

2M11.3408.3

Université de Montréal

Exploration du potentiel des acides 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindoles  
dans le développement d'inhibiteurs de la thrombine

par

Sébastien Guillemette

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

Maître ès Sciences (M.Sc.)

en chimie

Mai 2006

© Sébastien Guillemette, 2006



dl

3

U54

2006

v.024



**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 :

Exploration du potentiel des acides 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindoles  
dans le développement d'inhibiteurs de la thrombine

présenté par :

Sébastien Guillemette

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Professeur Joëlle Pelletier

Directeur du jury

Professeur Stephen Hanessian

Directeur de recherche

Professeur Andreea R. Schmitzer

Membre du jury

« À mes parents »

## Résumé

Dans la première partie de ce mémoire, on discute brièvement des problèmes liés à la coagulation sanguine. On survole la mécanique de la coagulation sanguine en mettant l'accent sur le rôle joué par la protéase à sérine thrombine ainsi que sur ses caractéristiques structurelles.

Dans la deuxième partie, on découvre les origines des aéruginosines, produits naturels d'origine aquatique, et plus particulièrement l'aéruginosine 298-A qui fut le premier membre de cette famille à afficher une activité anti-thrombotique. On aborde également la méthode de modélisation moléculaire utilisée pour cibler les inhibiteurs potentiels et on résume les stratégies de synthèse pour construire l'unité centrale acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole des aéruginosines.

Dans la troisième partie, on décrit les détails synthétiques pour l'élaboration des inhibiteurs potentiels sélectionnés. On discute ensuite des résultats obtenus des tests d'inhibition contre la thrombine. Finalement on étend la portée de ce projet en explorant les analogues substitués en C-6 de l'acide 2-carboxyoctahydroindole et en survolant la synthèse de nouveaux inhibiteurs potentiels comportant une unité centrale de type bicyclique 5.5.

## Mots-clés

coagulation sanguine, inhibiteur de la thrombine, aéruginosine,  
octahydroindole, acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole

## **Abstract**

In the first part of this thesis, we review the mechanism of the blood coagulation cascade and highlight the structural characteristics of the serine protease thrombin.

In the second part, we present the aeruginosins, in particular aeruginosin 298-A, which was the first member of this family to show inhibitory activity against thrombin. We summarize the previous work done in our group that relates to the aeruginosins, we discuss the molecular modeling protocol used to assist in the design of the prototype inhibitors and we survey the literature for strategies to build the 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole acid core unit.

In the third part, we focus on the synthetic aspects to elaborate the targeted potential inhibitors. We also discuss the biological activity of thrombin based on the results obtained. Finally we extend this project by exploring the C-6 substituted analogs of the 2-carboxyoctahydroindole acid and we look briefly at a new type of prototype inhibitor defined by a fused 5.5 bicyclic core unit.

## **Keywords**

blood coagulation, thrombin inhibitor, aeruginosin,  
octahydroindole, 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole acid

## Table des matières

Résumé .....	iv
Abstract.....	v
Table des matières.....	vi
Liste des figures .....	xiii
Liste des tableaux.....	xiv
Liste des schémas.....	xv
Liste des abréviations .....	xvii
Remerciements.....	xix
<b>Chapitre 1 La coagulation sanguine et la thrombine.....</b>	<b>1</b>
1.1 Le système hémostatique.....	2
1.1.1 Introduction.....	2
1.1.2 L'hémostase primaire .....	2
1.1.3 L'hémostase secondaire : le mécanisme de la cascade enzymatique .....	3
1.1.4 La voie extrinsèque.....	4
1.1.5 La voie intrinsèque .....	5
1.1.6 La voie commune .....	6
1.1.7 Du fibrinogène à la fibrine .....	6
1.1.8 L'importance de la thrombine .....	6
1.1.9 L'équilibre hémostatique et régulation de la coagulation sanguine .....	7
1.1.10 Le système de la fibrinolyse.....	8
1.1.11 Les problèmes liés à un dérèglement du système hémostatique .....	8
1.2 La thrombine.....	9
1.2.1 Introduction.....	9
1.2.2 Les éléments structurels de la thrombine.....	9
1.2.3 Le site actif de la thrombine.....	10



1.2.4 Les inhibiteurs de la thrombine .....	11
1.3 Références.....	15

## **Chapitre 2 Les aéruginosines, la modélisation moléculaire et les stratégies de synthèse de l'unité centrale CHOI..... 17**

2.1 Les cyanobactéries .....	18
2.2 Les aéruginosines .....	18
2.3 Les travaux précédents du groupe Hanessian .....	19
2.4 La modélisation moléculaire.....	21
2.5 Stratégies de synthèse du squelette carboné CHOI.....	24
2.5.1 Stratégie de Wipf.....	24
2.5.2 Stratégie de Bonjoch.....	25
2.5.3 Stratégie de Toyooka .....	25
2.5.4 Stratégie de Shibasaki.....	26
2.5.5 Stratégie d'Hanessian .....	27
2.6 Références.....	29

## **Chapitre 3 La synthèse d'inhibiteurs potentiels de la thrombine..... 33**

3.1 La synthèse de l'acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (CHOI) .....	34
3.1.1 Études réalisées sur le stéréoisomère <i>endo</i> .....	38
3.1.2 Études réalisées sur le stéréoisomère <i>exo</i> .....	44
3.1.3 L'assemblage final.....	50
3.1.4 Les résultats biologiques des inhibiteurs .....	51
3.1.5 Diversité moléculaire.....	54
3.1.6 Obtention de CBOI.....	56
3.2 Le système bicyclique 5.5.....	57
3.2.1 En présence de l'ester éthylique.....	60

3.3	Conclusion .....	62
3.4	Addendum.....	62
3.5	Références.....	63
<b>Chapitre 4</b>	<b>La partie expérimentale.....</b>	<b>66</b>
4.1	Notes générales sur la partie expérimentale.....	67
4.1.1	Instrumentation.....	67
4.1.2	Chromatographie .....	67
4.1.4	Les solvants .....	68
4.1.5	Les réactions effectuées sous des conditions anhydres .....	68
4.1.6	Généralités.....	68
4.2	La partie expérimentale .....	69
4.2.1	Acide ( <i>S</i> )-2-acétamido-3-(4-hydroxyphényl)propanoïque ( <b>3.5</b> ).....	69
4.2.2	Acide ( <i>S</i> )-2-acétamido-3-(4-méthoxyphényl)propanoïque ( <b>3.6</b> ) .....	69
4.2.3	Acide ( <i>S</i> )-2-amino-3-(4-méthoxyphényl)propanoïque ( <b>3.7</b> ).....	70
4.2.4	( <i>S</i> )-2-Amino-3-(4-méthoxycyclohexa-1,4-diényl)propanoate de lithium ( <b>3.8</b> ) .	70
4.2.5	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -Benzyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.11</b> ) .....	70
4.2.6	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> -Benzyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.12</b> ) .....	70
4.2.7	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.27</b> ) .....	71
4.2.8	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2- carboxylate de méthyle ( <b>3.31</b> ).....	72
4.2.9	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2- carboxylate de méthyle ( <b>3.32</b> ).....	72
4.2.10	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-Acétoxy-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyloctahydroindole-2- carboxylate de méthyle ( <b>3.34</b> ).....	73

4.2.11	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.35).....	73
4.2.12	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-(méthoxyméthyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.36).....	74
4.2.13	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-(Benzyloxy)- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.37).....	74
4.2.14	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-(trifluorométhylsulfonyloxy)-2,3,3 <i>a</i> ,4,5,7 <i>a</i> -hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.39).....	75
4.2.15	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-(trifluorométhylsulfonyloxy)-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.40).....	75
4.2.16	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-phényl-2,3,3 <i>a</i> ,4,5,7 <i>a</i> -hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.41 <i>a</i> ).....	76
4.2.17	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-phényl-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -hexahydroindole-1,2-dicarboxylate de méthyle (3.41 <i>b</i> ).....	76
4.2.18	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-phényloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.42).....	77
4.2.19	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-(triméthylsilyloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.47).....	77
4.2.20	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-(tétrahydrofuran-2-yloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.50).....	77
4.2.21	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.54).....	78
4.2.22	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.56).....	79
4.2.23	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.57).....	80
4.2.24	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> - <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.68).....	80
4.2.25	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )-6-(Benzyloxy)- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.70).....	81
4.2.26	2-(Phénylméthylsulfonamido)acétate de méthyle (3.73).....	81

4.2.27	Acide 2-(phénylméthylsulfonamido)acétique (3.74).....	82
4.2.28	Acide ( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoïque (3.76) .....	82
4.2.29	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-1-(( <i>R</i> )-2-Acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-méthoxy octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.1) .....	83
4.2.30	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-1-(( <i>R</i> )-2-Acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-(benzyloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.2) .....	84
4.2.31	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-Méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.3) .....	84
4.2.32	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-(Benzyloxy)-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.4) .....	85
4.2.33	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )-6-Méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.5) .....	86
4.2.34	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )-6-(Benzyloxy)-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.6) .....	86
4.2.35	Benzyl-(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-1-(( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6- méthoxyoctahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)(amino)méthylèncarbamate (4.7) .....	87
4.2.36	Benzylamino(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl) méthylèncarbamate (4.8).....	88
4.2.37	Benzyl-(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-1-(( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6- (benzyloxy)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)(amino) méthylèncarbamate (4.9).....	88
4.2.38	Benzylamino(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-(benzyloxy)-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl) méthylèncarbamate (4.10).....	89
4.2.39	Benzylamino(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl) méthylèncarbamate (4.11).....	89

4.2.40 Benzylamino(4-(((2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )-6-(benzyloxy)-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)méthylèncarbamate ( <b>4.12</b> ).....	91
4.2.41 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-6-hydroxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.86</b> ) .....	91
4.2.42 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-1-(( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.87</b> ) .....	92
4.2.43 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-6-hydroxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.88</b> ) .....	93
4.2.44 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.89</b> ) .....	93
4.2.45 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-1-(( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.90</b> ) ...	94
4.2.46 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.91</b> ) .....	95
4.2.47 Hydrochlorate de (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N</i> -(4-carbamimidoylbenzyl)-1-(( <i>R</i> )-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-(benzyloxy)octahydroindole-2-carboxamide ( <b>3.92</b> ) .....	95
4.2.48 (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-hydroxy-6-méthyl-octahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.94</b> ).....	96
4.2.49 (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-éthylidène-octahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.96</b> ).....	96
4.2.50 (2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6-éthyl-octahydroindole-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.97</b> ) .....	97
4.2.51 ( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.103</b> ) .....	98
4.2.52 (2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-4-(but-3-ényl)-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.104</b> ).....	98
4.2.53 (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-4-(but-3-ényl)-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle ( <b>3.105</b> ).....	98

4.2.54	(2 <i>S</i> ,5 <i>RS</i> )-5-Acétoxy-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylpyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.107)	99
4.2.55	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aS</i> )-6-Bromo-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.108)	100
4.2.56	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,7 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.109)	100
4.2.57	( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.115)	101
4.2.58	( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-5-hydroxypyrrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.116)	101
4.2.59	( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-2,3-dihydropyrrole-2-carboxylate (3.117)	102
4.2.60	(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-7,7-dichloro-6-oxo-2-azabicyclo[3.2.0]heptane-3-carboxylate de méthyle (3.119 <i>a</i> )	103
4.2.61	(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-7,7-dichloro-6-oxo-2-azabicyclo[3.2.0]heptane-3-carboxylate de méthyle (3.119 <i>b</i> )	103
4.2.62	(2 <i>S</i> ,5 <i>RS</i> )-5-Acétoxy-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylpyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.107)	103
4.2.63	(2 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>aS</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6,6-dichloro-5-oxohexahydrocyclopenta[ <i>b</i> ]pyrrole-2-carboxylate de méthyle (3.125)	104
4.2.64	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-6,6-dichloro-5-oxohexahydrocyclopenta[ <i>b</i> ]pyrrole-2-carboxylate de méthyle (4.13)	104
4.2.65	( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate d'éthyle (3.128)	105
4.2.66	( <i>S</i> )- <i>N-tert</i> -Butyloxycarbonyl-2,3-dihydropyrrole-2-carboxylate d'éthyle (3.130)	105
4.3	Références	106
<b>Annexe I Rapport cristallographique du composé 3.56</b>		<b>107</b>

## Liste des figures

Figure 1.1	Cascade enzymatique dans le processus de la coagulation.....	5
Figure 1.2	Mécanisme de l'hydrolyse d'une liaison peptidique .....	11
Figure 1.3	Inhibiteurs non-naturels de la thrombine .....	13
Figure 1.4	Schéma illustratif des interactions entre la thrombine et PPACK .....	14
Figure 3.1	Structure cristallographique de <b>3.56</b> .....	45

**Liste des tableaux**

Tableau 1.1	Les facteurs impliqués dans le processus de la coagulation.....	4
Tableau 3.1	Études sur la stéréosélectivité de réduction du carbonyle.....	40
Tableau 3.2	Les résultats biologiques avec diverses enzymes en IC <sub>50</sub> (μM).....	52



## Liste des schémas

Schéma 2.1	Aéruginosine 298-A .....	19
Schéma 2.2	La dysinosine A et l'oscillarine .....	20
Schéma 2.3	La liste des prototypes d'inhibiteurs de la thrombine .....	23
Schéma 2.4	Stratégie de Wipf vers CHOI.....	24
Schéma 2.5	Stratégie de Bonjoch vers CHOI.....	25
Schéma 2.6	Stratégie de Toyooka vers CHOI.....	26
Schéma 2.7	Stratégie de Shibasaki vers CHOI.....	27
Schéma 2.8	Stratégie d'Hanessian vers CHOI.....	28
Schéma 3.1	Les deux stéréoisomères de type CHOI .....	34
Schéma 3.2	Nomenclature acceptée de CHOI.....	34
Schéma 3.3	Synthèse de l'intermédiaire clé de la cyclisation à partir de la L-tyrosine..	35
Schéma 3.4	Mécanisme proposé de la cyclisation de Bonjoch .....	36
Schéma 3.5	Conversion de la forme <i>exo</i> à la forme <i>endo</i> .....	37
Schéma 3.6	Conformation la plus stable lorsque le groupe protecteur est un benzyle...	38
Schéma 3.7	Changement de groupe protecteur du dérivé CHOI issu de la cyclisation..	39
Schéma 3.8	Conformation la plus stable lorsque le groupe protecteur est un Boc.....	39
Schéma 3.9	Obtention de L-CHOI via le stéréoisomère de configuration inverse.....	41
Schéma 3.10	Protection de l'alcool en position 6.....	41
Schéma 3.11	Corrélation aux travaux antérieurs effectués dans le groupe.....	42
Schéma 3.12	Raisonnement de la stéréosélectivité de la réduction.....	43
Schéma 3.13	Quelques curiosités.....	44
Schéma 3.14	Changement de groupe protecteur d'un benzyle à un carbamate .....	44
Schéma 3.15	Réduction de la cétone en position 6.....	45
Schéma 3.16	Effet de tension allylique 1,3 lorsque le groupe protecteur est un Boc.....	46
Schéma 3.17	Argument de l'effet stérique dû aux hydrogènes en position 1,3 diaxiale.	47
Schéma 3.18	Argument de l'hypothèse de Cieplak.....	47
Schéma 3.19	Argument de l'effet de la tension de torsion .....	48
Schéma 3.20	Installation des groupes protecteurs sur l'alcool de la position 6 .....	49

Schéma 3.21	Synthèse des chaînes latérales.....	49
Schéma 3.22	Assemblage typique d'un inhibiteur prototype.....	50
Schéma 3.23	Les inhibiteurs synthétisés.....	51
Schéma 3.24	Réaction de Grignard.....	54
Schéma 3.25	Réaction de Wittig.....	55
Schéma 3.26	Effets NOE prévus.....	55
Schéma 3.27	Convertir l'alcool en bromo.....	56
Schéma 3.28	La route azonia-Prins vers CBOI.....	56
Schéma 3.29	Les inhibiteurs prototypes comportant un système bicyclique 5.5.....	58
Schéma 3.30	Synthèse du squelette bicyclique 5.5.....	58
Schéma 3.31	La procédure de Shono pour atteindre l'ènecarbamate.....	59
Schéma 3.32	Mécanisme d'homologation du cycle à 4 avec le diazométhane.....	60
Schéma 3.33	Synthèse avec l'ester éthylique.....	60
Schéma 3.34	La procédure améliorée.....	61
Schéma 3.35	Le plan de la synthèse qui reste à effectuer.....	61
Schéma 3.36	Aéruginosine EI461.....	61

## Liste des abréviations

Ac	acétyle
ATIII	antithrombine III
Bn	benzyle
Boc	tert-butyloxycarbonyle
BOP	phosphonium de benzotriazol-1-yloxy-tris-(diméthylamino)
cat.	catalytique
CBOI	acide 6-bromo-2-carboxyoctahydroindole
Cbz	benzyloxycarbonyle
CHOI	acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole
COSY	spectroscopie de corrélation
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCM	dichlorométhane
DIAD	diisopropylazodicarboxylate
DIBAL-H	hydrure de diisobutylaluminium
DIPEA	diisopropyléthylamine
DMAP	diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
GP	groupe protecteur
hex.	hexane
IC <sub>50</sub>	concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de l'enzyme
KHDM	kininogène de haute densité moléculaire
KHMDS	<i>N,N</i> -bis(triméthylsilyl)amidure de potassium
LHMDS	<i>N,N</i> -bis(triméthylsilyl)amidure de lithium
LS-Selectride	tris(isoamyl)borohydrure de lithium
MOM	méthoxyméthyle
NMM	<i>N</i> -méthylmorpholine
NOE	effet nucléaire d'Overhauser
quant.	quantitatif
RMN	résonance magnétique nucléaire

Super-Hydrure	triéthylborohydrure de lithium
TBAI	iodure de tétrabutylammonium
Tf	triflyle
TFA	acide trifluoroacétique
TFAA	anhydride trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TMS	triméthylsilyle
tPA	activateur tissulaire plasminogène
vWF	facteur de von Willebrand

## Remerciements

Il n'aurait pas été possible d'écrire ce mémoire ou même de réaliser ce projet sans l'aide et le support indéfectible de ma famille. Élisabeth, André et Valérie, merci, merci, merci. Il n'y a pas de mot assez fort pour décrire tout ce que vous m'avez apporté. Vous êtes les personnes les plus précieuses de mon existence.

J'aimerais exprimer ma sincère gratitude à mon directeur de recherche, le professeur Stephen Hanessian, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet avec lui. Il a su me communiquer ses connaissances, sa passion pour la chimie et, au-delà des sciences, il a su également m'enseigner des qualités humaines qui m'ont permis de devenir aujourd'hui, en plus d'un meilleur chimiste, une meilleure personne.

Le groupe de recherche ne serait pas complet sans ses nombreux membres passés et présents qui sont devenus avec le temps non seulement des collègues mais également des amis. Je tiens à remercier particulièrement le Dr. Martin Tremblay et Janek Szychowski pour leur aide incommensurable. Je désire également remercier le Dr. Éric Therrien qui a réalisé le travail de modélisation moléculaire de ce projet tout en apportant sans cesse de nouvelles idées et suggestions.

Une partie de moi, au cours de mes études graduées, s'est réalisée par la découverte d'une nouvelle passion : l'enseignement. Je veux remercier spécialement le professeur Françoise Winnik et le professeur Andreea R. Schmitzer pour m'avoir fait confiance et avoir appuyé mes projets de carrière.

Finalement je remercie la compagnie pharmaceutique AstraZeneca. La réalisation de ce projet n'aurait pas été possible sans sa collaboration et sa participation financière.

**CHAPITRE 1**

**LA COAGULATION SANGUINE**

**ET**

**LA THROMBINE**

## 1.1 Le système hémostatique

### 1.1.1 Introduction

L'humain, de par son processus évolutif, s'est développé avec un système hémostatique complexe lui permettant de conserver la fluidité de son sang et de réagir rapidement aux blessures en colmatant les excavations. Ce processus, appelé coagulation sanguine, régule les étapes de l'hémostase faisant passer le sang de l'état liquide à l'état solide. Il permet de former des caillots pour oblitérer les lésions et éviter une conclusion létale d'un écoulement incontrôlé du sang.

L'hémostase permet l'arrêt des hémorragies spontanées et des hémorragies d'origine vasculaire par une série d'étapes faisant intervenir les vaisseaux, les plaquettes, les facteurs de coagulation et le système de la fibrinolyse. Ces étapes peuvent être regroupées chronologiquement par l'hémostase primaire qui est une réaction rapide des intervenants locaux pour former la première structure plaquettaire, l'hémostase secondaire qui solidifie le thrombus et finalement la fibrinolyse qui assure la restructuration de la plaie.

### 1.1.2 L'hémostase primaire

Lors d'une rupture vasculaire il y a immédiatement une vasoconstriction réflexe. Les vaisseaux se rétrécissent et le flux circulatoire local diminue sous l'action de l'adrénaline, de la noradrénaline, de la sérotonine et de la thromboxane  $A_2$  transportées par les plaquettes. Cette vasoconstriction peut suffire par elle-même à arrêter l'écoulement au niveau des capillaires. Elle se produit suite à l'adhésion des plaquettes au collagène de la surface sous-endothéliale en présence d'ions de calcium et du facteur de von Willebrand.<sup>1</sup> Le facteur von Willebrand se lie sur le récepteur glycoprotéique GPIb de la membrane plaquettaire et à la fibre de collagène en agissant comme un pont. L'adhésion des plaquettes provoque le déversement de leur contenu : des hormones qui stimulent la

vasoconstriction ainsi que des granules de type  $\alpha$  et  $\delta$  qui par agrégation forment le premier constitutif du caillot de fibrine appelé le clou plaquettaire.<sup>1</sup>

### 1.1.3 L'hémostase secondaire : le mécanisme de la cascade enzymatique

Faisant suite à la formation du clou plaquettaire formé par adhésion des plaquettes, il y a trois phases intimement reliées lors de l'hémostase secondaire. Tout d'abord, durant la phase initiale, il y a formation du facteur Xa par une série d'activations passant par une voie dite intrinsèque (plus lente) ne nécessitant que les composantes du plasma et par une voie extrinsèque (plus rapide) qui implique un facteur tissulaire libéré des cellules endothéliales lésées.<sup>1</sup>

Ces deux voies, physiologiquement exécutées en coopération, mènent à la formation du complexe prothrombinase. En deuxième phase, la prothrombinase va permettre la transformation de la prothrombine en thrombine. Et finalement la dernière phase permet d'obtenir le thrombus par polymérisation de la fibrine elle-même formée du fibrinogène.<sup>1</sup>

Le mécanisme de la coagulation sanguine fait intervenir plusieurs facteurs, synthétisés au niveau du foie, nécessitant une modification structurelle pour déclencher leur état activé. Ces facteurs peuvent être des zymogènes (protéines qui peuvent être transformées en protéases à sérine ou autres types d'enzymes), des protéases à sérine (enzymes qui catalysent l'hydrolyse de liens peptidiques par l'attaque nucléophile de la sérine), des cofacteurs (protéines qui par association avec des enzymes les rendront actives, par exemple en changeant la structure conformationnelle des enzymes pour dévoiler leurs sites actifs), des transglutaminases (enzymes qui associent par un lien covalent une amine à la fonction amide de la glutamine) et des ions calciums.<sup>2</sup>

Les facteurs sont désignés par un caractère romain qui n'a aucune signification autre qu'historique. Les facteurs activés sont dénotés par un petit « a » faisant suite à leur identification.



**Tableau 1.1** Les facteurs impliqués dans le processus de la coagulation<sup>3</sup>

facteur	dénomination usuelle	masse moléculaire (kDa)	protéase à sérine
I	fibrinogène	340	
II	prothrombine	70	✓
III	thromboplastine tissulaire	30	
IV	ion Ca <sup>2+</sup>		
V	proaccélélerine	350	
VII	proconvertine	50	✓
VIII	facteur anti-hémophilique	330	
IX	facteur Christmas	56	✓
X	facteur Stuart		✓
XI	antécédent plasmatique thromboplastinique	160	✓
XII	facteur Hageman		
XIII	facteur de stabilisation de la fibrine	320	

Le facteur Va s'appelait autrefois facteur VI.

