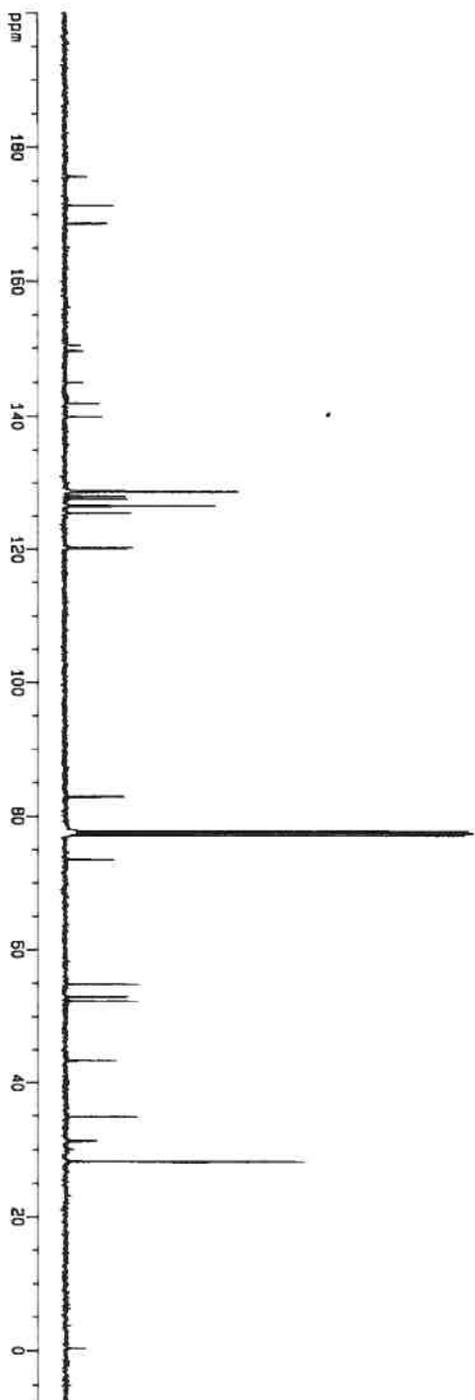
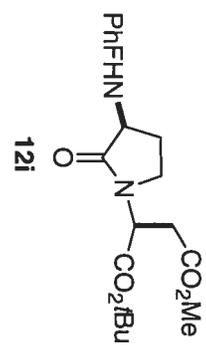


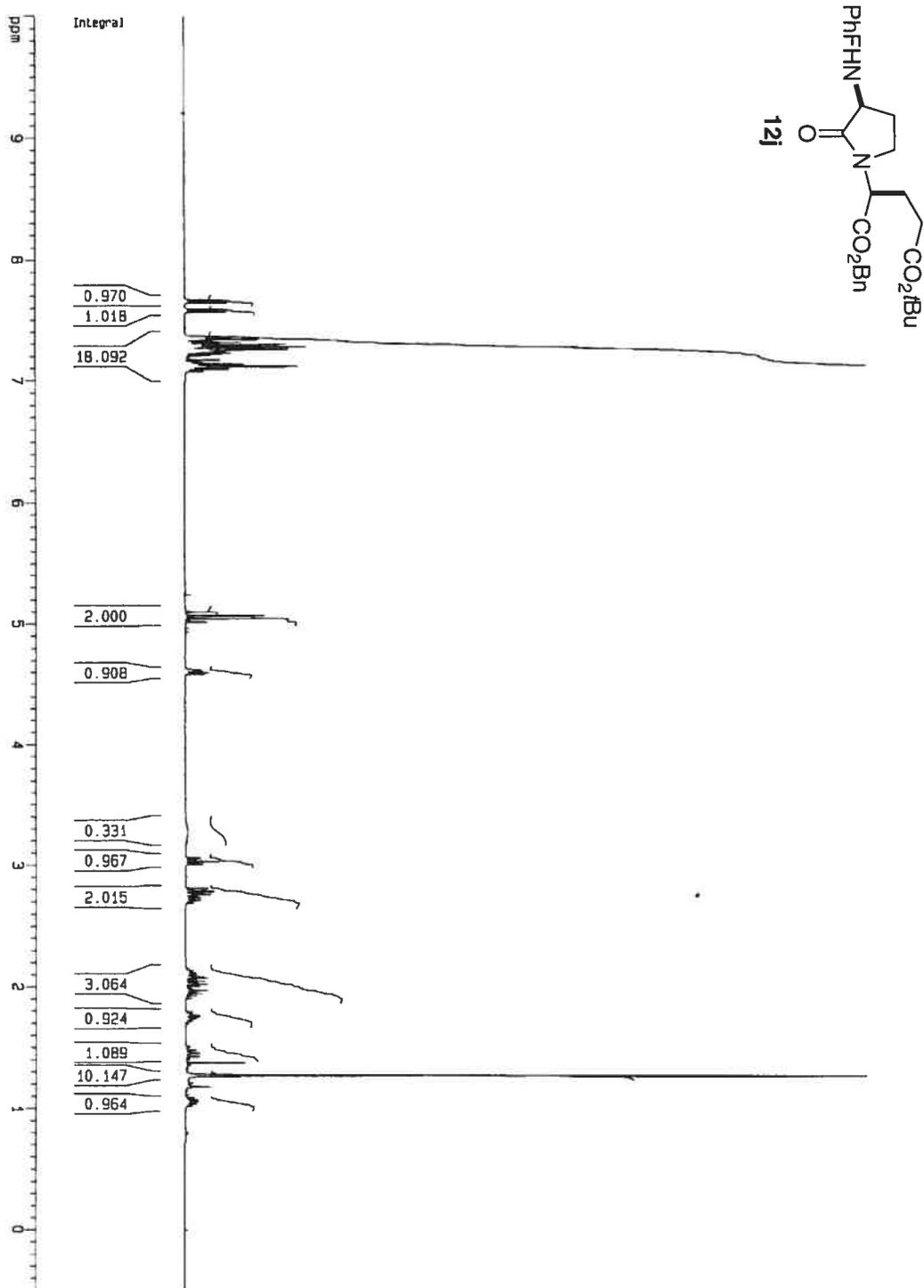


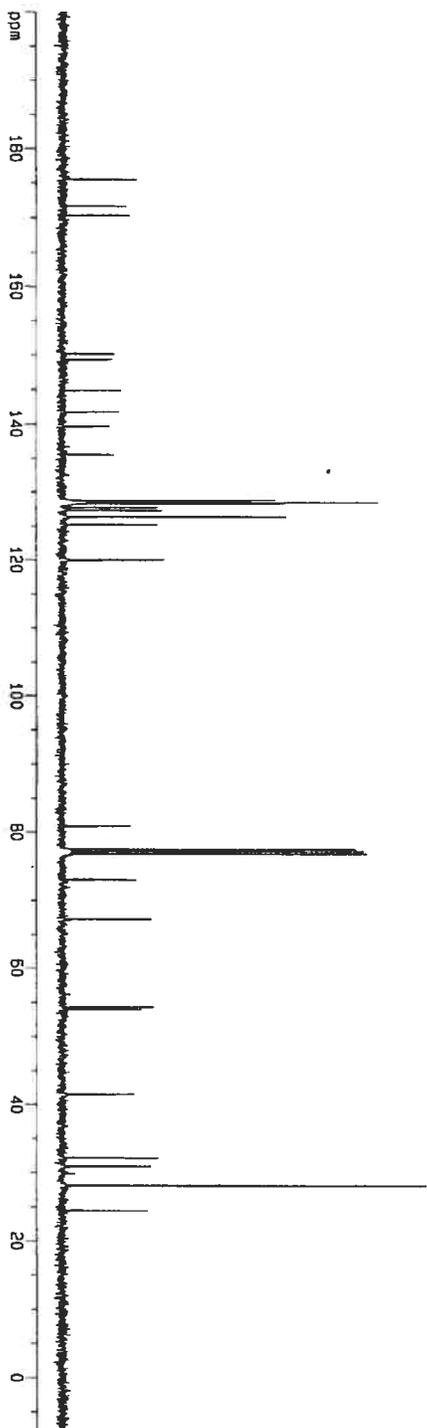
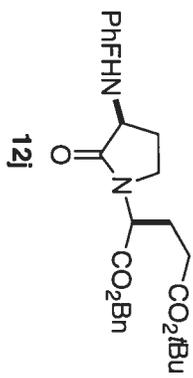


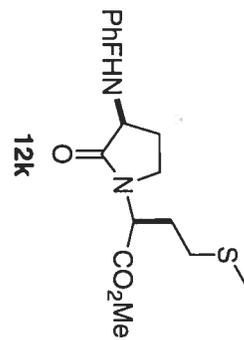
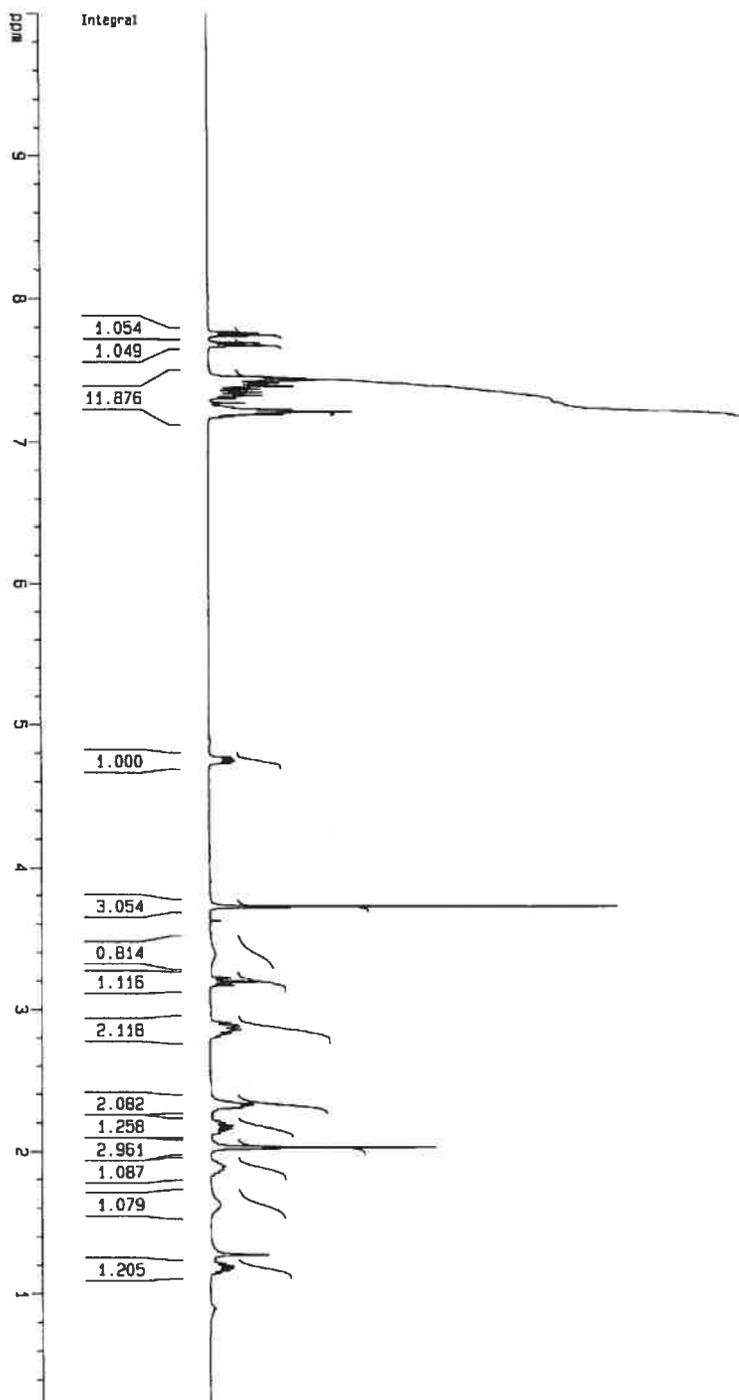


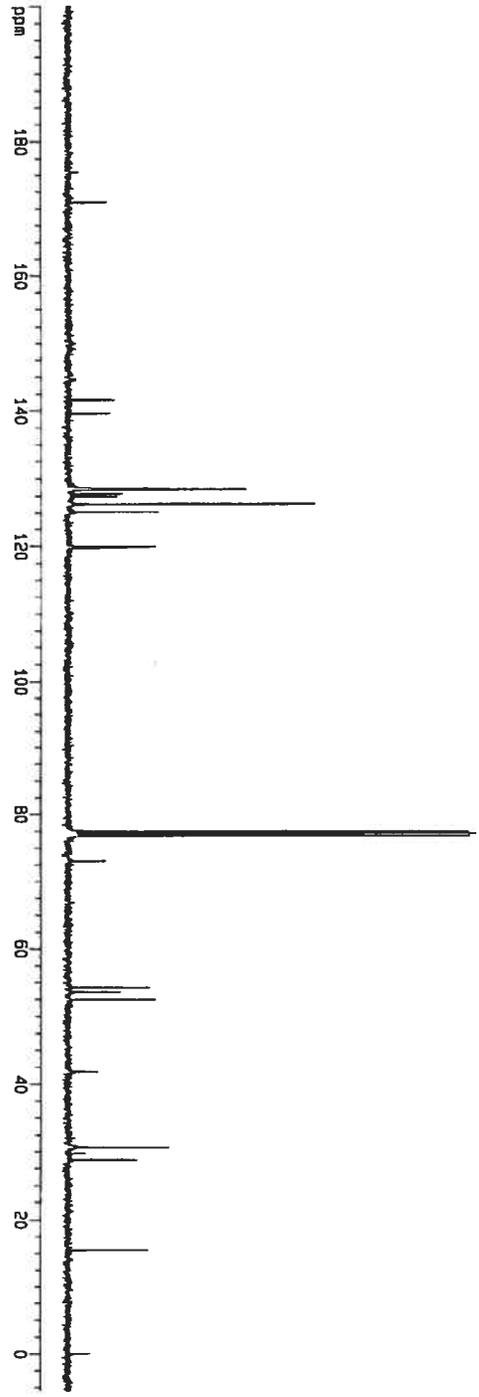
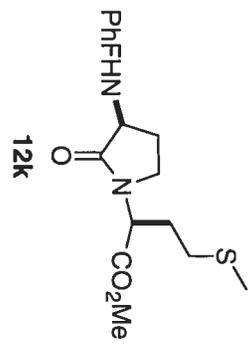


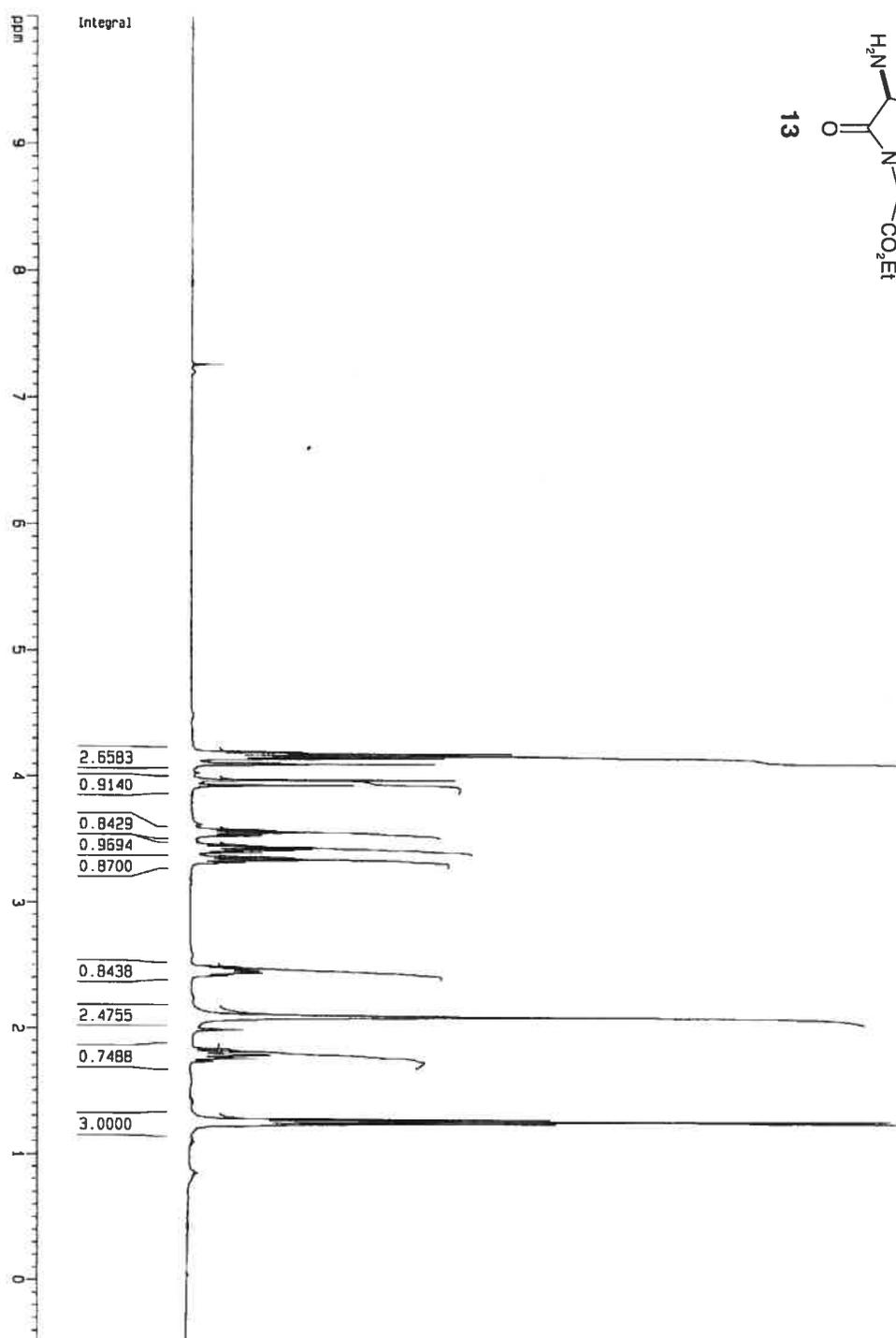


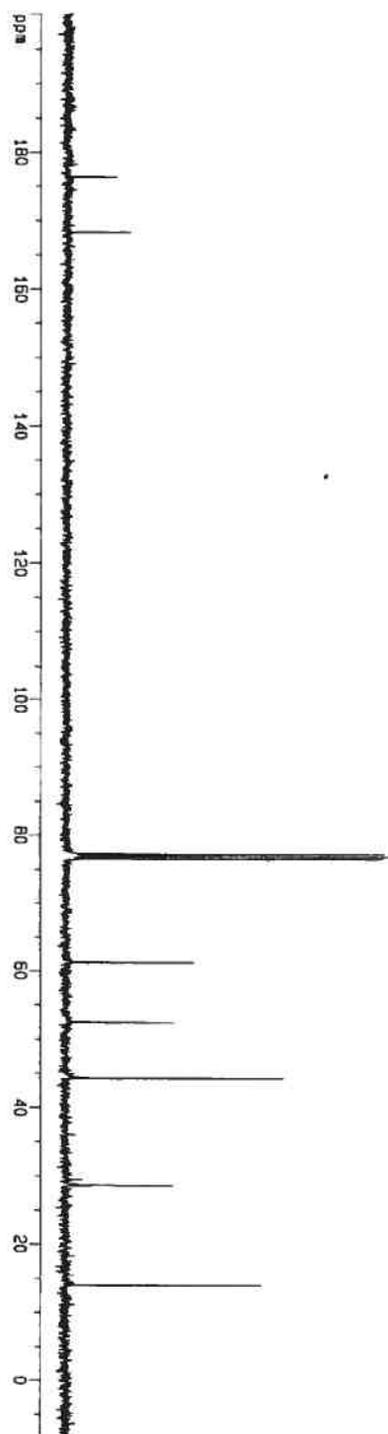
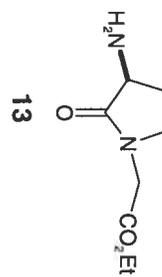


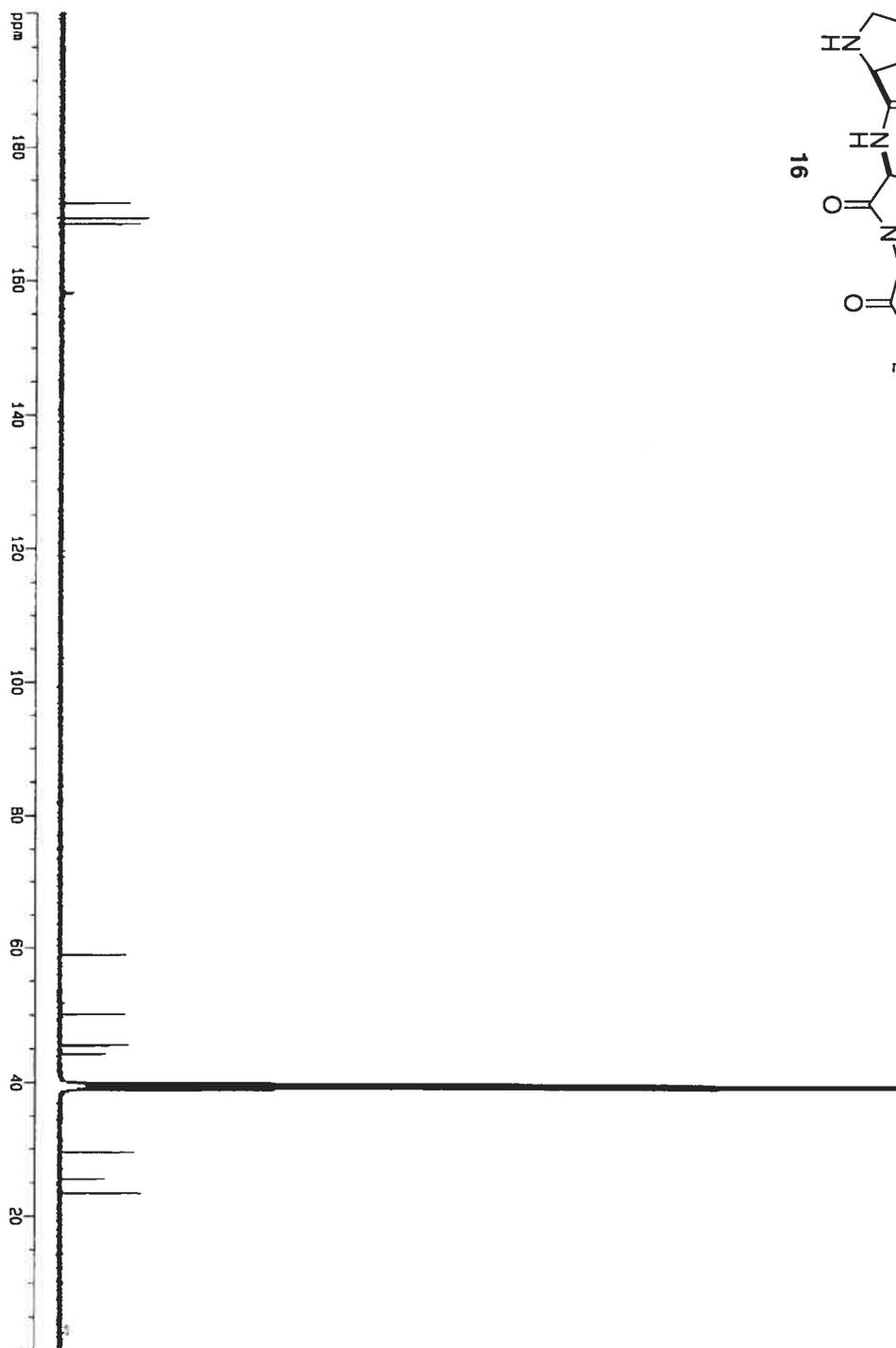
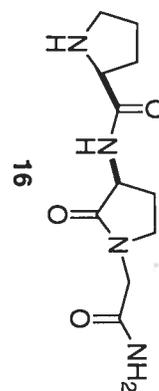






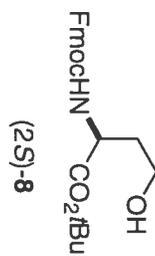
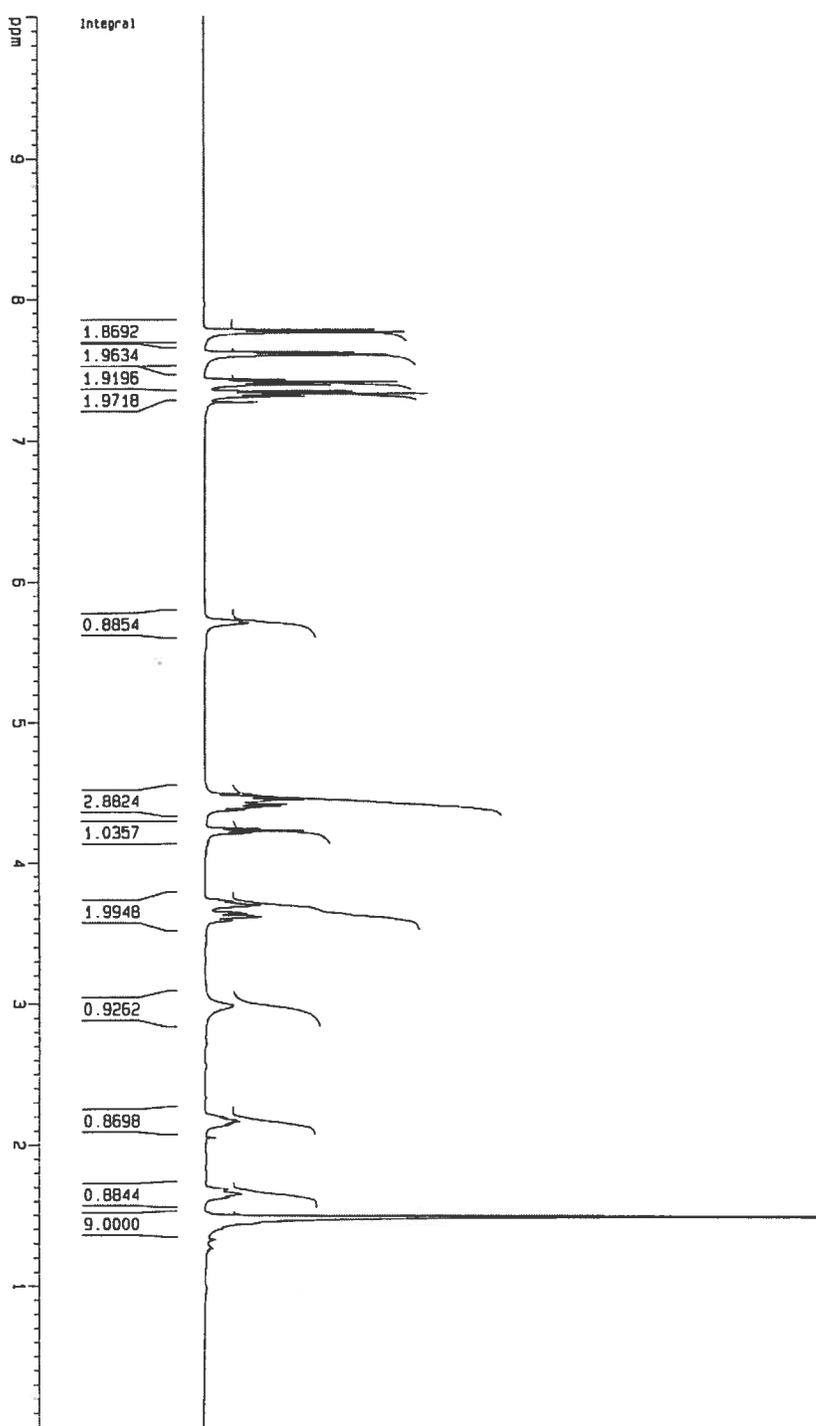


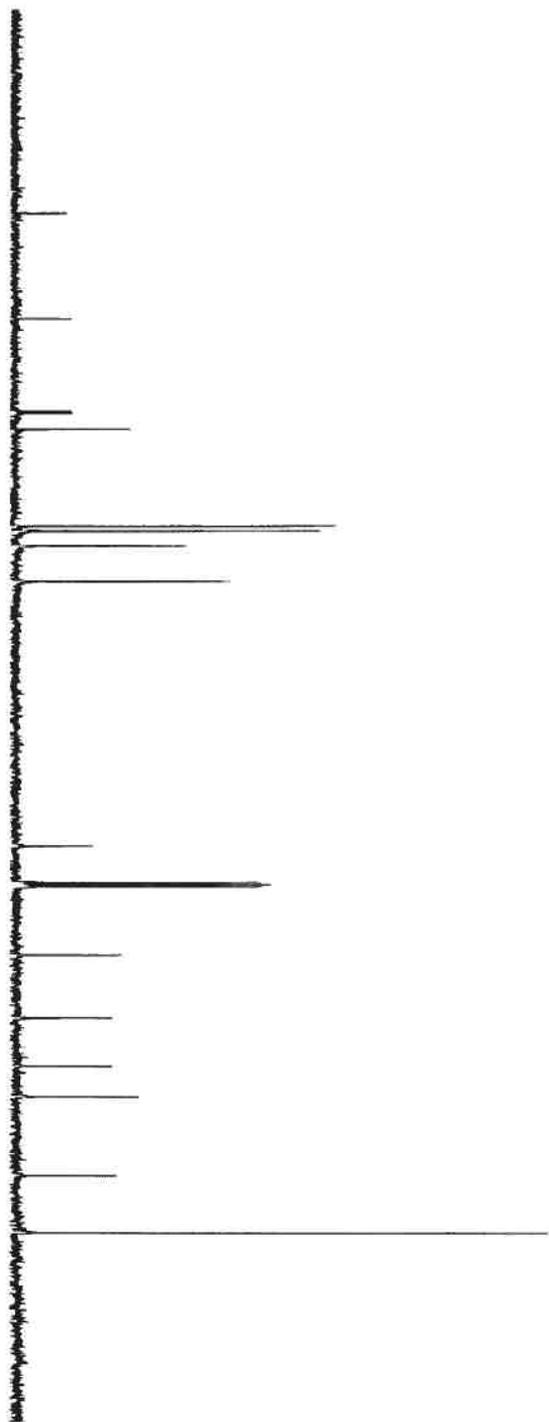
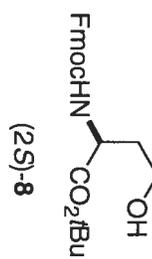


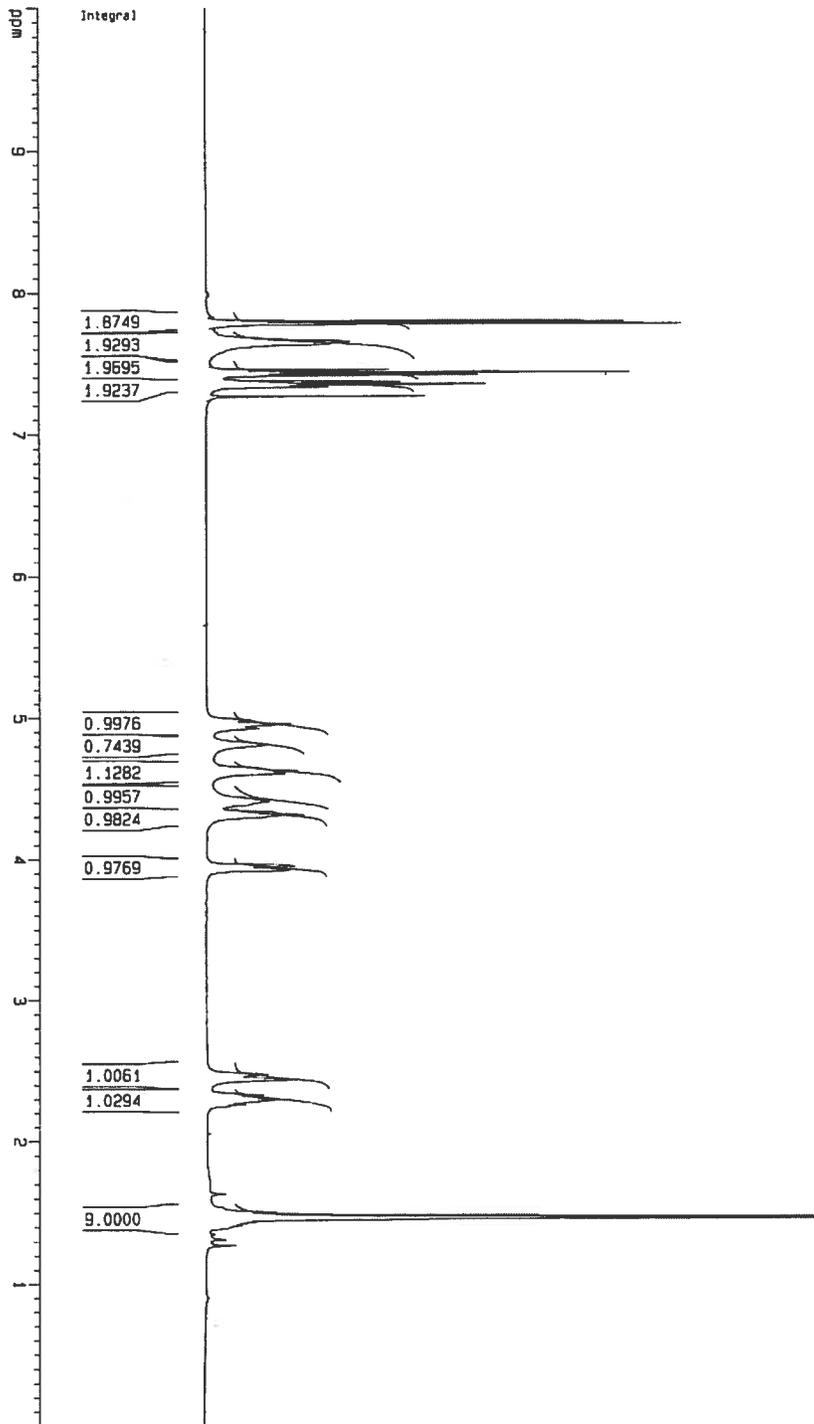
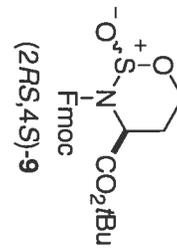


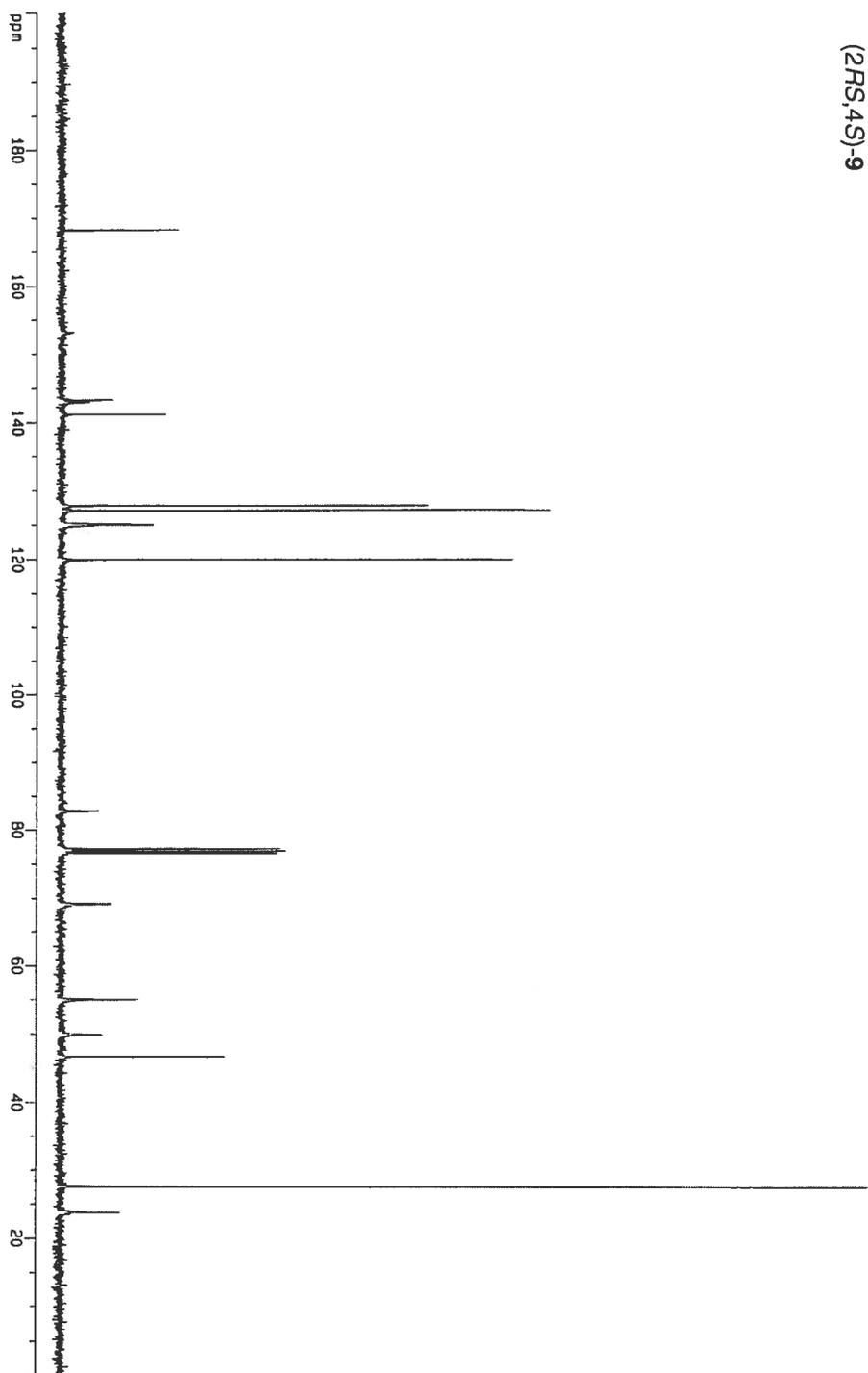
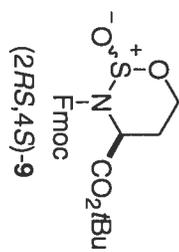
**ANNEXE 2**

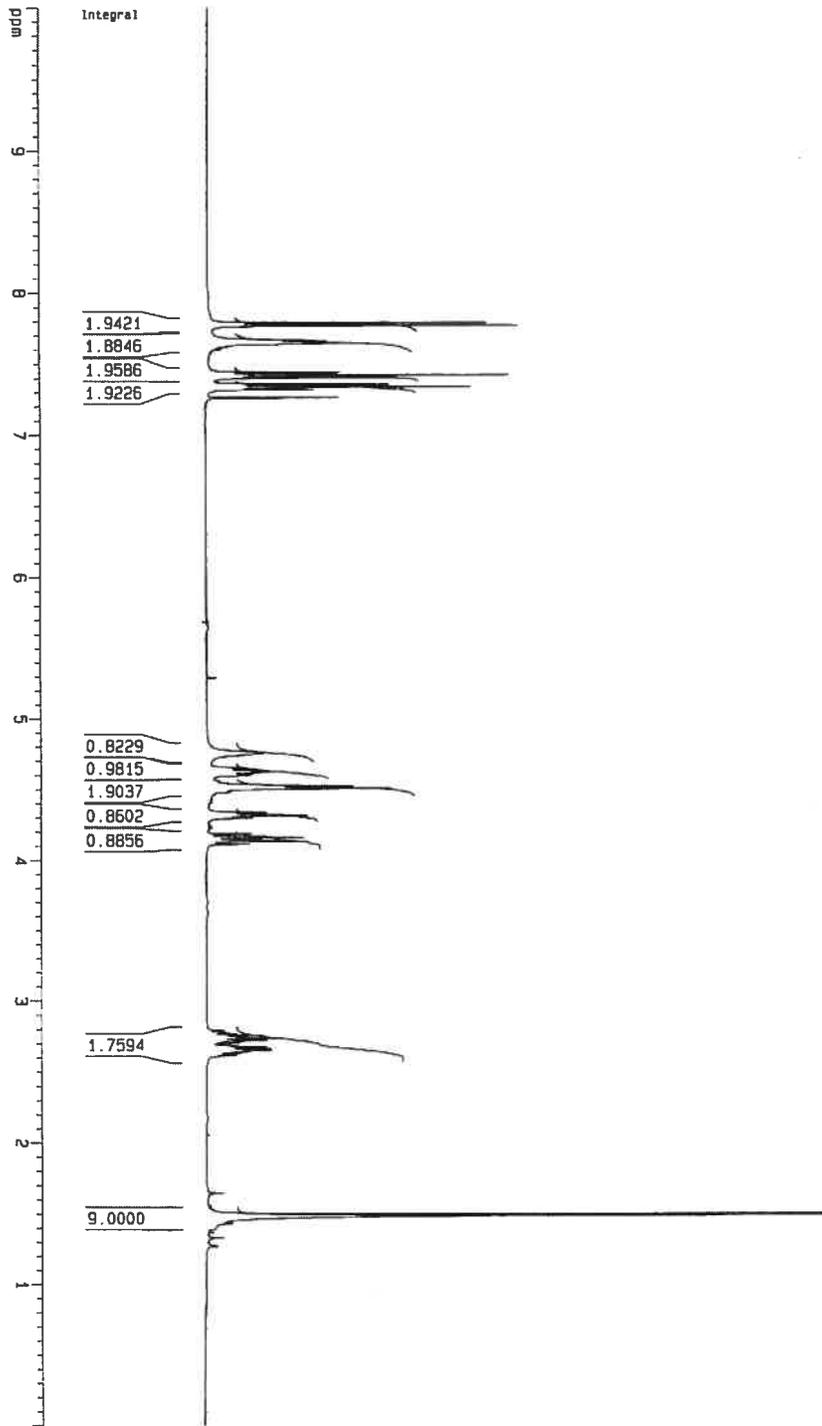
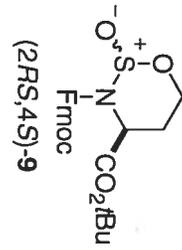
**Données spectrales du chapitre 3**

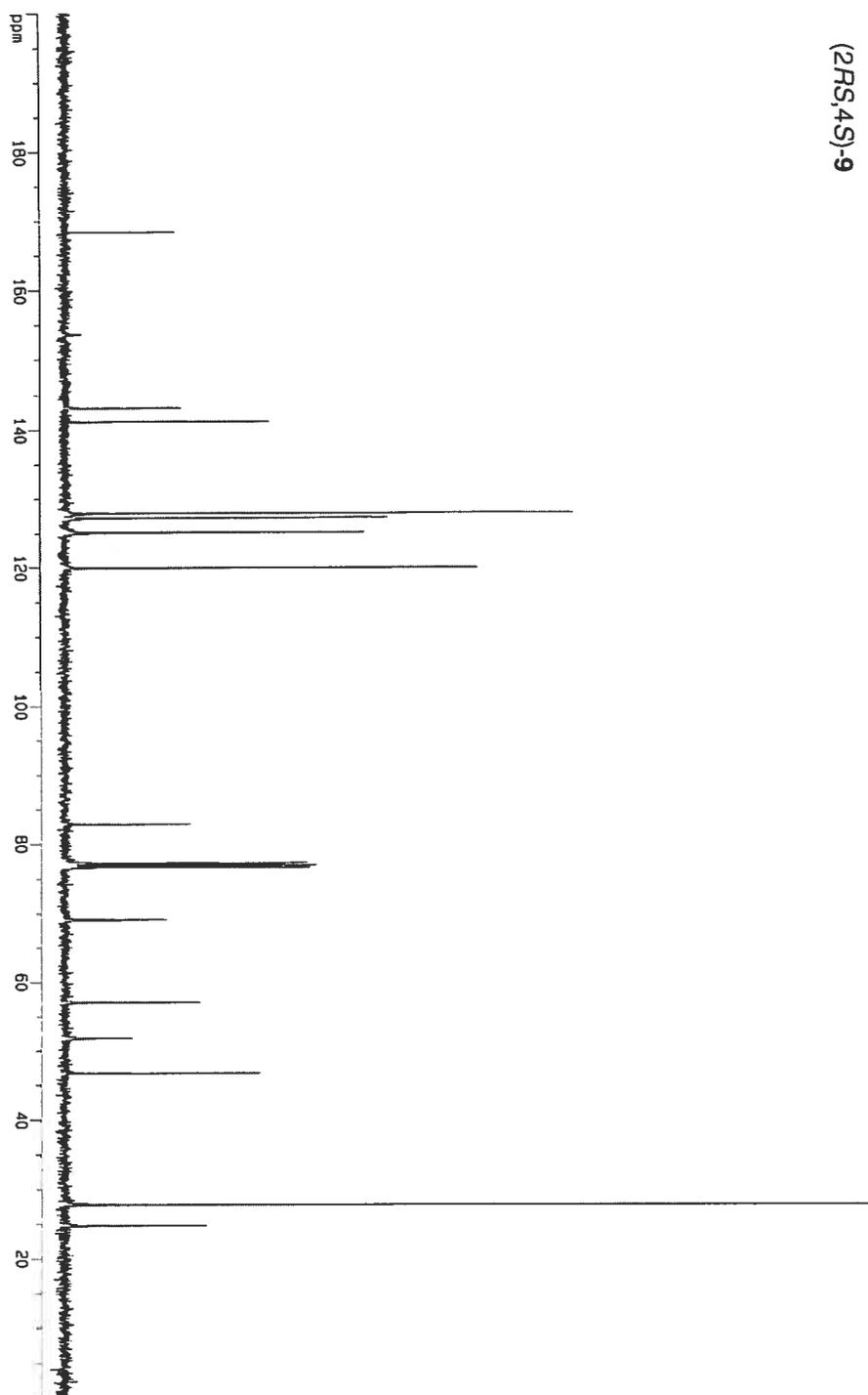
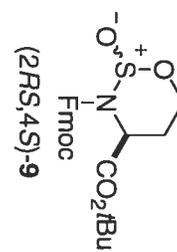


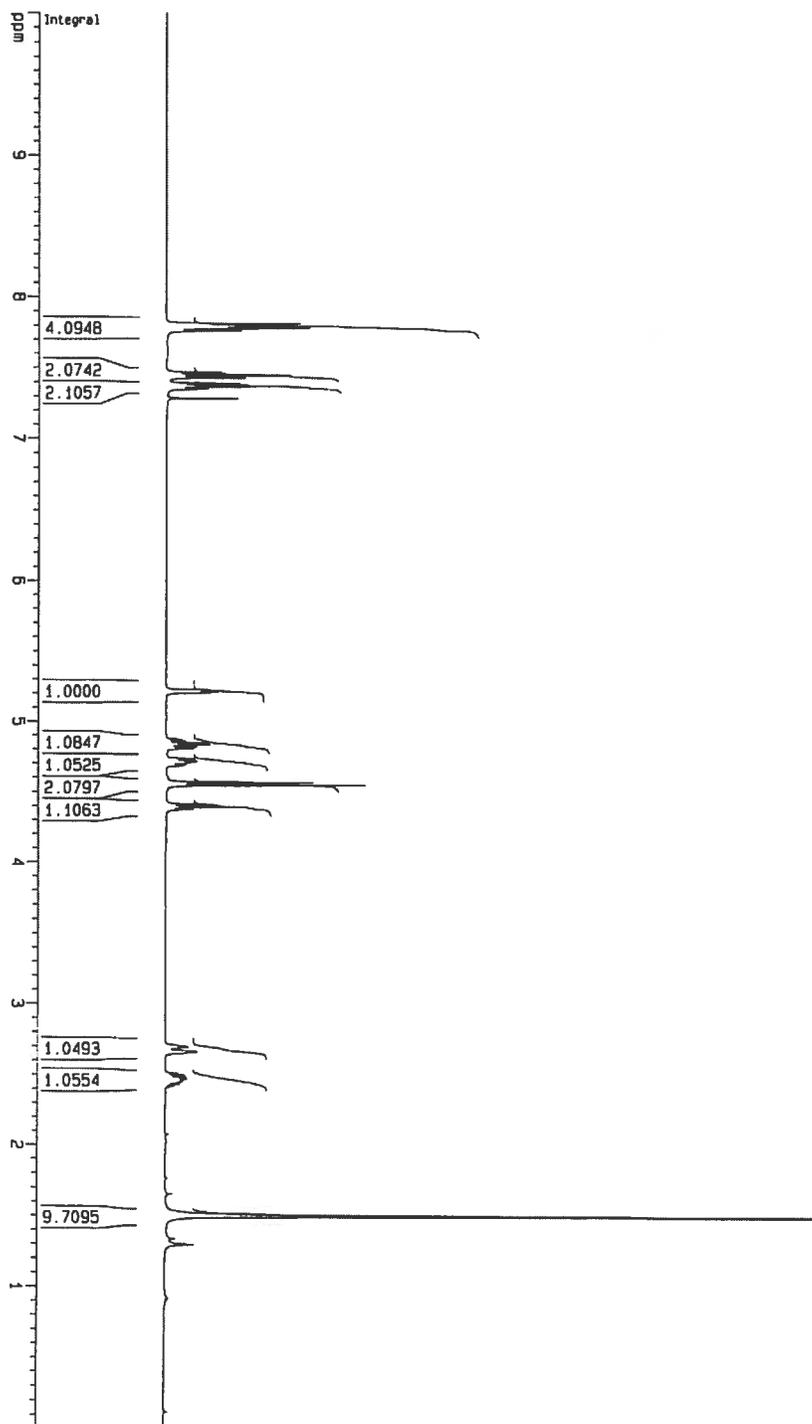
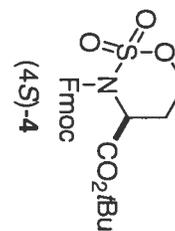


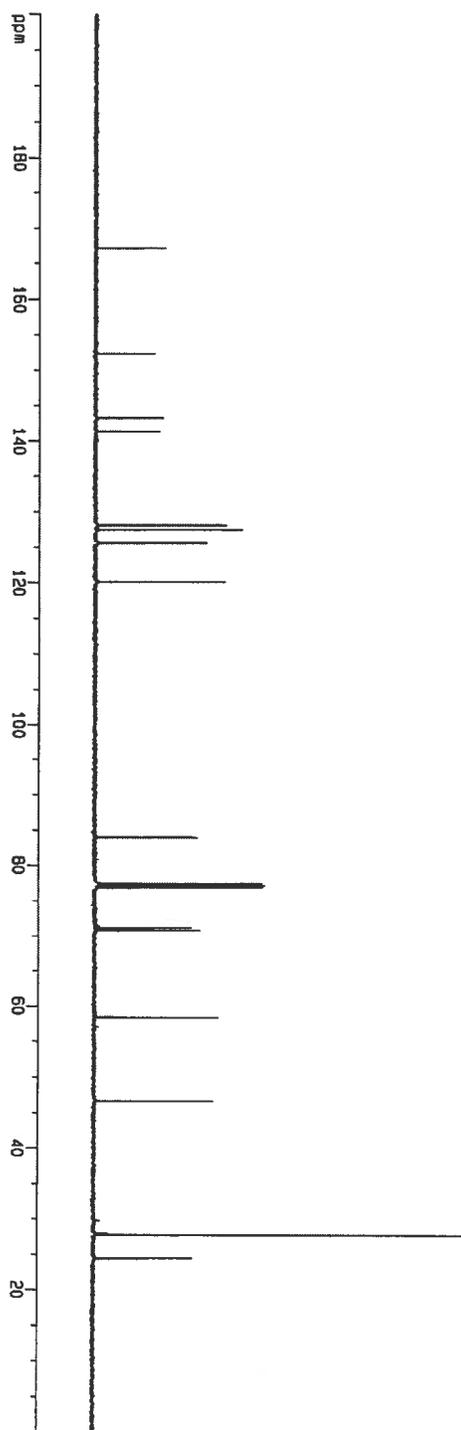
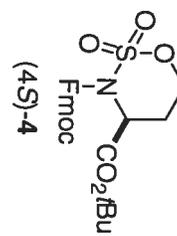


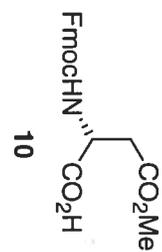
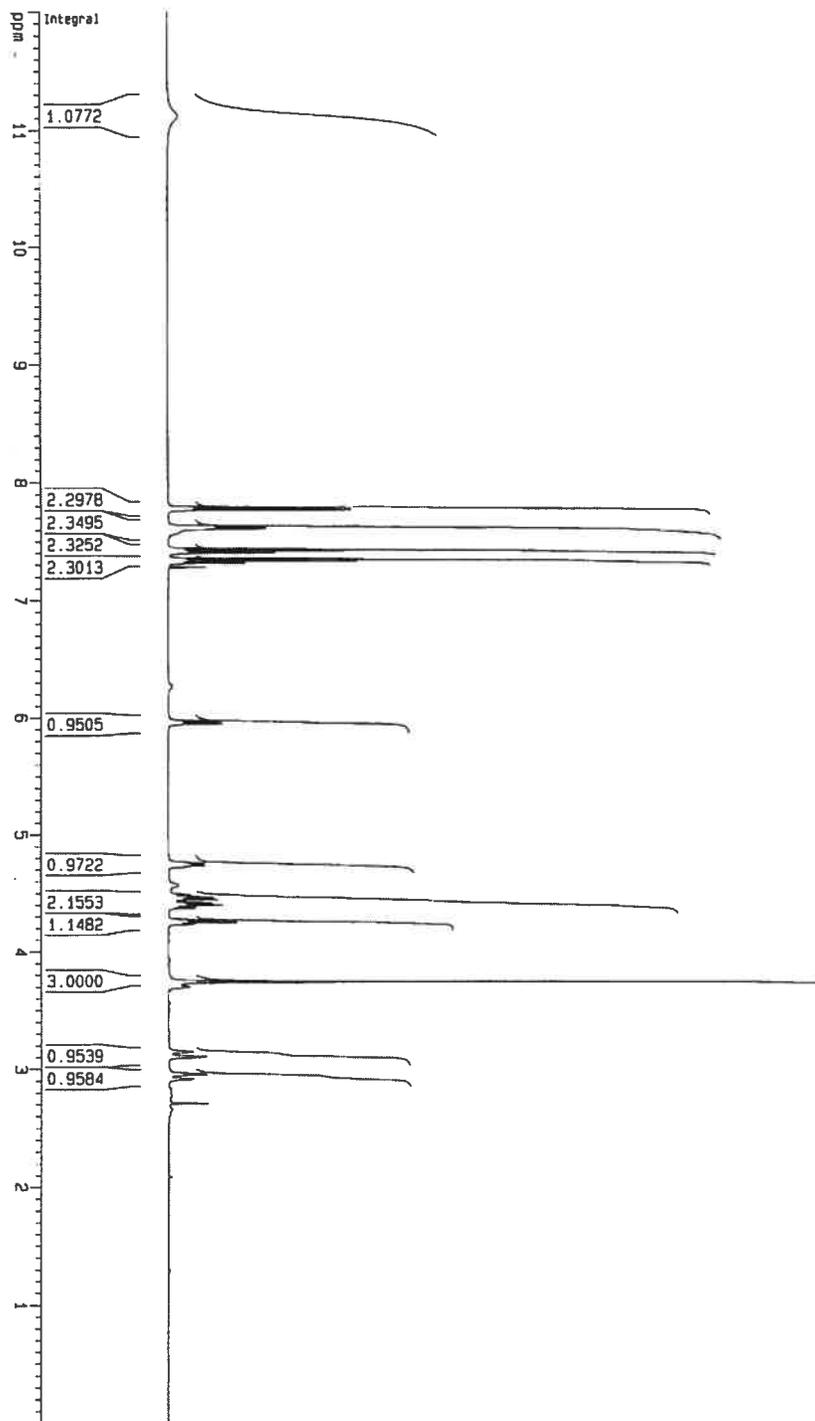


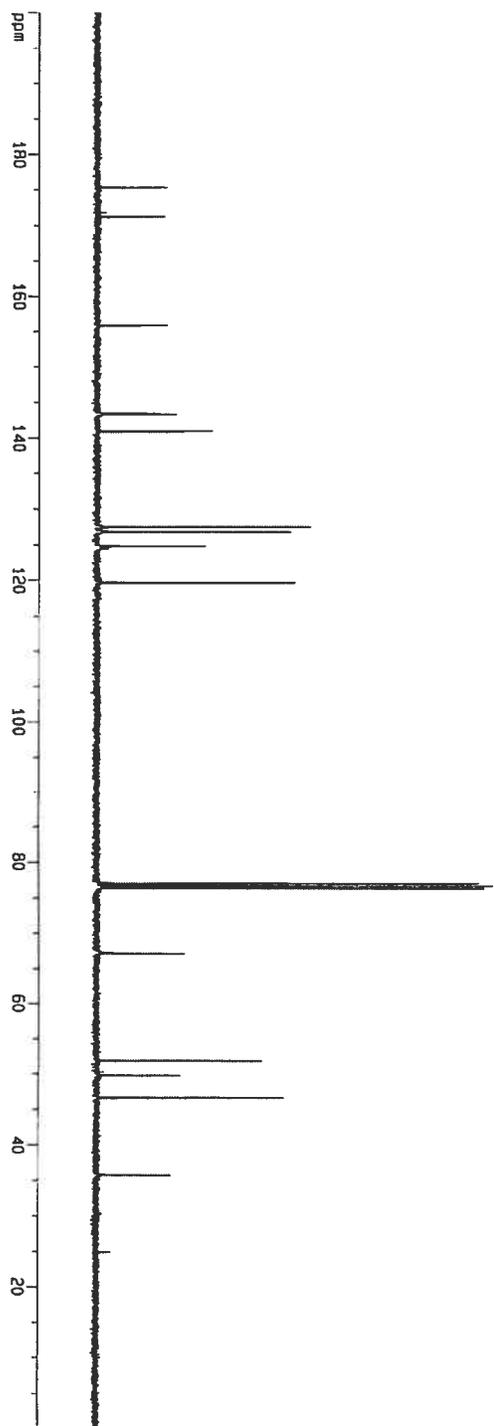
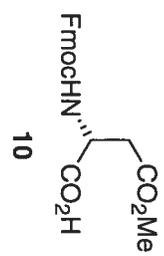