#### 1.1.4 La voie extrinsèque

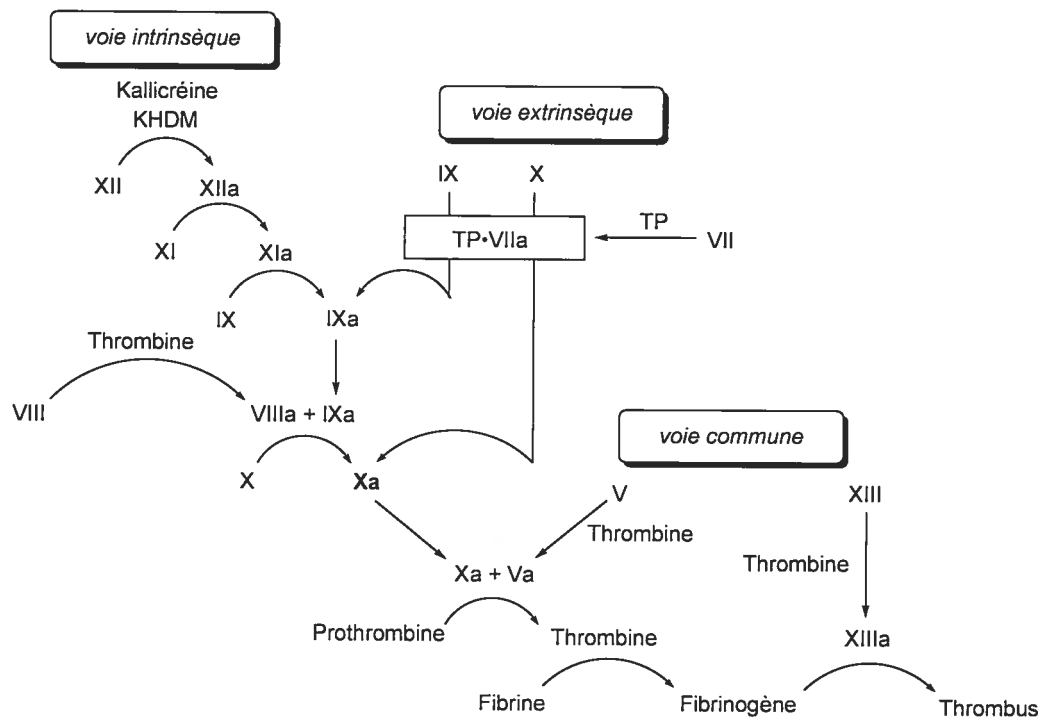
La voie extrinsèque, appelée aussi la voie du facteur tissulaire, est la voie principale *in vivo* du mécanisme de coagulation. La rupture vasculaire démasque des complexes glycoprotéiques et phospholipidiques de la matrice appelés thromboplastine tissulaire ou facteur III. Le facteur VII présent dans le sang se fait activer par la thromboplastine (TP), catalysé par les ions calcium et ayant le rôle de cofacteur, pour former un complexe TP•VIIa. Ce complexe permet ensuite l'activation du facteur X. Ce même complexe permet également l'activation du facteur IX. Les facteurs Xa et IXa sont les facteurs communs aux voies intrinsèques et extrinsèques.<sup>1</sup>

### 1.1.5 La voie intrinsèque

La voie intrinsèque ne nécessite que les composantes déjà présentes dans le plasma sanguin. Le mécanisme passe par un système de contact<sup>2</sup> et débute lorsque le facteur XII en présence du kininogène de haute densité moléculaire (un facteur annexe), dû aux surfaces non hémocompatibles au site de la lésion vasculaire, permet d'activer la protéine prékallitréine (une glycoprotéine) en kallitréine qui à son tour va permettre l'activation du facteur XII. Le facteur XIIa active le facteur XI et ce dernier active le facteur IX catalysé par l'ion  $Ca^{2+}$ . Le facteur IXa est un des points de rencontre des voies extrinsèques et intrinsèques. Le facteur IXa activera ensuite le facteur X en facteur Xa.<sup>2</sup>

Le facteur Xa est le facteur initial du tronc commun aux deux voies. Afin d'apporter un flux suffisant de facteurs Xa, la thrombine joue le rôle d'activant pour transformer le facteur VIII anti-hémophilique en facteur VIIIa qui à son tour pourra permettre l'activation de facteurs X supplémentaires.

**Figure 1.1** Cascade enzymatique dans le processus de la coagulation



### 1.1.6 La voie commune

Les deux voies, intrinsèque et extrinsèque, vont mener à la formation du complexe prothrombinase. Le complexe prothrombinase est formé à partir du facteur Xa, du facteur Va et de la prothombine qui vont se fixer sur les membranes phospholipidiques des plaquettes activées via chélation des ions calcium. Ce complexe permet la transformation de la prothrombine en thrombine. La prothrombine est une protéine constituée d'une seule chaîne qui va être clivée à deux sites par le facteur Xa et à nouveau par la thrombine elle-même. Cette coupure génère les deux fragments actifs de la thrombine liés entre eux par une seule liaison disulfure.

### 1.1.7 Du fibrinogène à la fibrine

Le fibrinogène est une immense glycoprotéine présente en concentration élevée dans le plasma sanguin.<sup>1</sup> Il est constitué de trois paires de protéines appelés A $\alpha$  (610 acides aminés), B $\beta$  (461 acides aminés) et  $\gamma$  (411 acides aminés).<sup>3</sup> A et B sont appelés fibrinopeptides. La thrombine va cliver les liens N-terminaux pour libérer les fibrinopeptides et former les monomères de fibrinogène. Ceux-ci vont polymériser, par une réaction réversible, pour former la fibrine soluble. La thrombine va activer, en présence d'ions calcium, le facteur XIII qui par son action va stabiliser la fibrine par des liaisons covalentes pour obtenir la fibrine insoluble.

### 1.1.8 L'importance de la thrombine

Les premières traces de thrombine formées vont catalyser les processus initiaux de la coagulation en agissant sur l'activation du facteur XIa et du facteur VIII anti-hémophilique pour suppléer l'apport de facteurs Xa nécessaire à la formation de molécules de thrombine supplémentaires. Ensuite la thrombine va agir directement sur le

thrombus en formant la fibrine soluble et par l'intermédiaire du facteur XIII, elle va permettre la stabilisation de la fibrine en fibrine insoluble. On constate donc que la thrombine joue un rôle immédiat dans le processus de coagulation sanguine en plus d'être l'enzyme centrale de la formation et la solidification du thrombus.

### **1.1.9 L'équilibre hémostatique et régulation de la coagulation sanguine**

La coagulation sanguine est un processus hémostatique en équilibre entre une hyperfluidité (hypocoagulabilité) et une fluidité insuffisante (hypercoagulabilité) du flux sanguin. Une déficience de cet équilibre peut entraîner des conséquences irréversibles ou même létales. Le système hémostatique possède des inhibiteurs plasmiques naturels servant à réguler, limiter et contrôler l'étendue et la vitesse du processus de la coagulation. Ces inhibiteurs se lient à la thrombine ainsi qu'aux facteurs activés.

La protéine C est un zymogène ayant des propriétés anticoagulantes<sup>1,4</sup>. Elle est activée par la thrombine et fixée par la thrombomoduline à la surface endothéliale pour agir sur les facteurs V et VIII en les désactivant. La thrombomoduline est une glycoprotéine qui en fixant la thrombine la rend beaucoup plus susceptible à activer la protéine C tout en diminuant sa capacité à former un caillot.

L'antithrombine III (AT III) est l'inhibiteur majeur de la thrombine<sup>1,4</sup>. Cette désactivation se produit en formant un complexe inactif irréversible entre l'AT III et la thrombine. L'AT III désactive également plusieurs autres facteurs activés comme les facteurs XIIa, XIa et Xa. L'action de l'AT III est fortement amplifiée en présence de l'héparine et de l'héparan sulfate, des polysaccharides produits par les tissus des parois vasculaires. Ils se lient à un site de l'AT III qui provoque un changement de conformation favorisant l'inhibition de la thrombine et retardant la formation des caillots. L'AT III est également responsable de l'inhibition des facteurs qui interviennent dans le système de la fibrinolyse comme la plasmine et la kallikréine.

### **1.1.10 Le système de la fibrinolyse**

Les caillots présents pendant la cicatrisation de la blessure doivent être éliminés une fois les tissus réparés. Le système de la fibrinolyse est responsable de la dissolution du caillot de fibrine sous l'action de la plasmine, de la reconstruction des cellules endothéliales et de la reperméabilisation du vaisseau sanguin.

L'agent précurseur est la glycoprotéine plasminogène qui va être transformée en plasmine suite à son activation par des protéases à sérine telles urokinase et l'activateur tissulaire plasminogène (tPA). La plasmine est l'agent responsable de la dissolution du caillot. Elle va s'insérer dans le réseau de fibrine et provoquer des coupures protéolytiques des chaînes.

### **1.1.11 Les problèmes liés à un dérèglement du système hémostatique**

L'hémophilie de type A, la plus fréquente, est dû à la déficience du facteur VIII. L'hémophilie est classée comme sévère, modérée ou légère selon la concentration de facteur VIIIa dans le plasma sanguin. On note également un taux moins élevé de thrombine formée par la voie intrinsèque. Ces individus souffrent d'hémorragie au niveau des muscles et des jointures, formation facile d'ecchymoses ainsi que d'un saignement prolongé lors d'une lésion vasculaire. L'hémophilie de type A peut être traitée en injectant des facteurs VIIIa chez le patient.

L'hémophilie de type B est dû à la déficience du facteur IX appelé aussi le facteur de Christmas. L'hémophilie de type C est dû à la déficience du facteur XI.

La maladie de von Willebrand est le problème hémostatique le plus courant et il est dû à la déficience du facteur vWF qui porte le même nom. Les plaquettes n'arrivent plus à adhérer aux parois des cellules endothéliales provoquant des saignements abondants.

La thrombose est le problème opposé des hémophiles, le système agit en formant des caillots en surabondance saturant ainsi les artères et bloquant la circulation du sang, pouvant occasionner une embolie, avec les conséquences désastreuses qui peuvent en survenir.

Il y a plusieurs autres types de problèmes liés au système hémostatique qui sont dûs à des déficiences protéiques ou de d'autres enzymes dont l'antithrombine III. Nous n'allons pas entrer en détails dans le cadre de ce mémoire sur les autres problèmes ou encore sur les thérapeutiques.

## **1.2 La thrombine**

### **1.2.1 Introduction**

La thrombine, également appelé le facteur II, est une des enzymes centrales dans le mécanisme de la cascade enzymatique de la coagulation sanguine commune aux deux voies. Elle a été identifiée comme une protéase à sérine ayant de fortes similarités avec la trypsine<sup>1,4</sup>.

La thrombine par son effet direct sur tous les niveaux du système coaguloire représente par son inhibition, en ralentissant ou arrêtant le processus de coagulation, une cible de choix pour la synthèse de nouveaux inhibiteurs potentiels.

### **1.2.2 Les éléments structurels de la thrombine**

La structure complète de la prothrombine, précurseur immédiat de la thrombine, a été élucidée comme étant une protéine constituée de 308 acides aminés. La facteur Xa va cliver la prothrombine à la position 49 pour générer une chaîne A de 49 acides aminés et

une chaîne B de 259 acides aminés. Lorsque le site actif est formé, la thrombine va dégrader sa chaîne A pour former une chaîne A de 36 acides aminés.<sup>4</sup>

La thrombine est donc constituée de deux chaînes : une chaîne A contenant 36 acides aminés et une chaîne B contenant 259 acides aminés. Les deux chaînes sont maintenues ensemble par une seule liaison disulfure. Également trois liaisons disulfures supplémentaires maintiennent la conformation active de la chaîne B.

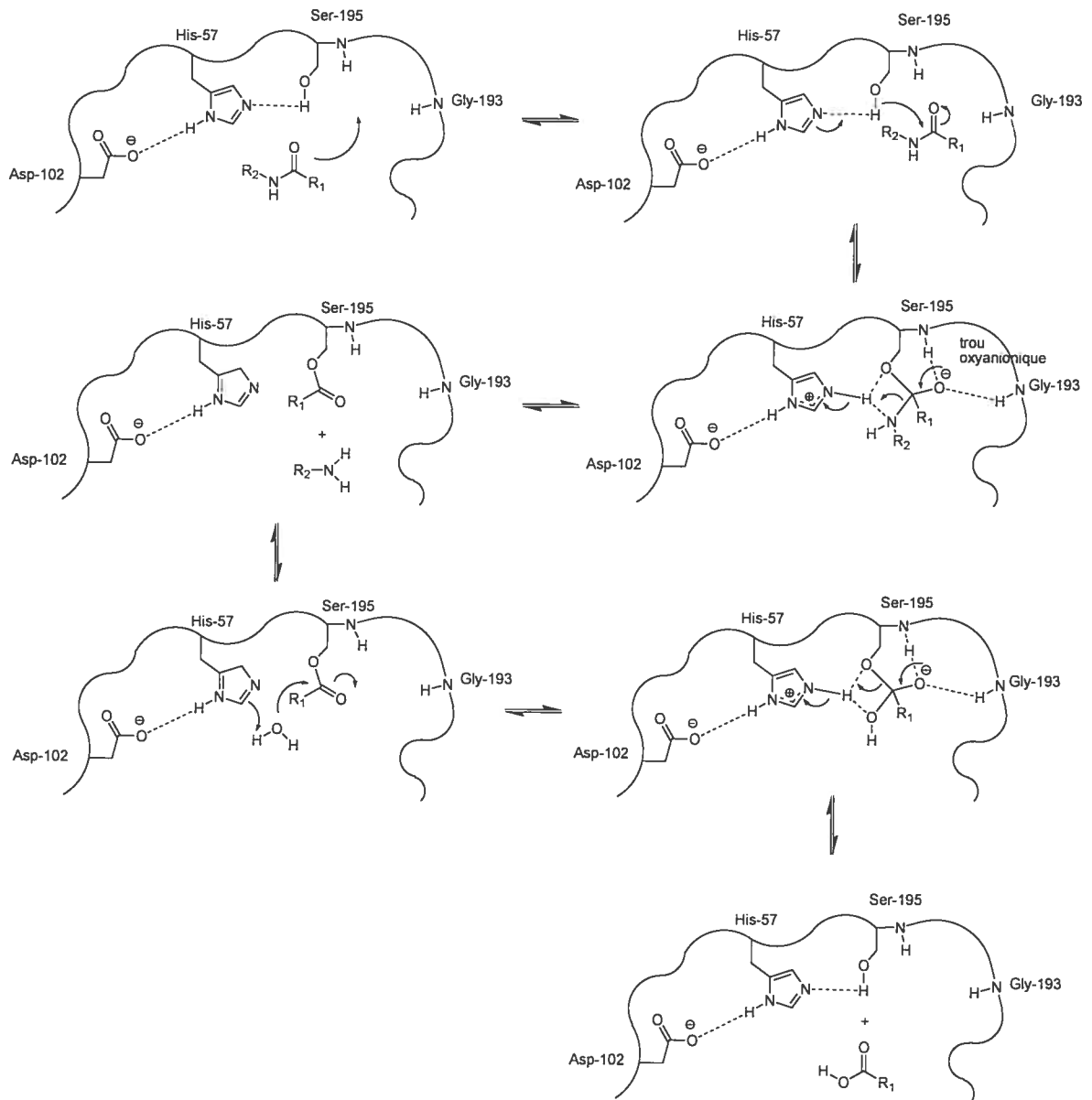
### 1.2.3 Le site actif de la thrombine

Le site actif de la thrombine est caractérisé par la présence d'une triade catalytique constituée de la Sérine-195, l'Histidine-57 et l'Aspartate-102 qui sont également les acides aminés présents dans tous les sites actifs de la famille des protéases à sérine dérivées de la trypsine.<sup>4</sup> Le groupement hydroxyle de la sérine, promu par la nucléophilie de l'imidazole de l'histidine riche en électrons, est placé de façon à attaquer la liaison peptidique scissile. L'histidine capture ensuite le proton labile du groupement hydroxyle. Les électrons de la forme tétraédrique stabilisée dans le trou oxyanionique reviennent pour cliver la liaison C-N de l'amide expulsant une amine libre hors du site actif. Dans une deuxième phase une molécule d'eau attaque l'ester précédemment formé et suite à une réaction de transestérification, le site actif retrouve sa configuration initiale et un acide carboxylique est libéré comme le démontre le mécanisme de la Figure 1.2.

Le site actif de la thrombine est constitué par trois poches de reconnaissance à proximité de la triade catalytique. La poche de spécificité  $S_1$  possède un résidu Aspartate-189 en son creux et est optimisée pour favoriser des interactions avec le groupement basique arginine ainsi que ses mimétiques comme la benzamidine. La poche proximale  $S_2$  contient un résidu Tyr-Pro-Pro-Trp à la position 60 pouvant donner suite à des interactions hydrophobes. Finalement la poche distale  $S_3$ , plus large, est délimitée par la chaîne Leu-99, Ile-174 et Trp-215 en son fond favorisant elle aussi des interactions hydrophobes (Figure 1.2).

**Figure 1.2** Mécanisme de l'hydrolyse d'une liaison peptidique pour une protéase à sérine

3



### 1.2.4 Les inhibiteurs de la thrombine

Le fibrinogène est le substrat naturel de la thrombine. La thrombine clive quatre liaisons peptidiques arginine-glycine du fibrinogène pour libérer une chaîne A de 18 acides



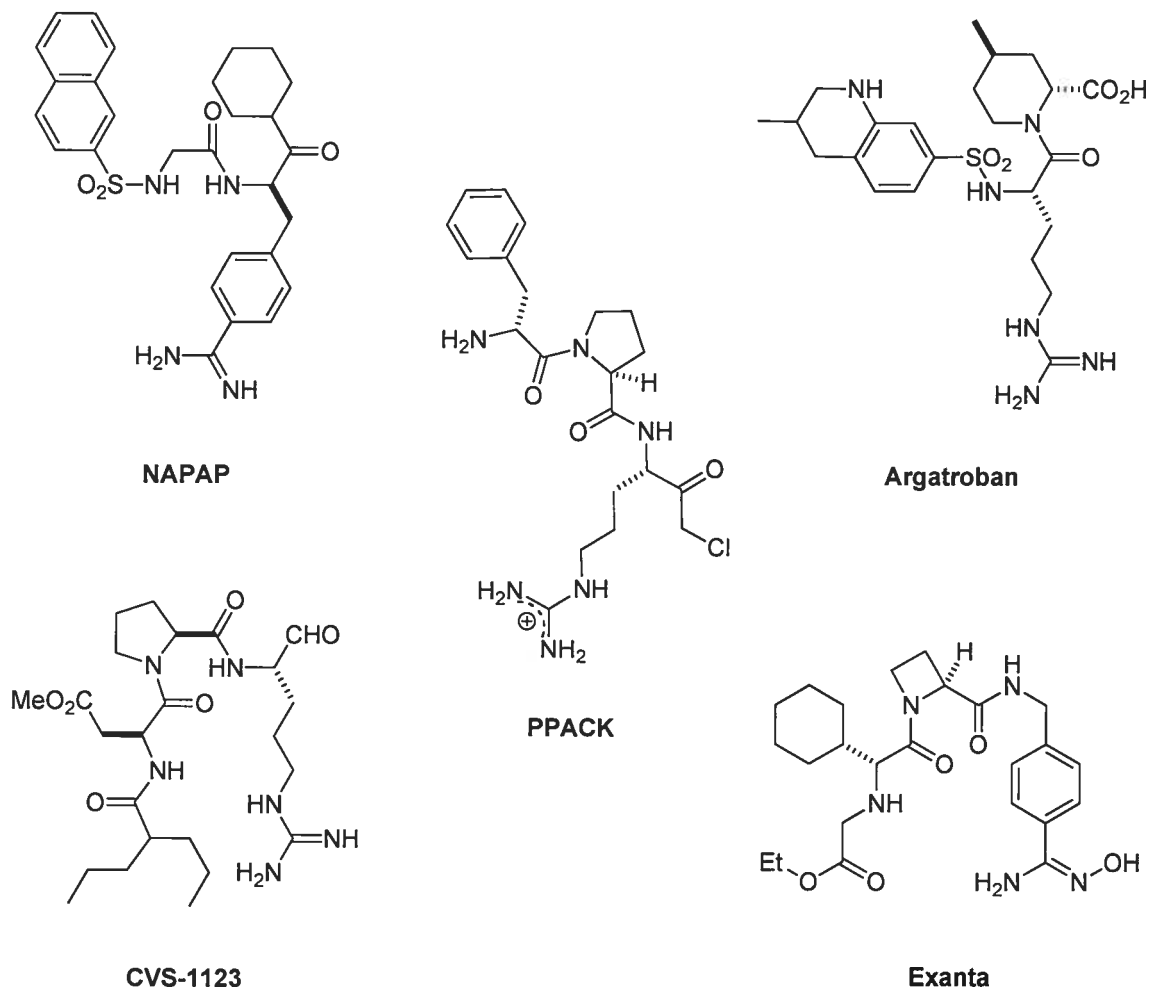
aminés et une chaîne B de 20 acides aminés et ainsi générer deux monomères de fibrine, un fibrinogène dépourvu de ses deux fibrinopeptides A et B, qui vont s'assembler pour former une structure compacte solide dans les dernières étapes de la cascade enzymatique.

L'hirudine, une protéine de 65 acides aminés, est l'inhibiteur naturel de la thrombine le plus efficace connu à ce jour.<sup>5</sup> Elle a été isolée des glandes salivaires des sangsues *Hirudo medicinalis*. L'hirudine n'utilise pas la poche de spécificité S<sub>1</sub> de la thrombine comme le font les autres inhibiteurs de protéases à sérine mais plutôt en s'insérant dans le site actif par liaison hydrogène de son groupement NH<sub>2</sub>-terminal avec la sérine et en enroulant son extrémité C-terminale autour de l'enzyme à son exosite. Les interactions entre l'hirudine et la thrombine à son exosite dépasse le cadre de ce mémoire et ne seront pas discutées ici.

Il y a deux catégories générales d'inhibiteurs directs de faible masse moléculaire de la thrombine : les inhibiteurs électrophiles (soit des acides boroniques ou des aldéhydes peptidiques pour la majorité) ainsi que les inhibiteurs non-électrophiles.

Les premiers inhibiteurs réversibles ne comportant pas de groupe électrophile ont été le N<sup>α</sup>-(2-naphthylsulphonylglycyl)-dl-p-amidinophénylalanilpipéridine (NAPAP) et l'Argatroban (Figure 1.3).<sup>6</sup> Plusieurs autres inhibiteurs potentiels ont été synthétisés basé sur ces deux résultats mais la plus importante avancée dans le domaine a été accomplie suite à la cristallisation de l'inhibiteur D-Phe-Pro-Arg-chlorométhylcétone (PPACK) dans la thrombine.