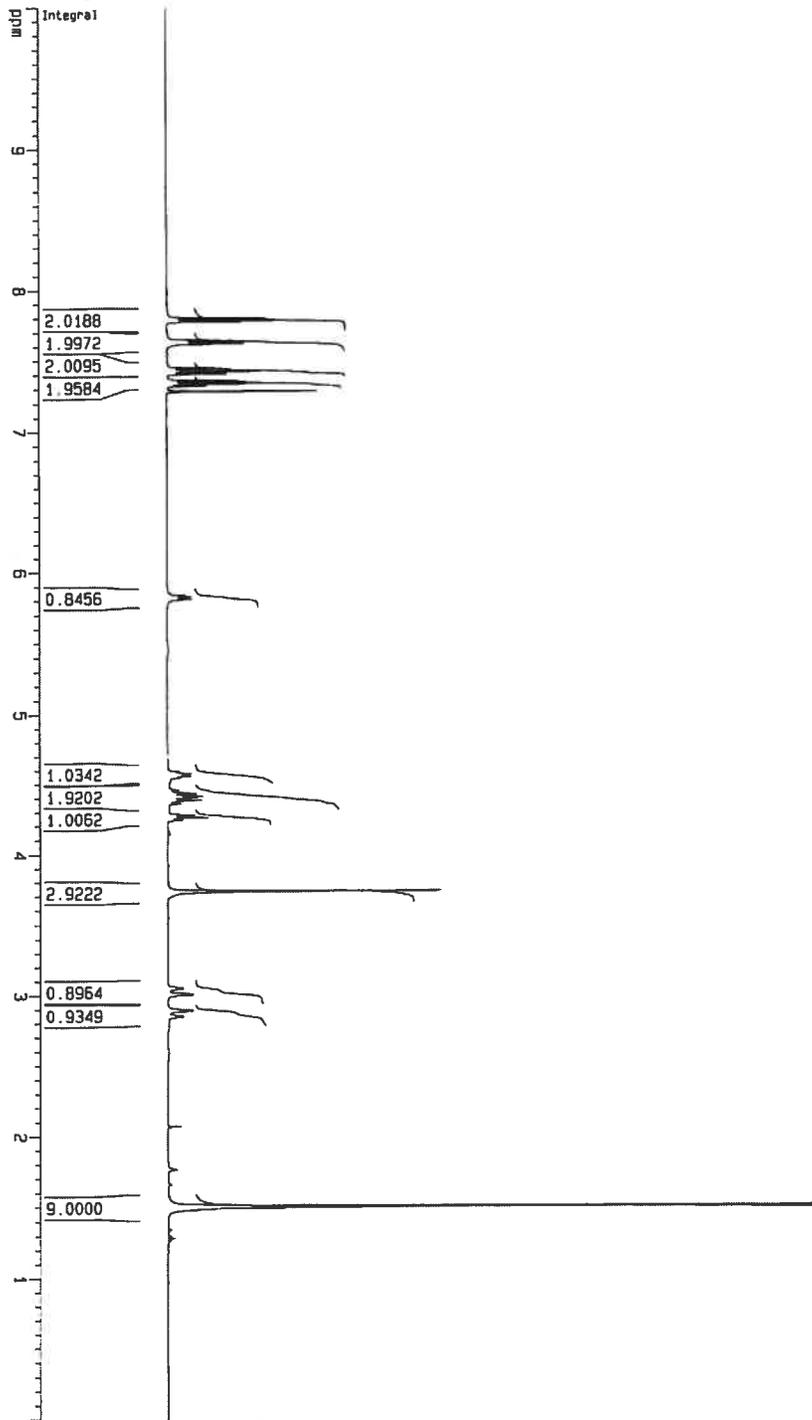
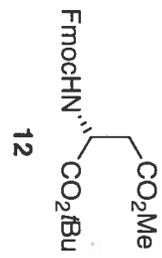


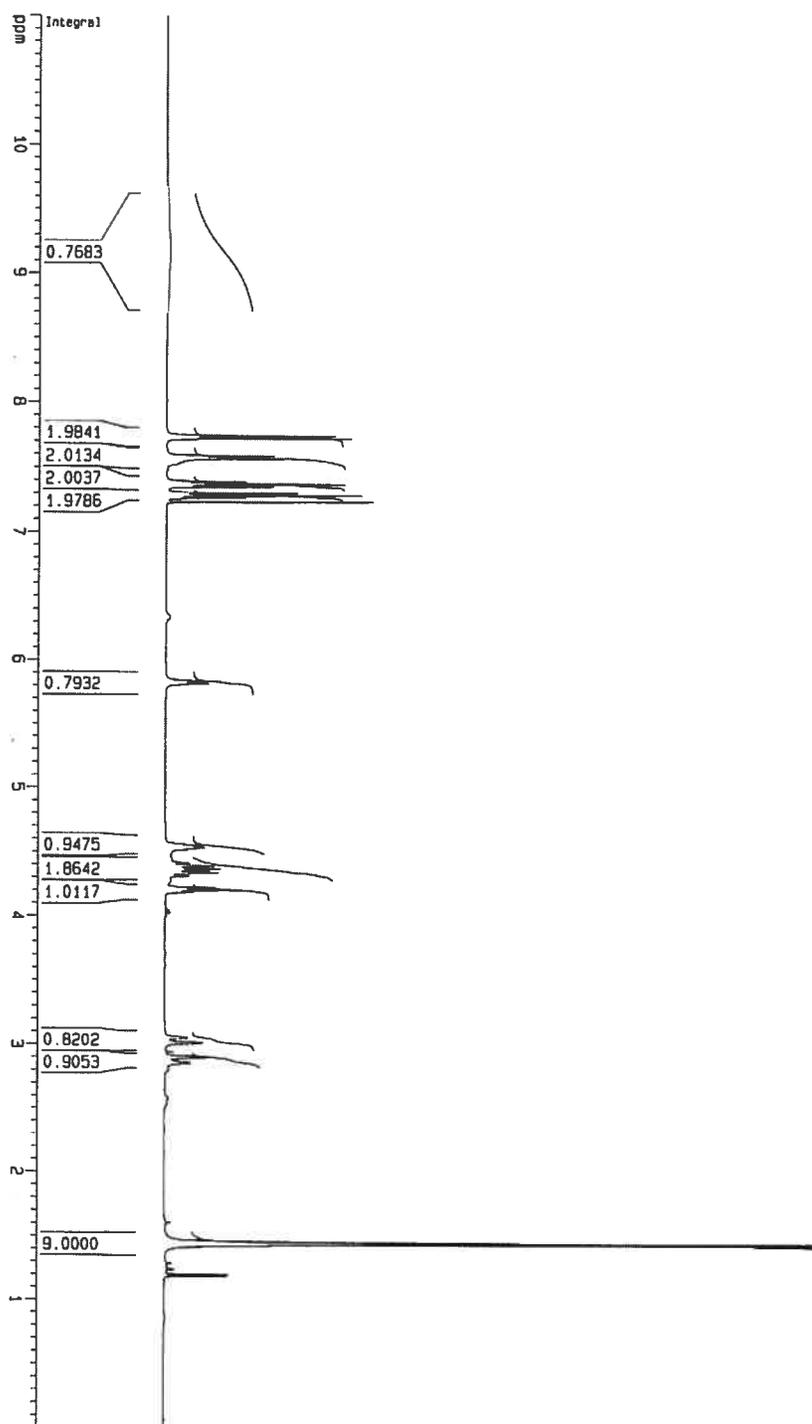
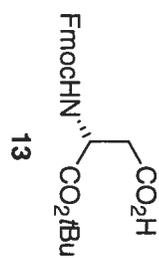


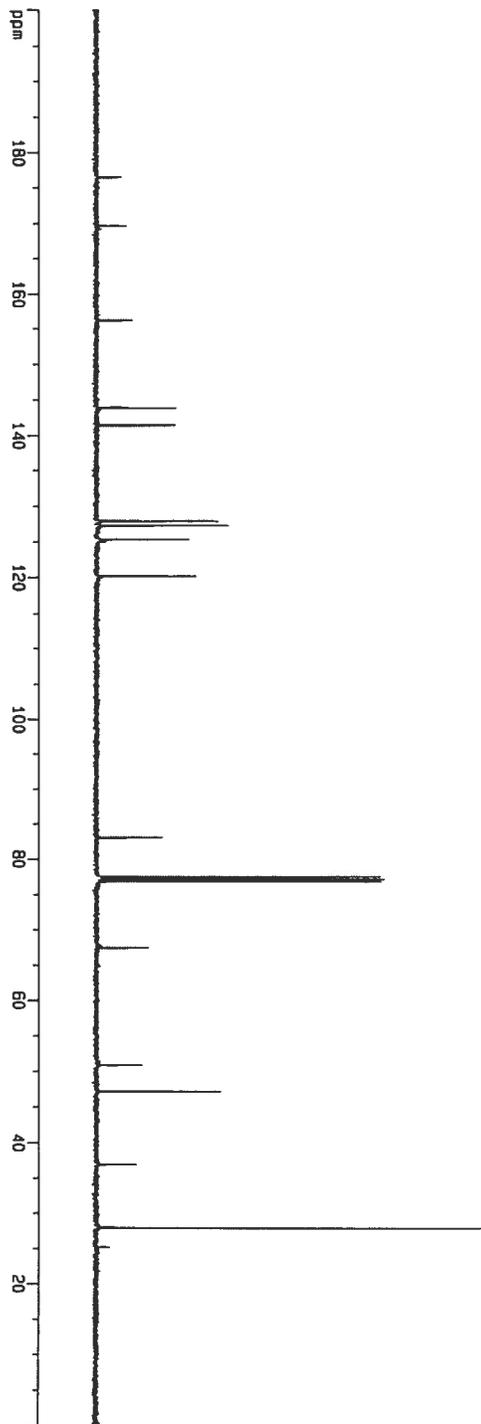
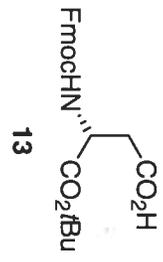


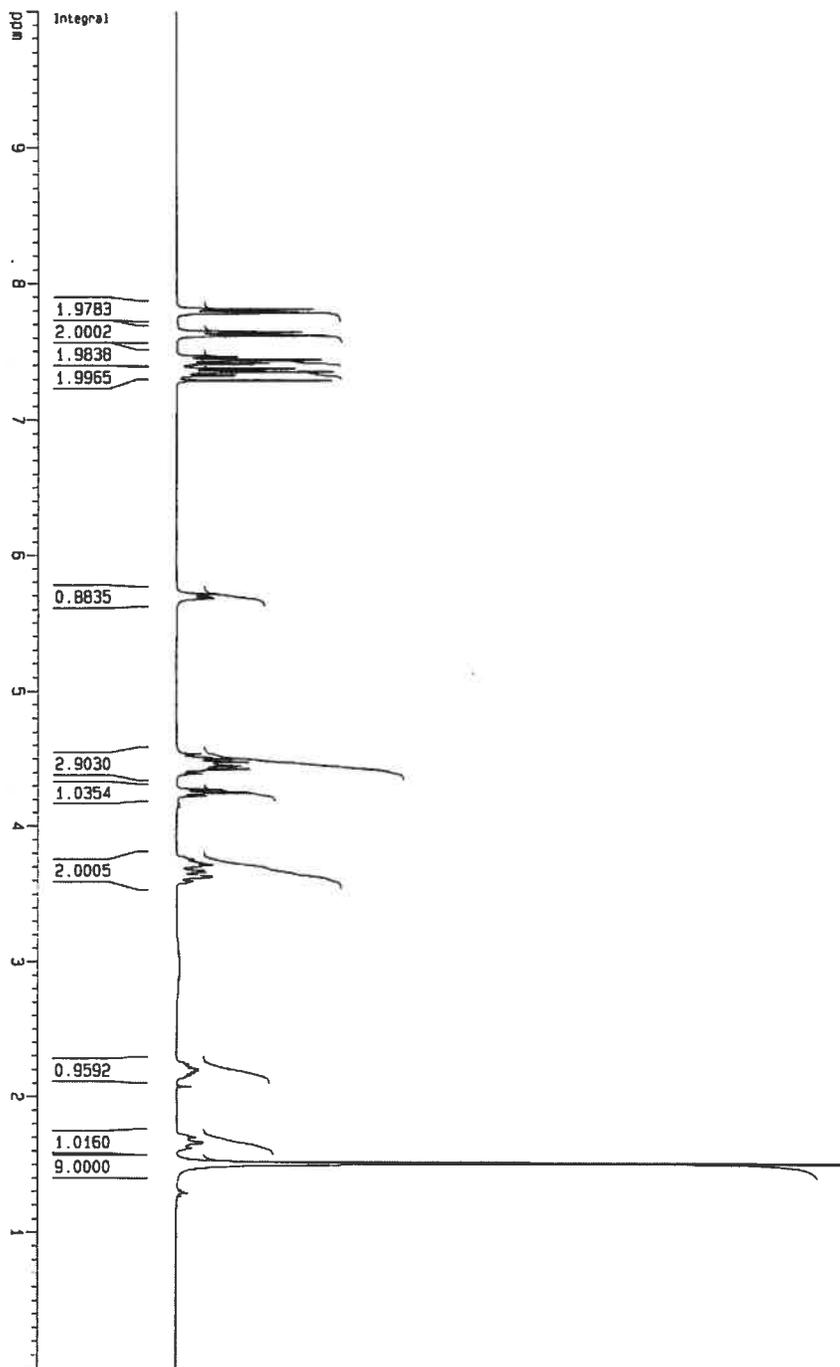
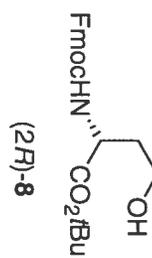


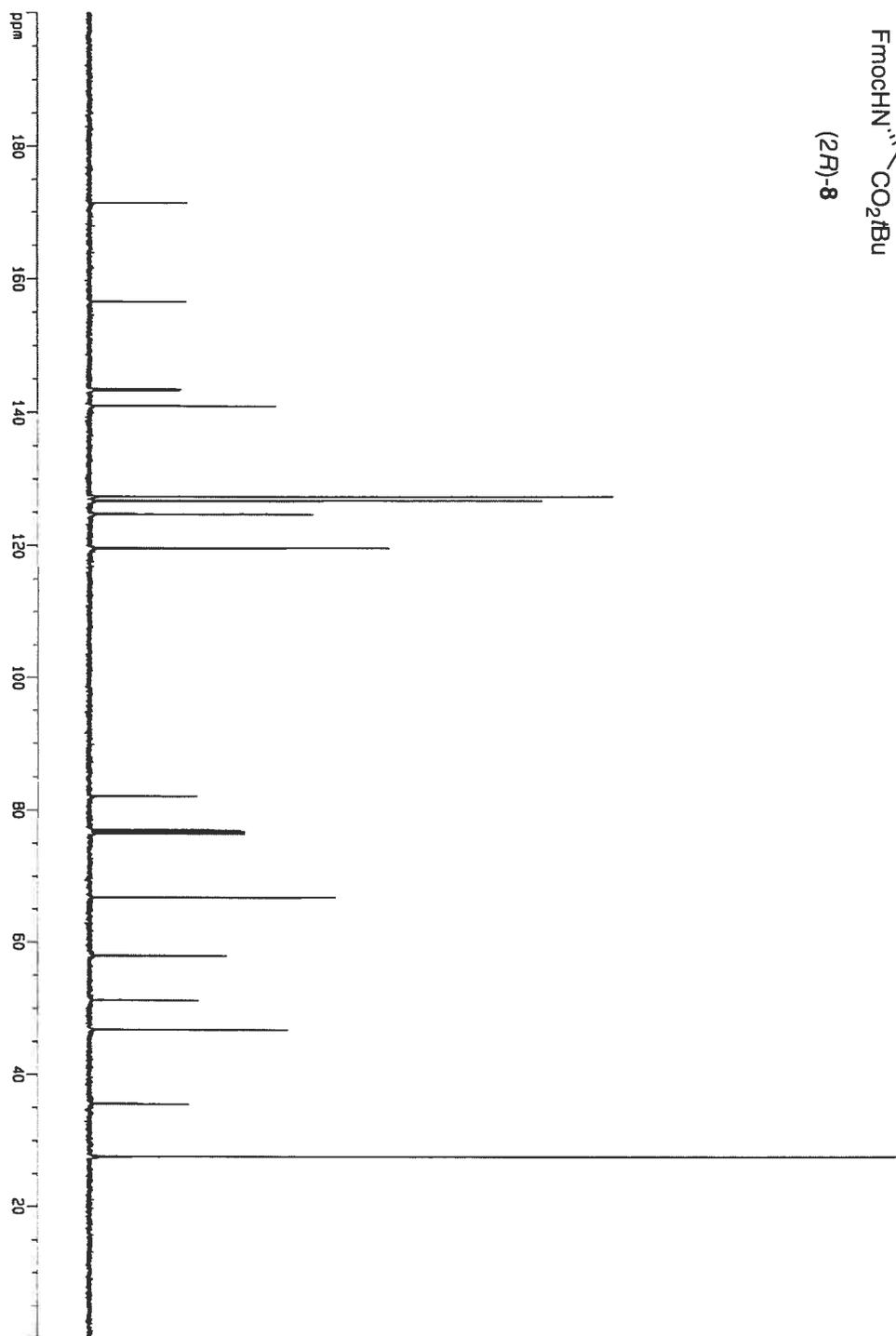
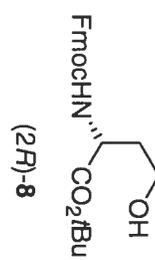


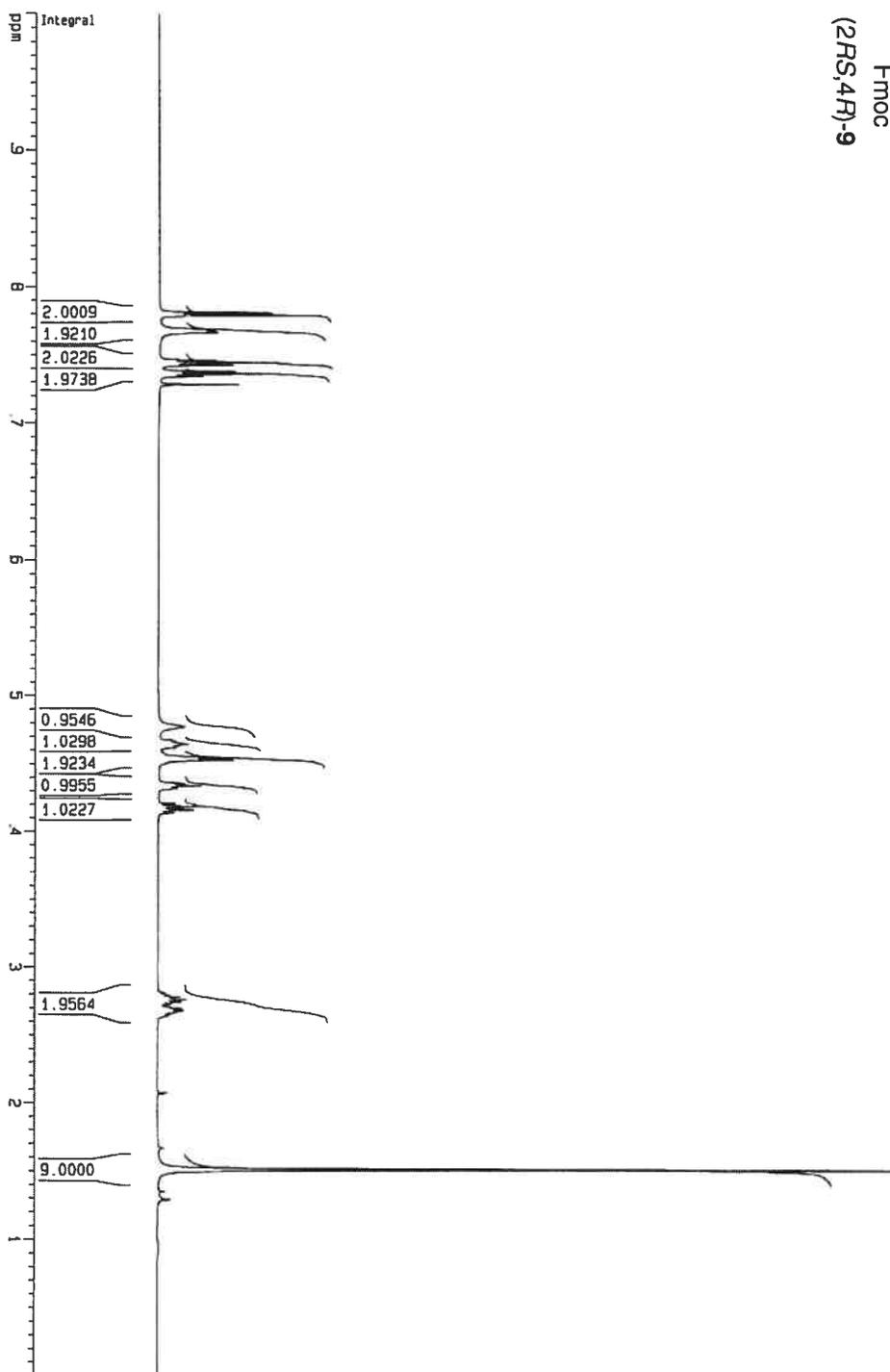
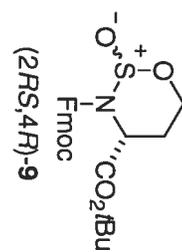


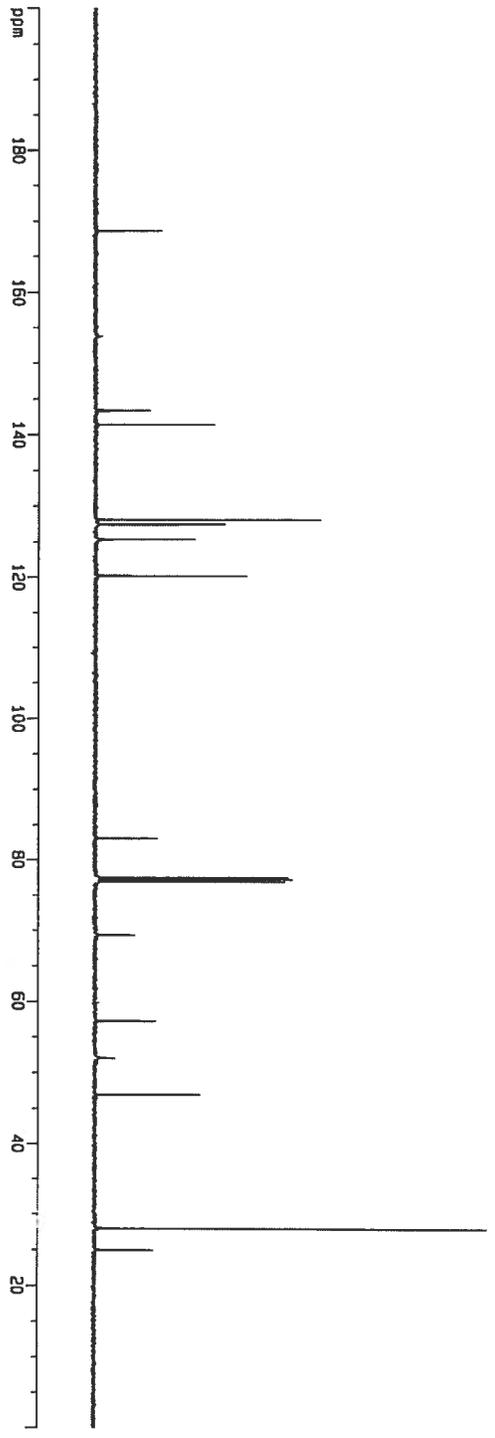
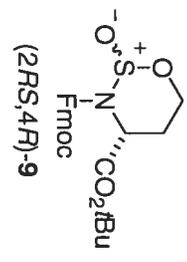


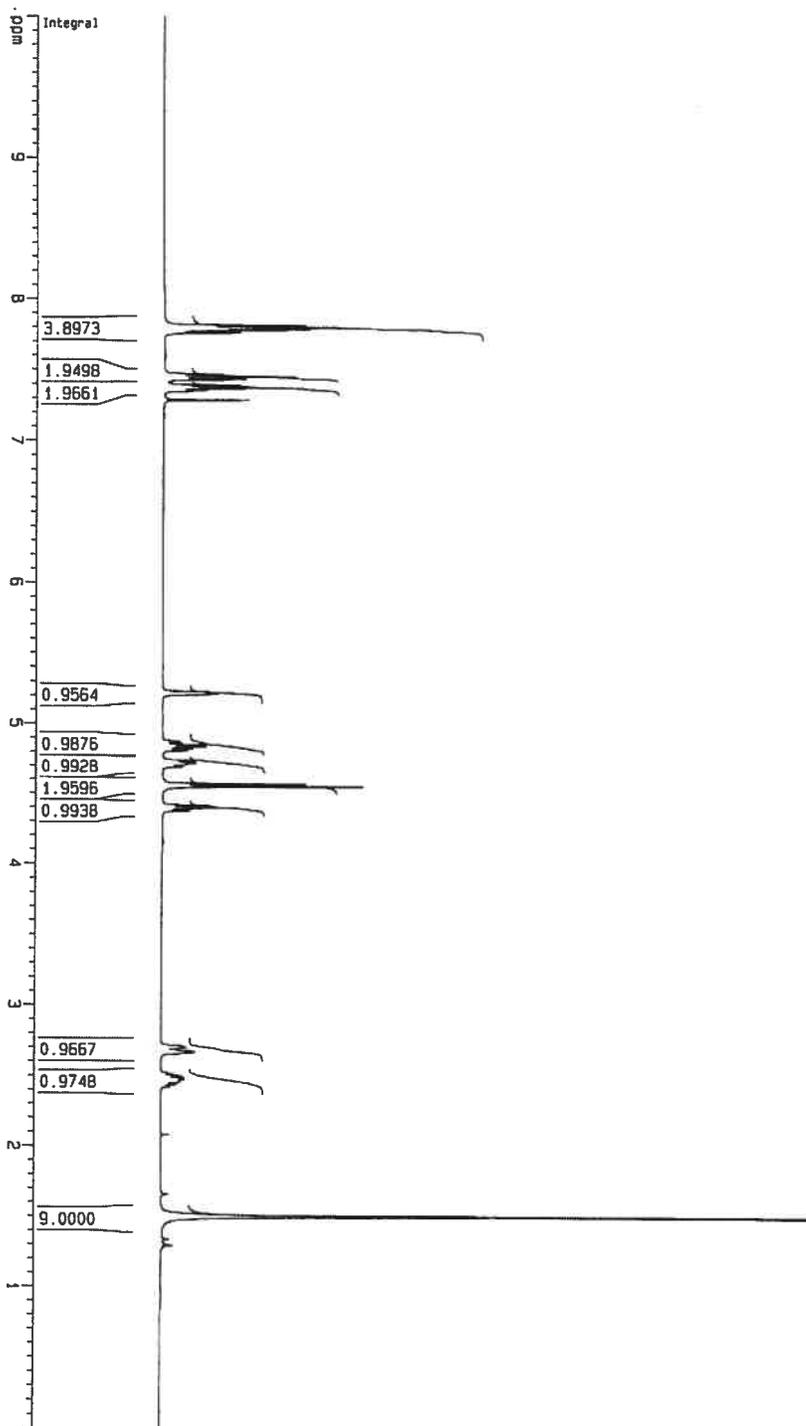
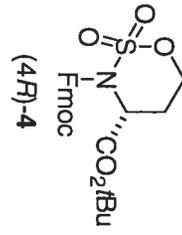


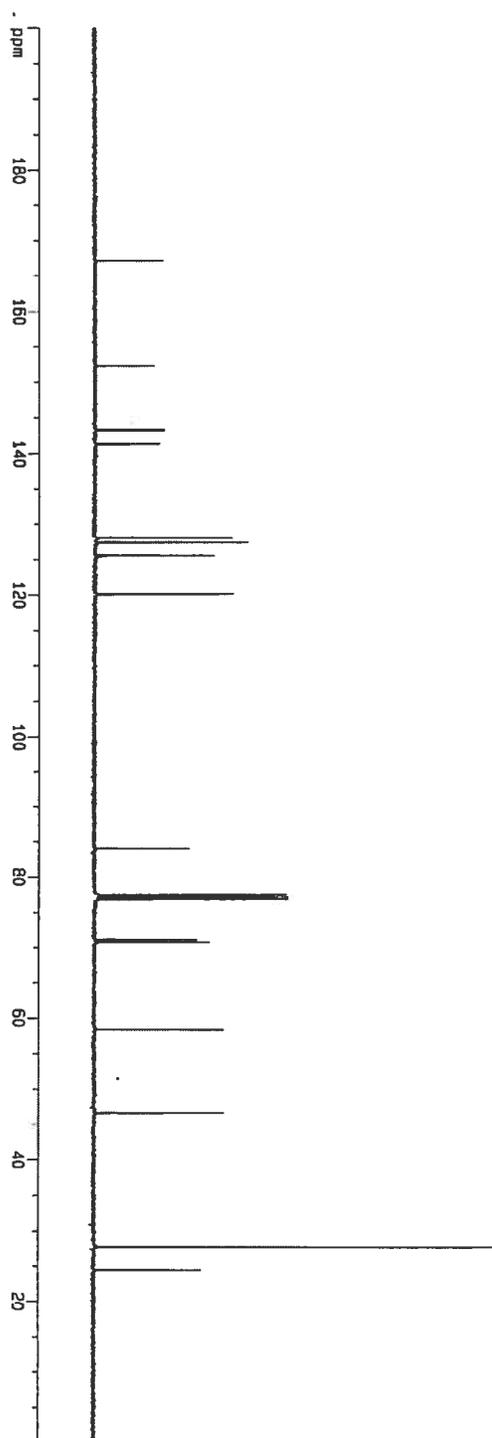
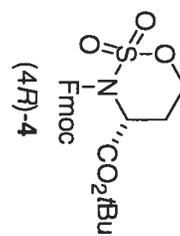


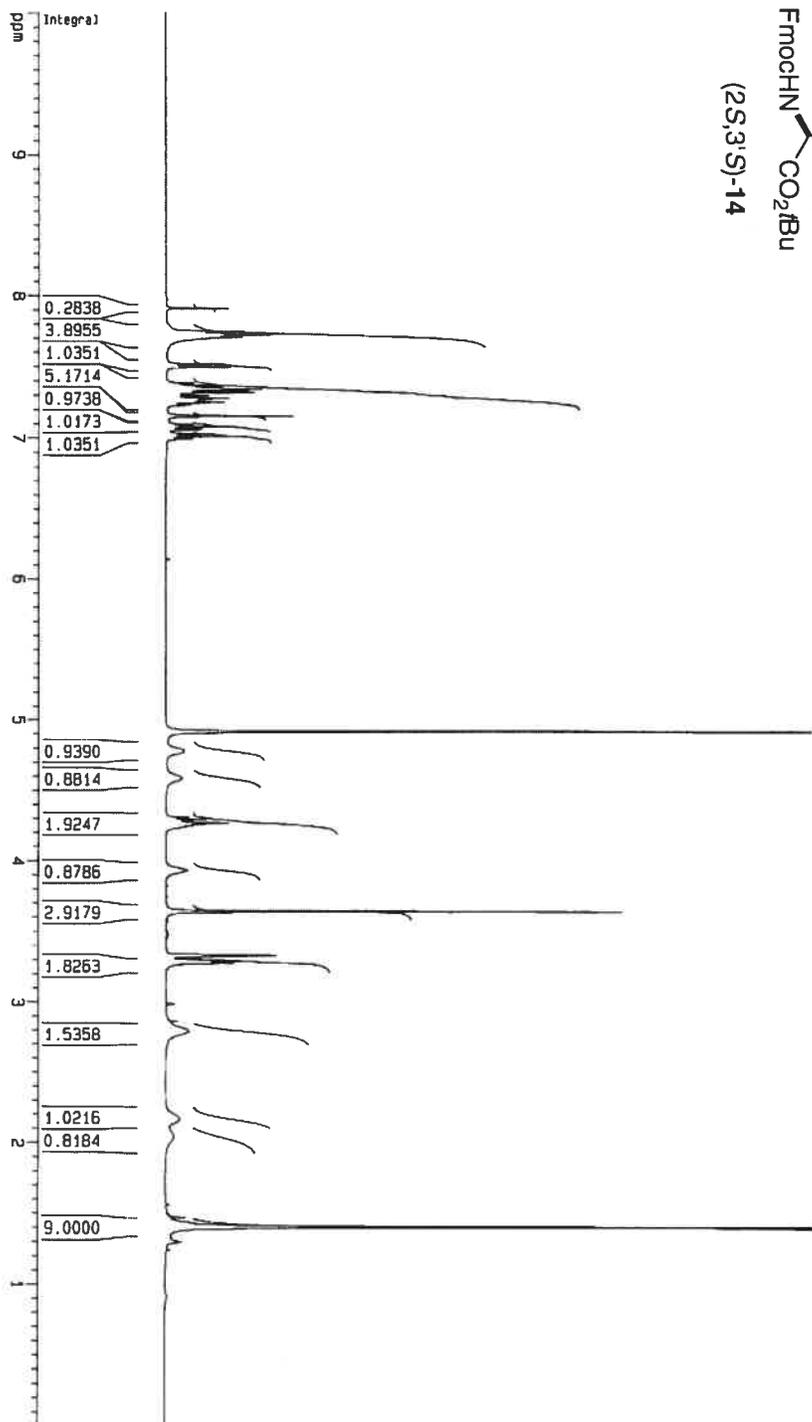
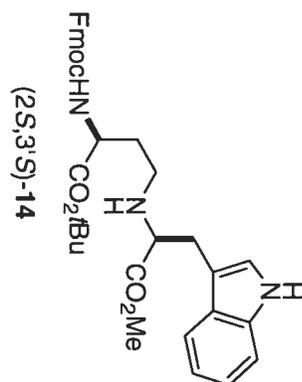


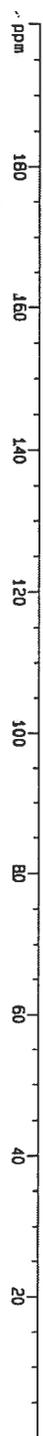
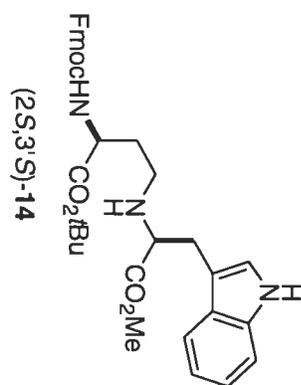


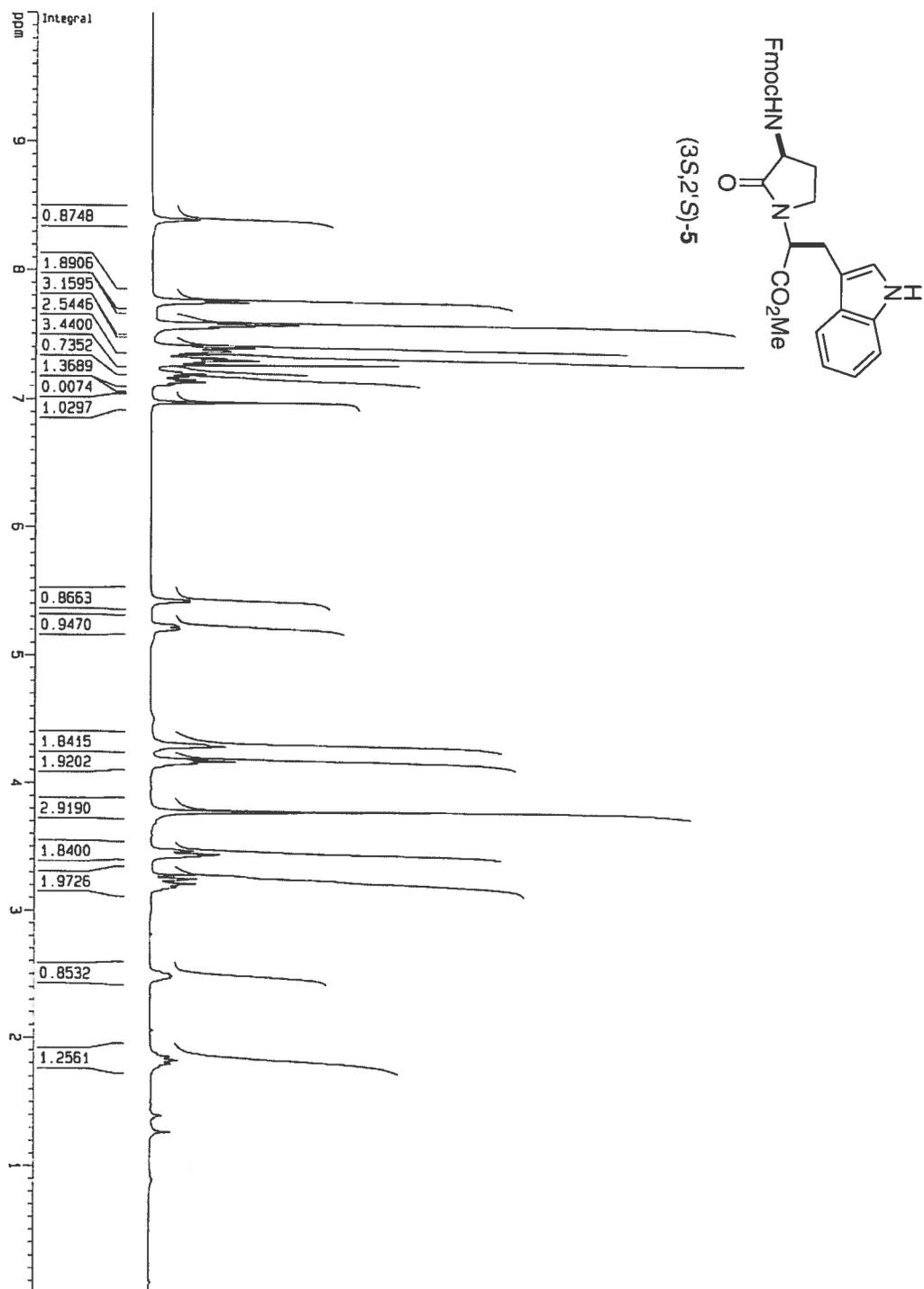


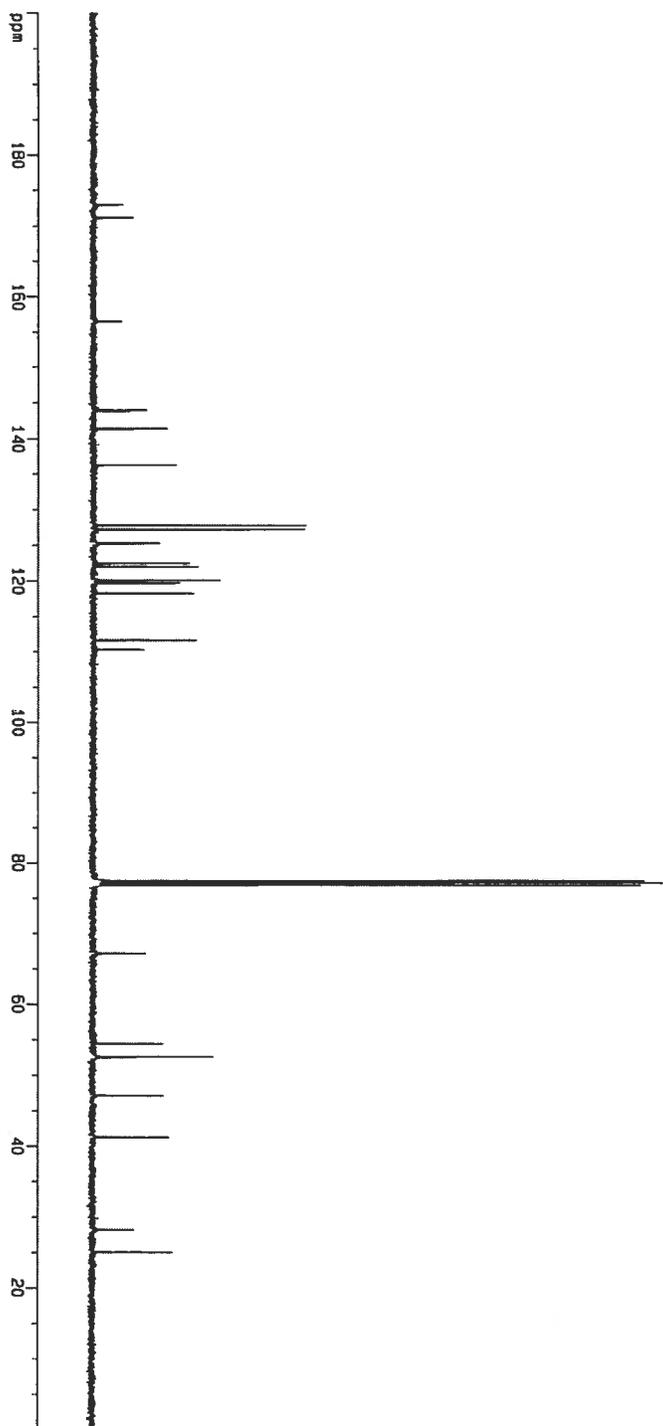
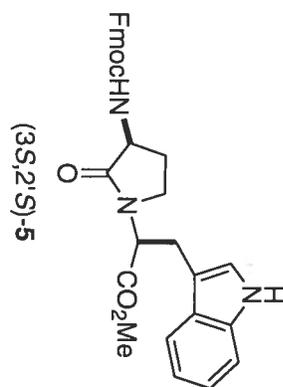


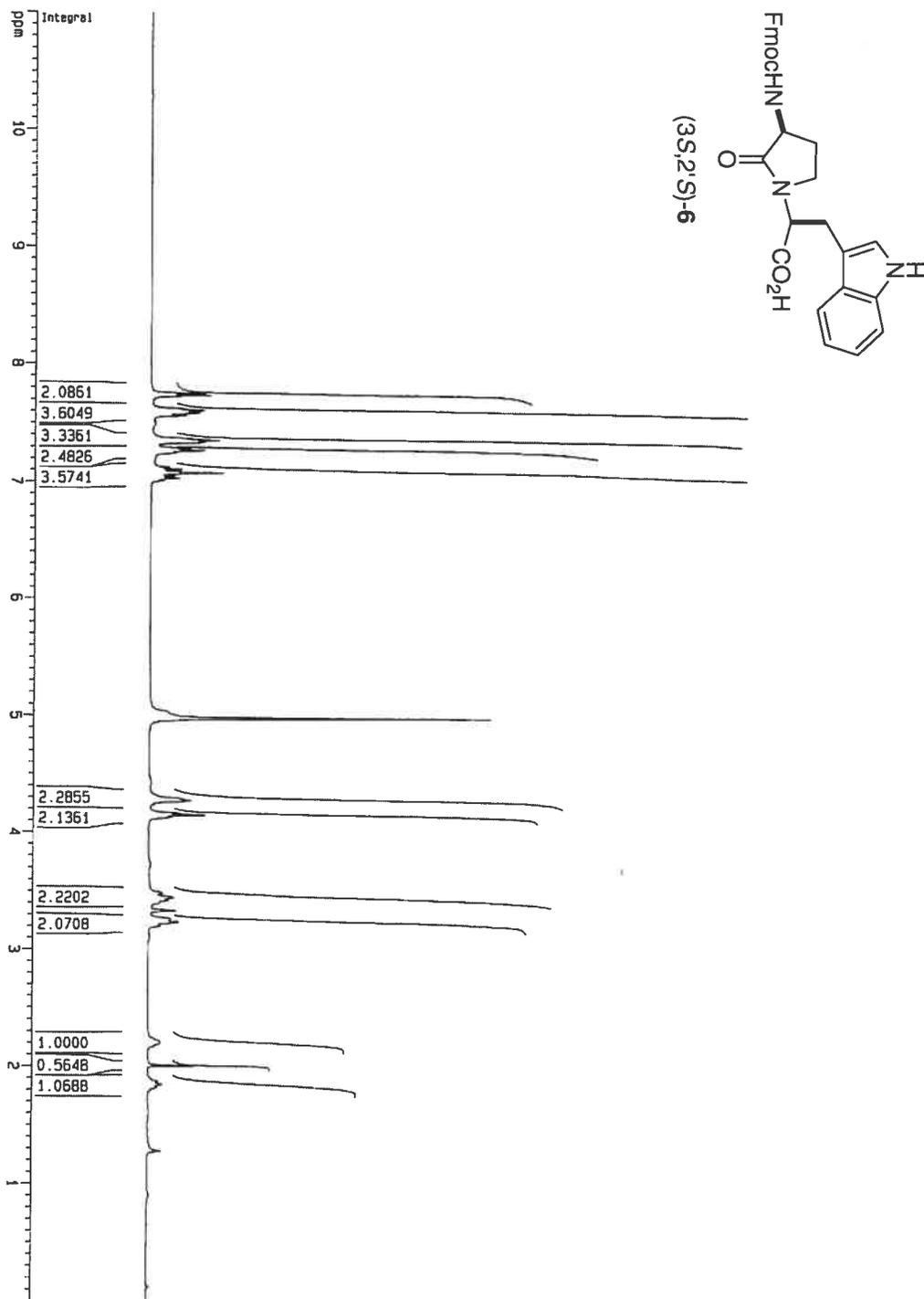


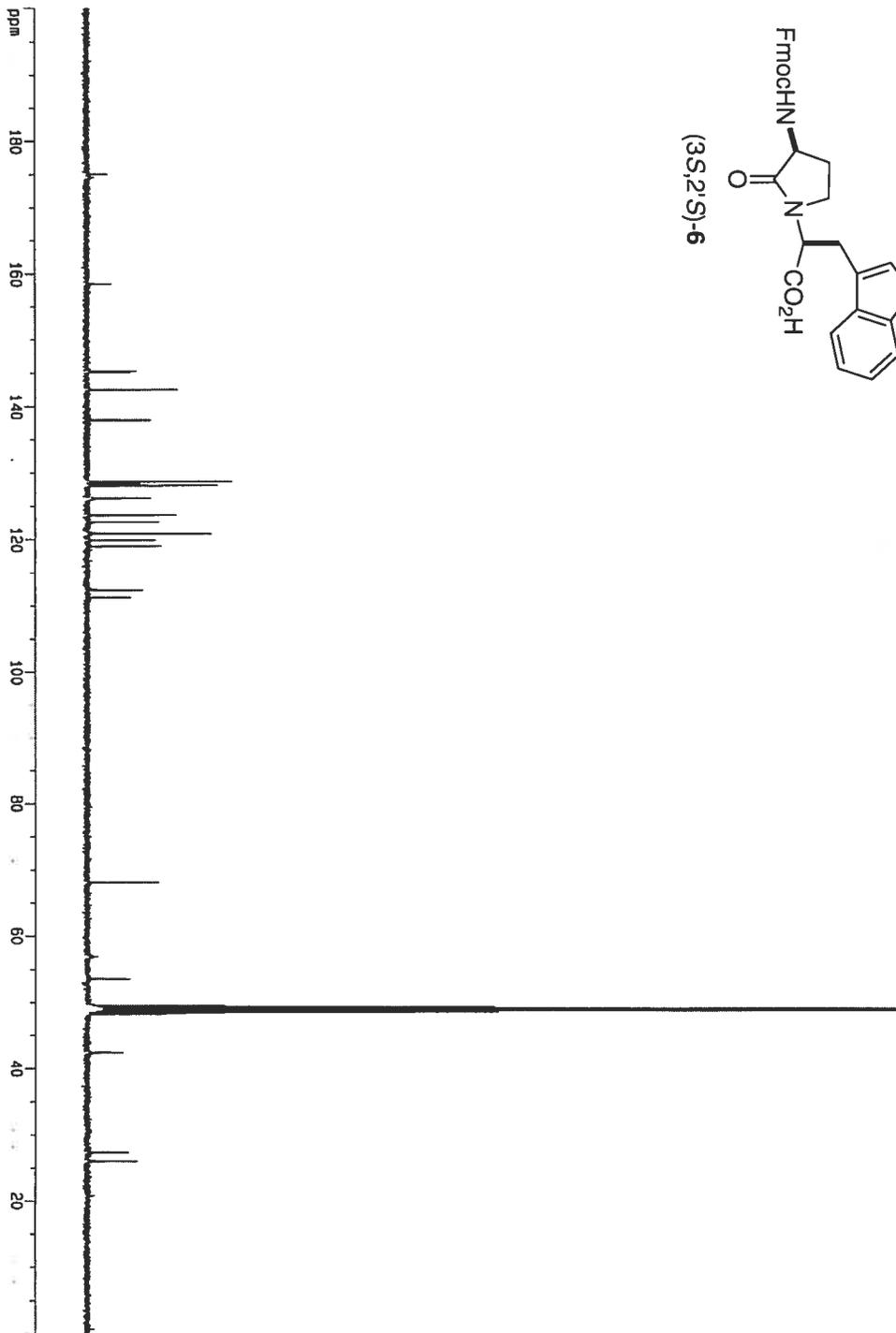
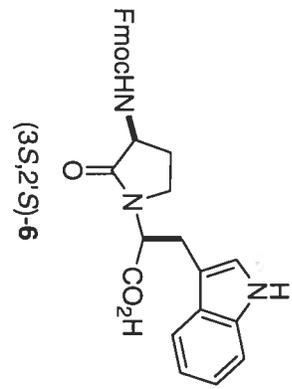


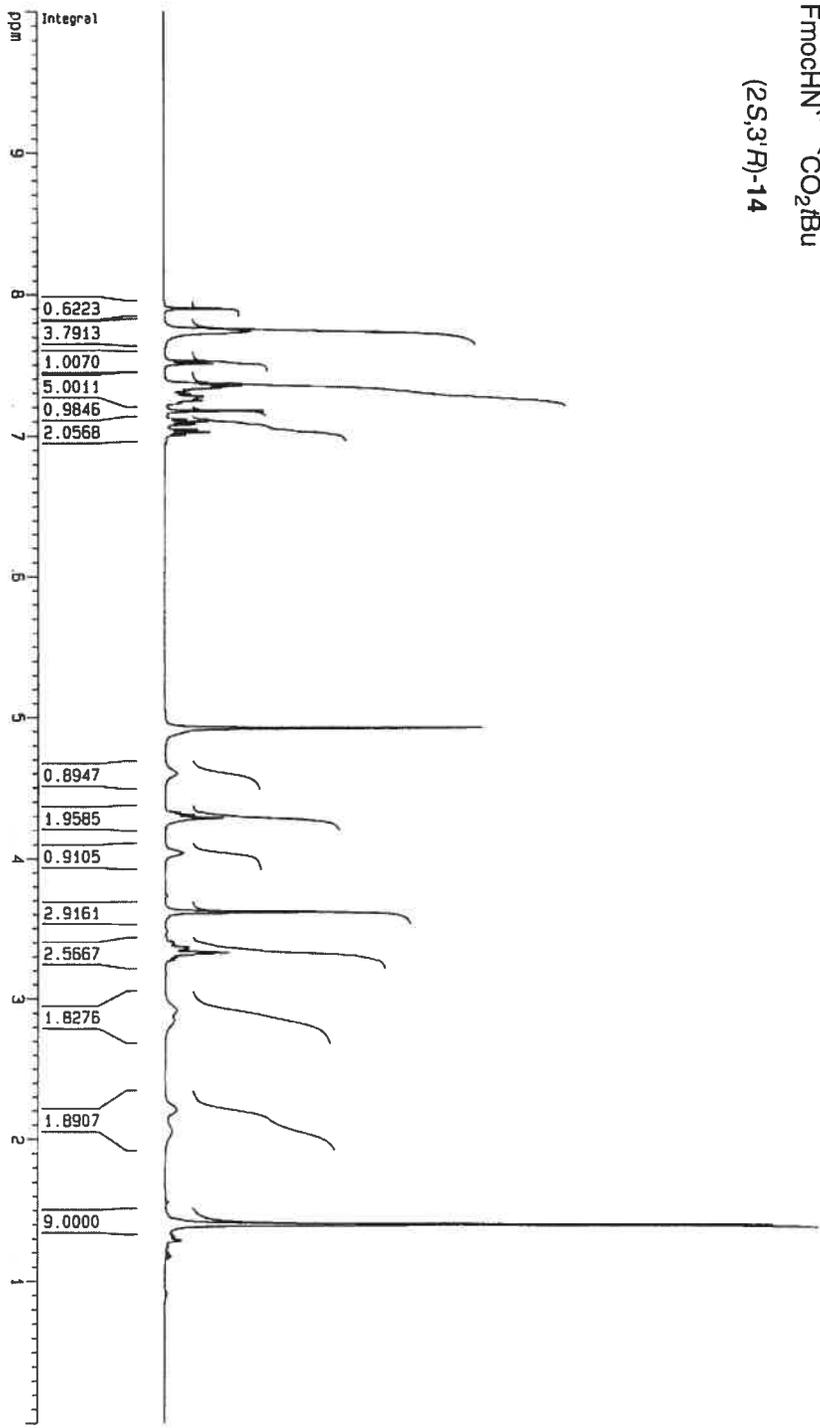
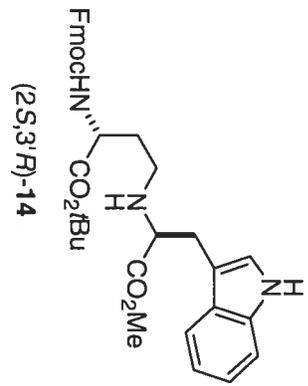


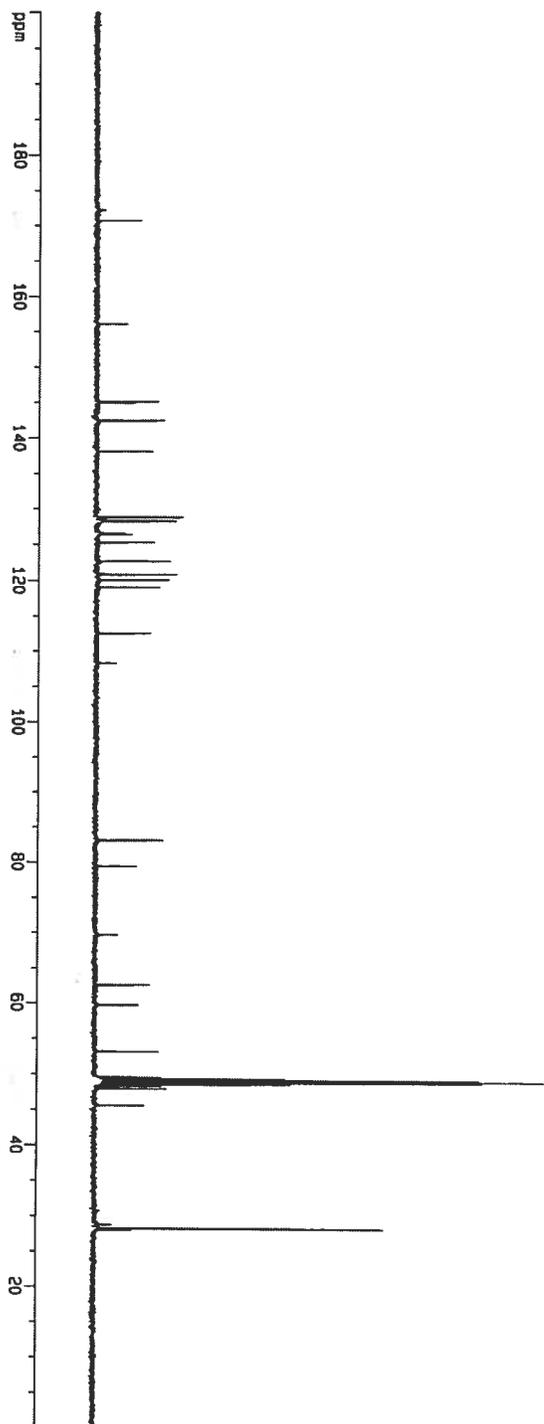
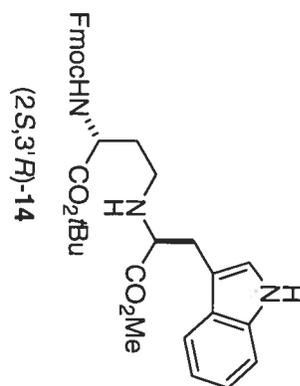