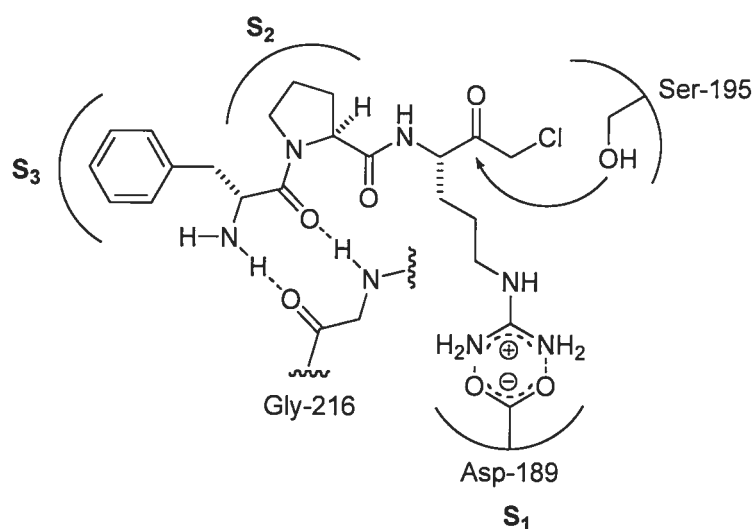
Les peptides α-chlorométhyle PPACK et D-Phe-Pro-Arg-H possédant des groupes électrophiles font parties des premiers inhibiteurs synthétiques efficaces de la thrombine. Ils ont été développés par une méthode peptidomimétique qui consiste à reprendre une séquence pertinente du substrat naturel de la thrombine, dans ce cas-ci la séquence Phe-Pro-Arg du fibrinogène.

**Figure 1.3** Inhibiteurs non-naturels de la thrombine

PPACK s'insère dans le site actif de la thrombine (Figure 1.4) et le résidu est alkylé par la Ser-195 dans une réaction irréversible rendant le complexe inhibiteur-thrombine inactif. Ce complexe a été cristallisé en 1989<sup>7</sup> et il a permis d'observer des interactions électrostatiques entre la fonction guanidine (une mimétique de l'arginine) et l'Asp-189 de la poche de sélectivité S<sub>1</sub> (Figure 1.4). Également la proline se loge dans la poche S<sub>2</sub> pour favoriser des interactions hydrophobes et la partie aromatique du phénylalanine s'insère tout au fond de la poche S<sub>3</sub> et va chercher des interactions avec les résidus tryptophanes. Une interaction antiparallèle supplémentaire entre la Gly-216 et l'amide

ainsi que l'amide de la phénylalanine par deux liaisons de type pont hydrogène a été observée.

**Figure 1.4** Schéma illustratif des interactions entre la thrombine et PPACK



La compagnie Corvas a enchaîné en créant CVS-1123 (Figure 1.3) qui s'est révélé efficace à prévenir les thromboses artérielles et veineuses chez les chiens.<sup>8</sup> Sans entrer dans les détails plusieurs autres inhibiteurs ont vu le jour. Plus récemment AstraZeneca a développé l'Exanta (Figure 1.3) qui s'est avéré un candidat intéressant pour l'administration par voie orale chez l'homme, une propriété importante mais difficile à atteindre pour les anticoagulants.<sup>9</sup> Malheureusement le 14 février 2006 le produit a été retiré du marché mondial à titre préventif d'après les résultats obtenus lors de l'essai prolongé ayant démontré des dommages sérieux au foie.<sup>10</sup> On constate donc qu'il est impératif d'accentuer le développement pour trouver des alternatives aux solutions actuelles.

### 1.3 Références

- <sup>1</sup> Colman, R. W.; Hirsh, J.; Marder, V. J.; Salzman, E. W. « Hemostatis and Thrombosis, Basic Principles and Clinical Practice », 2<sup>e</sup> édition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, **1994**, p. 3-18.
- <sup>2</sup> Voet, D.; Voet, J. G., « Biochemistry », 2<sup>e</sup> édition, John Wiley and sons Inc., New York, **1995**, p. 1196-1207.
- <sup>3</sup> Halkier, T., Mechanism in Blood Coagulation, Fibrinolysis and Blood Coagulation, Cambridge University Press, **1991**, p. 4-5.
- <sup>4</sup> Lundblad, R. L.; Mann, K. G. « Hemostatis and Thrombosis, Biochemistry of Thrombin », J. B. Lippincott Company, Philadelphia, **1982**, p. 112-128.
- <sup>5</sup> Babine, R. E.; Bender, S. L., « Molecular Recognition of Protein-Ligand Complexes : Applications to Drug Design », *Chem. Rev.*, **1997**, 5, 1359-1472.
- <sup>6</sup> Hauptmann, J.; Steinmetzer, T.; Sturzebecher, J., « Advances in the development of thrombin inhibitors », *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **2001**, 10, 845-864.
- <sup>7</sup> Baumann, U.; Bode, W.; Hofsteenge, J.; Huber, R.; Mayr, I.; Stone, S. R., « The refined 1.9 Å crystal structure of human  $\alpha$ -thrombin : interaction with D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone and significance of the Tyr-Pro-Pro-Trp insertion segment. », *The EMBO Journal*, **1989**, 8, 3467-3475.
- <sup>8</sup> Naylor-Olsen, A. M.; Sanderson, P. E. J., « Thrombin Inhibitor Design », *Current Medicinal Chemistry*, **1998**, 5, 289-304.
- <sup>9</sup> Petersen, P., « Ximelagatran – A Promising New Drug in Thromboembolic Disorders », *Curr. Pharm. Des.*, **2005**, 11, 527-538.

<sup>10</sup> AstraZeneca, « AstraZeneca Decides to Withdraw Exanta™ », communiqué de presse, <http://www.exanta.com/content3682.htm>, site web consulté le 28 avril 2006.

**CHAPITRE 2**

**LES AÉRUGINOSINES,**

**LA MODÉLISATION MOLÉCULAIRE**

**ET LES STRATÉGIES DE SYNTHÈSE DE L'UNITÉ CENTRALE CHOI**

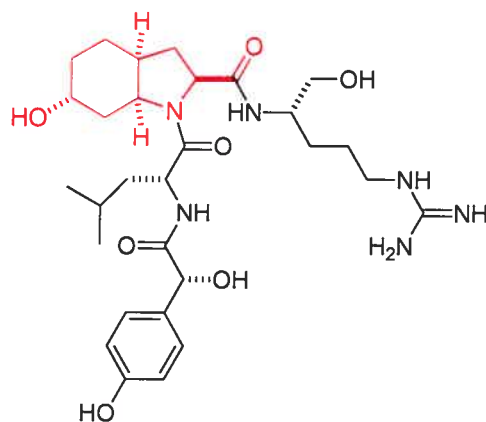
## 2.1 Les cyanobactéries

La nature a toujours été une source d'inspiration pour trouver de nouvelles sources de thérapeutique aux problèmes actuels de la santé. Les débuts de la recherche ont marqué un intérêt considérable pour la diversité moléculaire dans les plantes et les microorganismes terrestres donnant légion à une série impressionnante de médicaments connus sous les noms de l'aspirine, la pénicilline, le Taxol et autres. Éventuellement les chimistes ont vu la flore aquatique, d'origine marine ou d'eau douce, comme une nouvelle source de diversité moléculaire. À ce jour plus de 13 000 composés issus des eaux, dont les structures ont été déterminées, sont répertoriés.<sup>1</sup>

Les cyanobactéries (appelés aussi algues bleues-vertes) que l'on retrouve dans les lacs, les réservoirs à faible salinité et les étangs, les *Microcystis* étant les plus communes, développent des toxines causant des empoisonnements chez les animaux et aussi chez les humains. Elles ont été étudiées pour comprendre leur mode d'action principalement divisé en deux types : les hépatotoxines et les neurotoxines. Les hépatotoxines sont les cyanobactéries qui nous intéressent plus particulièrement car elles présentent des modes d'inhibition pour les protéases à sérine.<sup>2</sup>

## 2.2 Les aéruginosines

Les aéruginosines ont été isolées de la cyanobactérie *Microcystis spp.* L'aéruginosine 298-A (2.1) est le premier membre de cette famille et sa structure a été déterminée en 1994 par Murakami au Japon.<sup>3</sup> Elle comporte une série de peptides linéaires soutenus par un squelette carboné 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (CHOI) que l'on peut voir en rouge sur le Schéma 2.1. L'aéruginosine 298-A s'est révélée dès le début le candidat ayant le meilleur potentiel en affichant une activité biologique contre la thrombine et la trypsine.<sup>4</sup>

**Schéma 2.1** Aéruginosine 298-A

2.1

### 2.3 Les travaux précédents du groupe Hanessian

Au cours des dernières années, le groupe du professeur Hanessian s'est intéressé à la synthèse totale des aéruginosines et en particulier à deux produits naturels (Schéma 2.2) issus de cette famille : dysinosine A<sup>5</sup> et oscillatorine.<sup>6</sup>

Les dysinosines ont été isolés d'éponges *Dysidea* retrouvées dans des étendues d'eau peu profondes de l'île Lézard, au nord du Queensland en Australie.<sup>7</sup> Les *Dysidea* vivent en symbiose avec les cyanobactéries *Oscillatoria spongelia* si bien qu'il n'est pas encore connu à ce jour si les composés biologiquement actifs isolés proviennent des éponges ou des bactéries.<sup>8</sup>

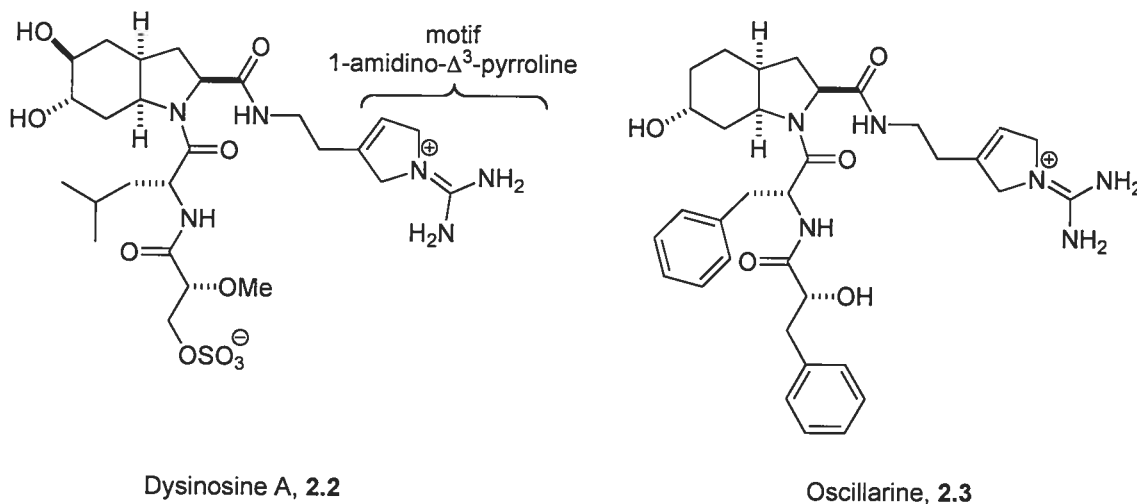
La dysinosine A (2.2 sur le Schéma 2.2) affiche trois unités structurales importantes. Il s'agit du squelette carboné de type octahydroindole (CHOI), commun à la famille des aéruginosines, supportant deux chaînes latérales peptidiques, l'une de ces chaînes ayant comme caractéristique la mimétique du groupe fonctionnel arginine et l'autre d'un dérivé de la *D*-leucine muni d'un groupement sulfate en position terminale.



L'oscillarine (**2.3** sur le Schéma 2.2), quant à elle, a été isolée en Allemagne d'une culture d'algues de la cyanobactérie *Oscillatoria agardhii*.<sup>9</sup> Elle se retrouve dans les étangs eutrophiques et les eaux légèrement saumâtres.<sup>10</sup> L'oscillarine affiche également trois unités structurales. Il y a d'abord le squelette CHOI typique des autres aérogénosines, ensuite une chaîne latérale munie du motif 1-amidino- $\Delta^3$ -pyrroline identique à dysinosine A puis d'une chaîne peptidique composée de la phénylalanine.

En 2000, le complexe dysinosine A – thrombine – hirugène a été cristallisé ce qui a permis de confirmer les modes d'interaction de ce composé avec la thrombine via la structure cristallographique obtenue par diffraction de rayons X. L'hirugène est un dérivé de l'hirudine (voir Chapitre 1.2.4) qui favorise la cristallisation. En 2004, mon collègue le Dr. Martin Tremblay a synthétisé le produit naturel oscillarine qui s'est révélé avoir une très bonne activité anti-thrombotique avec un  $IC_{50}$  de 28 nM<sup>11</sup> comparativement à un  $IC_{50}$  de 452 nM pour dysinosine A.<sup>12</sup> Le Dr. Jens F. W. Petersen de la compagnie Astra-Zeneca a pu cristalliser le complexe oscillarine – thrombine puis suite à l'élucidation de sa structure cristallographique on a pu observer que ce complexe se lie avec la thrombine d'une façon homologue à dysinosine A.

**Schéma 2.2** La dysinosine A et l'oscillarine



En partant de ces résultats intéressants et en combinant les efforts précédents du groupe, on a utilisé la modélisation moléculaire pour vérifier si on pouvait mieux comprendre cette relation structure-activité avec la thrombine en partant d'un modèle ayant comme unité centrale le squelette carboné CHOI.

## 2.4 La modélisation moléculaire

« On définit la modélisation moléculaire comme une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire et la réactivité chimique. Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de calcul sur un superordinateur. De plus ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de nombres en quelques représentations graphiques facilement interprétables. »<sup>13</sup>

L'avancée récente des ordinateurs, plus précisément la miniaturisation de leur taille et l'augmentation de leur puissance, combinée aux avancées technologiques de la diffraction par rayons X et de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire en solution a permis le développement de nouvelles méthodes pour cribler les structures de nouveaux inhibiteurs. Encore aujourd'hui les chimistes utilisent avant-tout leur capacité de visualisation tridimensionnelle ajoutée à leur expérience pour imaginer des structures pouvant s'insérer dans le site actif d'enzyme basé sur le concept clé-serrure d'Emil Fischer proposé en 1894.<sup>14</sup> Les chimistes utilisent également une autre méthode qui consiste à créer une banque de plusieurs composés générés quelque fois au hasard, la chimie combinatoire, pour espérer avec un peu de chance découvrir le composé clé si âprement recherché. Les méthodes informatiques s'inscrivent dans le but de réduire le temps des chimistes passé au laboratoire et éviter de suivre des pistes potentiellement erronées.

La modélisation moléculaire est une méthode complémentaire aux méthodes ci-haut mentionnées pour cerner le plus rapidement et efficacement possible des structures pouvant satisfaire la complémentarité avec le site actif d'enzymes. Pour ce faire, il est nécessaire de connaître les détails structurels de l'enzyme exprimés en coordonnées cartésiennes compatibles avec le langage informatique. Le chimiste utilise ensuite son flair et son expérience pour imaginer une série virtuelle de composés qui seront ensuite manipulés par le logiciel.

Le composé virtuel subit alors une analyse de la somme de ses forces internes pour déterminer la conformation de son minimum global d'énergie et approximer sa géométrie d'après la fonction d'énergie potentielle suivante :

$$E_{\text{totale}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angulaire}} + E_{\text{dihèdre}} + E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{van der Waals}}$$

Cette fonction possède plusieurs paramètres qui sont déterminés par le champ de forces. Le champ de forces est appliqué sur la molécule mais également à l'enzyme ce qui permettra la prédiction de leur interaction lors de l'arrimage (*docking*).

L'arrimage est une technique par laquelle le chimiste à l'aide du logiciel place une structure tridimensionnelle dans la cavité de l'enzyme et calcule l'énergie des interactions. Ces structures sont générés par des algorithmes (Monte-Carlo, algorithmes génétiques et autres) afin d'établir les meilleures interactions possibles avec l'enzyme.

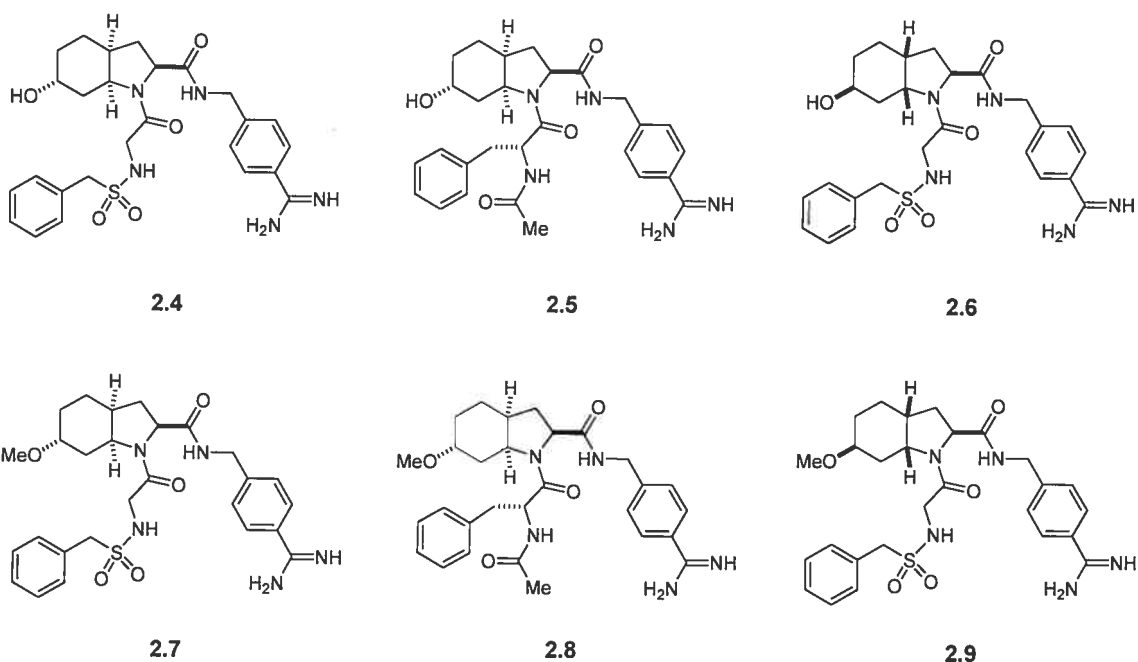
Ces interactions affichent soit une complémentarité électrostatique, des contacts de hautes énergies ou des répulsions et selon une fonction d'évaluation, la structure sera classée et marquée d'un résultat. Un résultat intéressant est une structure qui affiche une excellente complémentarité topographique avec le site de l'enzyme et dont les modes de liaisons électroniques entre les deux structures sont nombreuses et pertinentes.

Sans entrer dans les détails il est possible d'effectuer énormément de modifications au protocole, par exemple en calculant l'énergie des interactions en présence de molécules

d'eau contrairement à un calcul dans le vide, afin d'améliorer les résultats du criblage cible-récepteur.<sup>15</sup>

Dans le cadre de ce projet, le Dr. Éric Therrien a créé une série virtuelle de composés basée sur les résultats récents du Dr. Martin Tremblay de l'activité anti-thrombotique de l'oscillarine. Il a également effectué le travail de modélisation moléculaire et une série de prototypes d'inhibiteurs intéressants (Schéma 2.3) ont été proposés.

**Schéma 2.3** La liste des prototypes d'inhibiteurs de la thrombine



Ces structures possèdent toutes une unité centrale CHOI, une chaîne latérale benzamidine au site  $S_1$  ainsi qu'une variation au niveau des sites  $S_2$  et  $S_3$  soit un groupement polaire tel un alcool ou un méthoxy au site  $S_2$  ainsi qu'une amide ou une sulfonamide au site  $S_3$ . Les structures **2.6** et **2.9** sont des diastéréoisomères non-naturels de l'unité centrale par rapport aux aéruginosines. On s'est proposé de synthétiser ces composés pour confirmer ou infirmer les résultats obtenus de la modélisation moléculaire et également pour simplifier les structures des produits naturels.

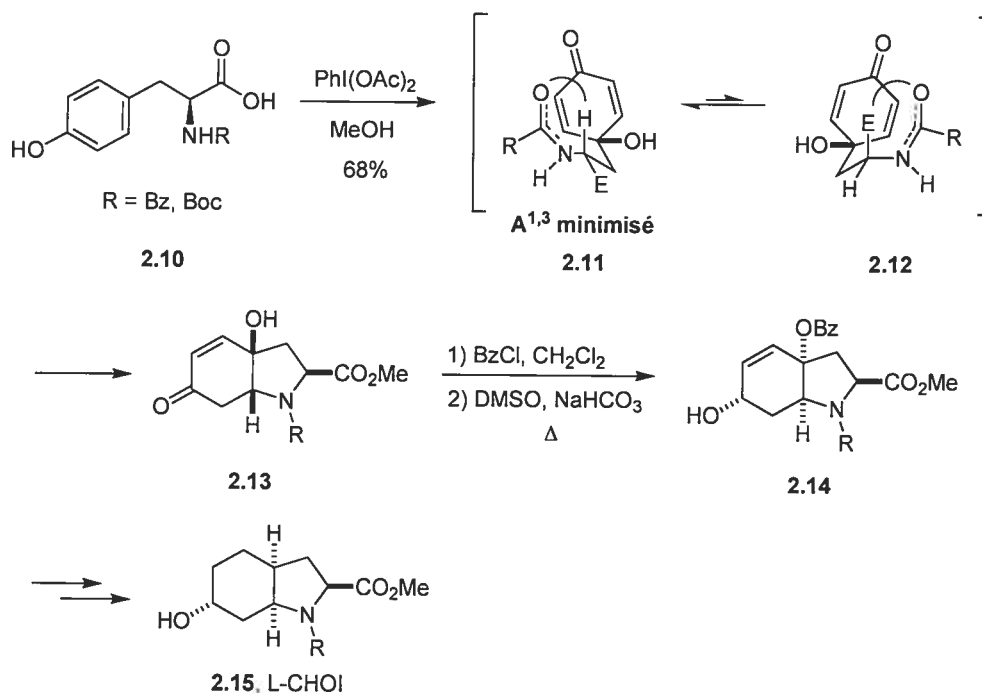
## 2.5 Stratégies de synthèse du squelette carboné CHOI

Avant de s'attaquer à la synthèse des inhibiteurs prototypes, on a étudié les stratégies déjà connues de la littérature pour construire l'unité centrale CHOI.

### 2.5.1 Stratégie de Wipf

La première synthèse du squelette CHOI a été effectuée de façon élégante par le groupe de Wipf et à l'Université de Pittsburgh en 1992 au cours de la synthèse totale de la stenine.<sup>16</sup> Après une seule étape, en partant de la L-tyrosine *N*-protégée en présence d'un réactif à base d'iode hypervalent, l'intermédiaire clé **2.13** est atteint. L'alcool est estérifié puis la jonction de cycle inversée via un équilibre en milieu basique pour obtenir **2.14**. L'ester est ensuite éjecté par la formation d'un  $\pi$ -allyle en présence de palladium suivi de quelques étapes pour générer le stéréoisomère naturel de CHOI **2.15** (Schéma 2.4) avec un rendement global de 27% pour 6 étapes.