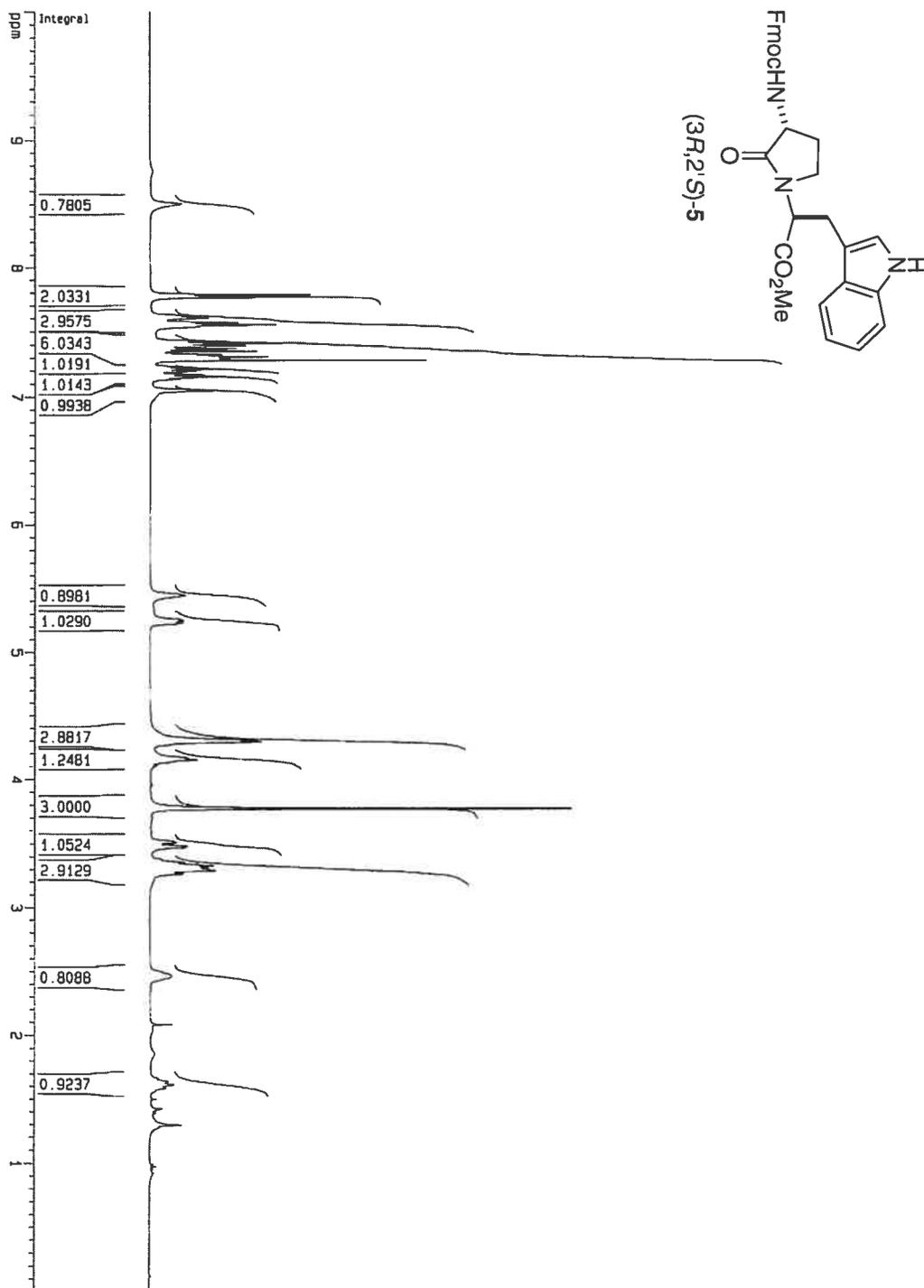


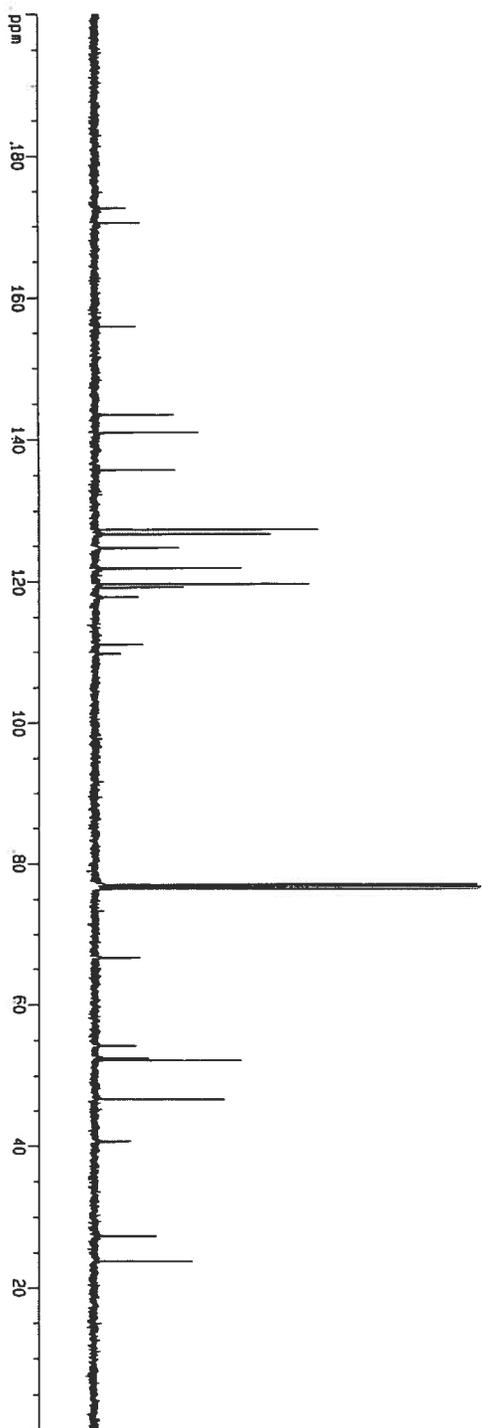
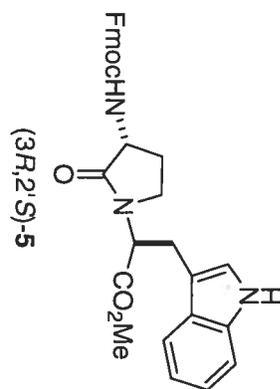


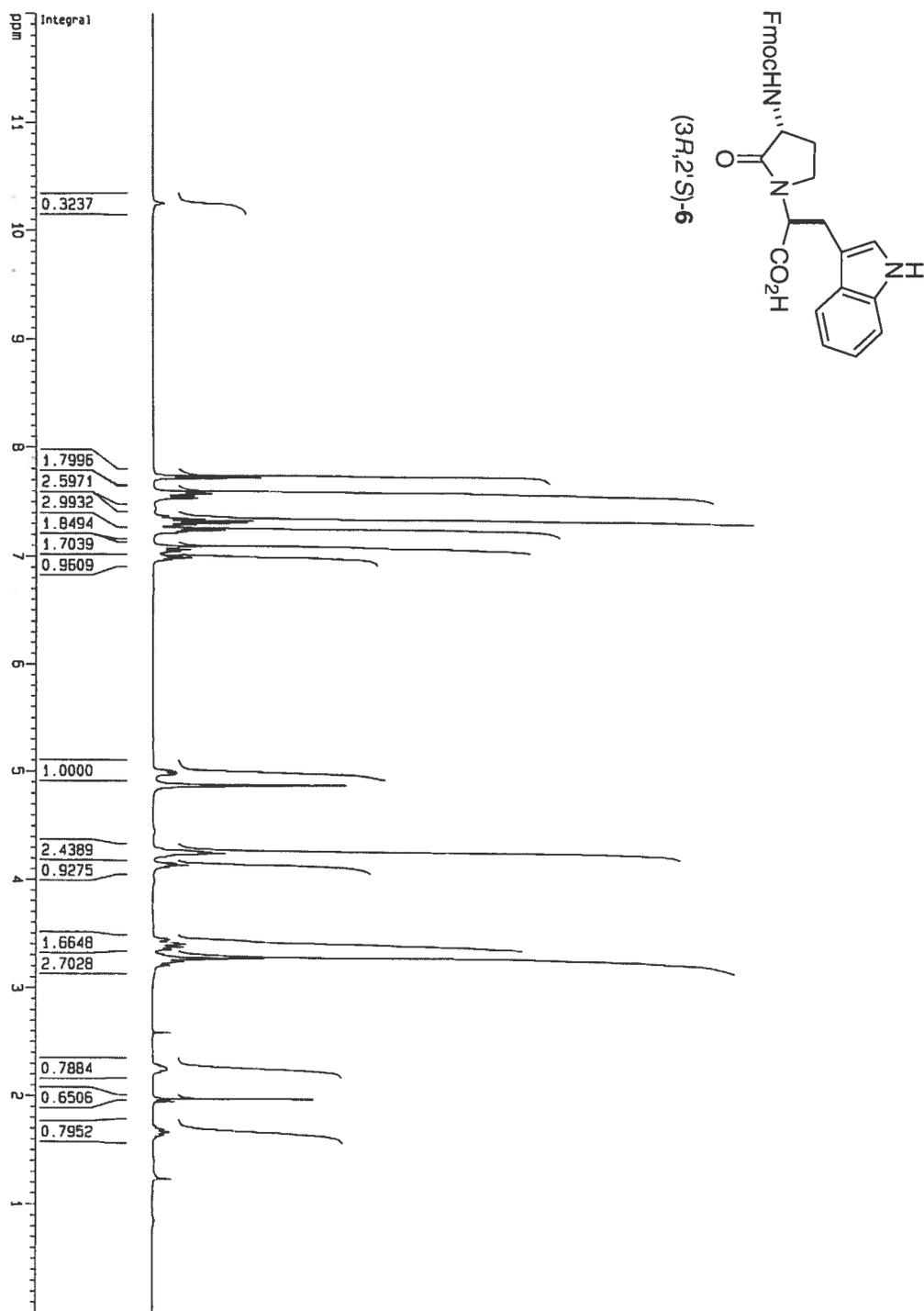


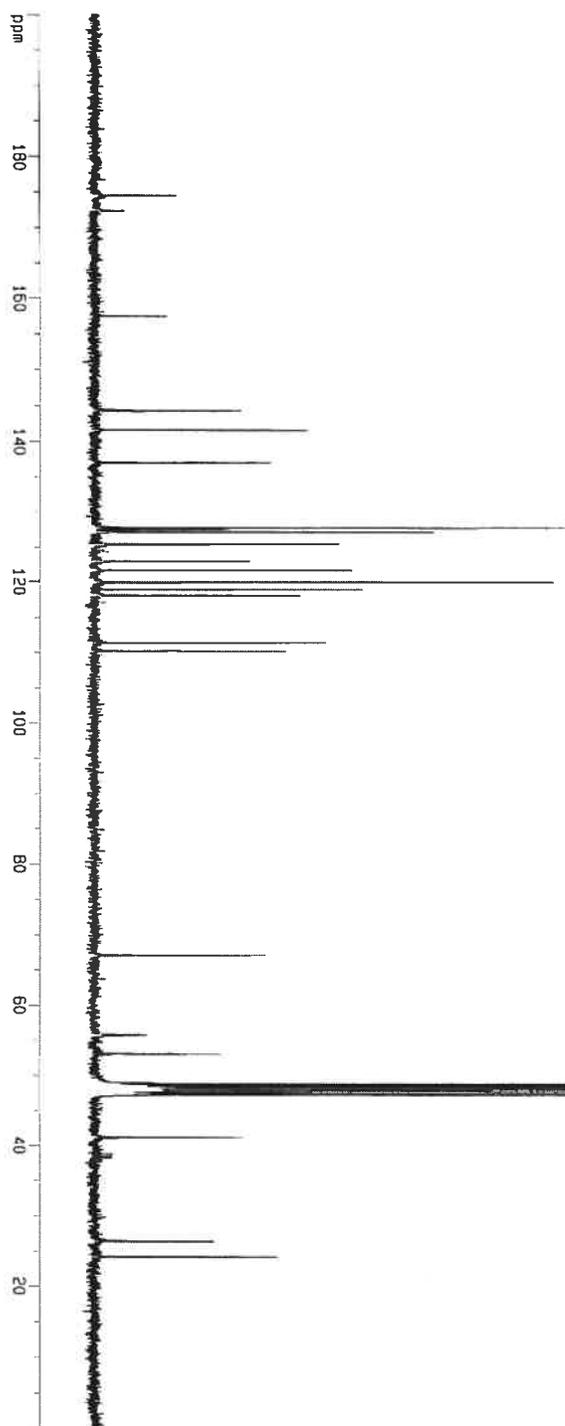
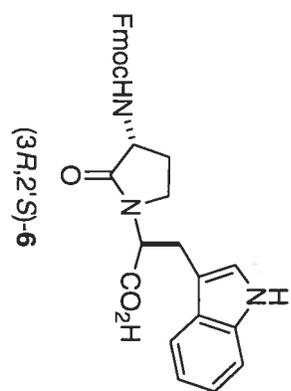












Series: 1303

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 25/01/05 13:13

Reported: 10/05/05 09:11

Processed: 10/05/05 09:09

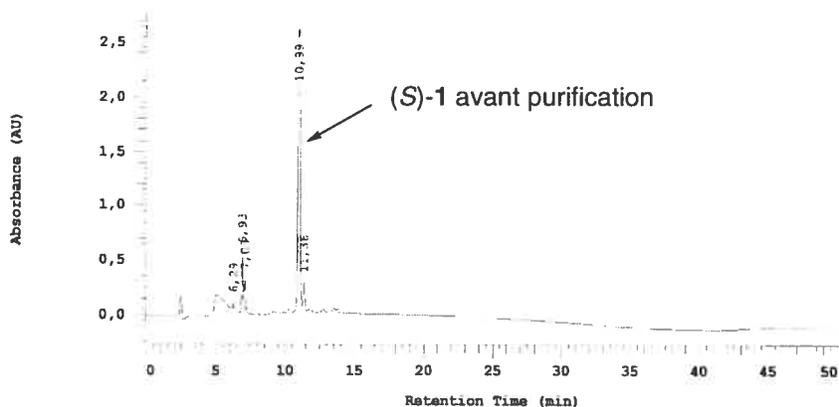
Data Path: D:\WIN32APP\HSM\samples\DATA\1303\

Processing Method :DAM OBTO100B-20min

Sample Name: w104fg55-1

Sample Description:

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm



Acquisition Method:

DAM

Gradient :

OBTO100B-40min

0% B (100% A) to 100% B (0% A) in 40 min then 10 min at 100% B.

(A : H2O 0.1% TFA, B : ACN 0.1% TFA).

Developed by: DAM

Pump A Type: L-7100

Solvent A: H2O 0.1% TFAA

Solvent B: ACN 0.1%TFAB

Solvent C:

Solvent D:

Method Description: Column Luna from Phenomenex gradient  
 (C18, 5µm, 150 x 4.6 mm); 1 ml/min ; 20 min linear gradient 0B-100B 40  
 from A to B then 100% B during 5 min. min\_50min

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: AREA%

No.	RT	Area %
1	6,29	0,792
2	6,93	7,553
3	7,09	5,239
4	10,99	78,648
5	11,36	7,768
		100,000

Peak rejection level: 80000

Series: 1330

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 04/02/05 11:54

Reported: 04/02/05 13:00

Processed: 04/02/05 13:00

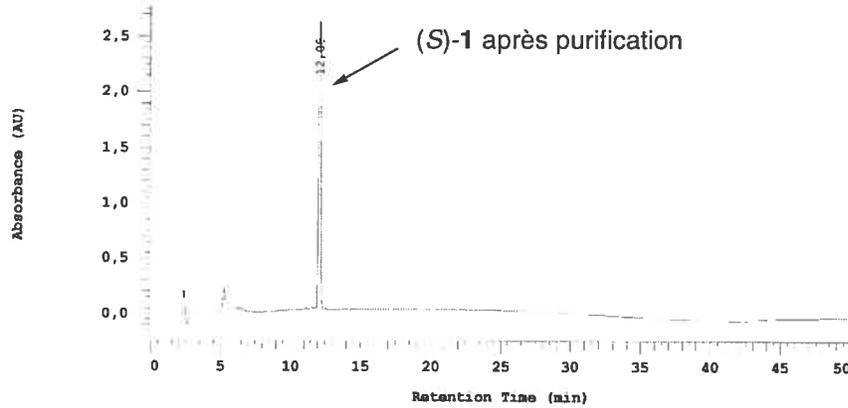
Data Path: D:\WIN32APP\HSM\samples\DATA\1330\

Processing Method :DAM OBTO100B-40min

Sample Name: w104fg55-3

Sample Description:

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm



Acquisition Method:

DAM

Gradient :

OBTO100B-40min

0% B (100% A) to 100% B (0% A) in 40 min then 10 min at 100% B.

(A : H2O 0.1% TFA, B : ACN 0.1% TFA).

Developed by: DAM

Pump A Type: L-7100

Solvent A: H2O 0.1% TFAA

Solvent B: ACN 0.1%TFAB

Solvent C:

Solvent D:

Method Description: gradient OB-100B\_40 min\_50min

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm

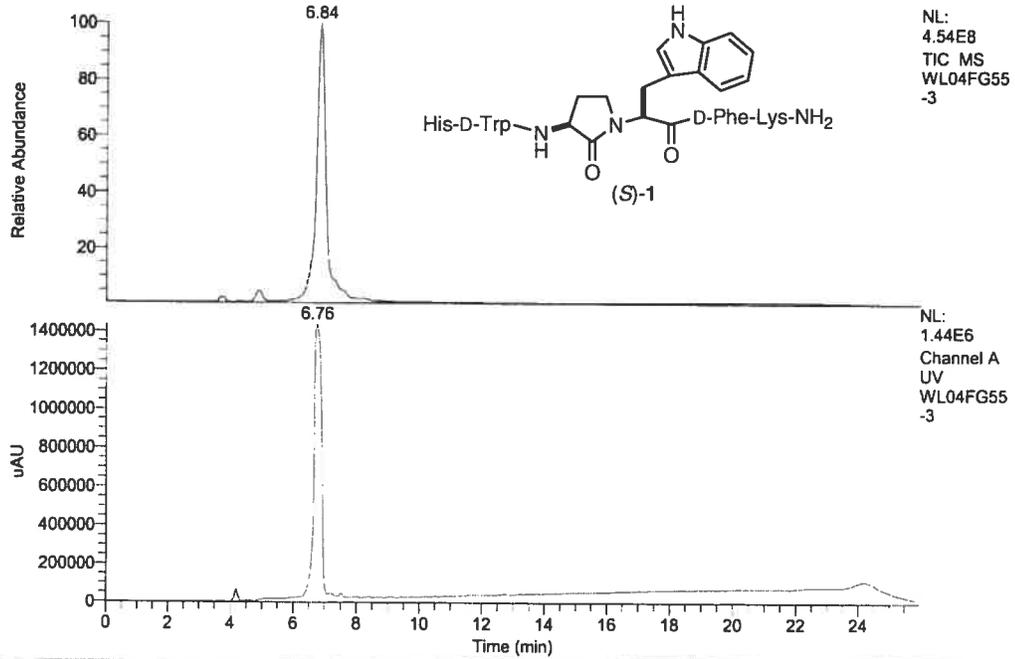
Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: AREA%

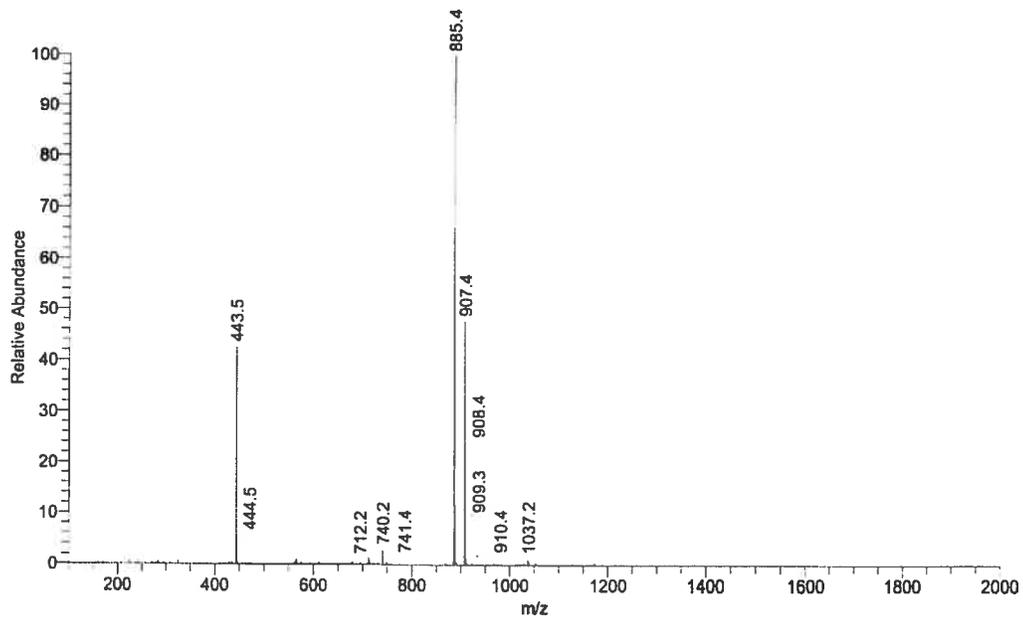
No.	RT	Area %
1	12,08	100,000
		100,000

Peak rejection level: 80000

C:\Ana LCMSDATA\WL04FG55-3 02/04/2005 12:35:40 PM  
 20-80B% , A=H2O, B=ACN, Flow=0.5 ml/min, inj vol :10uL, col:C18 150x4.6mm, Channel A =214, B=254, C =280  
 RT: 0.00 - 25.99 SM: 7B



WL04FG55-3 #243 RT: 6.84 AV: 1 SB: 15 1.12-1.23, 1.54-1.80 NL: 1.54E8  
 T: + c ESI Full ms [ 100.00-2000.00]



Series: 1438

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 10/05/05 13:13

Reported: 10/05/05 14:21

Processed: 10/05/05 14:20

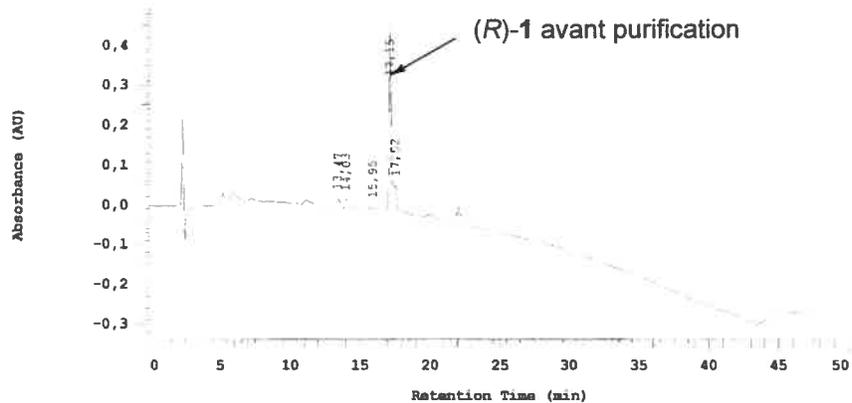
Data Path: D:\WIN32APP\HSM\samples\DATA\1438\

Processing Method :DAM OBTO100B-40min

Sample Name: wl04fg108-1

Sample Description:

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm



Acquisition Method:

Gradient :

0% B (100% A) to 100% B (0% A) in 40 min then 10 min at 100% B.

(A : H2O 0.1% TFA, B : ACN 0.1% TFA).

DAM

OBTO100B-40min

Developed by: DAM

Pump A Type: I-7100

Solvent A: H2O 0.1% TFAA

Solvent C:

Method Description: gradient OB-100B\_40 min\_50min

Solvent B: ACN 0.1%TFAB

Solvent D:

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: AREA%

No.	RT	Area %
1	13,47	4,422
2	14,03	6,964
3	15,95	8,187
4	17,15	77,426
5	17,52	3,001
		100,000

Peak rejection level: 80000

Series: 1384

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 21/04/05 16:46

Reported: 21/04/05 17:25

Processed: 21/04/05 17:12

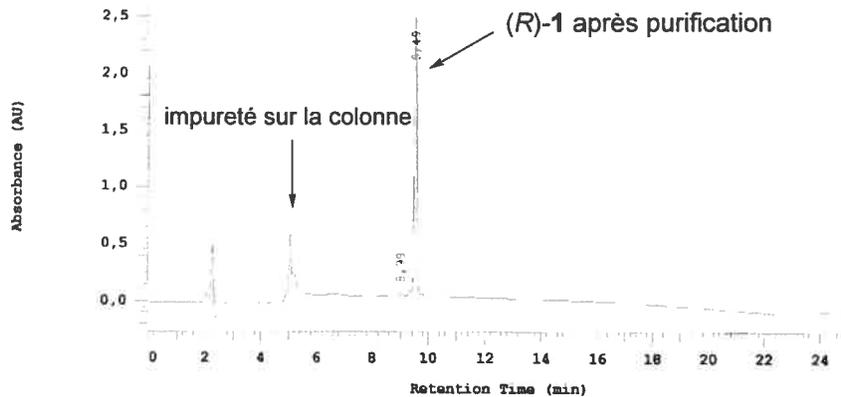
Data Path: D:\WIN32APP\HSM\samples\DATA\1384\

Processing Method :DAM OBTO100B-20min

Sample Name: w104fg108-IIa

Sample Description:

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm



Acquisition Method:

Gradient :

0% B (100% A) to 100% B (0% A) in 40 min then 10 min at 100% B.

(A : H2O 0.1% TFA, B : ACN 0.1% TFA).

DAM

OBTO100B-20min

Developed by: DAM

Pump A Type: L-7100

Solvent A: H2O 0.1% TFAA

Solvent C:

Solvent B: ACN 0.1%TFAB

Solvent D:

Method Description: Column Luna from Phenomenex gradient  
 (C18, 5µm, 150 x 4.6 mm); 1 ml/min ; 20 min linear gradient OB-100B 20  
 from A to B then 100% B during 5 min. min-25min

Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 214 nm

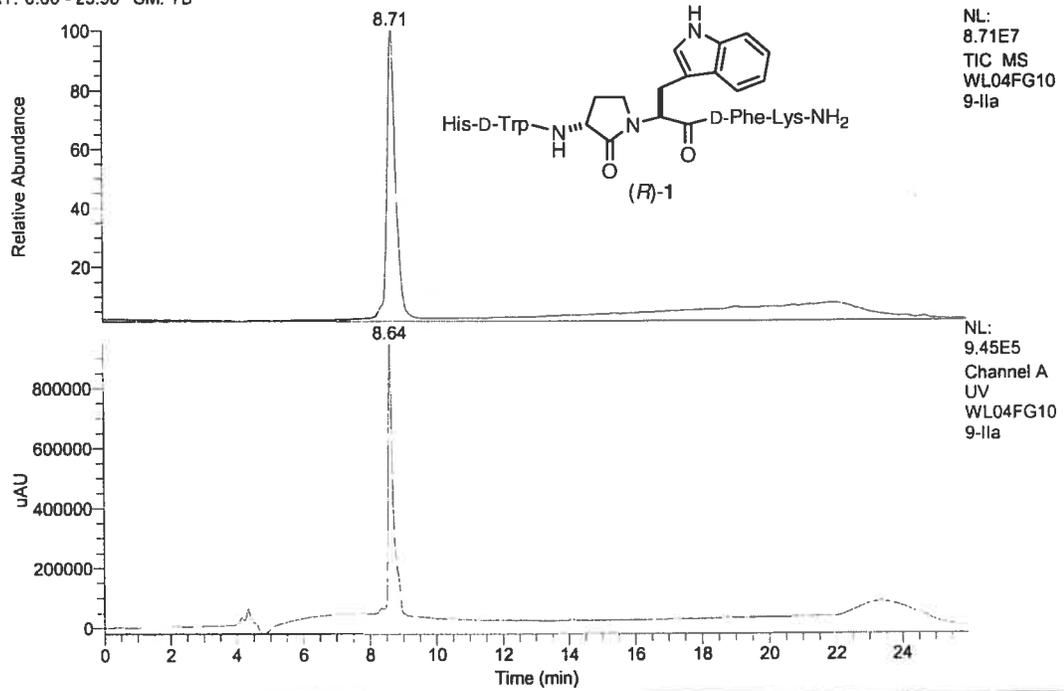
Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: AREA%

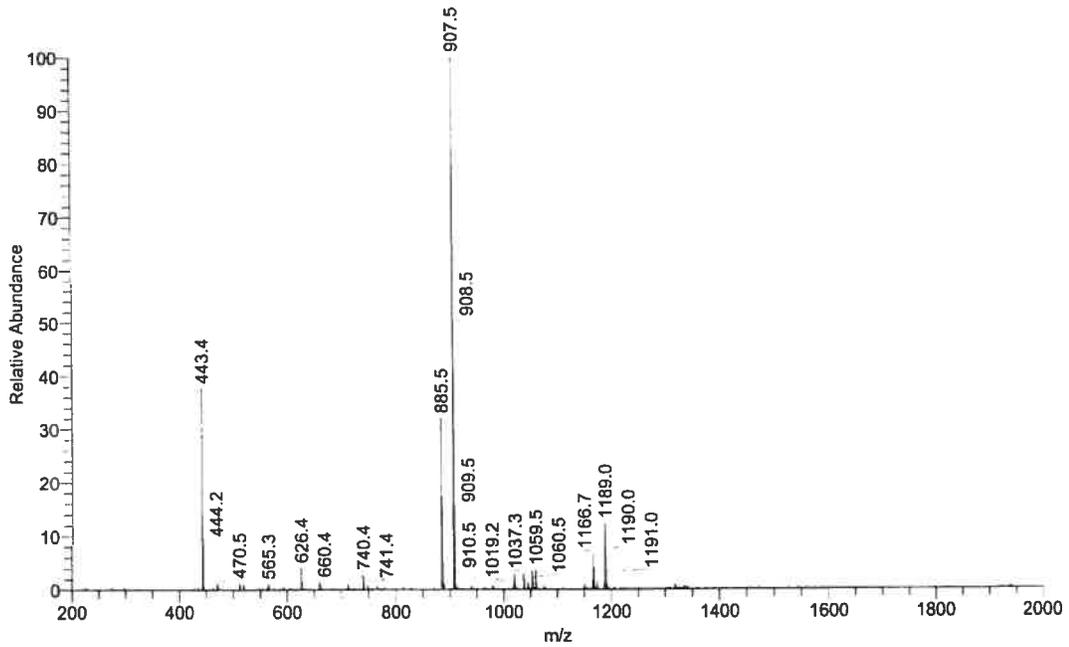
No.	RT	Area %
1	8,99	1,769
2	9,49	98,231
		100,000

Peak rejection level: 80000

C:\Ana LCMSDATA\WL04FG109-Ila 04/21/2005 11:38:13 AM  
 20-80B% , A=H2O, B=ACN, Flow=0.5 ml/min, inj vol:10uL, col C18 150x4.6mm, Channel A =214, B=254, C =280  
 RT: 0.00 - 25.98 SM: 7B

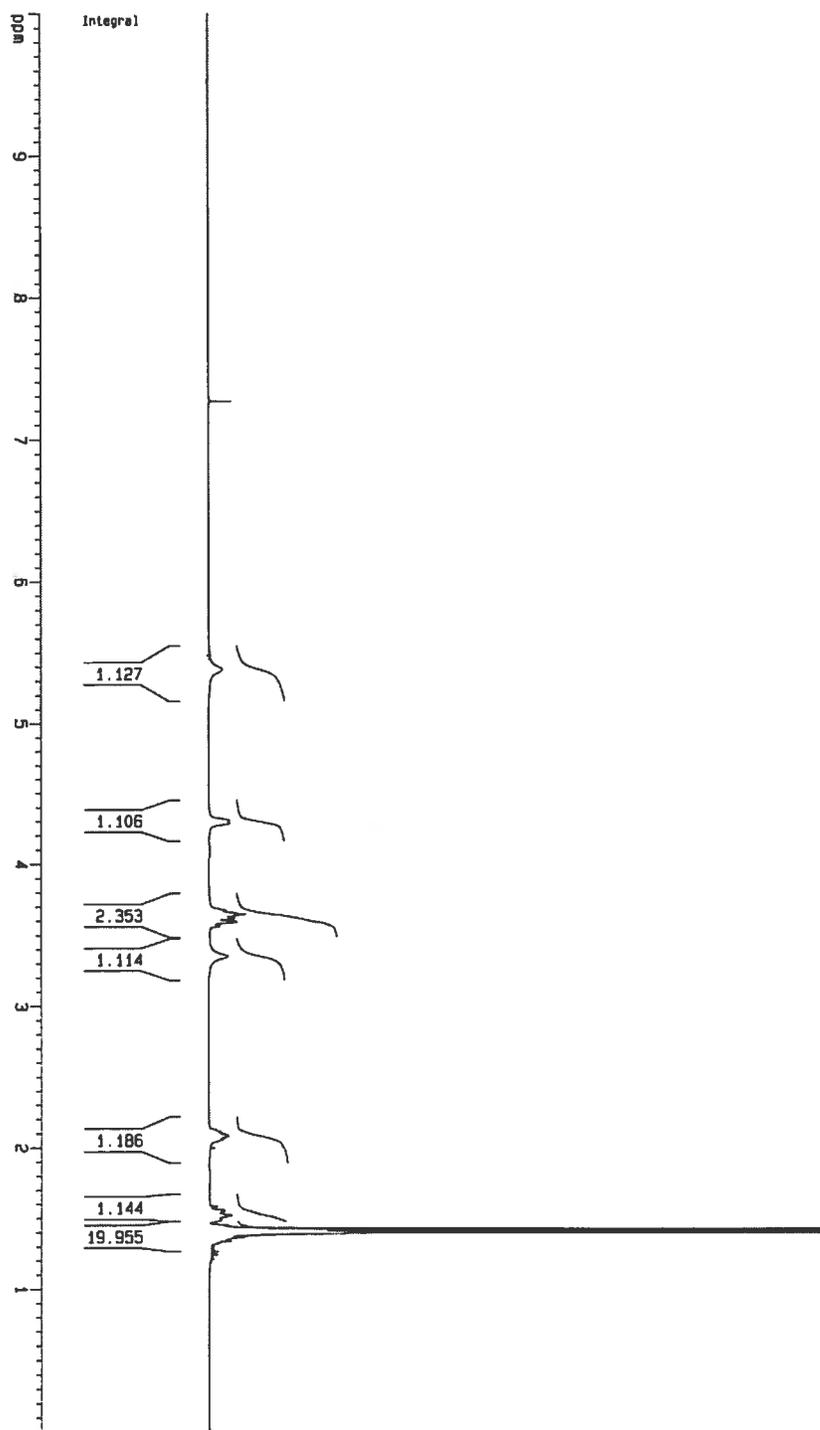
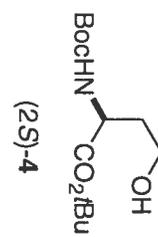


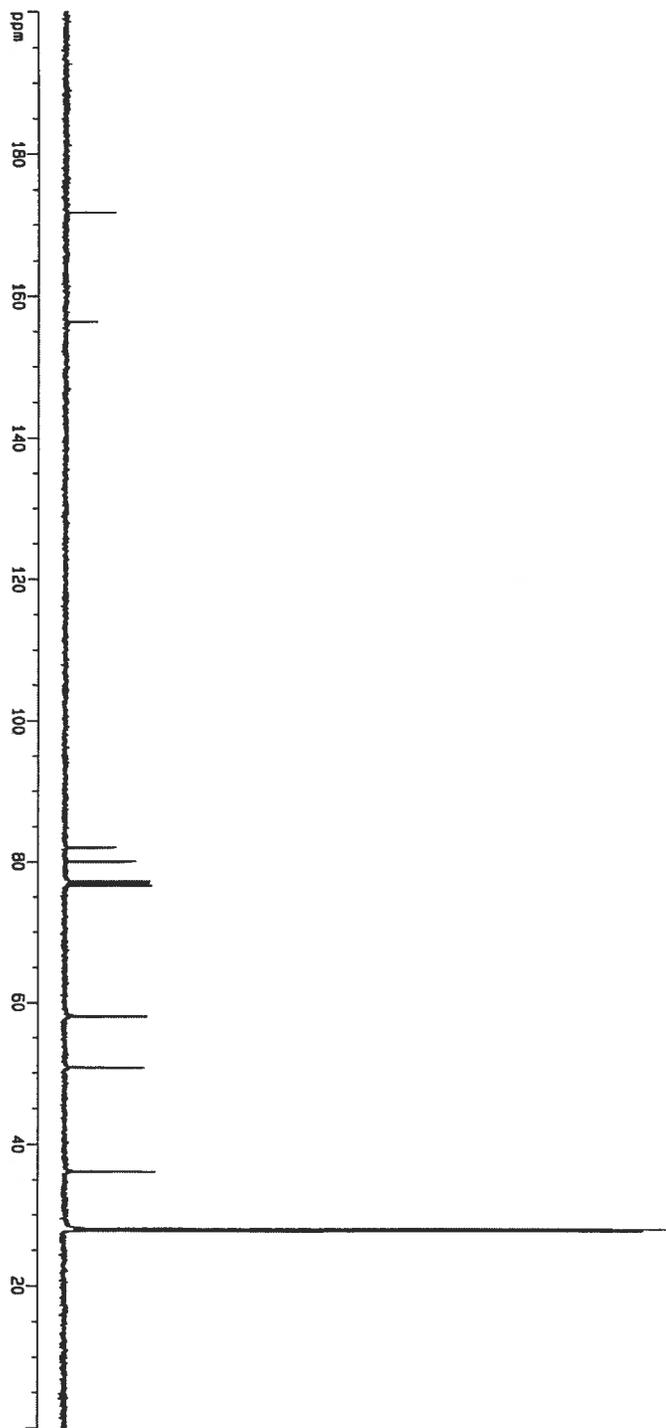
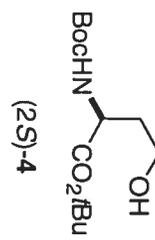
WL04FG109-Ila #310-337 RT: 8.42-9.11 AV: 28 SB: 20 0.03-0.28, 2.65-2.89 NL: 8.45E6  
 T: + c ESI Full ms [ 200.00-2000.00]

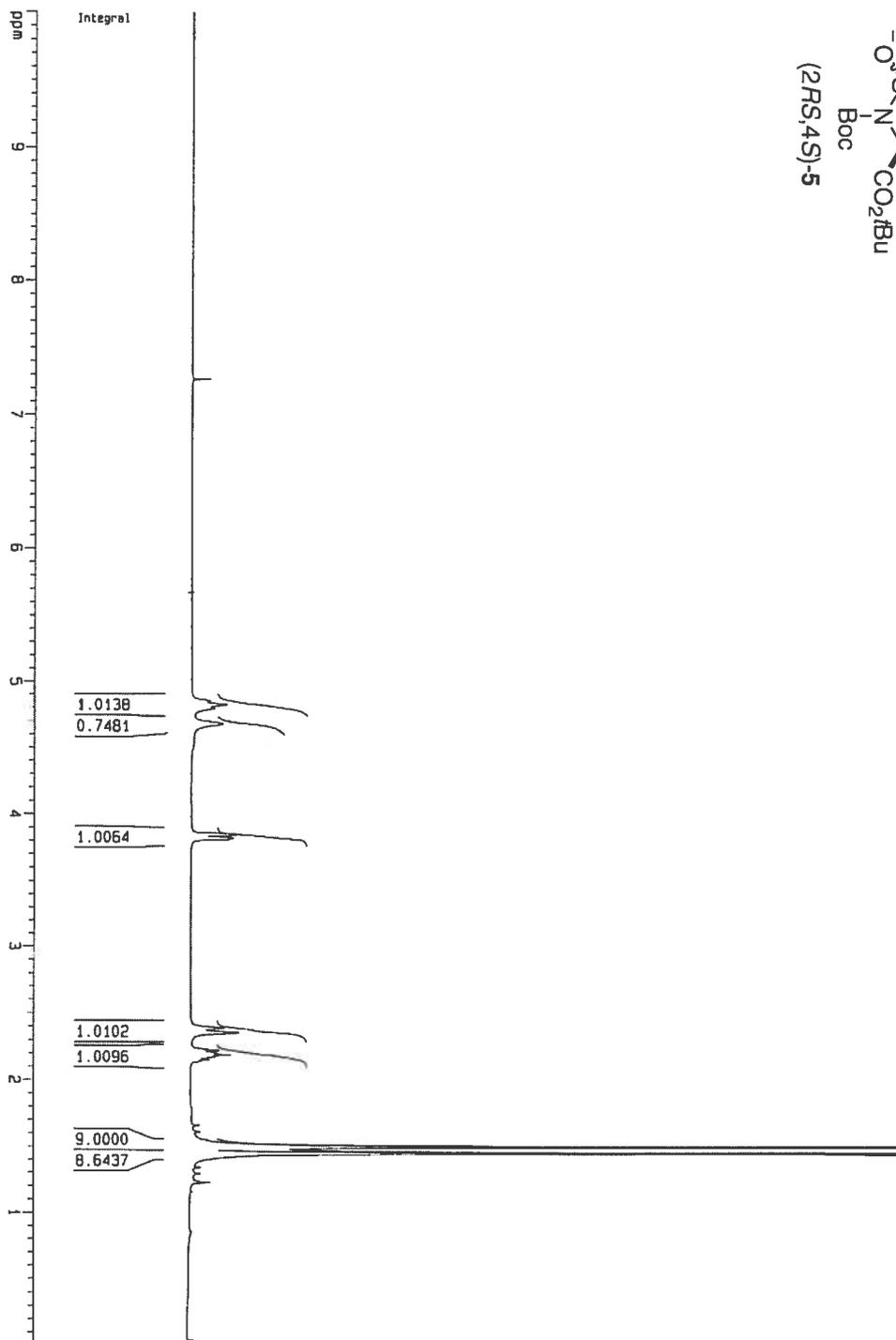
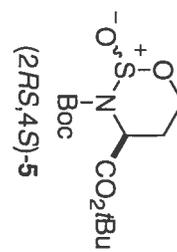


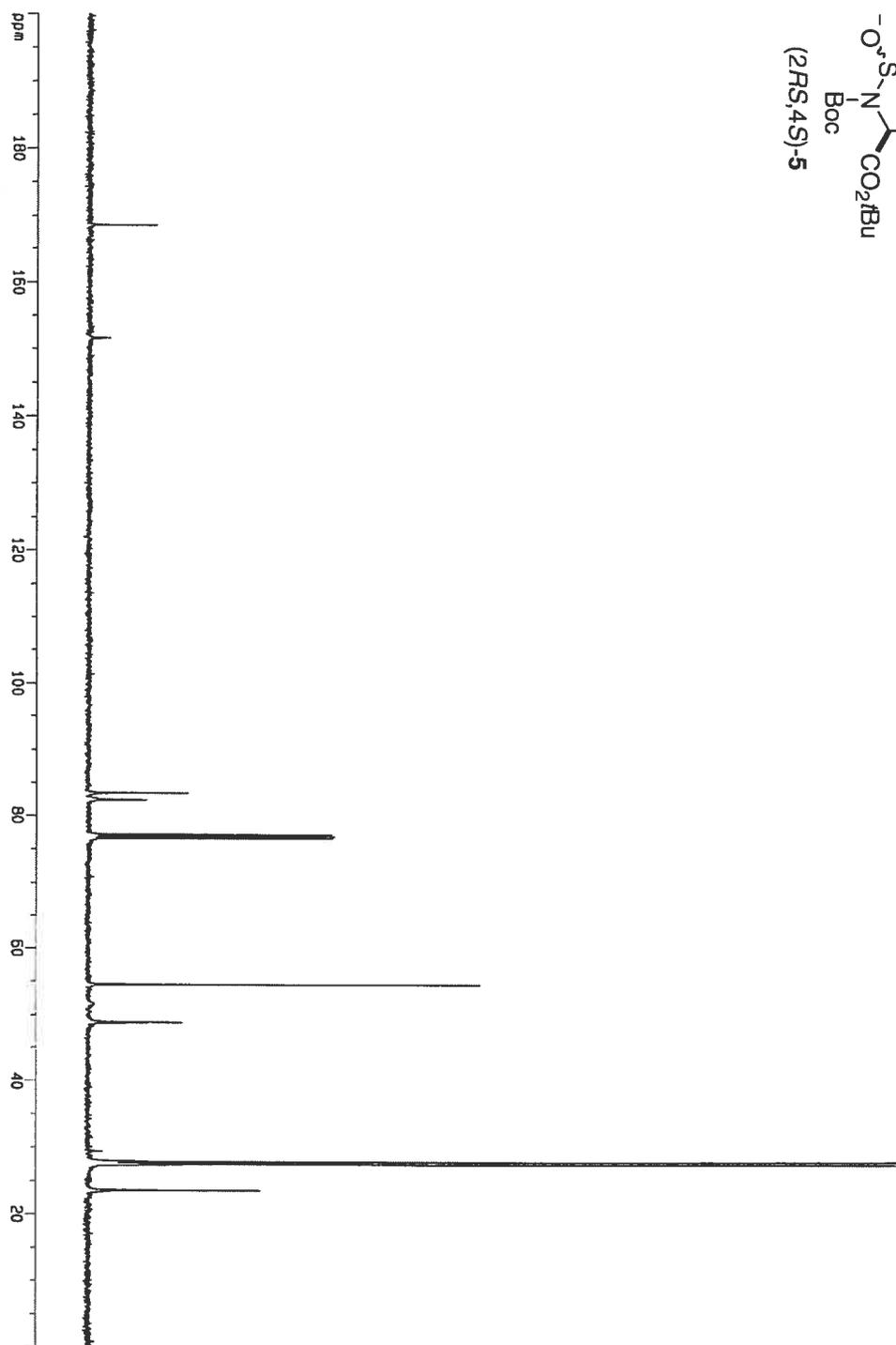
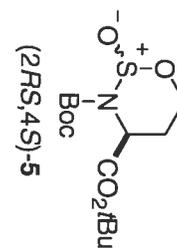
**ANNEXE 3**

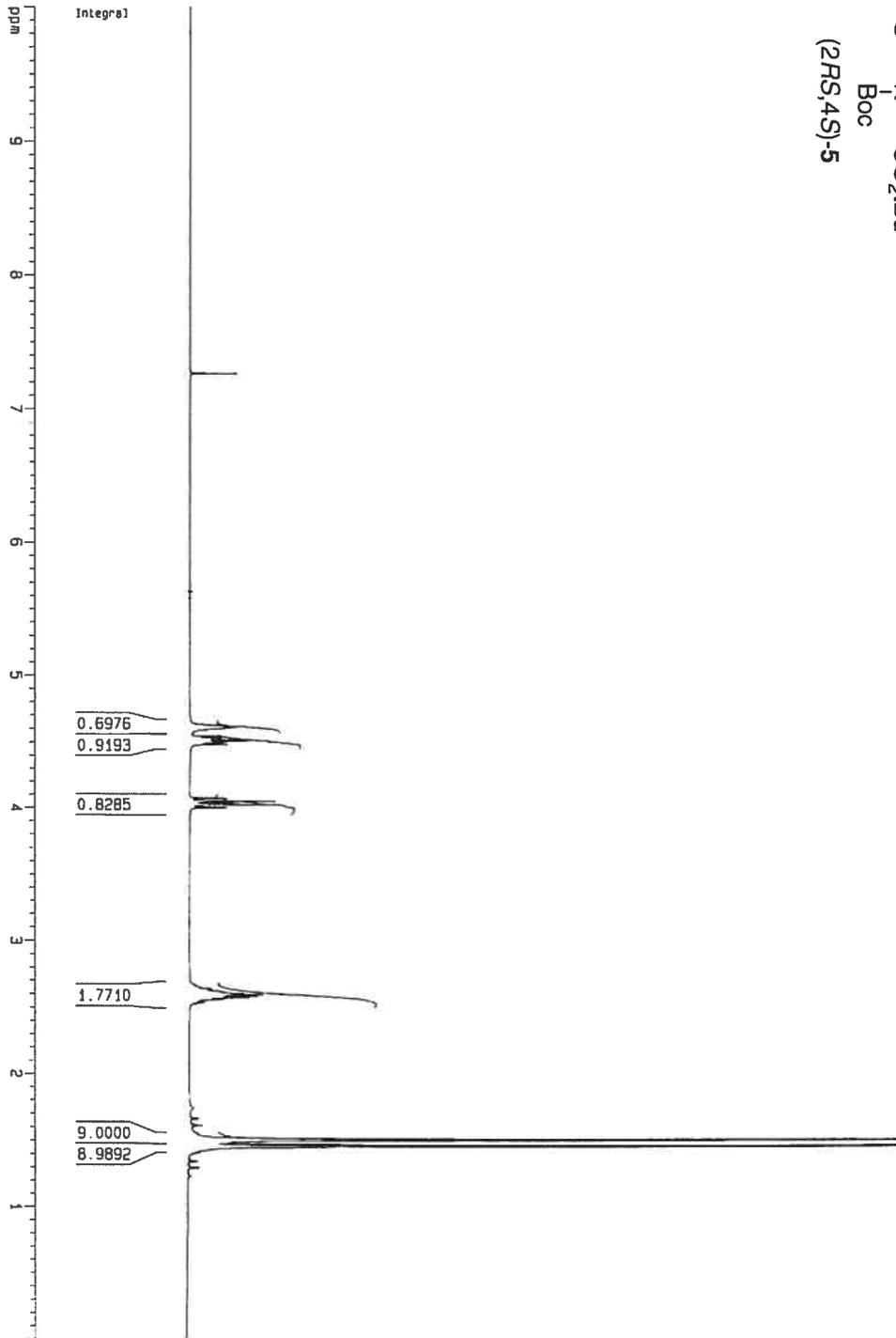
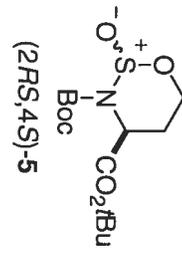
**Données spectrales du chapitre 4**

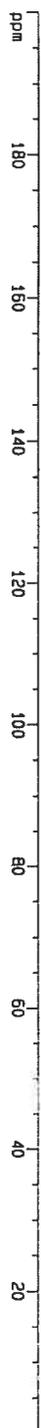
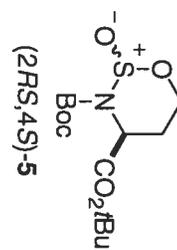


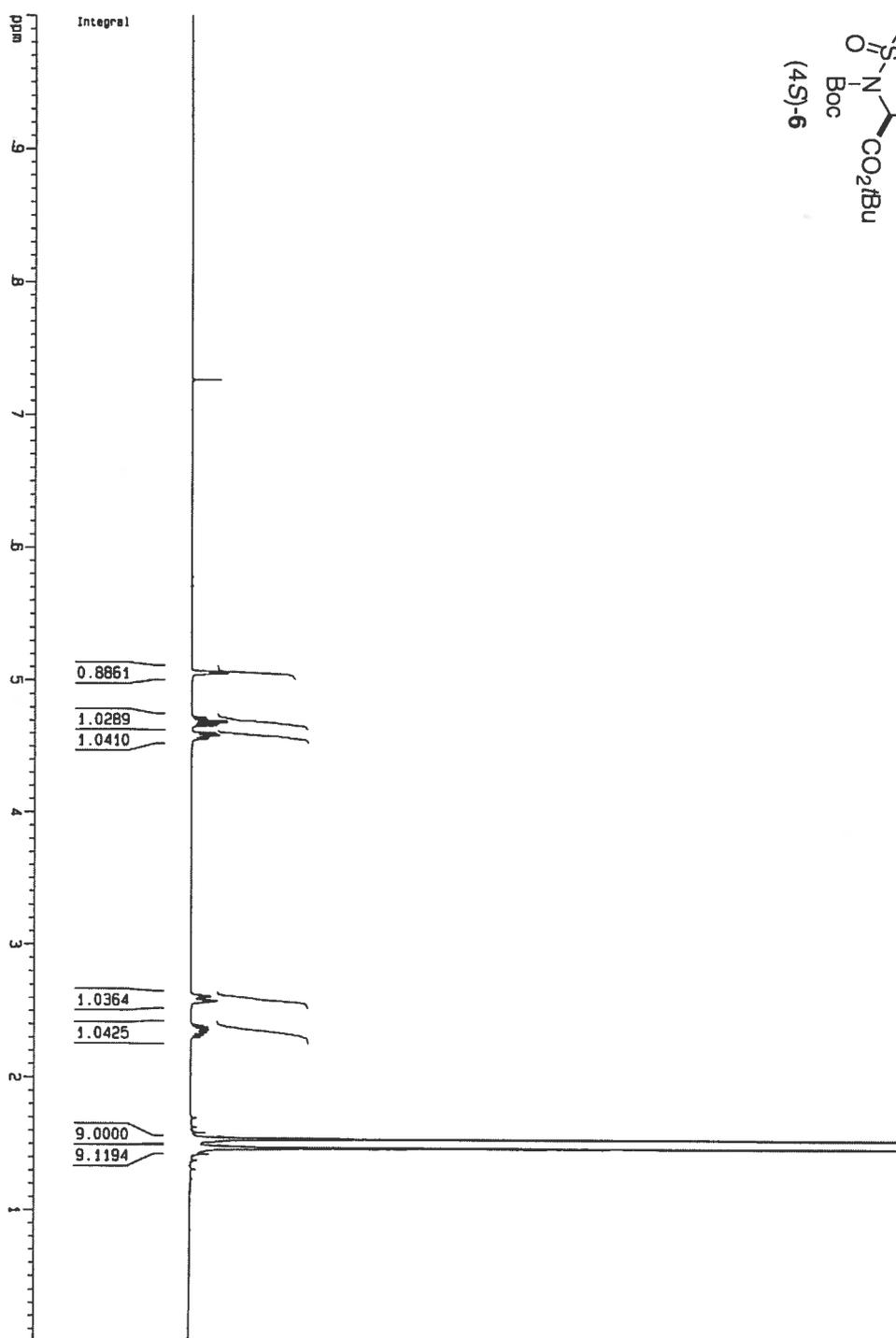
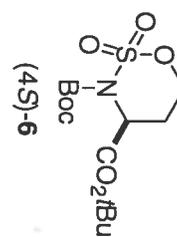


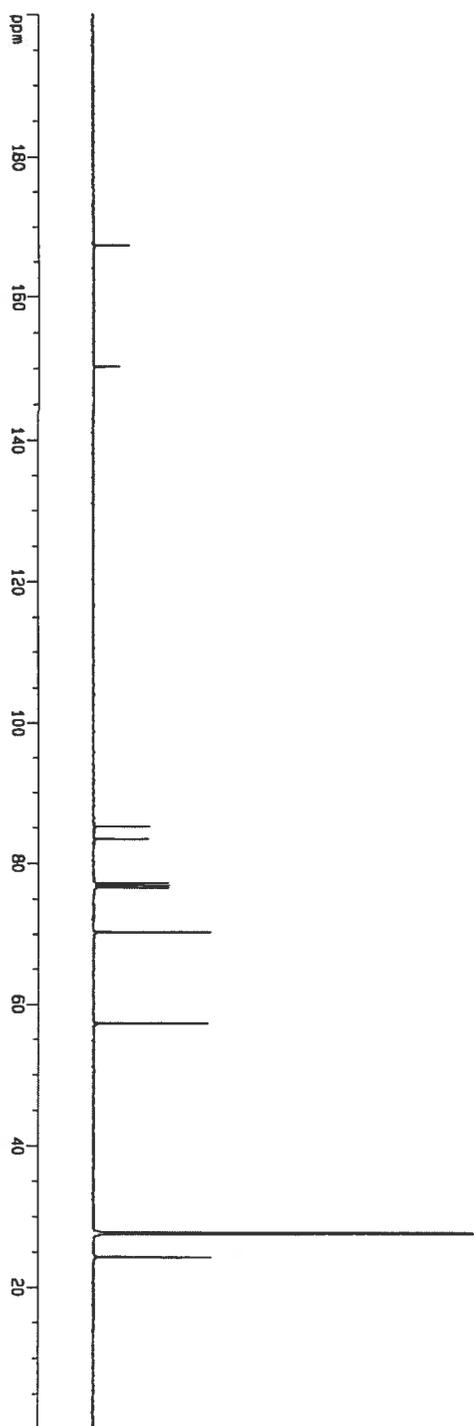
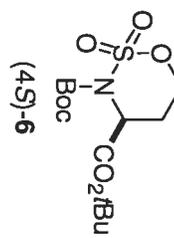


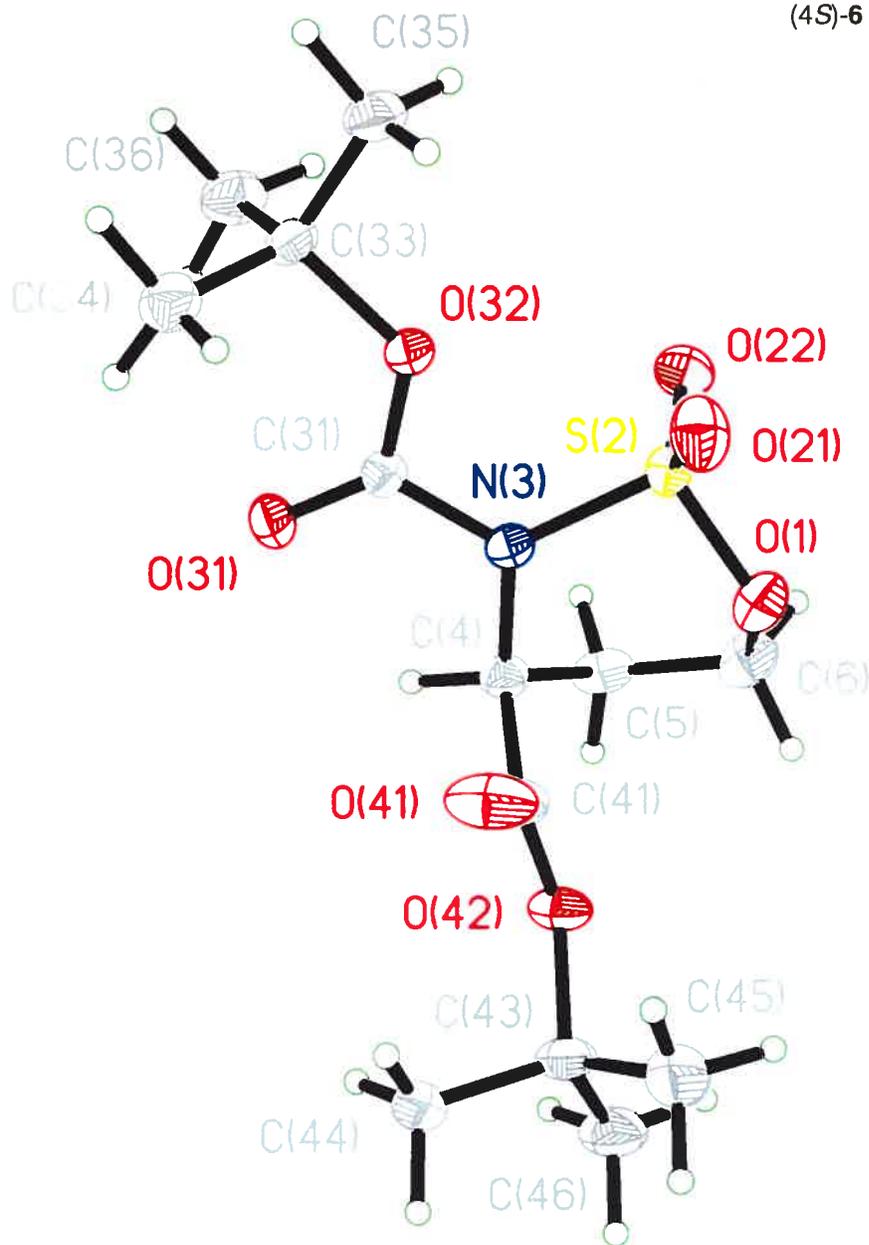
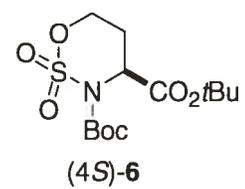












PREVIEW (FO)

1

27 Jul 2005

*Acta Cryst.* (2004). C60, 000–000**Structure of Lube26**

SALAND

WILLIAM. LUBELL, FABRICE ~~GALAND~~ AND FRANCINE BÉLANGER-GARIÉPY

*Département de Chimie, Université de Montréal, C.P. 6128, Succ. Centre-ville, Montréal,  
Québec, Canada H3C 3J7. E-mail: william.lubell@umontreal.ca*

**Abstract**

Here should be written a short abstract

**Comment**

Here should be written the text of the article

**Experimental**

Small details about the preparation of the compound.