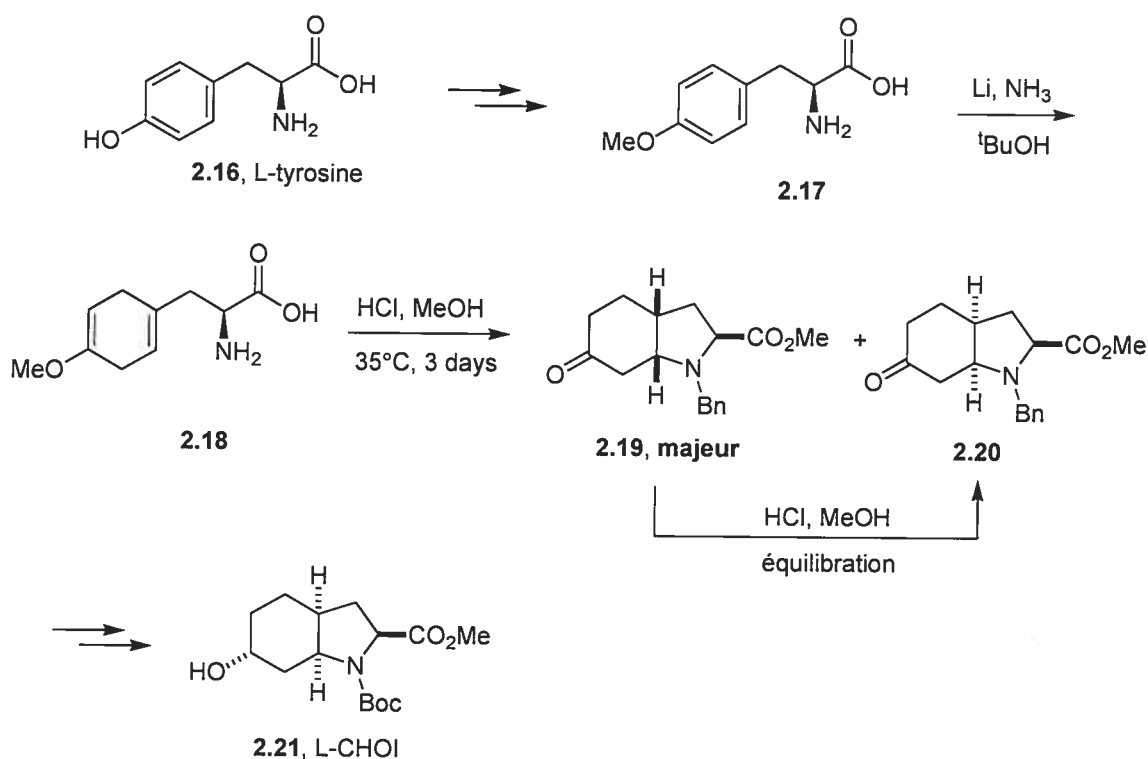
Schéma 2.4 Stratégie de Wipf vers CHOI



### 2.5.2 Stratégie de Bonjoch

En 1996, le groupe de Bonjoch en Espagne a synthétisé **CHOI** en partant de la L-tyrosine, via une cyclisation intramoléculaire en milieu acide suivi d'une équilibration<sup>17</sup> (Schéma 2.5). Cette stratégie a été utilisée dans la synthèse du produit naturel aéruginosine-298A. **CHOI 2.21** a été obtenu en 6 étapes pour un rendement de 32%. On reviendra en détail sur les détails de cette voie au chapitre 3.

Schéma 2.5 Stratégie de Bonjoch vers **CHOI**

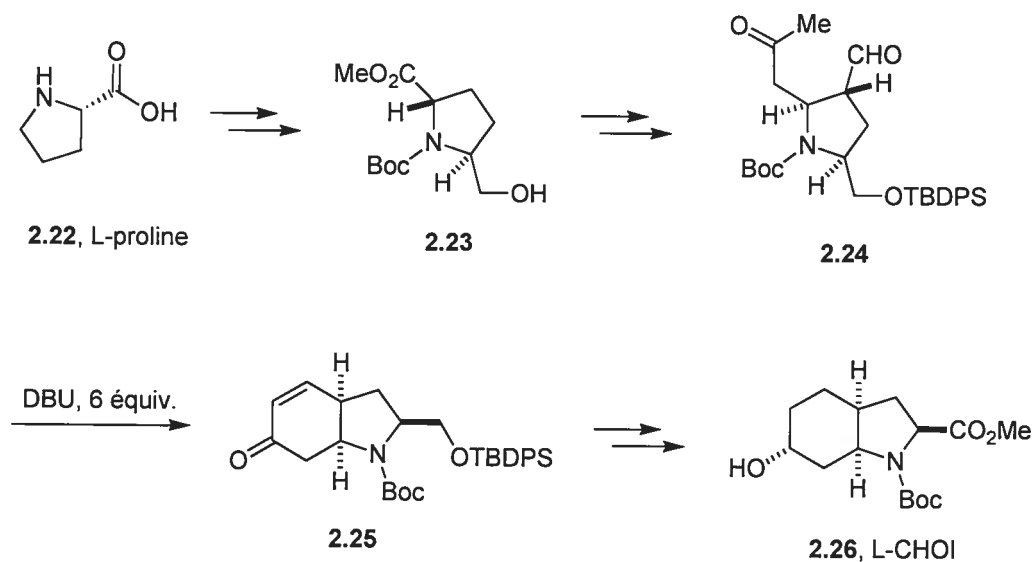


### 2.5.3 Stratégie de Toyooka

En 2003, le groupe de Toyooka au Japon s'est également attaqué à la synthèse des aéruginosines 298-A et 89-A<sup>18</sup> et a élaboré une stratégie, en partant de la L-proline, pour

assembler la structure centrale CHOI (Schéma 2.6). La L-proline a été convertie en pyrrolidine **2.23** puis via une homologation et la formation d'un énainoester a installé l'aldéhyde en position 4 prêt pour la cyclisation. En présence de DBU il y a eu une condensation aldolique par formation d'un énolate qui a ensuite attaqué l'aldéhyde obtenant ainsi une cétone  $\alpha,\beta$ -insaturée intramoléculaire. Celle-ci a été hydrogénée avec le catalyseur de Pearlman<sup>19</sup> puis la cétone réduite avec L-Selectride pour obtenir CHOI **2.26** avec un rendement global de 3% pour 22 étapes.

**Schéma 2.6** Stratégie de Toyooka vers CHOI



#### 2.5.4 Stratégie de Shibasaki

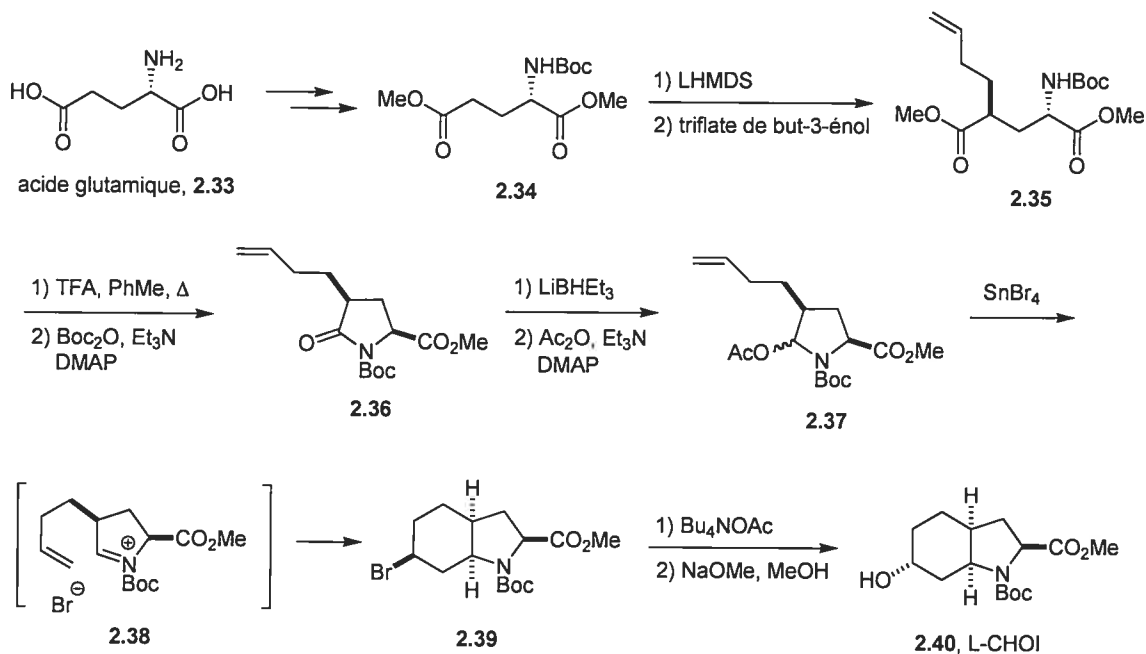
En 2003, le groupe de Shibasaki de l'université de Tokyo a développé une voie originale pour atteindre le squelette CHOI<sup>20</sup> (Schéma 2.7). À partir de la glycine, il a effectué quelques transformations pour obtenir **2.27** qu'il a couplé avec une benzophénone protégée en présence d'un catalyseur chiral à transfert de phase pour obtenir **2.29**. En milieu acide, il y a eu déprotection de la cétale, transestérification, migration de la double liaison suivi d'une addition de type Michael pour donner un mélange de **2.30** et **2.31**. Le





le dérivé du pyroglutamate **2.36**. Le carbonyle de la lactame a été réduit avec le superhydrure générant ainsi l'hémiaminal qui a été ensuite traité avec l'anhydride acétique pour former **2.37**.

**Schéma 2.8** Stratégie de Hanessian vers CHOI



La réaction azonia-Prins s'effectue en présence d'un acide de Lewis à base d'étain tel que le SnBr<sub>4</sub>. Le doublet de l'oxygène de l'acétyle coordonne avec l'acide de Lewis rendant ce groupe labile et qui sera éjecté par le doublet libre de l'azote formant **2.38**. La double liaison attaque la portion iminium pour former une nouvelle liaison C-C et le carbocation résiduel en position 6 est piégé de façon stéréocontrôlée par l'anion de brome libre en solution pour générer le système bicyclique **2.39**. Afin d'obtenir l'hydroxy en position 6, on effectue un déplacement S<sub>N</sub>2 avec l'acétate de tert-butylammonium puis une saponification pour obtenir L-CHOI **2.40** comme son dérivé *N*-Boc ester méthylique avec un rendement global de 39% pour 8 étapes à partir de **2.34**.

Cette stratégie permet d'obtenir directement l'isomère désiré sans passer par une étape d'équilibration. Les autres méthodes préparent un mélange des deux diastéréoisomères que l'on doit séparer ou équilibrer pour obtenir le dérivé naturel.

Cette révision de la littérature a permis de mieux orienter nos efforts et de sélectionner adéquatement la stratégie à utiliser pour la synthèse des inhibiteurs prototypes.

## 2.6 Références

- <sup>1</sup> Abou-Mansour, E.; Banaigs, B.; Burgess, J. G.; Burja, A. M.; Wright, P. C., « Marine cyanobacteria – a prolific source of natural products », *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9347-9377.
- <sup>2</sup> Fairlie, D. P.; Nall, T.; Tyndall, J. D. A., « Proteases Universally Recognize Beta Strands In Their Active Sites », *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 973-1000.
- <sup>3</sup> Matsuda, H.; Murakami, M.; Okino, T.; Okita, Y.; Yamaguchi, K., « Aeruginosin 298-A, A Thrombin Inhibitor from the Blue-green Alga *Microcystis aeruginosa* (NIES-298) », *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 3129-3132.
- <sup>4</sup> Namikoshi, M.; Rinehart, K. L., « Bioactive compounds produced by cyanobacteria », *Journal of Industrial Microbiology*, **1996**, *17*, 373-384.
- <sup>5</sup> Hall, A.; Hanessian, S.; Johnstone, S.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Tremblay, M., « Total Synthesis and Structural Confirmation of the Marine Natural Product Dysinosin A : A Novel Inhibitor of Thrombin and Factor VIIa », *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 13342-13343.
- <sup>6</sup> Hanessian, S.; Petersen, J. F. W.; Tremblay, M., « The N-Acyloxyiminium Ion Aza-Prins Route to Octahydroindoles : Total Synthesis and Structural Confirmation of the Antithrombotic Marine Natural Product Oscillarin », *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 6064-6071.

- <sup>7</sup> Bostrom, S.-L.; Carroll, A. R.; de Almeida Leone, P.; Hooper, J. N. A.; Hyde, E.; Musil, D.; Ngo, A.; Pfechner, G.; Pierens, G. K.; Quinn, R. J.; Simpson, M., « Dynsinosin A : A Novel Inhibitor of Factor VIIa and Thrombin from a New Genus and Species of Australian Sponge of the Family Dysideidae », *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 13340-13341.
- <sup>8</sup> Pour une revue sur les éponges *Dysinea* et leur chimie :
- a) Faulkner, D. J.; Unson, M.; Bewley, C. A., *Pure and Appl. Chem.*, **1994**, *66*, 1983.
- b) Stewart, M.; Fell, P. M., Blunt, J. W.; Munro, M. H. G., *Aust. J. Chem.*, **1997**, *50*, 341.
- <sup>9</sup> a) Konetschny-Rapp, S.; Krell, H.-W.; Martin, U., « Dipeptide Derivatives, Process for Producing them and Medicaments Containing these Compounds », PCT WO96/11941, *Chem. Abst.*, **1996**, *124*, 315175.
- b) Engh, R.; Konetschny-Rapp., S.; Krell, H.-W.; Martin, U.; Tsaklakidis, C., « 3-aminoethyl-*N*-amidino-2,5-dihydropyrrole Derivatives Having Arginine Mimetic Properties », PCT WO97/21725, *Chem. Abst.*, **1997**, *127*, 122002.
- <sup>10</sup> Luukkainen, R.; Sivonen, K.; Namikoshi, M.; Fardig, M.; Rinehart, K. L.; Niemela, S. I., « Isolation and identification of eight microcystins from thirteen *Oscillatoria agardhii* strains and structure of a new microcystin », *Appl. Environ. Microbiol.*, **1993**, *59*, 2204-2209.
- <sup>11</sup> a) Tremblay, Martin, « Synthèse d'azabicycles d'importance biologique », Thèse de doctorat de l'Université de Montréal, **2004**.
- b) Hanessian, S.; Petersen, F. W.; Tremblay, M., « The *N*-Acyl-oximinium Ion-Aza-Prins Route to Octahydroindoles : Total Synthesis and Structural Confirmation of the Antithrombotic Marine Natural Product Oscillarin », *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 6064-6071.

- <sup>12</sup> Boström, S.; Carroll, A. R.; de Almeida, P. L.; Fechner, G.; Hooper, J. N. A.; Hyde, E.; Musil, D.; Ngo, A.; Pierens, G. K.; Quinn, R. J. Simpson, M., « Dysinosin A: A Novel Inhibitor of Factor VIIa and Thrombin from a New Genus and Species of Australian Sponge of the Family Dysideidae », *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 13340-13341.
- <sup>13</sup> Liotta, D., « Advances in Molecular Modeling », JAI Press, **1998**, vol. 1., traduit par Dugas, H. dans « Principes de Base en Modélisation Moléculaire », Université de Montréal, **1996**.
- <sup>14</sup> Fischer, E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1894**, *27*, 2985.
- <sup>15</sup> Therrien, Éric, « Conception, modélisation moléculaire et synthèse d'inhibiteurs potentiels d'enzymes et approches vers la synthèse totale de la cyclizidine », Thèse de doctorat de l'Université de Montréal, **2005**.
- <sup>16</sup> a) Kim, Y.; Wipf, P., « Studies on the Synthesis of Stemona Alkaloids; Stereoselective Preparation of the Hydroindole Ring System by Oxidative Cyclization of Tyrosine. », *Tetrahedron Letters*, **1992**, *38*, 5477-5480.  
b) Goldstein, D. M.; Kim, Y.; Wipf, P., « Asymmetric Total Synthesis of the Stemona Alkaloid (-)-Stenine », *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 11106-11112.  
c) Goldstein, D. M.; Wipf, P., « Studies Toward The Synthesis of Stemona Alkaloids; A Short Synthesis Of The Tricyclic Core of Tuberstemonines », *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *6*, 739-742.  
d) Methot, J-L.; Wipf, P., « Total Synthesis and Stereochemical Revision of (+)-Aeruginosin 298-A », *Org. Lett.*, **2000**, *2*, 4213-4216.
- <sup>17</sup> a) Bonjoch, J.; Catena, J.; Isábal, E.; López-Canet, M.; Valls, N., « Synthesis of the octahydroindole core of aeruginosins: a new bicyclic  $\alpha$ -amino acid », *Tetrahedron Asym.*, **1996**, *7*, 1899-1902.

- b) Bonjoch, J.; Catena, J.; Valls, N., « Total Synthesis of ( $\pm$ )-Deethylibophyllidine : Studies of a Fischer Indolization Route and a Successful Approach via a Pummerer Rearrangement / Thionium Ion-Mediated Indole Cyclization », *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 7106.
- c) Bonjoch, J.; López-Canet, M.; Vallribera, M.; Valls, N., « Synthesis of Microcin SF608 », *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 4945-4950.
- d) Bonjoch, J.; Carmeli, S.; Vallribera, M.; Valls, N., « Syntheses of Both the Putative and Revised Structures of Aeruginosin EI461 and New Bicyclic Amino Acid », *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 447-450.
- <sup>18</sup> Himiyama, T.; Nakazawa, A.; Nemoto, H.; Okumura, M.; Toyooka, N., « Synthesis of 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (Choi) Core Unit for the Synthesis of Aeruginosins », *Synlett*, **2003**, 55-58.
- <sup>19</sup> Pearlman, W. M., *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 1663-1664.
- <sup>20</sup> a) Fukuta, Y.; Gnanadesikan, V.; Nemoto, T.; Ohshima, T.; Shibasaki, M.; Shibuguchi, T., « Enantioselective Syntheses of Aeruginosin 298-A and Its Analogues Using a Catalytic Asymmetric Phase-Transfer Reaction and Epoxidation », *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 11206-11207.
- b) Fukuta, Y.; Gnanadesikan, V.; Kisugi, T.; Nemoto, T.; Ohshima, T.; Shibasaki, M.; Shibuguchi, T., « Enantioselective syntheses and biological studies of aeruginosin 298-A and its analogs : Application of catalytic asymmetric phase-transfer reaction », *PNAS*, **2004**, *101*, 5433-5438.
- <sup>21</sup> Hanessian, S.; Margarita, R., « 1,3-Asymmetric induction in dianionic allylation reactions of amino acid derivatives-synthesis of functionally useful enantiopure glutamates, pipercolates and pyroglutamates », *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 5887-5890.

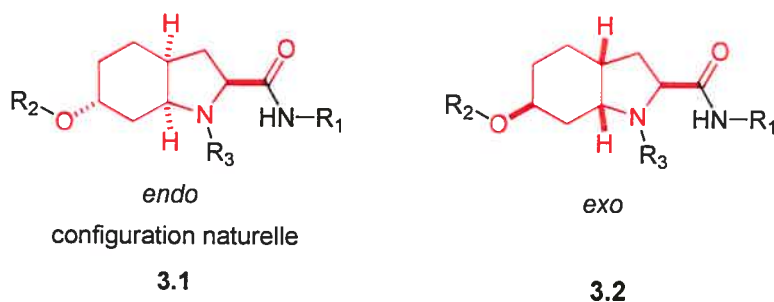
## **CHAPITRE 3**

### **LA SYNTHÈSE D'INHIBITEURS POTENTIELS DE LA THROMBINE**

### 3.1 La synthèse de l'acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (CHOI)

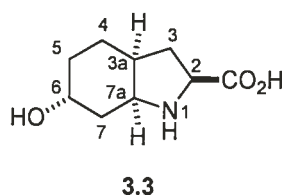
L'objectif de ce projet est l'exploration du potentiel des octahydroindoles naturels et non-naturels comme motif de départ pour le développement d'inhibiteurs de la thrombine. Suite au travail de modélisation moléculaire, on est parvenu à deux séries d'inhibiteurs potentiels (Schéma 2.3 du Chapitre 2). Ces molécules possèdent un squelette carboné défini par un bicyclic de type indole saturé. La différence entre **3.1** et **3.2** réside dans la stéréochimie de la jonction de cycle et de la configuration absolue de l'alcool lorsque  $R_2$  est un hydrogène (Schéma 3.1). Le diastéréoisomère non-naturel *exo* s'est avéré un candidat d'arrimage acceptable par modélisation.

**Schéma 3.1** Les deux stéréoisomères de type CHOI



On appelle ces squelettes carbonés CHOI qui se veulent être le diminutif de l'acide 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (Schéma 3.2).

**Schéma 3.2** Numérotation acceptée de CHOI

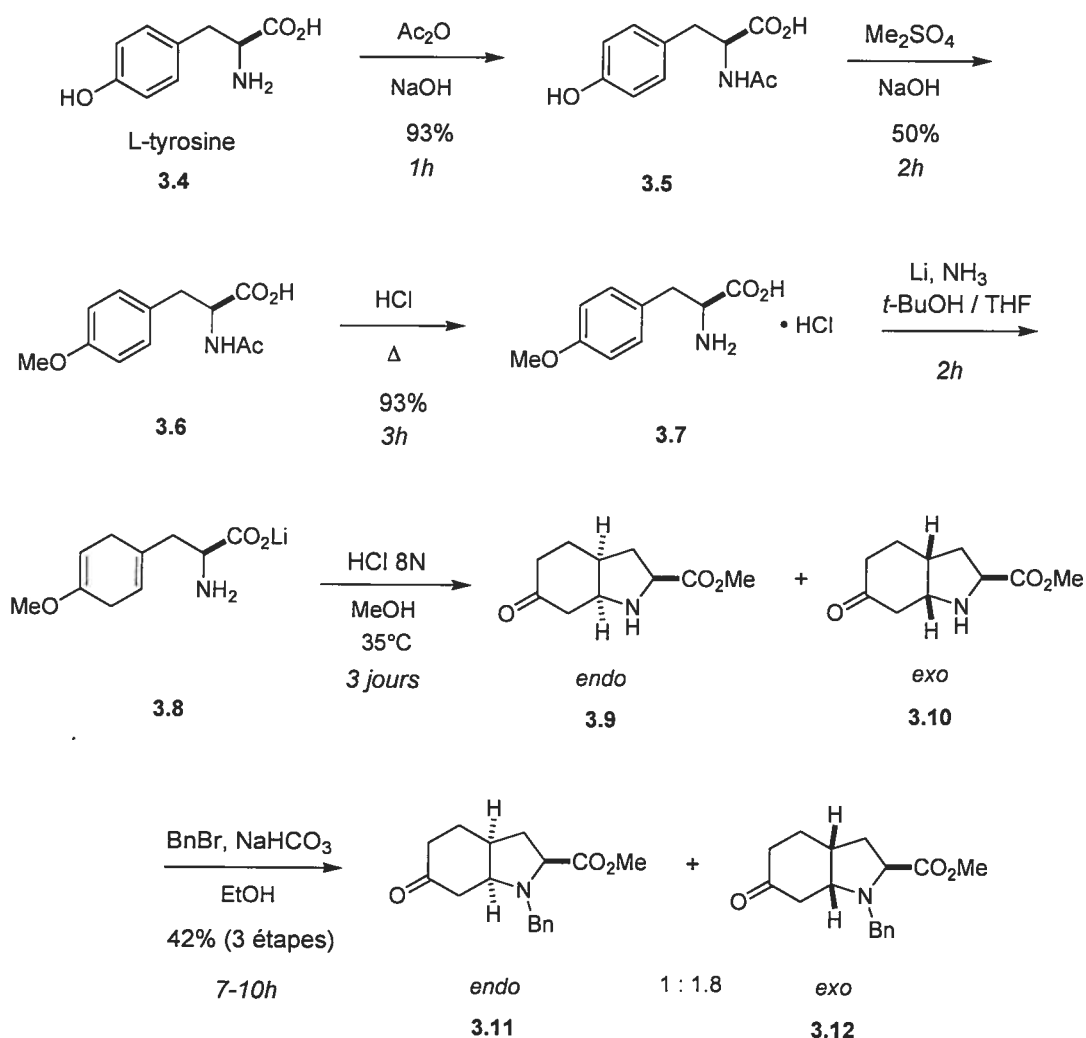


Afin de synthétiser le squelette CHOI, on a choisi la stratégie de Bonjoch<sup>1</sup> car elle permet d'atteindre les deux configurations *endo* **3.1** et *exo* **3.2** via une voie de synthèse unique.

De plus cette stratégie ne nécessite pas de purification par colonne chromatographique dans les premières étapes de la synthèse rendant l'augmentation de l'échelle de la réaction à des quantités industrielles adéquates advenant les besoins futurs.

En partant de l'acide aminé naturel L-tyrosine, on procède à la protection de la fonction amine avec un groupe acétyle pour permettre la manipulation de la fonction alcool phénolique (Schéma 3.3).