*Crystal data* $C_{13}H_{23}NO_7S$  $M_r = 337.38$ 

Orthorhombic

 $P2_12_12_1$  $a = 6.1892 (2) \text{ \AA}$  $b = 10.8110 (3) \text{ \AA}$  $c = 25.5456 (7) \text{ \AA}$  $V = 1709.29 (9) \text{ \AA}^3$  $Z = 4$  $D_x = 1.311 \text{ Mg m}^{-3}$  $D_m$  not measuredCu  $K\alpha$  radiation $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$ 

Cell parameters from 6607 reflections

 $\theta = 3.46\text{--}67.81^\circ$  $\mu = 1.979 \text{ mm}^{-1}$  $T = 200 (2) \text{ K}$ 

Platelet

Colourless

 $0.20 \times 0.08 \times 0.02 \text{ mm}$ 

Crystal source: synthesized by the authors.

See text

## PREVIEW (FO)

2

*Data collection*

Bruker Smart 6000 diffractometer

 $\theta_{\max} = 69.01^\circ$  $\omega$  scans $h = -6 \rightarrow 7$ 

Absorption correction:

 $k = -12 \rightarrow 13$ 

multi-scan Sadabs (Sheldrick, 1996)

 $l = -30 \rightarrow 30$  $T_{\min} = 0.8300, T_{\max} = 0.9700$ 

133 standard reflections

13349 measured reflections

every ? reflections

3154 independent reflections

intensity decay: none

2878 reflections with

 $I > 2\sigma(I)$  $R_{\text{int}} = 0.037$ *Refinement*Refinement on  $F^2$  $(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.000$  $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.0422$  $\Delta\rho_{\max} = 0.437 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$  $wR(F^2) = 0.1147$  $\Delta\rho_{\min} = -0.207 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$  $S = 1.074$ 

Extinction correction: none

3154 reflections

Scattering factors from *International Tables*

205 parameters

for *Crystallography* (Vol. C)

H-atom parameters constrained

Absolute structure: Flack H D (1983), 1289

 $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0832P)^2]$ 

Friedel Pairs

where  $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$ Flack parameter =  $-0.02(2)$ Table 1. *Selected geometric parameters* ( $\text{\AA}, ^\circ$ )

O1—C6	1.457 (3)	C31—O32	1.314 (3)
O1—S2	1.5510 (19)	O32—C33	1.492 (3)
S2—O21	1.386 (2)	C33—C34	1.502 (4)
S2—O22	1.4162 (19)	C33—C35	1.508 (4)
S2—N3	1.669 (2)	C33—C36	1.508 (4)
N3—C31	1.394 (3)	C41—O41	1.198 (3)
N3—C4	1.464 (3)	C41—O42	1.320 (3)
C4—C5	1.526 (4)	O42—C43	1.497 (3)
C4—C41	1.531 (4)	C43—C45	1.495 (4)
C5—C6	1.500 (4)	C43—C44	1.497 (4)
C31—O31	1.203 (3)	C43—C46	1.519 (4)

## PREVIEW (FO)

3

C6—O1—S2	119.02 (17)	C31—O32—C33	122.25 (17)
O21—S2—O22	120.28 (13)	O32—C33—C34	110.52 (19)
O21—S2—O1	105.45 (12)	O32—C33—C35	101.59 (18)
O22—S2—O1	110.64 (12)	C34—C33—C35	111.3 (2)
O21—S2—N3	111.63 (12)	O32—C33—C36	109.1 (2)
O22—S2—N3	108.70 (11)	C34—C33—C36	111.9 (2)
O1—S2—N3	97.76 (10)	C35—C33—C36	112.0 (2)
C31—N3—C4	119.35 (19)	O41—C41—O42	126.8 (3)
C31—N3—S2	121.75 (16)	O41—C41—C4	123.5 (2)
C4—N3—S2	118.01 (15)	O42—C41—C4	109.7 (2)
N3—C4—C5	110.51 (19)	C41—O42—C43	122.5 (2)
N3—C4—C41	110.1 (2)	C45—C43—O42	110.5 (2)
C5—C4—C41	115.8 (2)	C45—C43—C44	113.6 (3)
C6—C5—C4	110.3 (2)	O42—C43—C44	108.7 (2)
O1—C6—C5	111.2 (2)	C45—C43—C46	111.0 (3)
O31—C31—O32	128.4 (2)	O42—C43—C46	101.4 (2)
O31—C31—N3	121.7 (2)	C44—C43—C46	110.9 (3)
O32—C31—N3	109.89 (19)		
C6—O1—S2—O21	178.8 (2)	S2—N3—C31—O31	170.4 (2)
C6—O1—S2—O22	-49.6 (2)	C4—N3—C31—O32	-179.3 (2)
C6—O1—S2—N3	63.8 (2)	S2—N3—C31—O32	-10.3 (3)
O21—S2—N3—C31	63.4 (2)	O31—C31—O32—C33	-5.2 (4)
O22—S2—N3—C31	-71.5 (2)	N3—C31—O32—C33	175.5 (2)
O1—S2—N3—C31	173.5 (2)	C31—O32—C33—C34	61.1 (3)
O21—S2—N3—C4	-127.4 (2)	C31—O32—C33—C35	179.3 (2)
O22—S2—N3—C4	97.61 (19)	C31—O32—C33—C36	-62.3 (3)
O1—S2—N3—C4	-17.3 (2)	N3—C4—C41—O41	23.2 (4)
C31—N3—C4—C5	129.7 (2)	C5—C4—C41—O41	149.4 (3)
S2—N3—C4—C5	-39.7 (3)	N3—C4—C41—O42	-159.5 (2)
C31—N3—C4—C41	-101.1 (3)	C5—C4—C41—O42	-33.2 (3)
S2—N3—C4—C41	89.5 (2)	O41—C41—O42—C43	5.6 (4)
N3—C4—C5—C6	63.1 (3)	C4—C41—O42—C43	-171.6 (2)
C41—C4—C5—C6	-62.9 (3)	C41—O42—C43—C45	-63.3 (3)
S2—O1—C6—C5	-45.7 (3)	C41—O42—C43—C44	62.0 (3)
C4—C5—C6—O1	-22.2 (3)	C41—O42—C43—C46	179.0 (3)
C4—N3—C31—O31	1.4 (4)		

## PREVIEW (FO)

4

All non-H atoms were refined by full-matrix least-squares with anisotropic displacement parameters. The H atoms were generated geometrically (C—H 0.98 to 1.00 Å) and were included in the refinement in the riding model approximation; their temperature factors were set to 1.5 times those of the equivalent isotropic temperature factors of the parent site (methyl) and 1.2 times for others. A final verification of possible voids was performed using the VOID routine of the *PLATON* program (Spek, 2000).

Data collection: SMART (Bruker, 2001). Cell refinement: SMART (Bruker, 2001). Data reduction: SAINT (Bruker, 2003). Program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 1997). Program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 1997). Molecular graphics: *SHELXTL* (Bruker, 1997). Software used to prepare material for publication: UdmX (local program).

We are grateful to the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Ministère de l'Éducation du Québec for financial support.

---

Supplementary data for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: PREVIEW). Services for accessing these data are described at the back of the journal.

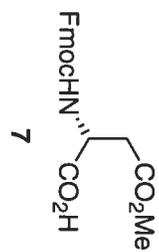
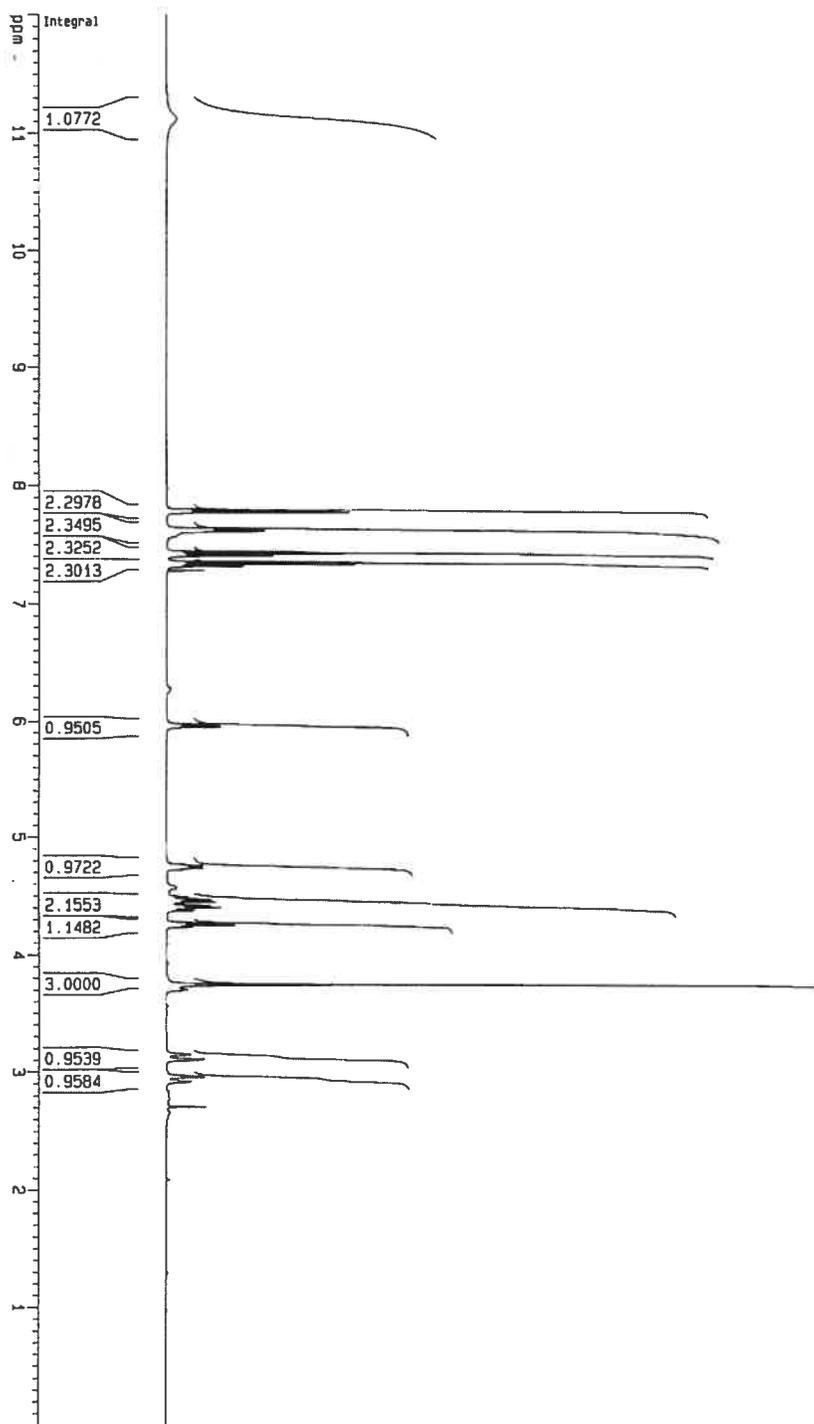
---

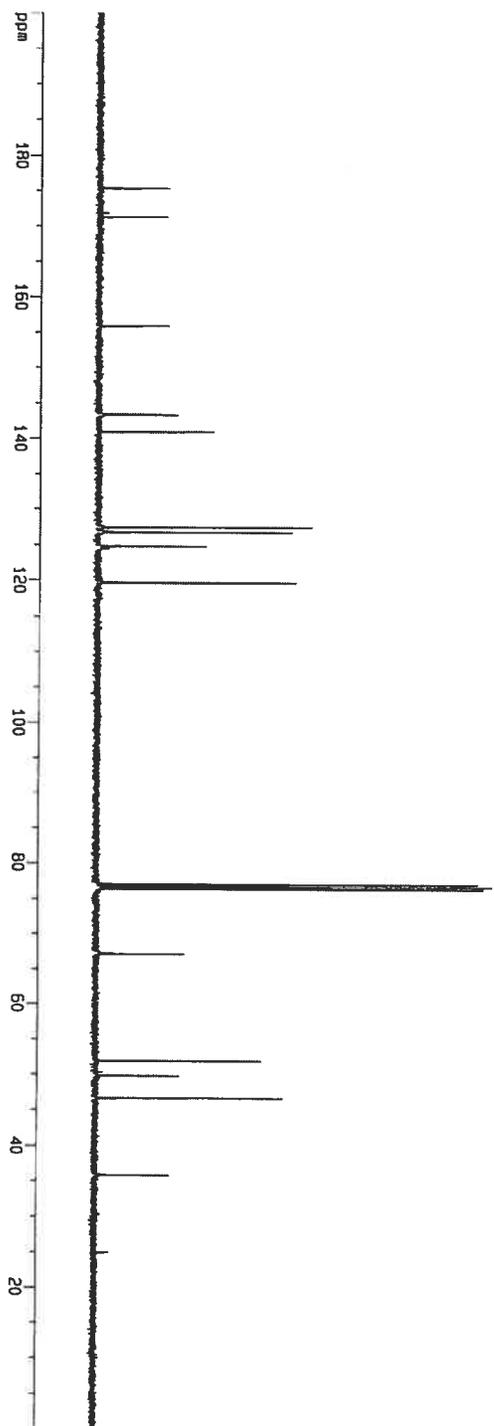
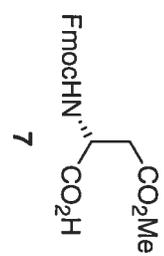
## References

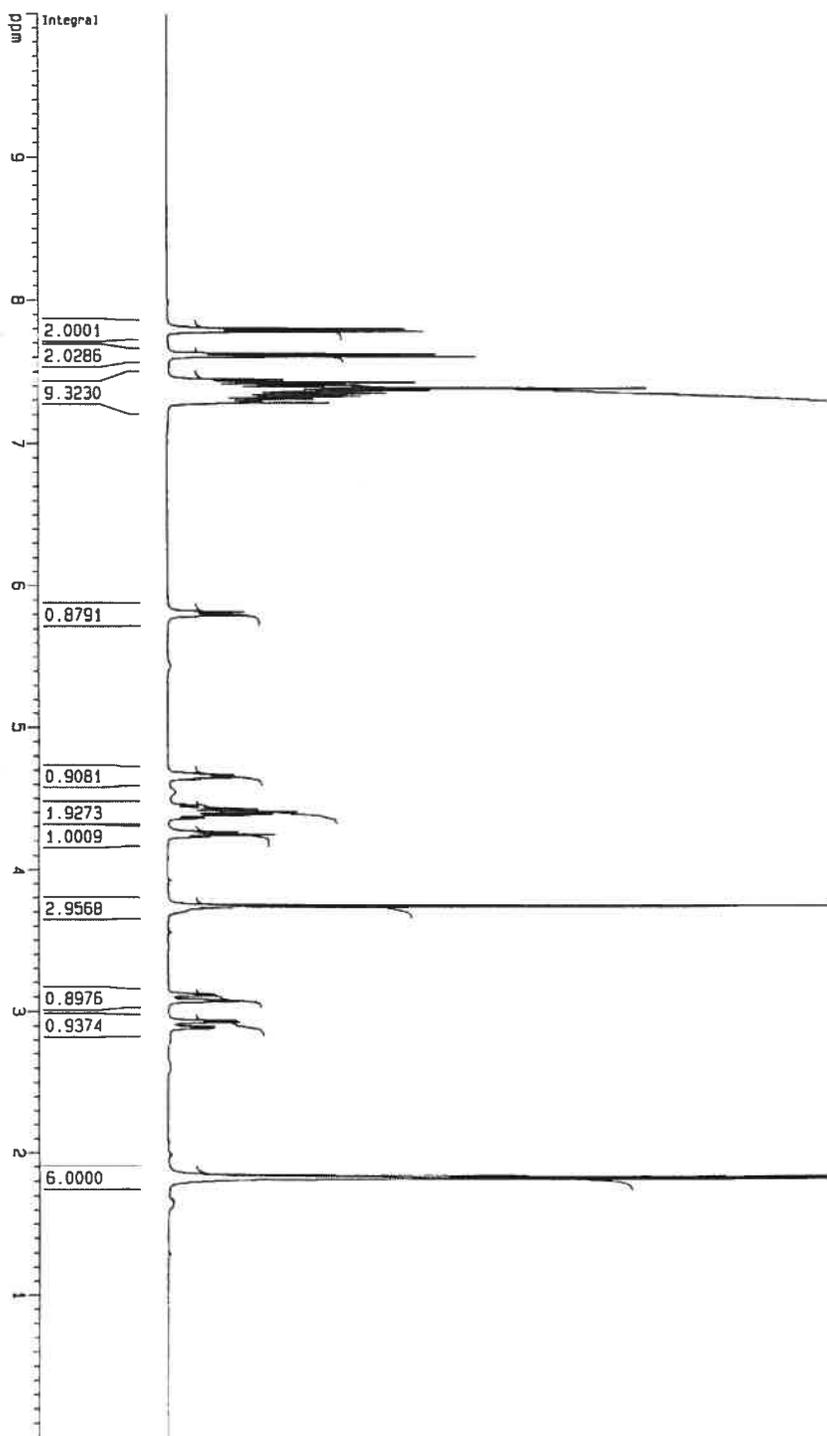
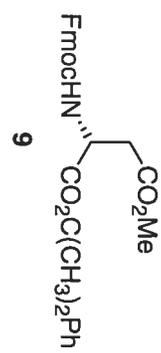
- Bruker (1997). *SHELXTL* (1997). Release 5.10; The Complete Software Package for Single Crystal Structure Determination. Bruker AXS Inc., Madison, USA.
- Bruker (2003). SAINT Release 6.45. Integration Software for Single Crystal Data. Bruker AXS Inc., Madison, USA.
- Bruker (2001). SMART Release 5.625. Bruker Molecular Analysis Research Tool, Bruker AXS Inc., Madison, USA.
- Flack, H. D. (1983). *Acta Cryst.* A39, 876–881.
- Flack, H. D. & Schwarzenbach, D. (1988). *Acta Cryst.* A44, 499–506.
- Sheldrick, G. M. (1986). *SHELXS86*. Program for Crystal Structure solution. University of Göttingen, Germany.
- Sheldrick, G. M. (1996). SADABS, Bruker Area Detector Absorption Corrections. Bruker AXS Inc., Madison, USA.
- Sheldrick, G. M. (1997a). *SHELXS97*. Program for Crystal Structure solution. University of Göttingen, Germany.
- Sheldrick, G. M. (1997b). *SHELXL97*. Program for crystal structure refinement. University of Göttingen, Germany.
- Spek, A. L. (2000). *PLATON*, 2000 version; Molecular Geometry Program, University of Utrecht, Utrecht, Holland.

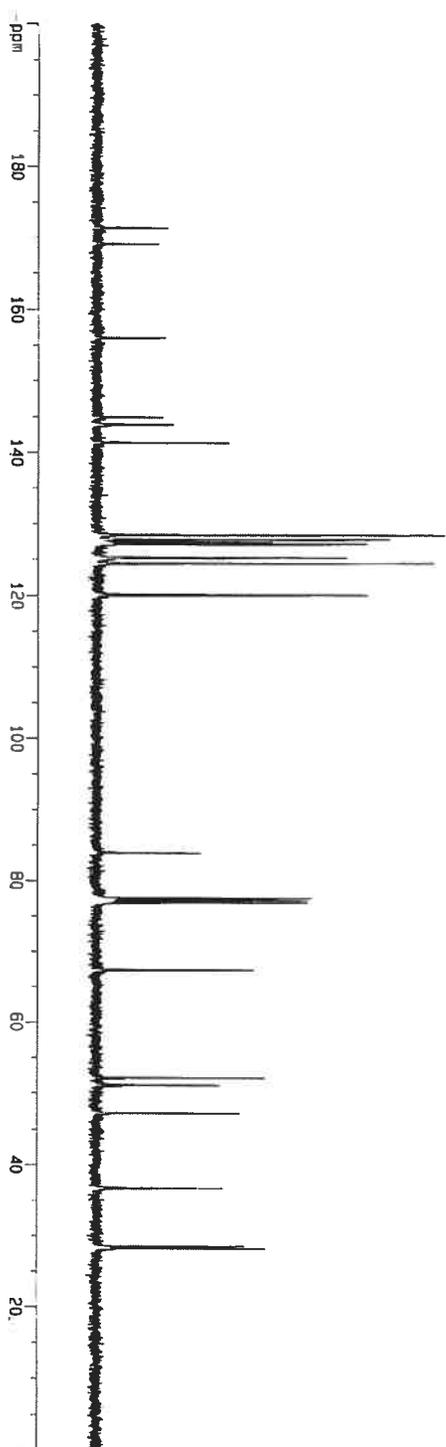
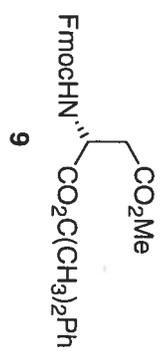
Fig 1 *ORTEP* view of the title compound. Thermal ellipsoids are shown at 30% probability levels.

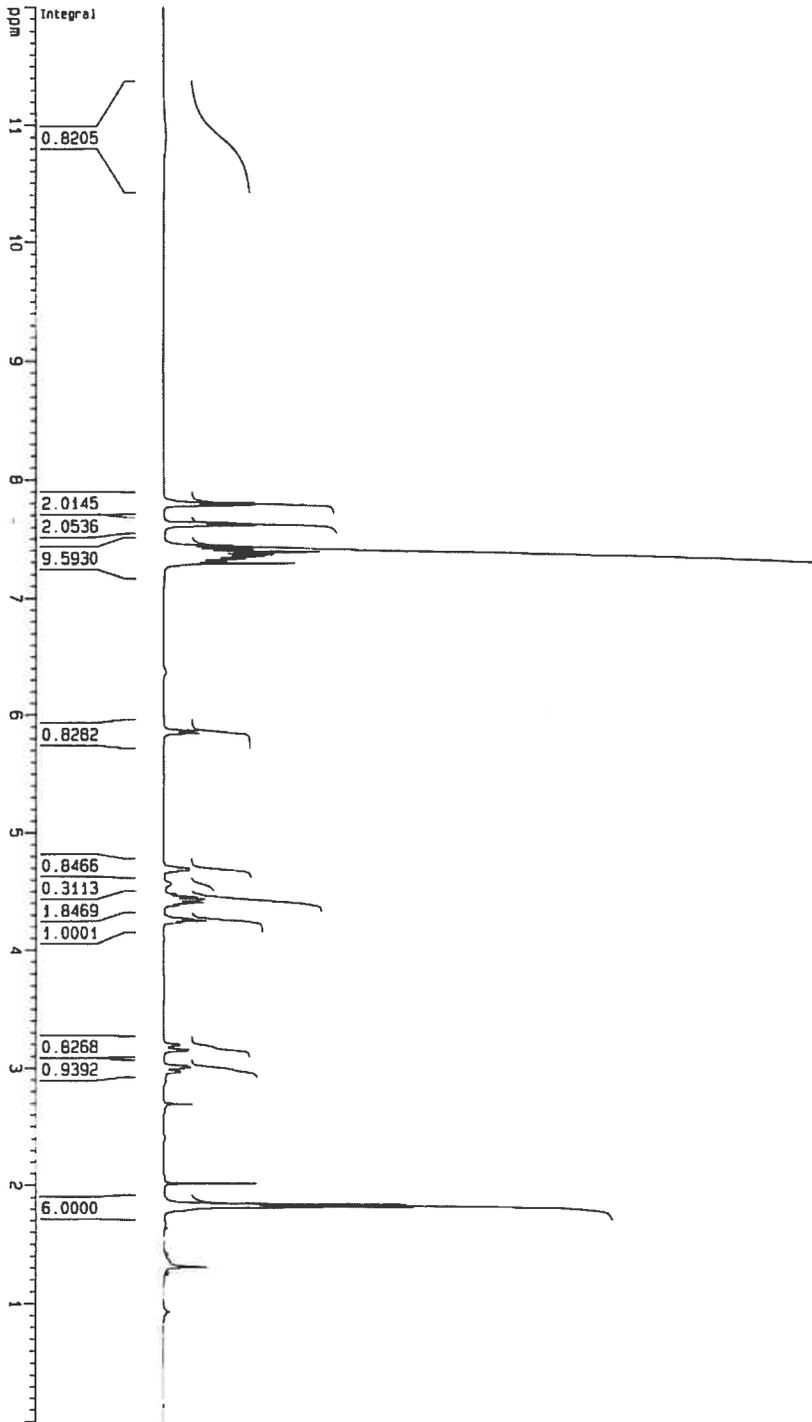
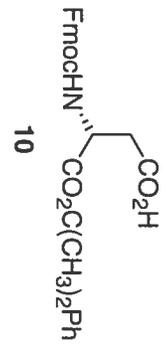
Table 1. Selected geometric parameters (Å, °) for the title compound.

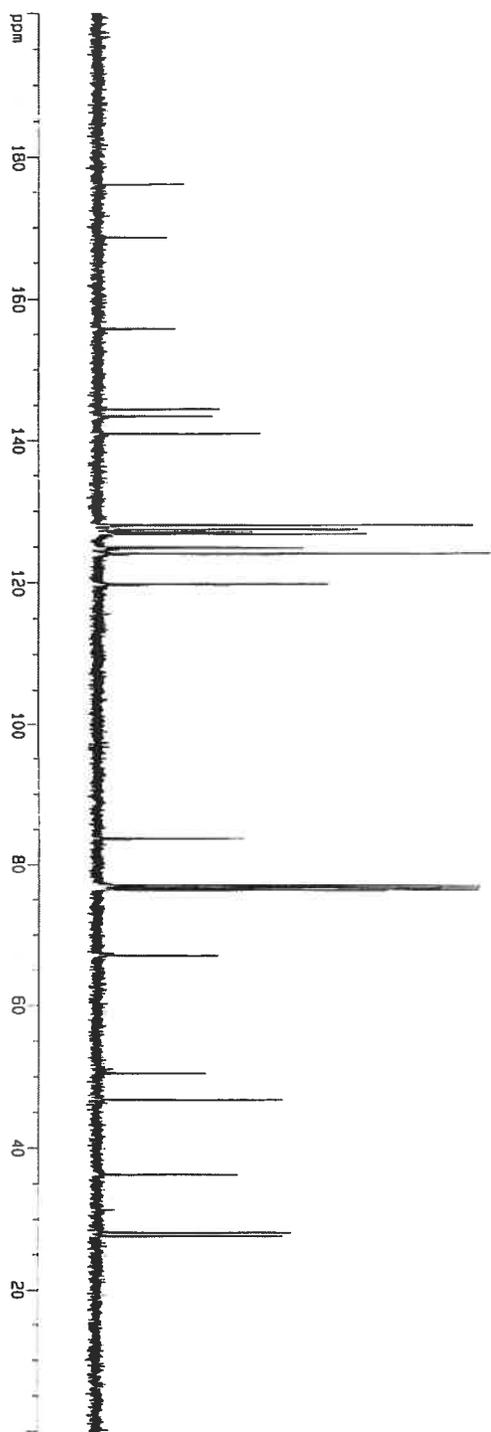
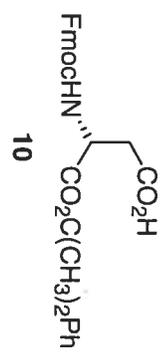


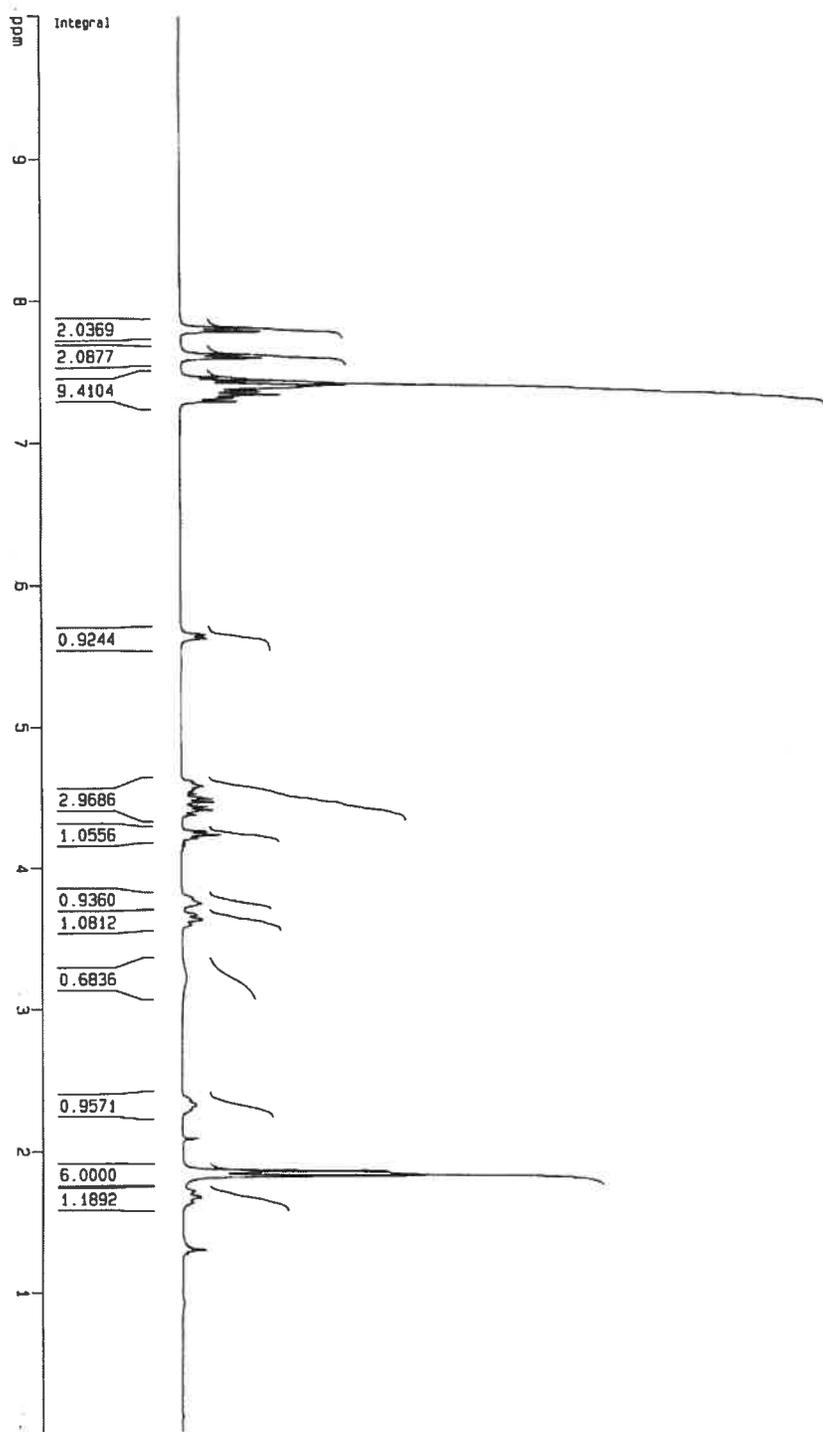
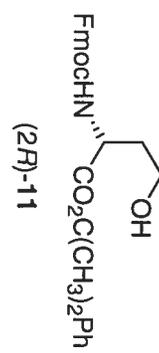


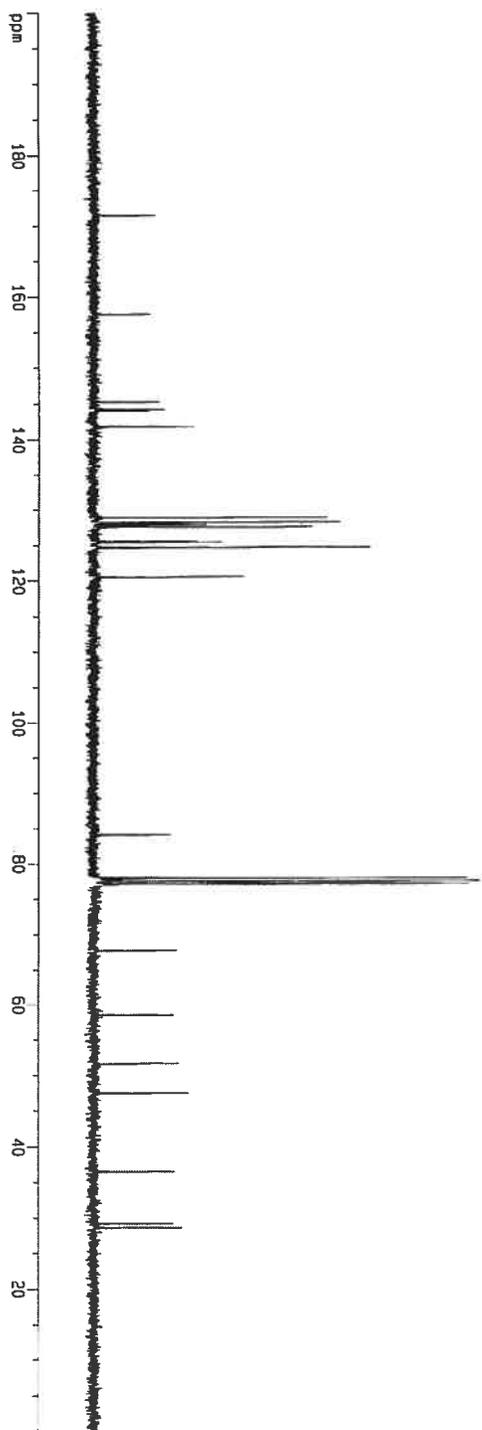
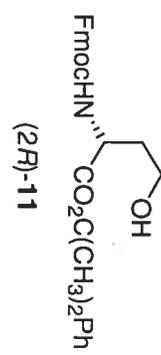


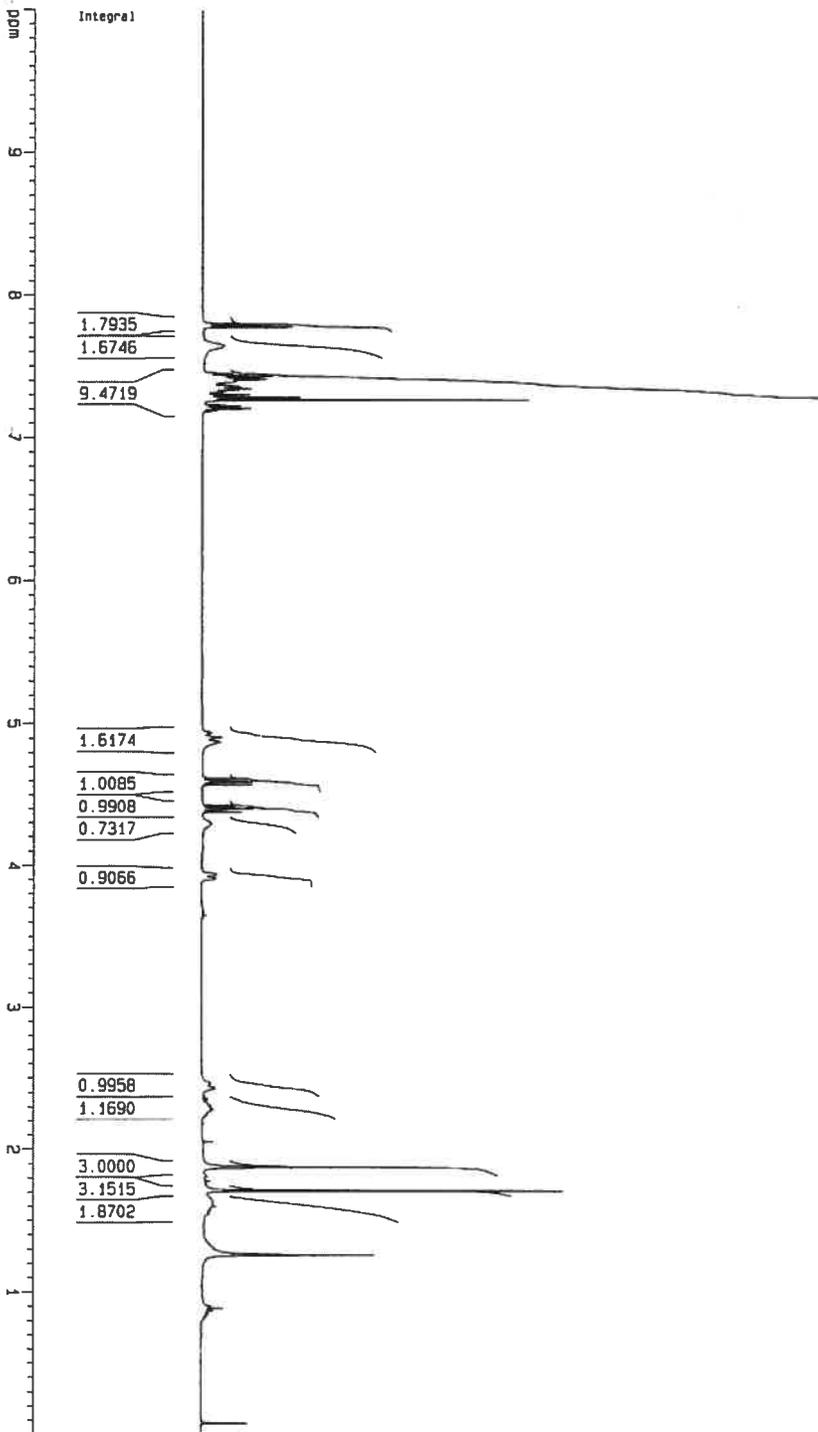
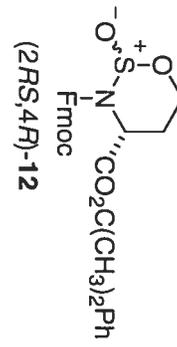


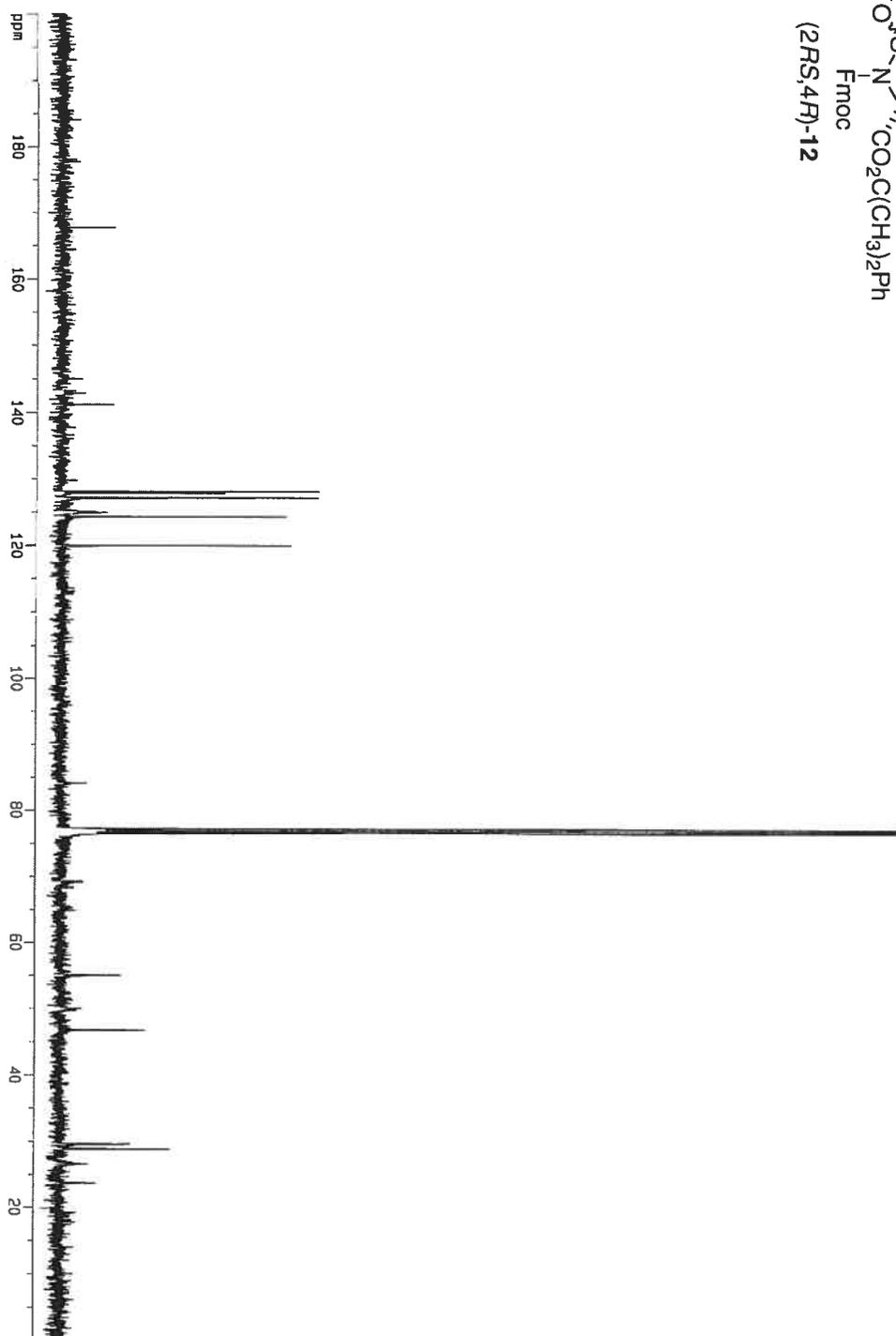
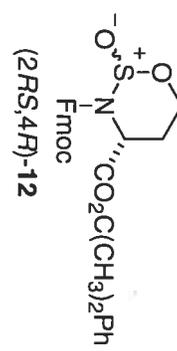


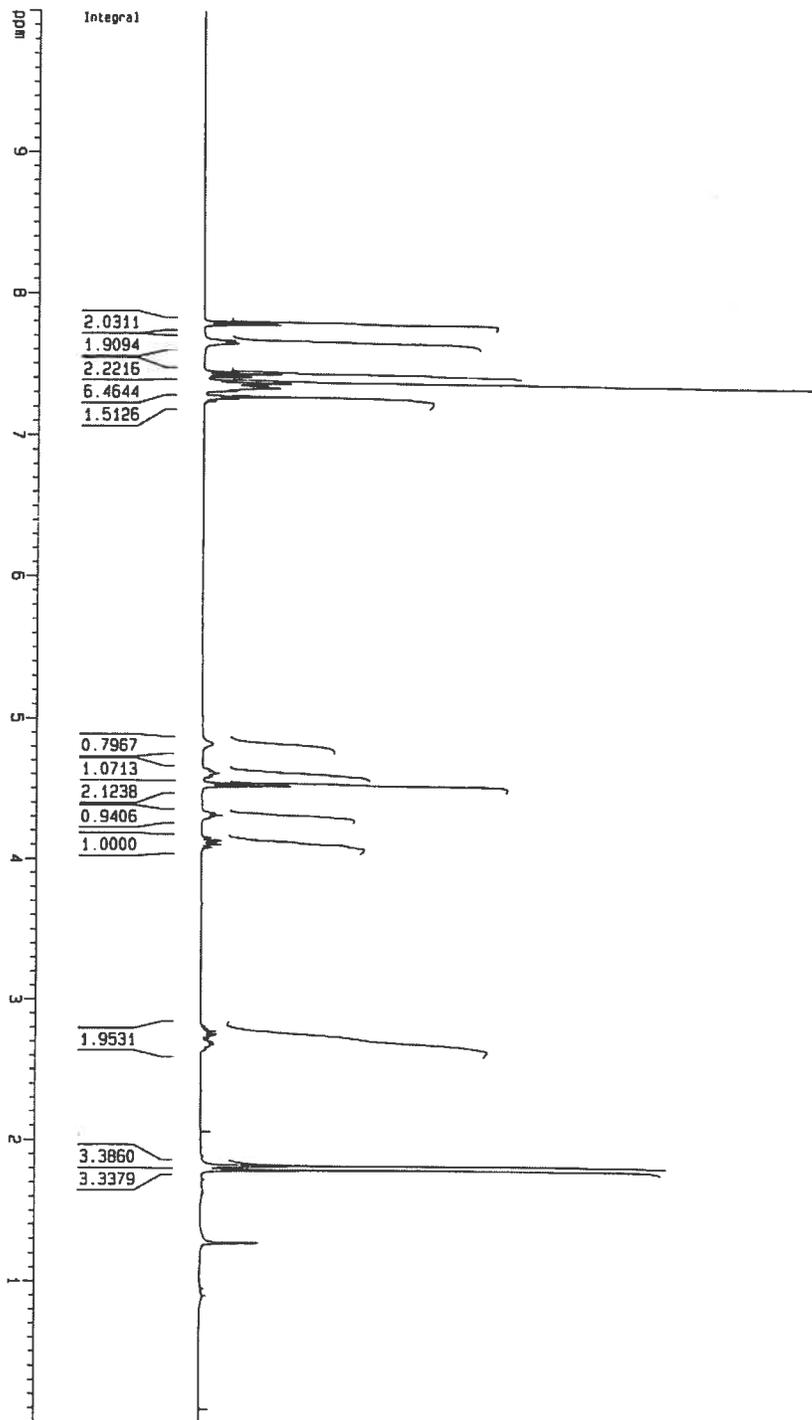
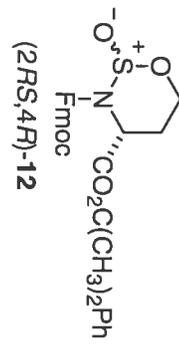


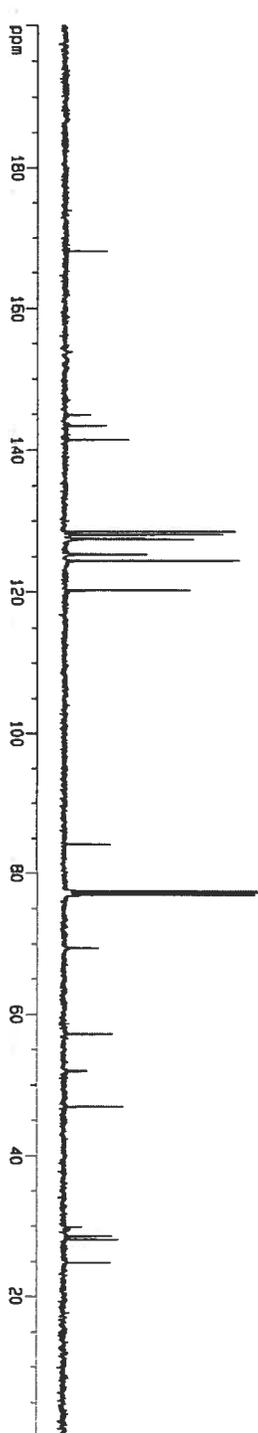
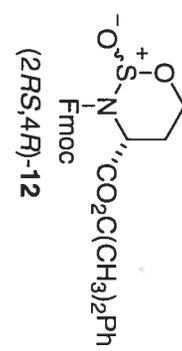


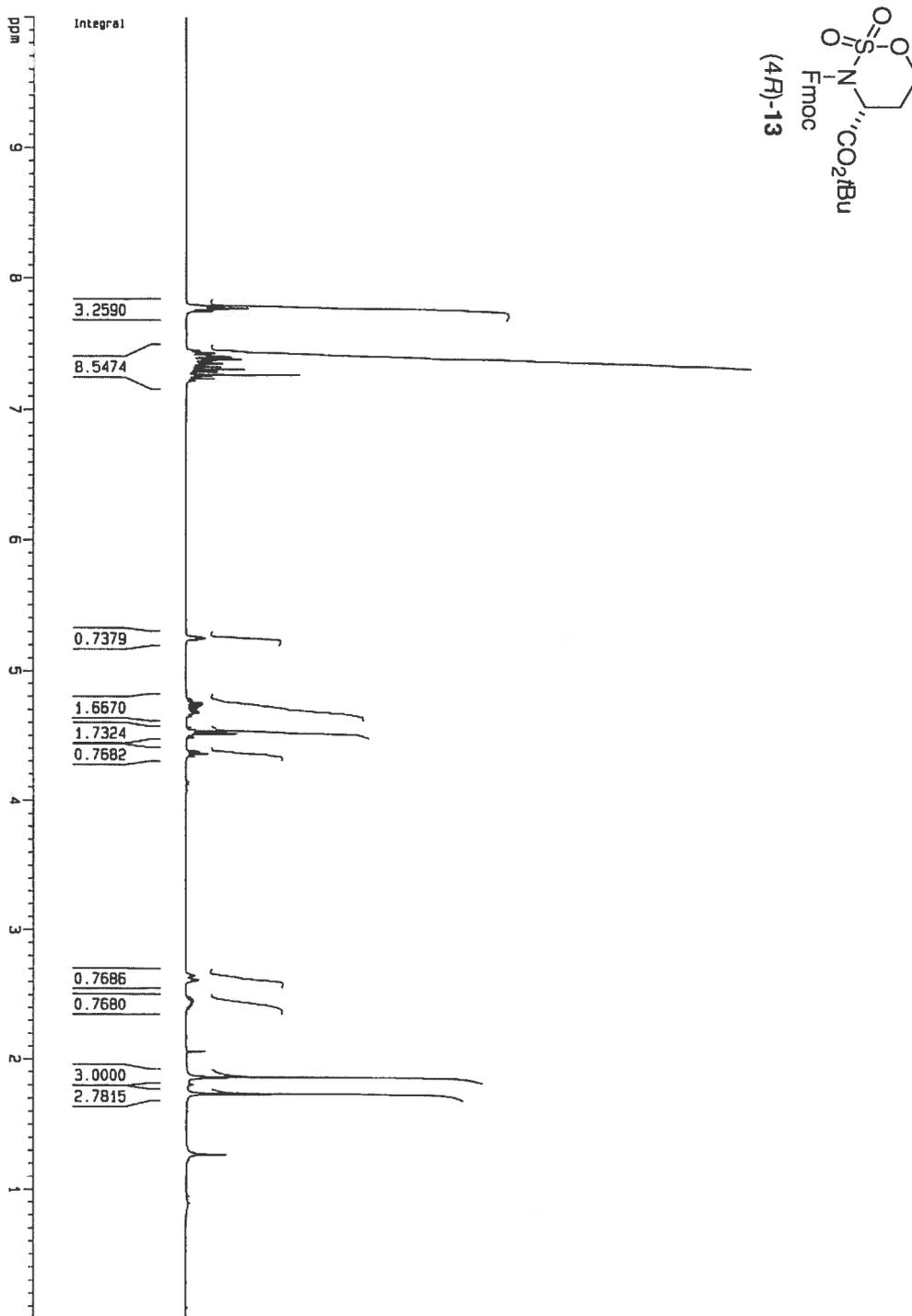


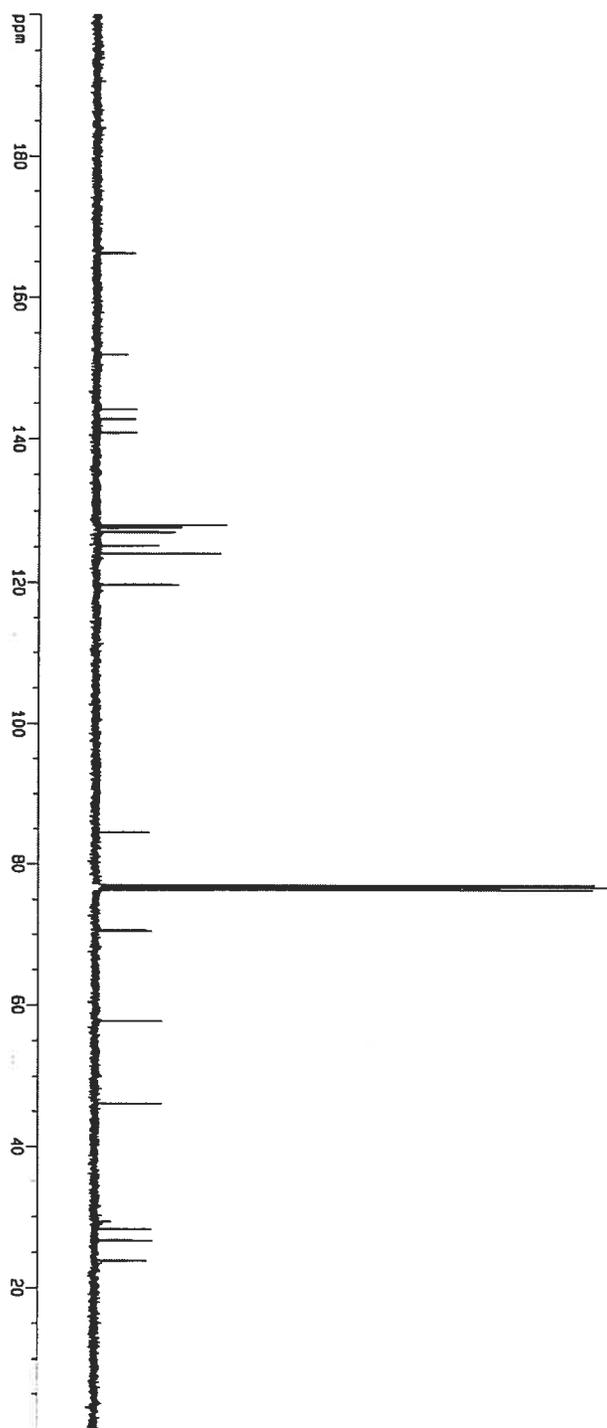
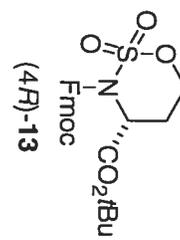




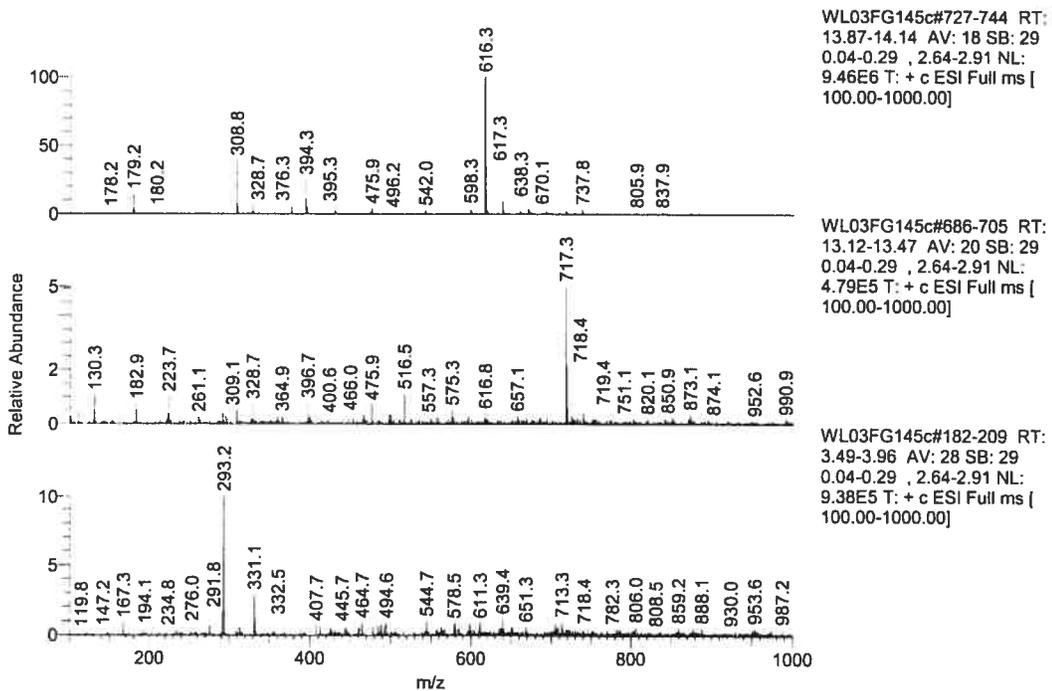
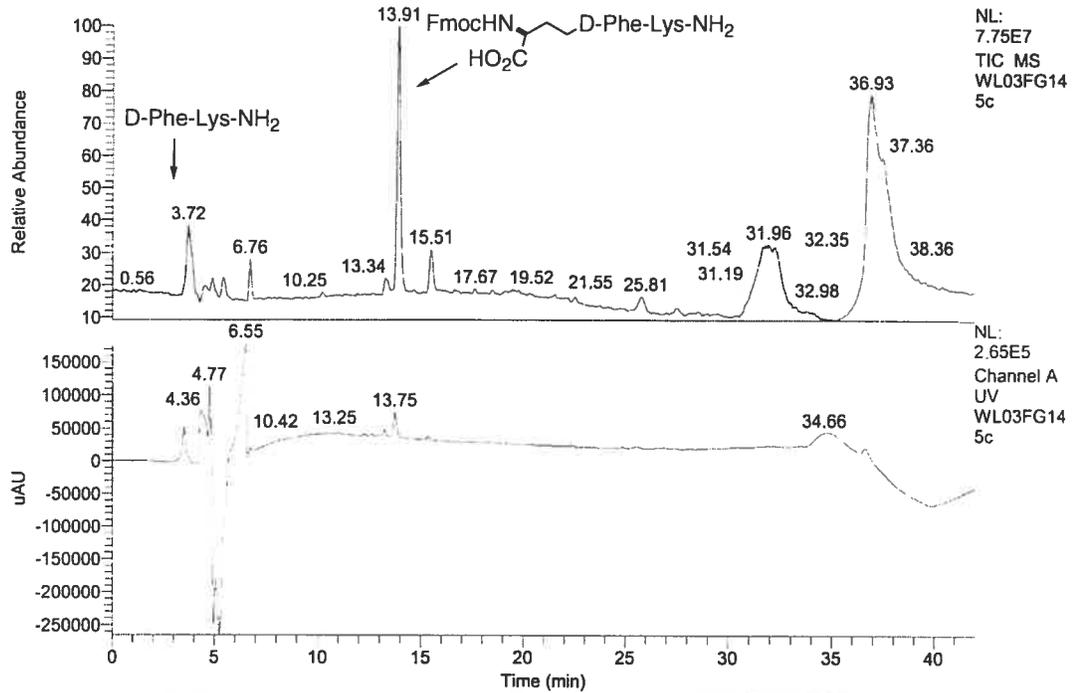








E:\NON TRAP 2003-JUL2005\...WL03FG145c 10/22/2004 06:24:49 PM  
 20-80B%, A=H2O, B=ACN, Flow=0.5 ml/min, inj vol :10uL, col:Prevail C18 250x4.6mm, Channel A =214, B=254, C =280  
 RT: 0.00 - 42.00 SM: 7B



Chromatogramme LC-MS du produit brut après clivage de la résine.