**Schéma 3.3** Synthèse de l'intermédiaire clé de la cyclisation à partir de la L-tyrosine

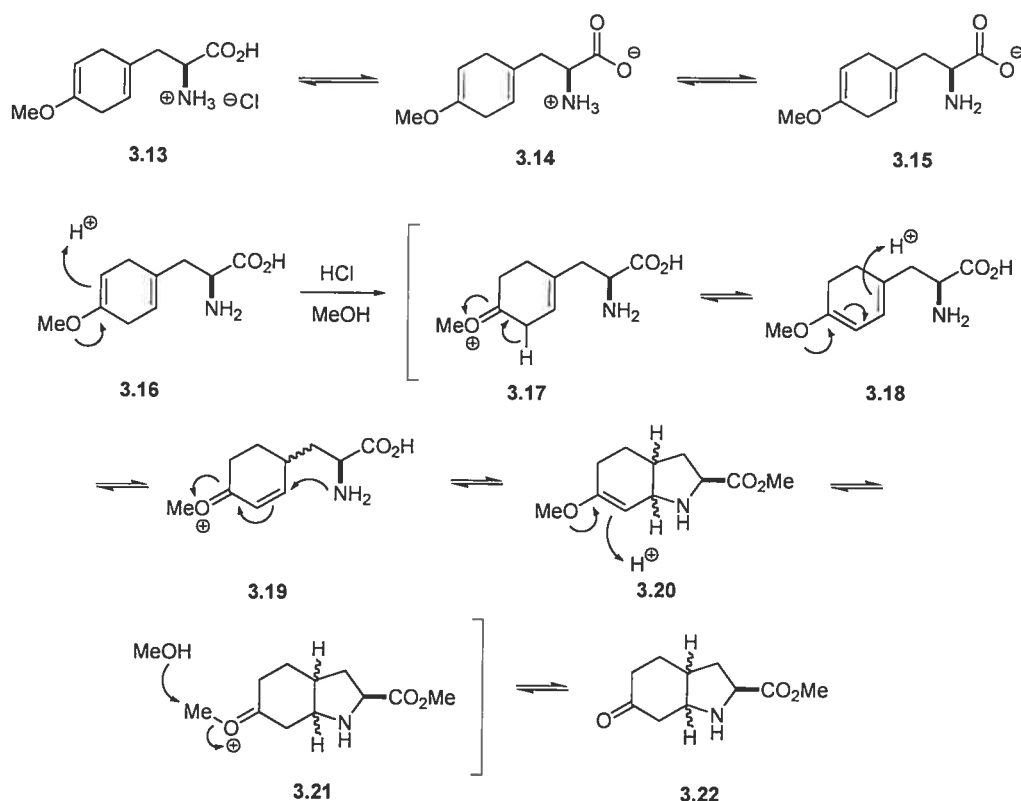




L'alcool est ensuite déprotonné avec de l'hydroxyde de sodium et en présence d'un excellent agent alkylant, le diméthylsulfate, l'alcoolate est transformé en éther méthylique. On déprotège l'amide dans des conditions acides pour retrouver l'amine sous forme de sel de HCl. Par la suite, dans des conditions de réduction de Birch dites douces dû à la présence de lithium, on obtient le méthoxycyclohexadiène **3.8**.

La cyclisation de Bonjoch est une réaction originale permettant en une seule étape de former une liaison C-N ainsi que deux stéréocentres pour atteindre le système bicyclique octahydroindole ainsi que la cétone de la position 6. Il est intéressant de regarder en détail ce mécanisme pour mieux comprendre la stéréosélectivité.

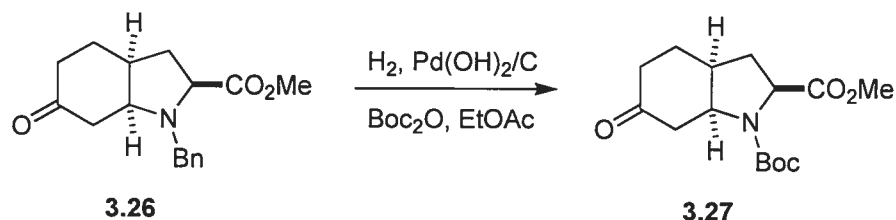
**Schéma 3.4** Mécanisme proposé de la cyclisation de Bonjoch



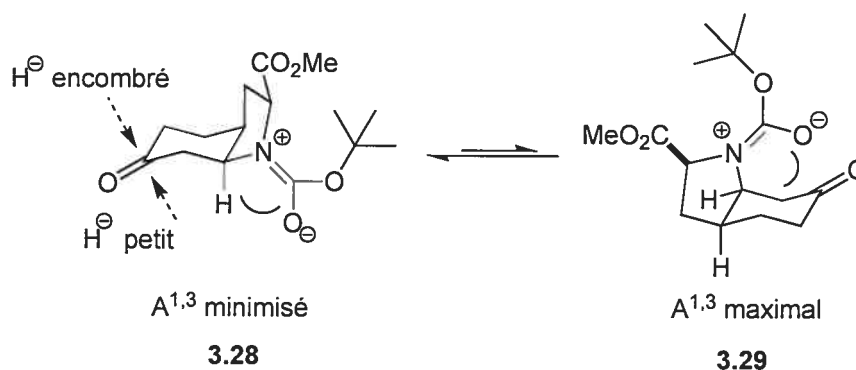
Le mécanisme proposé de la cyclisation est une série d'étapes en équilibre (Schéma 3.4) et il n'est pas possible de connaître la séquence exacte permettant d'atteindre



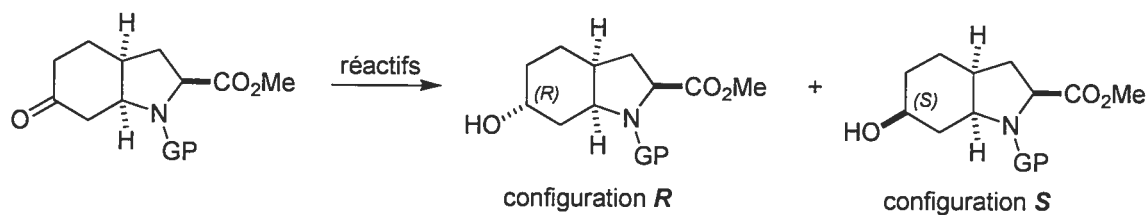


**Schéma 3.7** Changement de groupe protecteur du dérivé CHOI issu de la cyclisation

Ce changement de groupe protecteur s'est effectué en une seule étape par hydrogénolyse du lien N-C du benzyle selon la méthode de Bonjoch. L'amine libérée a ensuite attaqué *in situ* le dicarbonate de di-*tert*-butyle ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ) pour générer la structure **3.27**.

**Schéma 3.8** Conformation la plus stable lorsque le groupe protecteur est un Boc

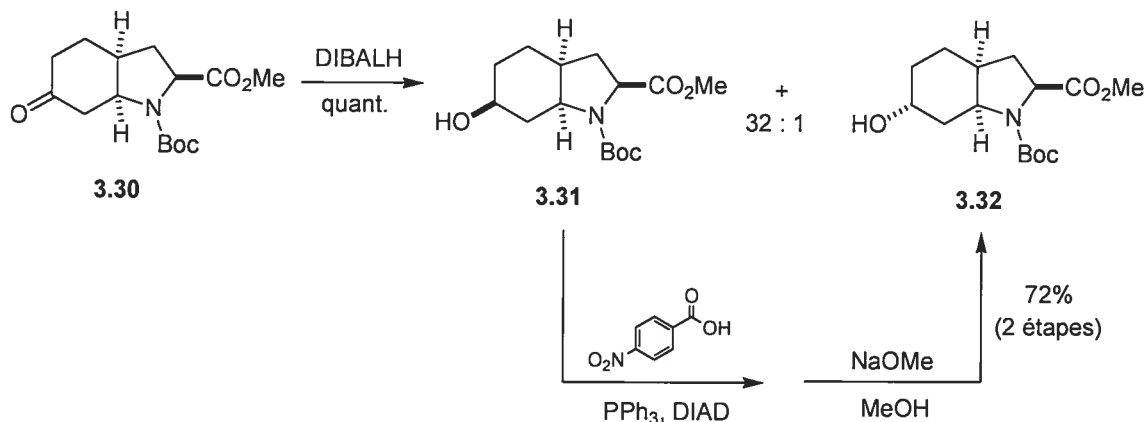
La tension allylique de type  $1,3^3$  (en rouge sur le Schéma 3.8) est minimisée lorsque le lien dans le même plan se trouve être le lien C-H de **3.28** versus le méthylène de la position 7 du lien C-C de **3.29**. Il est à noter que le conformère **3.28** est en équilibre avec son autre forme, c'est-à-dire la forme où le fragment *tert*-butoxy se retrouve axial. La conformation **3.28** étant favorisée versus **3.9**, elle dévoile une stéréosélectivité différente selon la nature de l'hydruire (Tableau 3.1). Les hydrures encombrés vont attaquer de façon équatoriale pour générer l'alcool axial de configuration *R* alors que les petits hydrures vont attaquer de façon axiale pour générer le *S*.

**Tableau 3.1** Études sur la stéréosélectivité de réduction du carbonyle

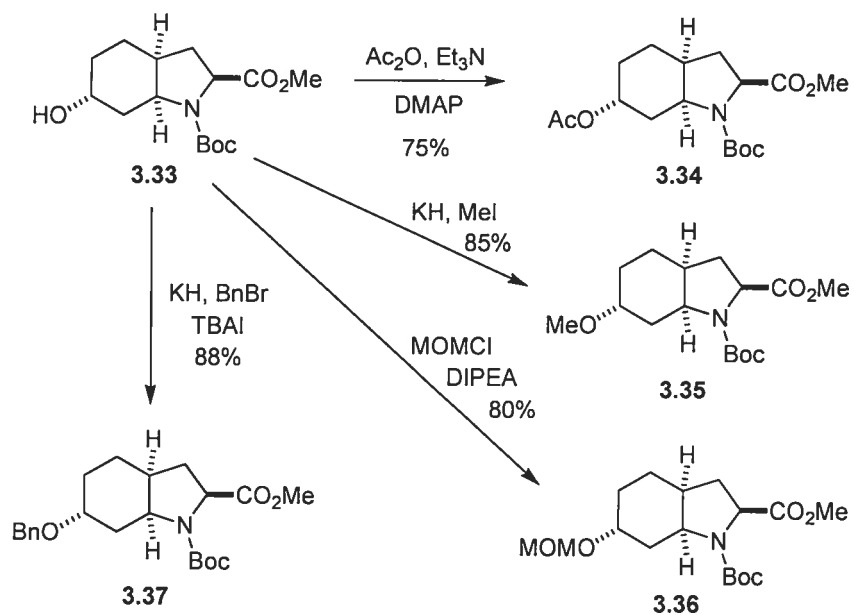
substrat	groupe protecteur de l'amine (GP)	réactifs	configuration <i>R</i> (rendement %)	configuration <i>S</i> (rendement %)
1*	Bn	NaBH <sub>4</sub> , CeCl <sub>3</sub>	10	75
2*	Bn	LS-Selectride	14	51
3*	Ac	NaBH <sub>4</sub>	5	88
4*	Ac	LS-Selectride	56	9
5*	Boc	NaBH <sub>4</sub> , CeCl <sub>3</sub>	3	91
6*	Boc	LS-Selectride	56	7
7	Boc	DIBAL-H	3	97

\* travaux réalisés par Bonjoch<sup>1</sup>

Tout comme notre prédécesseur Bonjoch, on a opté pour l'entrée 6 du Tableau 3.1 car elle correspondait à l'objectif visé par la transformation mais cette réaction s'est révélée inconsistante au laboratoire avec des rendements oscillants entre 25 et 44%. De ce fait, on a opté pour une stratégie différente en utilisant le résultat du rendement quantitatif obtenu par réduction de la cétone avec du DIBAL-H (entrée 7 du Tableau 3.1) dans une stratégie qui consiste à passer par le stéréoisomère de configuration *S* non désiré pour ensuite effectuer une inversion de type Mitsunobu (Schéma 3.9) pour obtenir l'alcool de configuration *R*. Cette façon de procéder, par deux réactions faciles à exécuter, donne un rendement de 72% de façon reproductible.

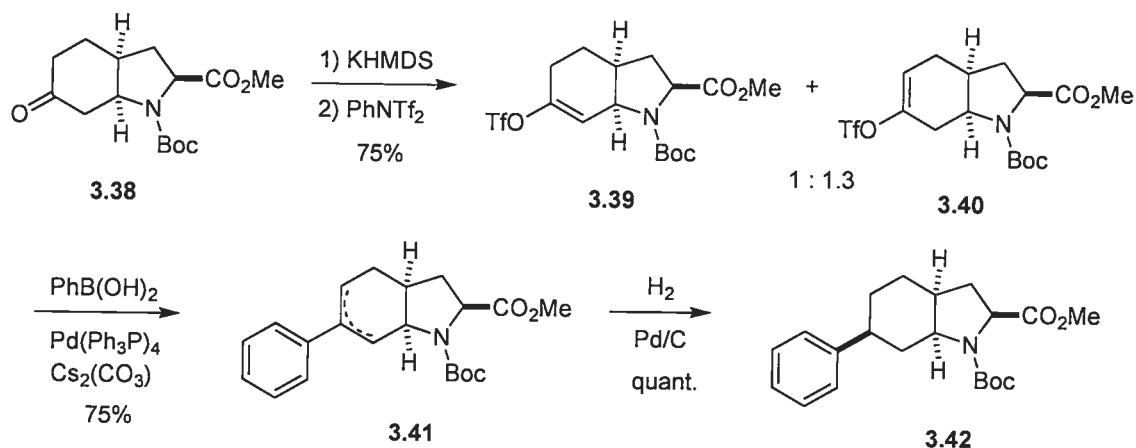
**Schéma 3.9** Obtention de L-CHOI via le stéréoisomère de configuration inverse

Une fois l'alcool de stéréochimie désiré **3.32** obtenu, on a effectué quelques transformations visant à installer différents groupes protecteurs, un ester et des éthers, en position 6 (Schéma 3.10). Il est à noter qu'éthérifier l'alcool avec un méthyle **3.35** s'est avéré moins trivial qu'on ne l'avait prévu dû à sa position axiale. En ajoutant l'agent alkylant avant d'y ajouter la base hydruure de potassium a réglé le problème des réactions secondaires.

**Schéma 3.10** Protection de l'alcool en position 6

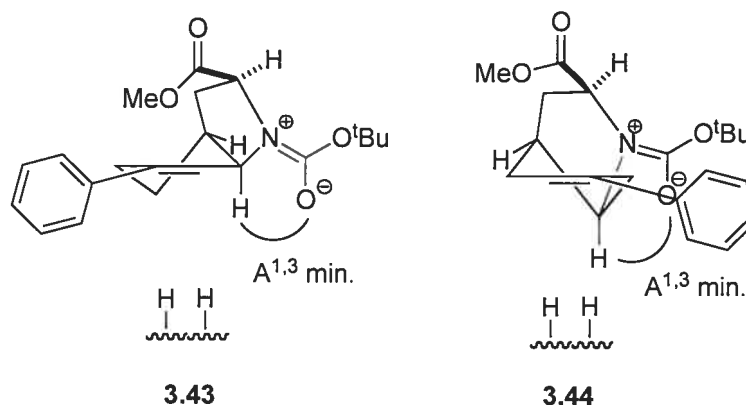
Afin de s'assurer de la structure de **3.38** obtenue via la cyclisation de Bonjoch, en dehors des analyses spectrométriques et des expériences de résonance nucléaire, on a procédé à une comparaison avec un produit déjà synthétisé dans le groupe par mon collègue le Dr. Martin Tremblay.<sup>4</sup> En traitant la cétone **3.38** avec une base encombrée KHMDS, on forme un mélange d'énolates que l'on a piégé par la présence de PhNTf<sub>2</sub> et donnant un mélange d'énols trifliques **3.39** et **3.40** (Schéma 3.11) de ratio 1 : 1.3 déterminé par RMN <sup>1</sup>H. Le mélange d'énols trifliques a été couplé avec l'acide phénylboronique par couplage de type Suzuki et ensuite l'oléfine a été saturée pour donner **3.42** énantiosélectivement. La comparaison entre les données spectroscopiques de **3.42** avec les données du groupe s'est avérée indubitable.

**Schéma 3.11** Corrélation aux travaux antérieurs effectués dans le groupe



La réduction sélective de la double liaison dans le mélange d'oléfines **3.41** est intéressante et on doit s'en remettre à la géométrie de la molécule pour en tenter un raisonnement. La portion cyclohexène peut adopter quatre conformations de type demi-chaise mais seulement deux de ces conformations **3.43** et **3.44** (Schéma 3.12) respectent la minimisation de la tension allylique 1,3. La réduction stéréosélective s'explique par l'encombrement de la face  $\beta$  dû à la présence de l'ester méthylique au-dessus de l'alcène alors que la face  $\alpha$  est facilement accessible par l'agent réducteur.

Schéma 3.12 Raisonement de la stéréosélectivité de la réduction

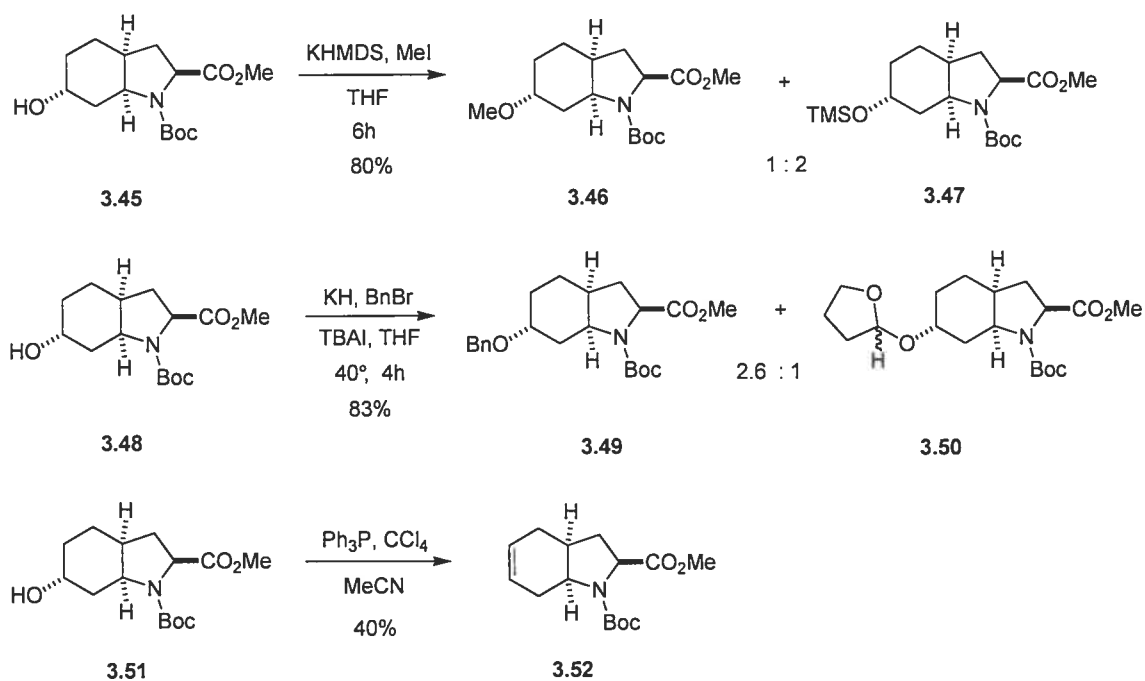


De toutes les synthèses de plusieurs étapes, il n'est pas rare de constater en cours de route des réactivités qu'on n'avait pas pu prévoir sur papier. En ayant quelques problèmes de méthylation de l'alcool **3.35** du Schéma 3.10, on a utilisé la base très forte KHMDS qui a engendré la protection de l'alcool par un triméthylsilyle **3.47** dans une proportion double du produit désiré (Schéma 3.13). Malgré les spectres de spectroscopie de masse et de résonance magnétique nucléaire qui suggère cette protection de l'alcool, nous n'avons pas de preuve chimique supplémentaire pour confirmer la structure.

En utilisant d'autres conditions pour cette fois-ci protéger l'alcool par un benzyle, on s'est retrouvé à incorporer un résidu tétrahydropyranyle sur **3.48** pour donner **3.50**. Ce résultat étonnant a été déterminé par spectroscopie de masse et par résonance magnétique nucléaire où l'on constate la présence du proton acétalique (en rouge sur **3.50**) en position  $\alpha$  des deux oxygènes géminés. Néanmoins nous n'avons pas de preuve chimique pour confirmer la structure de ce composé. Ensuite dans une tentative d'effectuer une réaction  $S_N2$  sur l'alcool pour y loger un groupe chloro via une réaction de Mitsunobu, on a effectué une élimination de type E2 pour former un seul isomère **3.52**. Cette élimination peut être rationalisée par la disponibilité accrue du proton en position 5 versus celui en position 7 car le groupement ester méthylique de la position 2 se retrouve directement au-dessus de ce dernier bloquant sa trajectoire accessible.

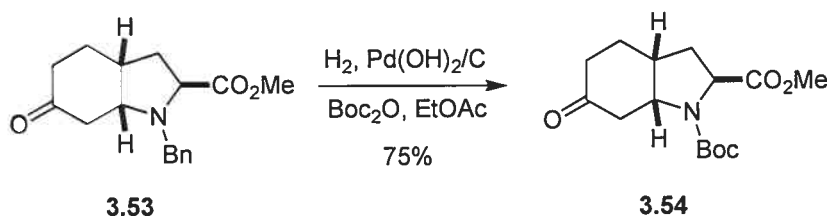


## Schéma 3.13 Quelques curiosités

3.1.2 Études réalisées sur le stéréoisomère *exo*

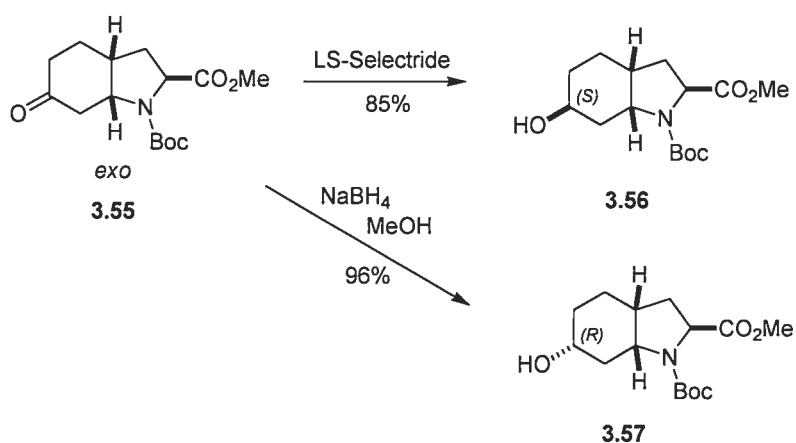
De façon similaire au diastéréoisomère *endo*, on a réduit le carbonyle de la position 6 de **3.53** à alcool correspondant. On voulait également une méthode pour obtenir les quatre diastéréoisomères : *endo R* **3.32** et *S* **3.31** ainsi qu'*exo R* **3.57** et *S* **3.56**.

## Schéma 3.14 Changement de groupe protecteur d'un benzyle à un carbamate



Afin de réduire la cétone de la structure *exo*, on a décidé d'expérimenter avec les méthodes précédemment développées pour le conformère *endo*. LS-Selectride offrait la meilleure sélectivité pour les hydrures encombrés et comme de fait, il permet la réduction énantiosélective de la cétone **3.53** en alcool de configuration *S* **3.56**. Pour obtenir l'alcool de configuration inverse **3.57** on a réduit avec l'agent NaBH<sub>4</sub> qui selon toutes nos attentes relatives à un petit hydrure, a permis la réduction énantiosélective de la cétone de départ.

**Schéma 3.15** Réduction de la cétone en position 6



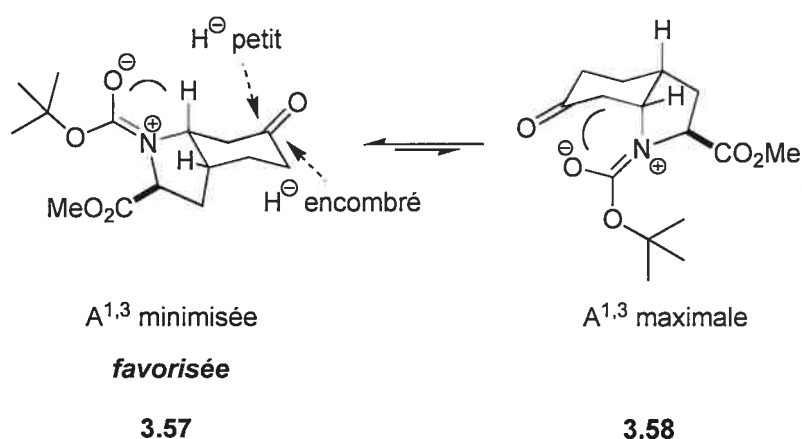
Après quelques variations de solvants, on a réussi à cristalliser **3.56** et l'on a obtenu sa structure cristallographique par diffraction de rayons X (Figure 3.1) qui s'avère être une confirmation supplémentaire de sa configuration absolue.

**Figure 3.1** Structure cristallographique de **3.56**



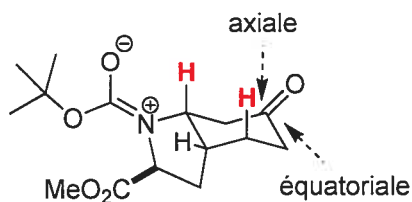
La stéréosélectivité obtenue de **3.56** est basée sur sur trois arguments bien précis. Tout d'abord, l'azote de type  $sp^2$  présent sous forme de carbamate affiche une tension allylique 1,3 minimisée lorsque la liaison C-O polarisée du carbonyle est opposée à la liaison C-H de la jonction de cycle selon la configuration **3.57**. Le cas où la tension est maximale est représenté par **3.58** lorsque la liaison C-O est opposée à la liaison C-C du cycle à six membres. Ce changement de conformation via l'inversion de la chaise de la portion cyclohexane (Schéma 3.16) permet de minimiser cette interaction et par conséquent de modifier la sélectivité de la réduction de la cétone selon le type d'encombrement de l'hydrure.

**Schéma 3.16** Effet de tension allylique 1,3 lorsque le groupe protecteur est un Boc



La livraison d'un hydrure sur une cétone s'effectue selon la trajectoire Burgi-Dunitz de  $107^\circ$ .<sup>5</sup> Selon la conformation spatiale favorisée d'après la minimisation de la tension allylique, un hydrure peut attaquer selon deux trajectoires: axiale ou équatoriale. La livraison axiale est bloquée par les hydrogènes en position 1,3 diaxiale (en rouge sur le Schéma 3.17) favorisant l'attaque des petits hydrures versus les hydrures encombrés à cette position. En contrepartie, la trajectoire équatoriale présente moins d'obstacle ce qui laisse l'accès aux hydrures encombrés.

**Schéma 3.17** Argument de l'effet stérique dû aux hydrogènes en position 1,3 diaxiale



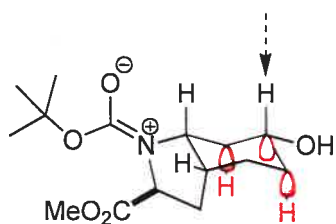
3.59

livraison **axiale** favorisée pour un *petit hydrure*

livraison **équatoriale** favorisée pour un *hydrure encombré*

Un petit hydrure pourrait également attaquer sur la trajectoire équatoriale mais un argument supplémentaire, apporté par l'hypothèse de Cieplak<sup>6</sup> et démontré par l'expérience de Le Noble<sup>7</sup>, stipule qu'une livraison axiale est favorisée par rapport à une livraison équatoriale pour un petit hydrure (Schéma 3.18). Ceci est dû à l'effet donneur de la liaison C-H versus la liaison C-C. Lorsque l'hydrure s'approche de la cétone, il se crée une orbitale  $\sigma^*$  (l'orbitale antiliante vide **3.60**) opposée à la trajectoire de l'attaque. Cette orbitale sera stabilisée par l'effet donneur des orbitales  $\sigma$  des liaisons C-H dans le cas d'une attaque axiale **3.60** et par l'effet donneur des orbitales  $\sigma$  des liaisons C-C dans le cas d'une attaque équatoriale **3.61**. L'effet Baker-Nathan, qui a pavé la voie à la théorie de l'hyperconjugation, a démontré que les liaisons  $\sigma(\text{C-H})$  sont plus fortement électrodonatrices que les liaisons  $\sigma(\text{C-C})$ .<sup>8</sup>

**Schéma 3.18** Argument de l'hypothèse de Cieplak

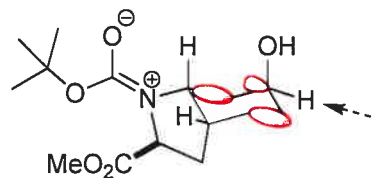


livraison d'hydrure  
axiale

**favorisée**

3.60

vs

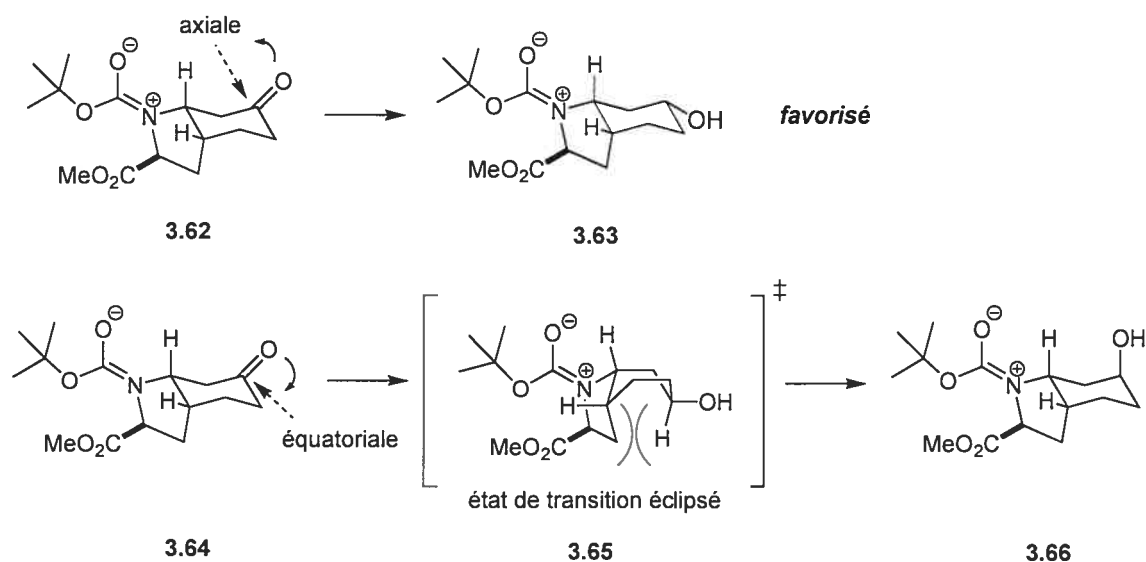


livraison d'hydrure  
équatoriale

3.61

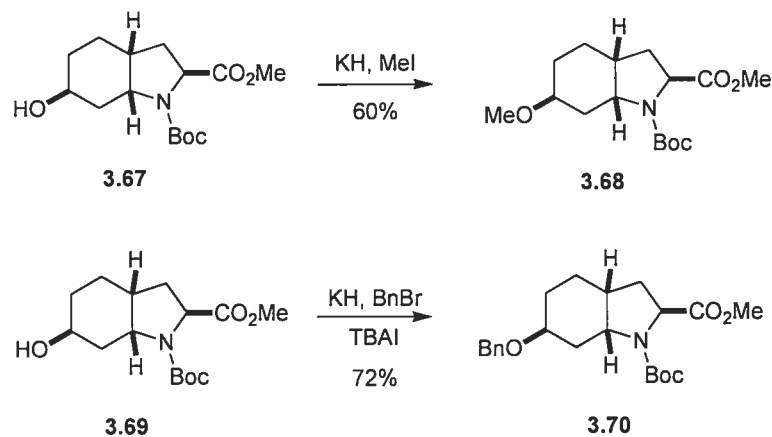
Le dernier argument pour expliquer la nature de l'énantiosélectivité observée lors de la réduction de la cétone provient de la tension de torsion.<sup>9</sup> La livraison de l'hydrure par une trajectoire équatoriale produit un état de transition éclipsé **3.65** de type bateau. Dans le cas d'une livraison axiale, l'état de transition produit conserve sa conformation chaise qui est favorisée (Schéma 3.19).

**Schéma 3.19** Argument de la tension de torsion

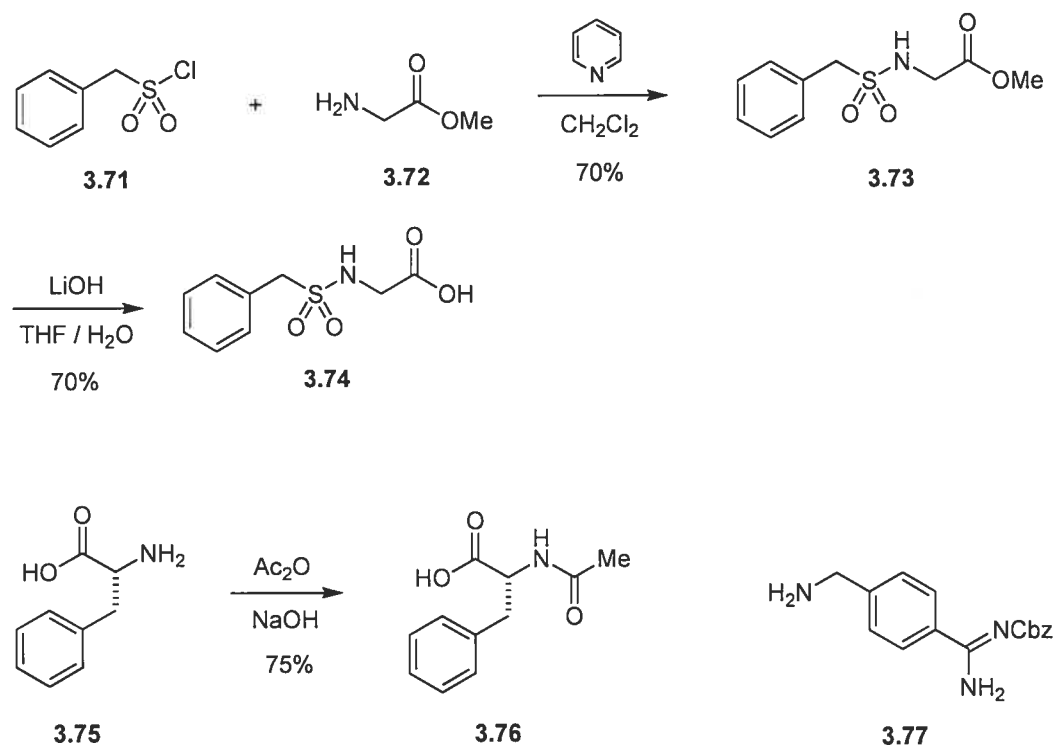


Ces trois arguments expliquent l'énantiosélectivité de la réduction de la cétone du diastéréoisomère *exo* avec un agent délivrant un hydrure encombré ainsi qu'avec un agent comportant un petit hydrure. La théorie explique les observations expérimentales effectués au laboratoire.

En route vers la synthèse, après la réduction achevée, la fonction alcool a dû être d'une part étherifiée et d'autre part protégée (Schéma 3.20) pour installer les chaînes latérales des inhibiteurs prototypes. Cette protection s'est effectuée avec le groupement protecteur benzyle pour l'orthogonalité mais surtout pour pouvoir libérer l'alcool simultanément à la déprotection du benzyle de la chaîne benzamidine dans la dernière étape de la synthèse.

**Schéma 3.20** Installation des groupes protecteurs sur l'alcool de la position 6

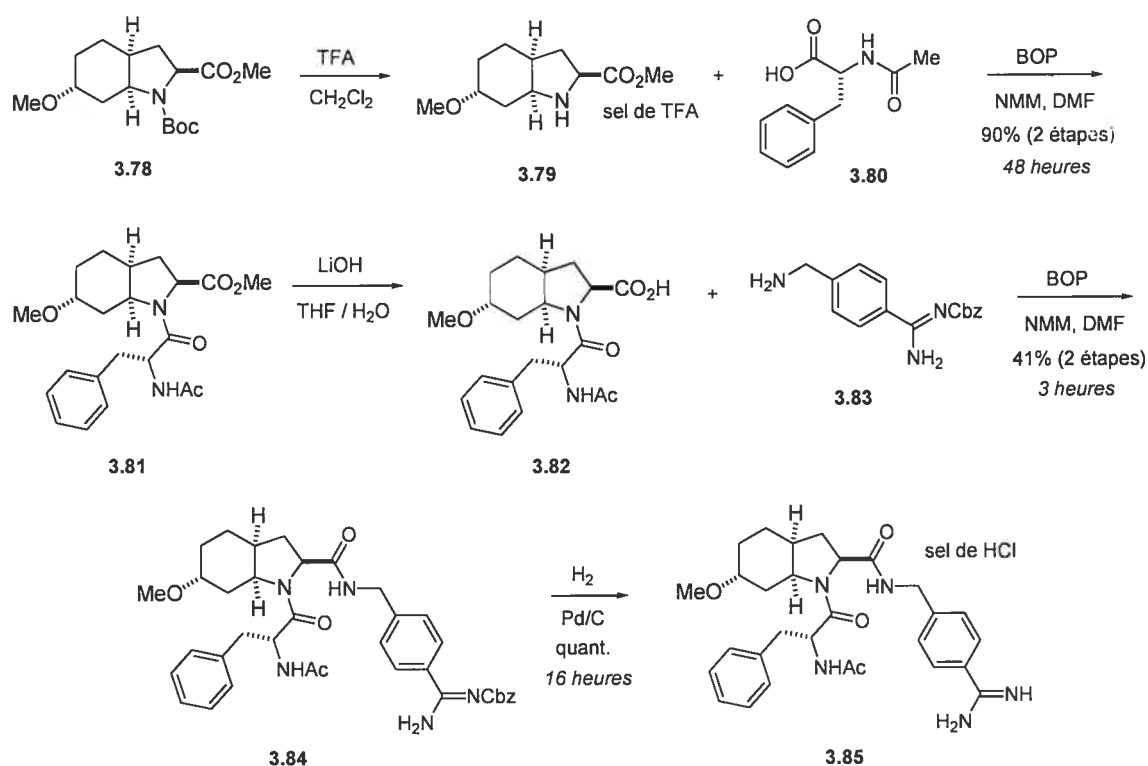
Les chaînes latérales ont été synthétisées rapidement et efficacement (Schéma 3.21) par des réactions connues de la littérature. La chaîne latérale benzamidine **3.77** a été préalablement synthétisée dans le groupe.

**Schéma 3.21** Synthèse des chaînes latérales

### 3.1.3 L'assemblage final

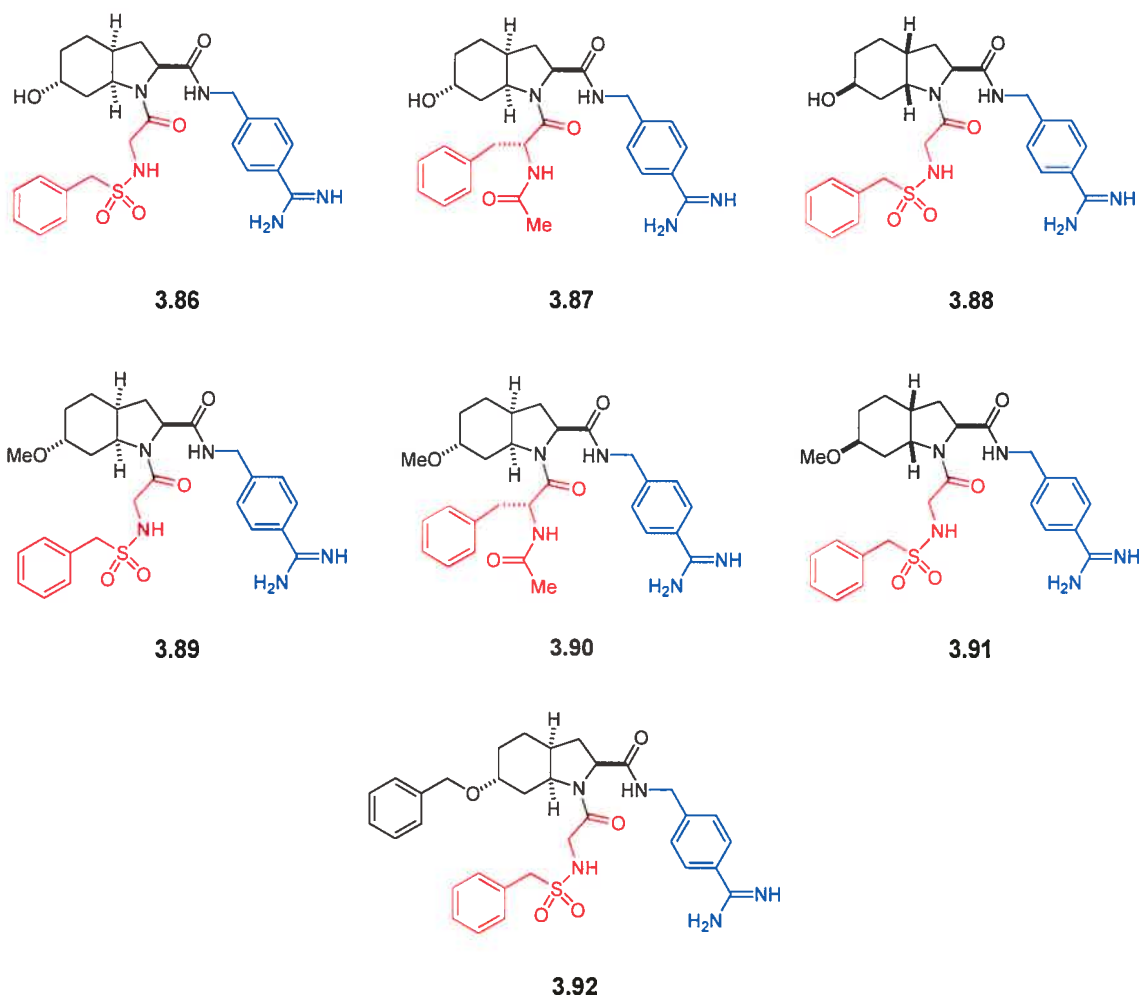
En partant du squelette CHOI où l'alcool a été protégé par un méthyle ou par un benzyle, on a déprotégé l'amine et on a poursuivi par un couplage avec la sulfonamide ou avec le dérivé de la phénylalanine selon le cas. L'ester méthylique a ensuite été saponifié pour effectuer un deuxième couplage mais cette fois-ci avec un dérivé de la benzamidine. Finalement l'hydrogénolyse a permis d'effectuer une déprotection simultanée lorsque l'alcool de la position 6 est protégé par un benzyle (Schéma 3.22) lors de la dernière étape.

**Schéma 3.22** Assemblage typique d'un inhibiteur prototype



Ces manipulations ont été répétées pour les autres inhibiteurs prototypes. Au final, on s'est retrouvé avec une collection de 7 composés (Schéma 3.23) que l'on a envoyé à la compagnie pharmaceutique Astra-Zeneca en Suède pour évaluer leur activité inhibitrice contre la thrombine.

### Schéma 3.23 Les inhibiteurs synthétisés

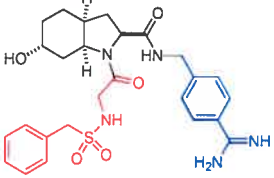
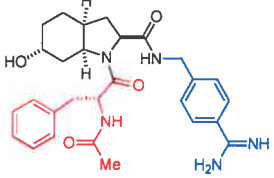
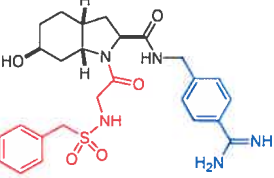
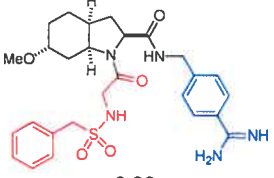
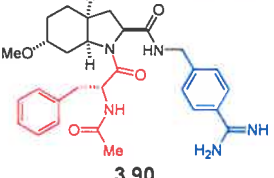
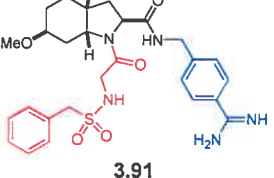
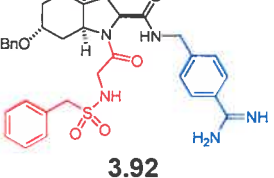


#### 3.1.4 Les résultats biologiques des inhibiteurs

Le Tableau 3.2 renseigne sur les différentes activités biologiques obtenues. Le cas de **3.92** (alcool avec un benzyle) n'était pas une cible conséquente des résultats de la modélisation mais un aléa de la réaction qui s'est avéré comme de fait ne pas afficher d'interactions avec la thrombine dû probablement à sa chaîne comportant le benzyle trop volumineuse pour entrer dans la poche S<sub>2</sub> de l'enzyme.



**Tableau 3.2** Les résultats biologiques avec diverses enzymes en IC<sub>50</sub> (μM)

composé	trypsine	facteur XIa	thrombine	facteur Xa	facteur IXa	facteur VII
 3.86	0,182	5,34	2,39		> 44,4	25,5
 3.87	2,05	> 44,4	13,1	> 44,4	> 44,4	> 44,4
 3.88			> 44,4			
 3.89			> 44,4			
 3.90			> 44,4			
 3.91	0,192	> 44,4	3,25	5,34	> 44,4	22,7
 3.92			> 44,4			

Les composés **3.89** et **3.90** (méthoxy *endo*) comportent un méthyle qui suggère être également trop volumineux de façon à diminuer significativement les interactions avec les constituants de la poche S<sub>2</sub>.

Les composés possédant un alcool libre à la position 6 tels **3.86** et **3.87** affichent des activités intéressantes de 2,39 et 13,1 µM de IC<sub>50</sub> favorisant la molécule ayant la chaîne latérale sulfonamide. Dans la conformation naturelle *endo*, il semble essentiel de conserver le plus petit groupe à la position 6, i.e. de conserver l'alcool versus le méthoxy. Des travaux non-publiés mais effectués en concomitance dans le groupe démontrent que les composés ne possédant aucun substituant à la position 6 affichent également une activité intéressante.

Au sujet des composés **3.88** et **3.91** possédant la configuration non-naturelle *exo*, on note une tendance opposée concernant la substitution de la position 6. Si l'alcool est libre, il n'affiche aucune activité mais si l'alcool est remplacé par un méthoxy, il possède alors l'une des activités les plus intéressantes du groupe. Il est à noter que les configurations *endo* et *exo*, malgré qu'elles semblent similaires, possèdent une géométrie spatiale complètement différente ce qui rend leur comparaison difficile.

Une comparaison des modes d'interaction entre les composés *exo* et la thrombine versus ce qui est connu de dysinosine A et de l'oscillarine s'impose mais ceci n'est pas présentement possible tant que la structure cristallographique du complexe ligand-enzyme ne soit disponible.

Les composés **3.86**, **3.87** et **3.91** affichent également une activité contre la trypsine, ce qui n'est pas souhaitable. La trypsine fait partie de la famille des protéases à sérine et une mauvaise spécificité entre la trypsine et la thrombine pose des inquiétudes sur la santé et augmente les risques de toxicité.<sup>10</sup>

Les résultats de la modélisation moléculaire ont permis de cibler des inhibiteurs de la thrombine affichant des activités biologiques prometteuses mais malheureusement de

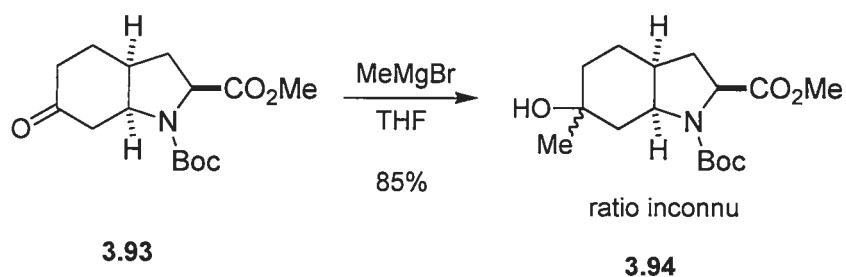
suivre aussi des pistes erronées, i.e. de faire la synthèse de composés non-actifs. Ces erreurs de parcours s'expliquent par quelques hypothèses. Tout d'abord les champs de forces et les fonctions d'évaluation n'ont pas été développés spécifiquement pour ce projet ce qui a pu laisser place à des interprétations erronées du logiciel au sujet des interactions entre les inhibiteurs et l'enzyme. Ensuite l'intérêt de ce projet est d'améliorer les inhibitions obtenues précédemment tout en simplifiant les composés à synthétiser, plus précisément leurs chaînes latérales. Une sursimplification peut également impliquer une perte d'interaction et c'est précisément ce qui semble s'être produit dans le cas des composés n'affichant aucune activité mesurable.

Il va de soi que plusieurs autres inhibiteurs prototypes devront être synthétisés dans la continuité de ce projet pour mieux comprendre la relation structure-activité découlant des interactions avec la thrombine et avec les autres enzymes de la cascade enzymatique de la coagulation sanguine.

### 3.1.5 Diversité moléculaire

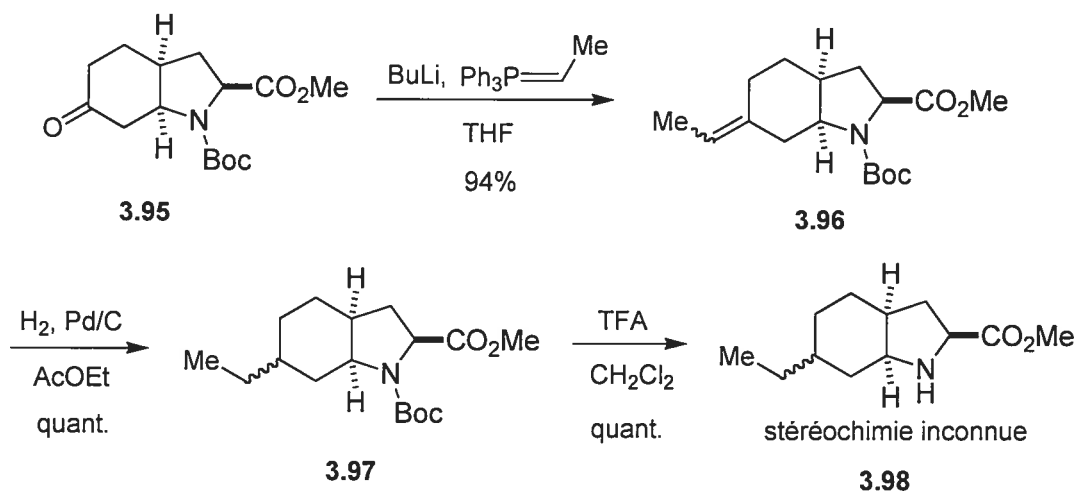
À partir de la version oxydée de **CHOI 3.93** (Schéma 3.24) on a étendu la portée de ce projet pour explorer la réactivité de ce type de squelette carboné et ainsi ouvrir la voie à la diversité moléculaire. On a procédé à une réaction de Grignard pour y installer un alcool tertiaire. Il n'a pas été possible de déterminer le ratio diastéréomérique de l'attaque suite à l'analyse des données spectroscopiques.

**Schéma 3.24** Réaction de Grignard



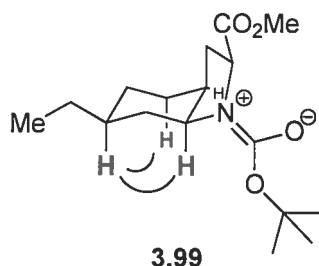
On a également effectué une réaction de Wittig sur **3.95** suivi d'une hydrogénation de l'oléfine pour donner **3.97**.

**Schéma 3.25** Réaction de Wittig



On souhaitait observer un double effet NOE avec **3.99** par RMN (Schéma 3.26) en se basant sur la préférence pour cette conformation dû à la présence du carbamate sur l'amine et subséquemment de la minimisation de la tension allylique 1,3. Ce double effet n'as pas pu être observé. On a enlevé le groupe protecteur de l'amine pour éliminer le dédoublement des pics dû aux rotamères sur le spectre RMN mais ce retrait a probablement modifié la conformation spatiale de la molécule rendant l'observation de l'effet NOE incompatible avec les prévisions.

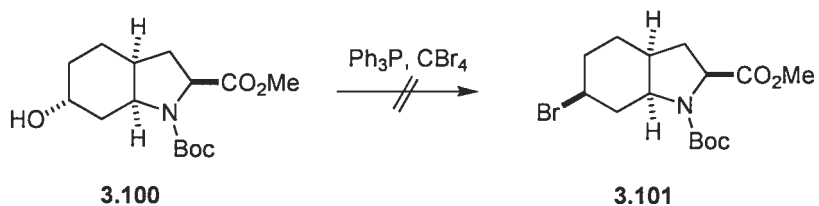
**Schéma 3.26** Effets NOE prévus



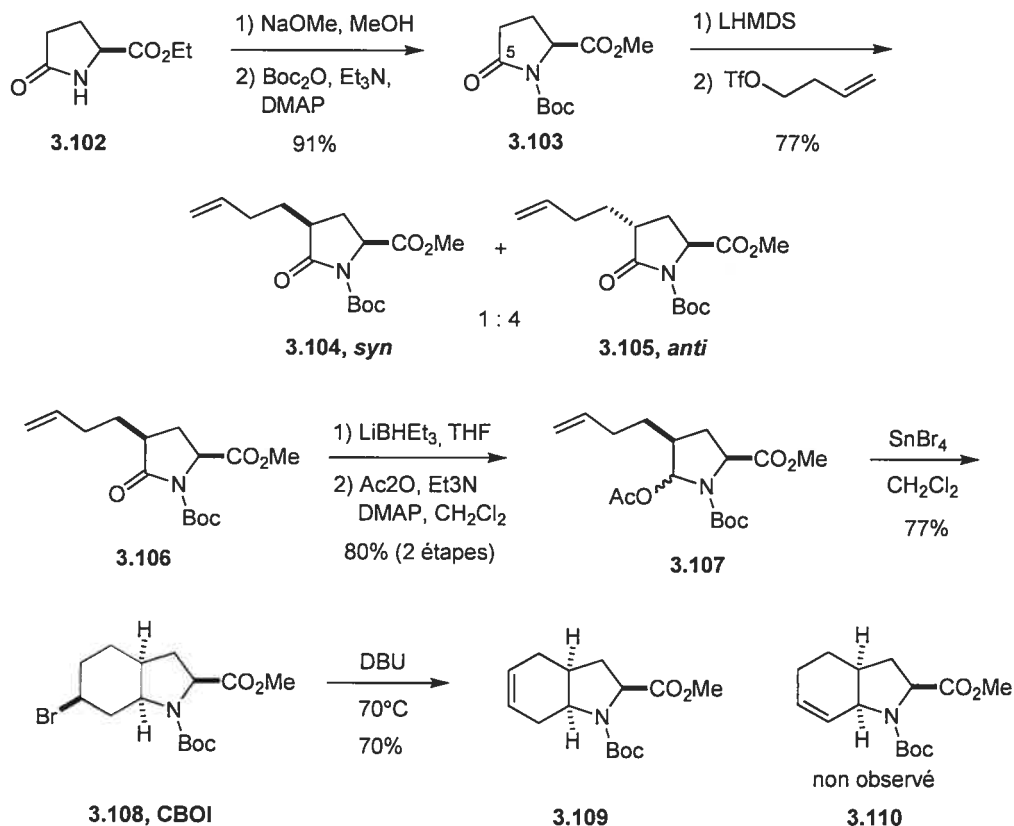
### 3.1.6 Obtention de CBOI

Afin d'obtenir l'acide 6-bromo-2-carboxyoctahydroindole, nommé CBOI en référence à CHOI, on a d'abord tenté de convertir l'alcool **3.100** en bromo mais on a observé une réaction d'élimination pour obtenir **3.52** contrairement à la substitution **3.101** désirée (Schéma 3.13 et 3.27).

**Schéma 3.27** Conversion de l'alcool en bromo



**Schéma 3.28** La route azonia-Prins vers CBOI



Néanmoins, lors de travaux préliminaires dans ce projet, on a utilisé la réaction azonia-Prins (voir le Chapitre 2.5.5 précédent) développé dans le groupe (Schéma 3.28). En partant de **3.102**, on a effectué une transestérification pour installer un ester méthylique suivi d'une protection de l'amine avec un Boc. On a utilisé la propriété du carbonyl en position 5 de **3.103** de réagir comme une cétone que l'on a soumis à des conditions de déprotonation avec une base encombrée LHMDS et on a piégé l'énolate avec un triflate de but-3-énol. On a obtenu un mélange de diastéréoisomères séparables **3.104** et **3.105** dans un ratio de 1 pour 4 respectivement. En continuant avec le composé *syn*, on a réduit le carbonyle à l'alcool, acétylé celui-ci puis on a effectué la réaction azonia-Prins avec SnBr<sub>4</sub> pour l'atteindre l'intermédiaire CBOI.

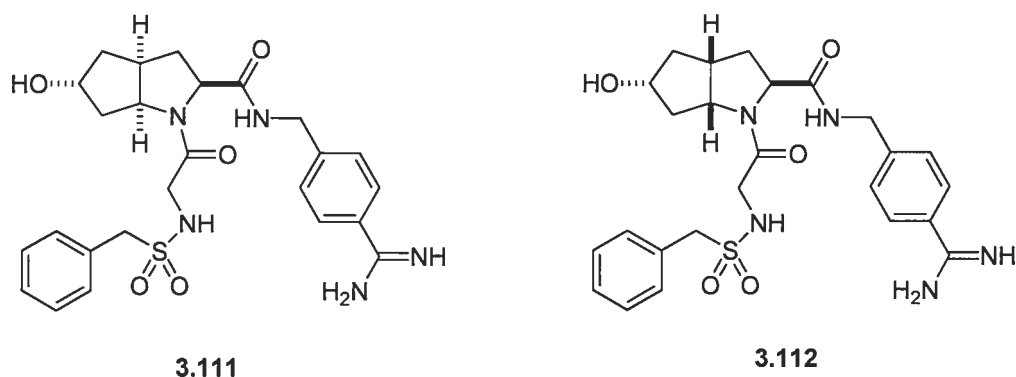
CBOI **3.108** a été ensuite soumis à une base encombrée pour favoriser une élimination de type E2 donnant l'oléfine **3.109** sans présence de l'isomère **3.110**. Ce résultat est facilement discernable par expérience RMN COSY <sup>1</sup>H car il y a un couplage spin-spin entre le proton de la position 7 et 7a lorsque l'oléfine **3.110** est présente, ce qui n'était pas le cas d'après nos observations.

### 3.2 Le système bicyclique 5.5

En voulant diversifier l'étendue de ce projet, on s'est attaqué à une nouvelle série d'inhibiteurs prototypes (Schéma 3.29) obtenus de la modélisation moléculaire par le Dr. Éric Therrien dans la quête d'étudier le potentiel de ce type de système dans le développement d'inhibiteurs de la thrombine.

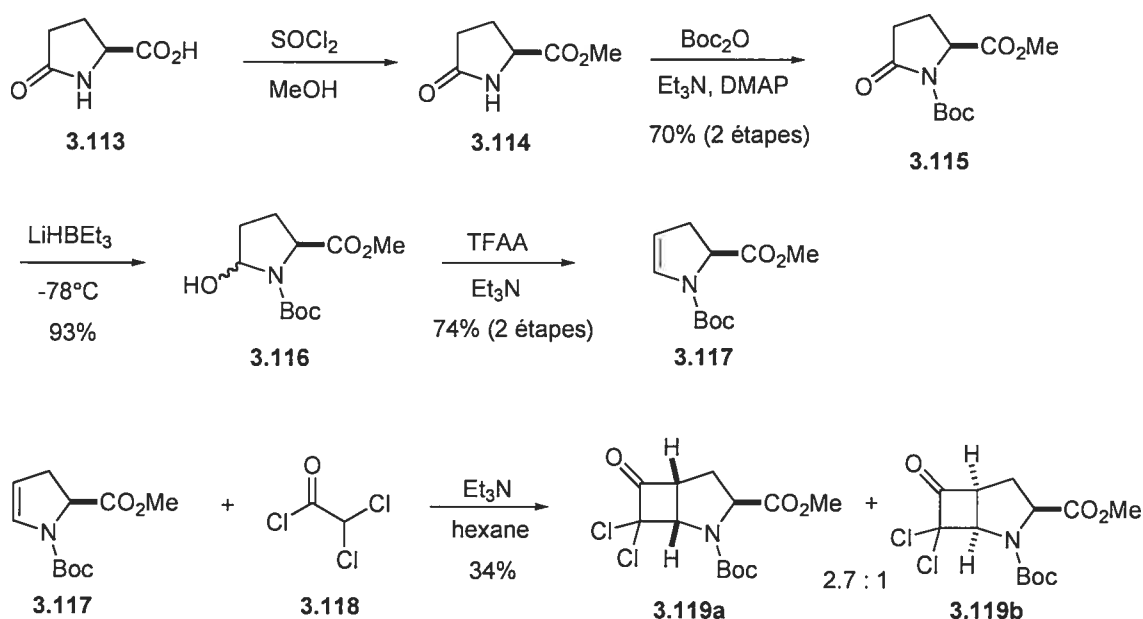
D'après ces résultats, on a planifié une route synthétique utilisant les travaux antérieurs effectués dans le groupe<sup>11</sup> menant vers **3.112**. À partir d'un dérivé de la pyrrolidinone **3.113**, on a transformé l'acide en ester méthylique puis on a protégé l'amide avec un carbamate **3.115**.

**Schéma 3.29** Les inhibiteurs prototypes comportant un système bicyclique 5.5

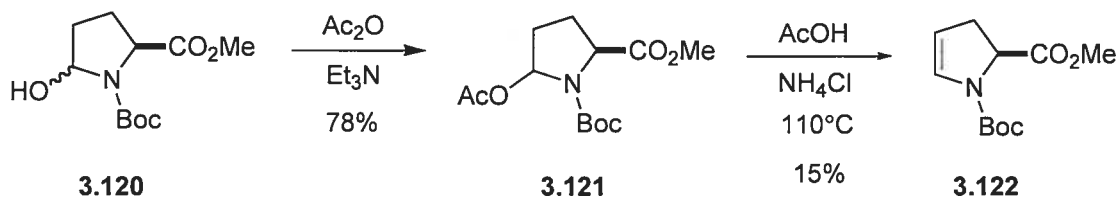


On a observé que le carbonyle de la fonction amide de **3.115** en présence d'un carbamate possède une réactivité similaire à une cétone. On a réduit ce carbonyle avec le Super-Hydrure puis, avec du TFAA, on a transformé l'alcool en groupe partant qui a été éliminé *in situ* pour donner l'ènecarbamate **3.116**.<sup>12</sup> On a réalisé que cette dernière réaction pour passer de **3.115** à **3.117** n'était pas praticable efficacement sur une quantité plus importante de matériel (en partant avec plus de 1 g de **3.115**) alors on a opté pour la procédure de Shono<sup>12</sup> afin d'effectuer la même transformation.

**Schéma 3.30** Synthèse du squelette bicyclique 5.5



**Schéma 3.31** La procédure de Shono<sup>13</sup> pour atteindre l'ènecarbamate

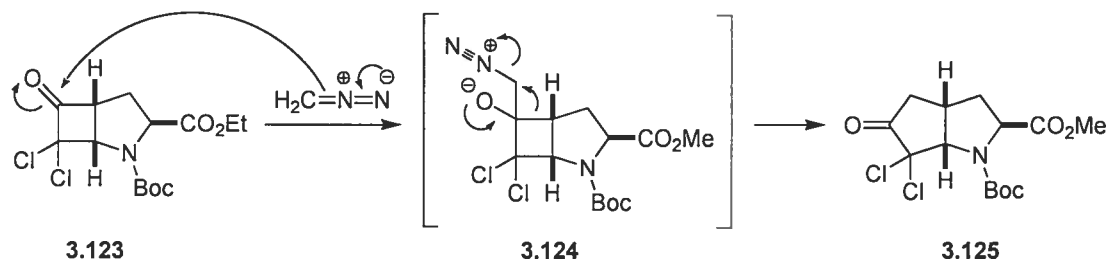


La procédure de Shono<sup>13</sup> n'a pas été efficace, contrairement à nos attentes, avec un rendement ne dépassant guère 15%, ceci étant partiellement dû à la volatilité de **3.121** qui mène à une perte de produit de l'ordre de 30% par heure à la température réactionnelle ainsi qu'une réaction secondaire menant à la déprotection de l'amine et rendant le composé encore plus volatil. Des travaux effectués dans le groupe ont démontré que lorsqu'on remplaçait l'ester méthylique par un ester éthylique, les rendements affichaient des améliorations notoires, ce que l'on s'est empressé de réaliser et qu'on discute plus en détails à la Section 3.2.1.

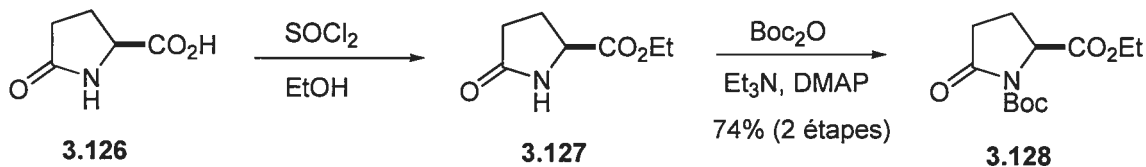
On a poursuivi avec le matériel en main la synthèse initialement planifiée (Schéma 3.30) et on a effectué la cyclisation 2+2 intermoléculaire pour donner **3.119a** et **3.119b**<sup>14</sup> dans un ratio de 1 (*anti*) pour 2.3 (*syn*) déterminé par RMN <sup>1</sup>H. Ensuite on a tenté l'homologation du cycle à 4 en cycle à 5 par ajout du TMSCHN<sub>2</sub>, mais sans succès. L'homologation a été effectuée avec le diazométhane dans l'éther provenant d'une solution de Diazald<sup>MC</sup> et on a observé une réaction rapide de **3.125** (en moins de 15 minutes) avec un rendement de 59%.

Le mécanisme de cette homologation est illustré dans le Schéma 3.31. Le carbone du diazométhane agit comme un nucléophile et attaque la cétone **3.123**. Ensuite la densité électronique sur l'oxygène mène à la coupure de la liaison  $\sigma$ (C-C) pour expulser sous forme de gaz le résidu N<sub>2</sub> de **3.124** avec expansion de cycle.



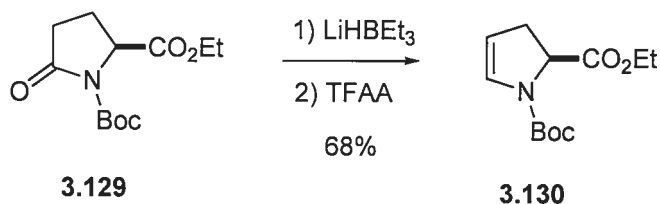
**Schéma 3.32** Mécanisme d'homologation du cycle à 4 avec le diazométhane**3.2.1 En présence de l'ester éthylique**

On a reproduit la voie synthétique entreprise précédemment mais cette fois-ci avec l'ester éthylique (Schéma 3.33). La synthèse de l'énecarbamate **3.131** a toujours présenté des inconsistances d'après les procédures connues. On a tenté de reproduire la procédure de Shono (Schéma 3.31) avec l'ester éthylique mais sans succès. Les rendements obtenus n'ont pas été aussi consistants et convainquants que prévu.

**Schéma 3.33** Synthèse avec l'ester éthylique

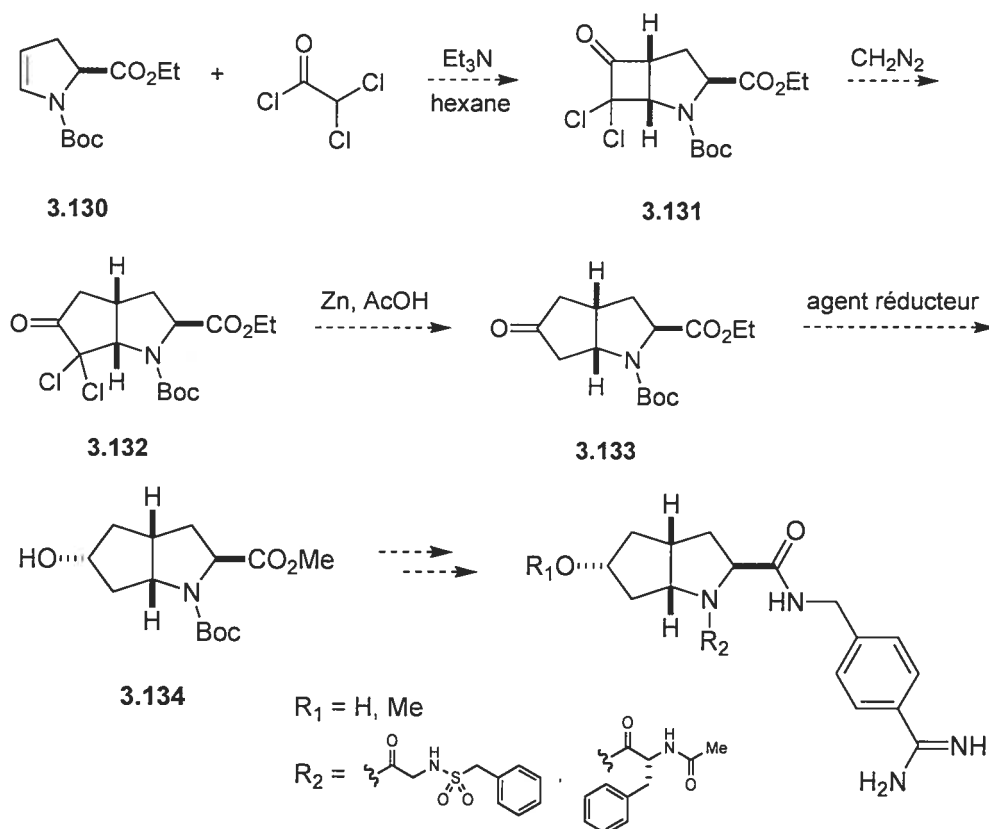
Récemment une nouvelle procédure a été publiée<sup>15</sup> qui a démontré être efficace et consistante (Schéma 3.34) peu importe l'échelle de la réaction pour obtenir l'énecarbamate désiré.

Schéma 3.34 La procédure améliorée



Dans la série de l'ester éthylique, le composé **3.130** est l'intermédiaire le plus avancé en main au moment de l'écriture de ce mémoire. La synthèse peut progresser (Schéma 3.35) en effectuant la cyclisation 2+2 tel que vu dans la série avec l'ester méthylique. Ensuite on procède à l'homologation avec le diazométhane suivi du clivage des deux groupes chloro par traitement avec du Zn moléculaire et de l'acide acétique.<sup>11</sup> Les conditions de réduction de la cétone doivent être étudiés. Et finalement, une série de protection, de déprotection et de couplage avec les chaînes latérales mènent à la cible désirée.

Schéma 3.35 Le plan de la synthèse qui reste à effectuer.



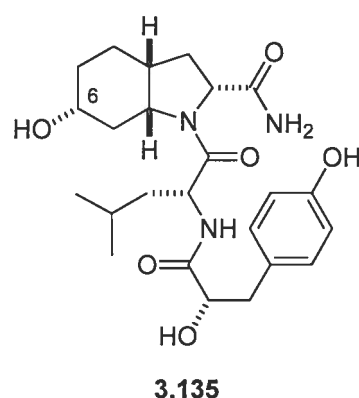
### 3.3 Conclusion

Les résultats à présent ont démontré que les simplifications de structure des aéruginosines au système CHOI bicyclique et l'installation de fragments non-naturels aux sites S<sub>1</sub> et S<sub>3</sub>, **3.74**, **3.76** et **3.77**, ont mené à des produits avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de faible μM. Par rapport aux produits de configuration naturelle tel que **3.86** et **3.87** (IC<sub>50</sub> de 2,39 et 13,1 μM respectivement), il faudra gagner de l'activité pour atteindre des niveaux nanomolaires. Également il semble ne pas y avoir une bonne spécificité entre la thrombine et la trypsine qui serait souhaitable. Il est possible qu'une variation des résidus en S<sub>3</sub> (sulfonamide, amide, etc.) puisse améliorer l'activité anti-thrombotique.<sup>16</sup>

Il reste beaucoup de travail à effectuer pour mieux comprendre la relation structure-activité de la thrombine dans la série des acides 2-carboxyoctahydroindoles. Néanmoins la configuration non-naturelle *exo* affiche une piste intéressante pour d'études ultérieures.

### 3.4 Addendum

Schéma 3.36 Aéruginosine EI461



Récemment, lors de la correction de ce mémoire, on a trouvé dans la littérature un nouveau composé issu de la cyanobactérie *Mycrocistis aeruginosa* ayant comme caractéristique une jonction de cycle de type *exo* (en rouge sur le Schéma 3.36) unique

dans la famille des aéruginosines connues à ce jour. Sans connaître cette information lors de la réalisation de ce projet, on a néanmoins exploré cette avenue intuitivement avec l'épimère de la position 6.<sup>17</sup>

### 3.5 Références

- <sup>1</sup> Bonjoch, J.; Lopez-Canet, M.; Vallribera, M.; Valls, N., « First Total Syntheses of Aeruginosin 298-A and Aeruginosin 298-B, Based on a Stereocontrolled Route to the New Amino Acid 6-Hydroxyoctahydroindole-2-carboxylic Acid », *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 3446-3460.
- <sup>2</sup> Baldwin, J. E., « Rules for Ring Closure », *Journal of the Chemical Society, Chem. Comm.*, **1976**, *18*, 734.
- <sup>3</sup> Hoffman, R. W., « Allylic 1,3-Strain as a Controlling Factor in Stereoselective Transformations », *Chem. Rev.*, **1989**, *89*, 1841-1860.
- <sup>4</sup> Hanessian, S.; Tremblay, M., résultats non publiés.
- <sup>5</sup> Burgi, H. B.; Dunitz, J. D.; Shefter, E., « Geometrical reaction coordinates. II. Nucleophilic addition to a carbonyl group. », *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 5065-5067.
- <sup>6</sup> Cieplak, A. S., « Stereochemistry of nucleophilic addition to cyclohexanone. The importance of the two-electron stabilizing interactions. », *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 4540-4552.
- <sup>7</sup> Chung, W.; Kaselj, M.; Le Noble, W. J., « Face Selection in Addition and Elimination in Sterically Unbiased Systems », *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 1387-1413.

- <sup>8</sup> a) Baker, J. W., « Hyperconjugation », Oxford University Press, London, **1952**.  
b) Lewis, I. C.; Taft, R. W., « Evaluation of the resonance effects on reactivity by application of the linear inductive energy relationship-IV : Hyperconjugation effects of para-alkyl groups », *Tetrahedron*, **1959**, *5*, 210.
- <sup>9</sup> Charette, A., Notes de cours de CHM 6315, Université de Montréal, **2004**, 3.11.
- <sup>10</sup> Aken, H. V.; Bode, C.; Darius, H.; Diehm, C.; Encke, A.; Gulba, D. C.; Haas, S.; Hacke, W.; Puhl, W.; Quante, M.; Riess, H.; Scharf, R.; Schellong, S.; Schror, K.; Schulte, K.; Teebe, U., « Anticoagulation : The Present and Future », *Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis*, **2001**, *7*, 195-204.
- <sup>11</sup> Hanessian, S.; Parlanti, L., Résultats non-publiés.
- <sup>12</sup> Correia, C. R. D.; Miranda, P. C. M. L.; Oliveira, D. F., « Efficient and Expedient Protocols for the Synthesis of Racemic and Enantiomerically Pure Endocyclic Encarbamates from N-Acyl Lactams and N-Acyl Pyrrolidines », *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 6646-6652.
- <sup>13</sup> Aoki, T.; Kanazawa, T.; Matsumura, Y.; Shono, T.; Sugibara, Y.; Tsubate, K.; Yamane, S., « Electroorganic Chemistry. 60. Electroorganic Synthesis of Enamides and Encarbamates and Their Utilization in Organic Synthesis », *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 6697-6703.
- <sup>14</sup> a) Correia, C. R. D.; de Faria, A. R.; Matos, C. R. R., « [2+2] Cycloaddition Reaction of Cyclic Encarbamates and Enamides With Ketenes. A Short and Efficient Synthesis of the Geissman-Waiss Lactone », *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 27-30.  
b) Carpes, M. J. S.; Correia, C. R. D.; Miranda, P. C. M. L., « Stereoselective Synthesis of Conformationally Restricted Analogues of Aspartic and Glutamic

Acids from Endocyclic Enecarbamates », *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 1869-1872.

- <sup>15</sup> Hierl, E.; Mudryk, B.; Riebel, P.; Truc, V.; Yu, J., « One-pot synthesis of cyclic enecarbamates from lactam carbamates », *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 4011-4013.
- <sup>16</sup> Bayrakdarian, M.; Fjellström, O.; Hanessian, S.; Nilsson, I.; Therrien, E.; Willem, A. L. van Otterlo; Xue, Y., « Phenolic P2/P3 core motif as thrombin inhibitors – Design, synthesis, and X-ray co-crystal structure », *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1032-1036.
- <sup>17</sup> Carmeli, S.; Ploutno, A.; Shoshan, M., « Three Novel Protease Inhibitors from a Natural Bloom of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* », *J. Nat. Prod.*, **2002**, *65*, 973-978.

## **CHAPITRE 4**

### **LA PARTIE EXPÉRIMENTALE**

## 4.1 Notes générales sur la partie expérimentale

### 4.1.1 Instrumentation

Les points de fusion non-corrigés ont été déterminés avec un appareil Büchi B-540. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un polarimètre PerkinElmer 343 à la longueur d'onde du sodium de 589 nm et à la température ambiante (22°C).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN  $^1\text{H}$ ) et du carbone (RMN  $^{13}\text{C}$ ) ont été enregistrés sur les appareils Bruker AV-300 et Bruker AV-400. Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) selon l'échelle  $\delta$  et par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence. Les constantes de couplage sont exprimées en Hz. La multiplicité est exprimée selon les codes suivants : singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), doublet dédoublé (dd) et multiplet (m).

Les spectres de masse à basse résolution ont été enregistrés sur un spectromètre Thermo Finnigan MSQ (Single Quadrupole) avec une ionisation par jet d'électrons (*electrospray ionization*). Les spectres de masse à haute résolution ont été enregistrés sur un spectromètre Kratos MS-50 TCA ou VG-autospec-C1.

La diffraction par rayons X a été effectuée par le Dr. Michel Simard avec un diffractomètre Nonium CAD-4.

### 4.1.2 Chromatographie

Les composés ont été purifiés par colonne chromatographique de type éclair en utilisant du gel de silice Kieselgel 60. Les solvants utilisés ont été préalablement distillés.



#### 4.1.4 Les solvants

L'acétate d'éthyle et l'hexane ont été préalablement distillés. Le dichlorométhane, l'éther, le tétrahydrofurane et le toluène ont été séchés avec le système SDS (*Solvent Delivery System*). Les autres solvants ont été achetés de la compagnie Sigma-Aldrich.

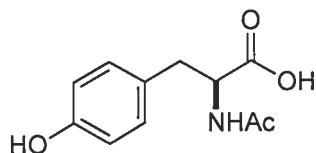
#### 4.1.5 Les réactions effectuées sous des conditions anhydres

Les réactions nécessitant des conditions anhydres ont été effectuées sous atmosphère d'argon. La verrerie a été préalablement placée dans l'étuve à 120°C pendant au moins 6 heures.

#### 4.1.6 Généralités

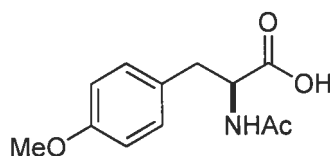
La nomenclature a été déterminée à l'aide du logiciel Autonom®. Les spectres originaux sont disponibles sur demande auprès du Professeur Stephen Hanessian du Département de chimie de l'Université de Montréal.

## 4.2 La partie expérimentale



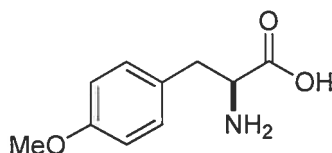
### 4.2.1 Acide (S)-2-acétamido-3-(4-hydroxyphényl)propanoïque (3.5)

L-tyrosine (30 g; 0,17 mol) a été solubilisée dans le NaOH 6N (30 mL) avec ajout de H<sub>2</sub>O (75 mL). À 0°C a été ajouté du NaOH 6N (133 mL), du H<sub>2</sub>O (135 mL) et Ac<sub>2</sub>O (47 mL; 0,498 mol). La solution a été agitée pendant 1h à la température ambiante. Ensuite H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N (166 mL) a été ajouté pour neutraliser la réaction. La solution a été évaporée *in vacuo*. Le résidu a été solubilisé avec de l'acétone et filtré sur du verre poreux pour donner **3.5** (35 g; 93%), une huile légèrement jaune correspondant aux données physiques de la littérature.<sup>1,2</sup> Le filtrat a été utilisé tel quel dans la prochaine étape.



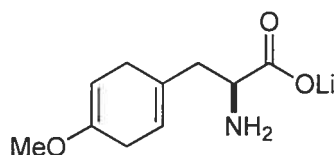
### 4.2.2 Acide (S)-2-acétamido-3-(4-méthoxyphényl)propanoïque (3.6)

**3.5** (39 g; 0,17 mol) a été solubilisé dans du NaOH 6N (86 mL) et du H<sub>2</sub>O (75 mL). Le Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a été additionné à la température ambiante puis la solution agitée à 60°C pendant 6h. Ensuite H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N (88 mL) a été ajouté pour neutraliser la réaction. Le mélange a été évaporé *in vacuo* et extrait avec du chloroforme légèrement chaud et de l'eau à 3 reprises. Le solide a été recristallisé dans du chloroforme pour donner **3.6** (20 g; 50%), un solide blanc correspondant aux données physiques de la littérature.<sup>1,2</sup>  $[\alpha]_D = -2,0^\circ$  (c 0,71; CHCl<sub>3</sub>).



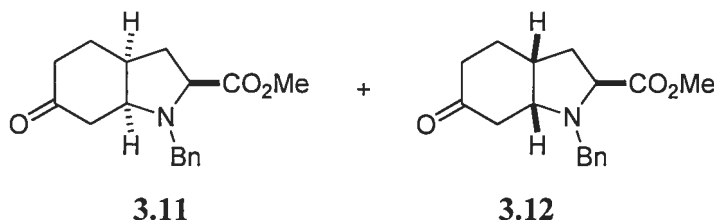
#### 4.2.3 Acide (*S*)-2-amino-3-(4-méthoxyphényl)propanoïque (3.7)

**3.6** (13 g; 54 mmol) a été solubilisé dans du HCl 6N (64 mL) et du H<sub>2</sub>O (60 mL). La solution a été agitée à reflux (115°C) pendant 2h30 et évaporée *in vacuo*. Le solide a été recristallisé dans H<sub>2</sub>O pour donner **3.7** (12 g; 93%), un solide blanc correspondant aux données physiques de la littérature.<sup>1,2</sup>



#### 4.2.4 (*S*)-2-Amino-3-(4-méthoxycyclohexa-1,4-diényl)propanoate de lithium (3.8)

**3.7** (14 g; 70 mmol) a été solubilisé dans un mélange 2,5 : 1 THF (130 mL) : *tert*-butanol (70 mL) à la température pièce. La solution a été refroidie à -78°C et de l'ammoniaque pur (200 mL) a été additionné lentement sur une période de 45 minutes. Le lithium (3 g) a été ajouté jusqu'à ce que le mélange devienne bleu foncé. La solution bleue a été agitée pendant 2h. L'ammoniaque a été évaporé durant toute la nuit puis la solution a été concentrée *in vacuo* pour donner le sel de lithium **3.8** (13 g; 91%) un solide blanc correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>3</sup> Le produit a été utilisé tel quel dans la prochaine étape.

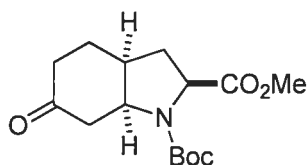


#### 4.2.5 (*2S,3aS,7aS*)-*N*-Benzyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.11)

#### 4.2.6 (*2S,3aR,7aR*)-*N*-Benzyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.12)

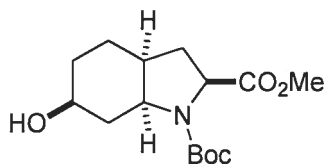
**3.8** (13 g; 63 mmol) a été solubilisé à 0°C dans une solution saturée de HCl dans le méthanol (200 mL) préalablement préparée en bullant du HCl gazeux dans du méthanol sec pendant 30 minutes. Le mélange a été agité à 35°C pendant 3 jours puis concentré *in*

*vacuo*. L'intermédiaire a été solubilisé dans de l'éthanol (200 mL). Le bromure de benzyle (75 g) et le bicarbonate de sodium (37 g) ont été ajoutés. Le mélange a été agité à 70°C pendant 16h puis filtré et concentré *in vacuo*. Le filtrat a été extrait 3 fois avec du dichlorométhane et du HCl 2N. La phase aqueuse a été basifiée avec du carbonate de disodium jusqu'à un pH de 10 et extrait 3 fois avec du dichlorométhane et du H<sub>2</sub>O. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% hexane, 53% dichlorométhane et 12% acétate d'éthyle pour donner un mélange diastéréomérique séparable 1:1.8 de **3.11** (5,4 g; 27% à partir de **3.7**) et **3.12** (3,0 g; 15% à partir de **3.7**) sous forme d'une huile incolore correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>3</sup>



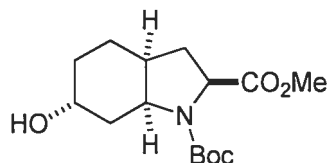
#### 4.2.7 (2S,3aS,7aS)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (**3.27**)

**3.11** (1,1 g; 3,9 mmol) a été solubilisé dans l'acétate d'éthyle (10 mL). Boc<sub>2</sub>O (1,1 g) et Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20%, 225 mg) ont été ajoutés à la température pièce. La solution a été agitée sous atmosphère d'hydrogène (pression atmosphérique) pendant 48h. Le catalyseur a été enlevé par filtration sur du verre poreux et lavé successivement avec du chloroforme (30 mL), de l'acétate d'éthyle (30 mL) et du méthanol (30 mL). Le filtrat a été évaporé *in vacuo* et purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.27** (1,0 g, 90%) sous forme d'une huile jaune correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>3</sup>



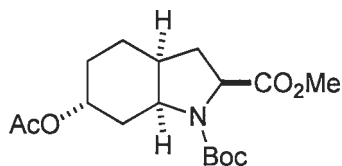
#### 4.2.8 (2*S*,3*aS*,6*S*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.31)

**3.27** (1,5 g; 5,2 mmol) a été solubilisé dans le THF (30 mL). DIBAL-H (6 mL d'une solution 1M dans le THF) a été ajouté à -78°C et agité pendant 5 heures. La solution a été neutralisée avec du NH<sub>4</sub>Cl 2M (5 mL) puis du sel de Rochelle (300 mg) a été ajouté et l'agitation a été maintenue toute la nuit (environ 16 heures). Ensuite la solution a été évaporée *in vacuo* suivi de l'ajout de H<sub>2</sub>O (10 mL) et extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3x10 mL), la phase organique séchée avec Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié avec un système d'élution de 40% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.31** (1,3 g; 87%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.21 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.54 (m, 1H), 2.40 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.11 (m, 1H), 2.03-1.97 (m, 3H), 1.77-1.68 (m, 3H), 1.51-1.33 (m, 10H).



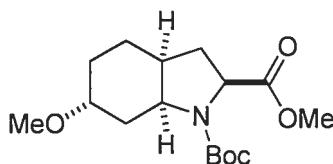
#### 4.2.9 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.32)

**3.27** (180 mg, 0,61 mmol) a été solubilisé dans le THF (3 mL). LS-Selectride (0,8 mL d'une solution 1M dans le THF) a été additionné à -78°C sur une période de 15 minutes. Le mélange a été agité pendant 2h30 puis neutralisé avec NaHSO<sub>4</sub> 5% (5 mL) et agité de nouveau pendant 2 heures. Ensuite NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) a été ajouté et la solution évaporée *in vacuo* pour enlever le THF. H<sub>2</sub>O (3 mL) a été ajouté et le mélange extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3x3 mL) avant d'être évaporé sous pression réduite. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.32** (74 mg, 40%) sous forme d'un solide blanc correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>3</sup>



#### 4.2.10 (2S,3aS,6R,7aS)-6-Acétoxy-1-N-tert-butylxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.34)

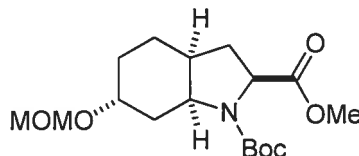
**3.32** (42 mg; 140  $\mu\text{mol}$ ) a été solubilisé dans le dichlorométhane (2 mL).  $\text{Et}_3\text{N}$  (59  $\mu\text{L}$ ),  $\text{Ac}_2\text{O}$  (40  $\mu\text{L}$ ) et DMAP (10% mol) ont été ajoutés au mélange réactionnel et agités pendant toute la nuit (16 heures). Le mélange a été neutralisé avec  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2M (1 mL), extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3 x 10 mL), la phase organique séchée avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.34** (36 mg, 75%) sous forme d'une huile incolore correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>4</sup>



#### 4.2.11 (2S,3aS,6R,7aS)-N-tert-Butylxycarbonyl-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.35)

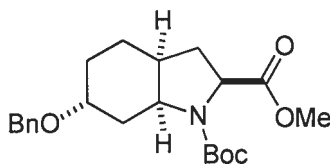
**3.32** (298 mg; 1,0 mmol) a été solubilisé dans le THF (10 mL). MeI (2 mL) et KH (60 mg) ont été ajoutés à 0°C. Le mélange réactionnel a été agité à la température pièce pendant 40 minutes. Le mélange a été neutralisé lentement avec du MeOH (2 mL) suivi de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2M (5 mL) puis évaporé sous pression réduite.  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) a été ajouté, extrait 3 fois avec de l'acétate d'éthyle (3x5 mL), la phase organique séchée avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.35** (264 mg; 85%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.29-2.26 (m, 1H), 4.09-3.93 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.54 (s, 1H), 3.33 (s,

3H), 2.47-2.28 (m, 2H), 2.19-2.13 (m, 1H), 2.04-1.95 (m, 2H), 1.73-1.61 (m, 2H), 1.50-1.40 (m, 11H). ESI/LRMS : C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub> calculée (M+ H<sup>+</sup>) 314.2, trouvée 314.1.



**4.2.12 (2S,3aS,6R,7aS)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6-(méthoxyméthyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.36)**

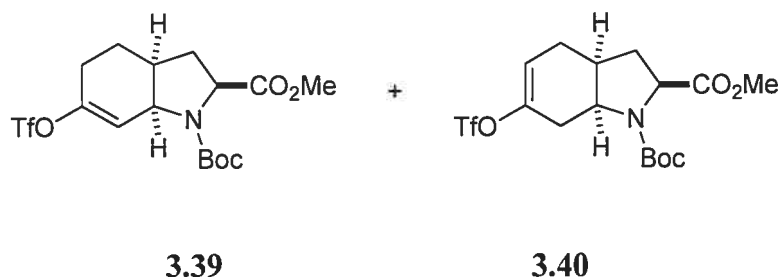
**3.32** (20 mg; 0,07 mmol) a été solubilisé dans le DCM (2 mL). MOMCl (16 µL) suivi de DIPEA (71 µL) ont été ajoutés à 0°C. Le mélange a été agité à la température pièce pendant 16h puis neutralisé avec NH<sub>4</sub>Cl 2N (0,5 mL). Le mélange a été extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3 x 5 mL), séché avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporé sous pression réduite. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.36** (18 mg; 80%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.69-4.59 (m, 2H), 4.27-4.21 (m, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 2.33 (m, 2H), 2.13-1.81 (m, 4H), 1.67 (m, 1H), 1.53-1.44 (m, 12H).



**4.2.13 (2S,3aS,6R,7aS)-6-(Benzyloxy)-N-tert-butylxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.37)**

**3.32** (35 mg; 0,12 mmol) a été solubilisé dans le DMF (2 mL). BnBr (0,5 mL) et une quantité catalytique de TBAI (20% mol) ont été ajoutés à la température pièce. KH (10 mg) a été ajouté à 0°C puis le tout agité à la température pièce pendant 2 heures. Le mélange réactionnel a été neutralisé lentement avec du MeOH (2 mL) suivi de NH<sub>4</sub>Cl 2M

(2 mL) puis évaporé sous pression réduite. H<sub>2</sub>O a été ajouté (8 mL), extrait 3 fois avec de l'acétate d'éthyle, la phase organique séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'éluion de 5%, 10%, 20% et 30% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.37** (40 mg; 88%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 7.34-7.26 (m, 5H), 4.60 (t, 1H, *J*=12Hz), 4.74 (d, 1H, *J*=12Hz), 4.28-4.09 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.62-2.34 (m, 2H), 2.14-1.97 (m, 3H), 1.77-1.67 (m, 1H), 1.58-1.41 (m, 13H). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 173.9, 153.8, 138.7, 128.1, 127.9, 127.8, 127.1, 126.9, 79.4, 72.2, 69.2, 64.8, 59.0, 58.4, 53.7, 51.6, 36.0, 31.5, 29.8, 29.5, 24.0, 19.6. ESI/LRMS : C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>5</sub> calculée (M+ H<sup>+</sup>) 390.2, trouvée 390.3.



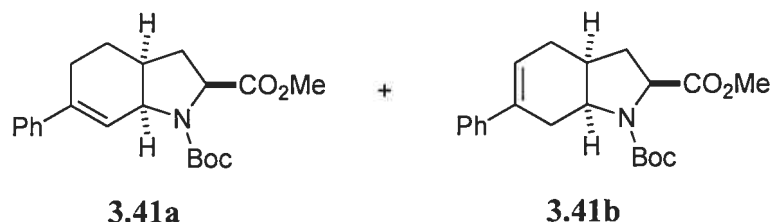
**4.2.14 (2*S*,3*aS*,7*aR*)-*N*-tert-Butyloxycarbonyl-6-(trifluorométhylsulfonyloxy)-2,3,3*a*,4,5,7*a*-hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.39)**

**4.2.15 (2*S*,3*aS*,7*aS*)-*N*-tert-Butyloxycarbonyl-6-(trifluorométhylsulfonyloxy)-2,3,3*a*,4,7,7*a*-hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.40)**

**3.27** (55 mg; 185 μmol) a été solubilisé dans le THF (1 mL). KHMDS (0,41 mL d'une solution 1M dans le THF) a été ajouté à -78°C et agité pendant 30 mins. Une solution de PhNTf<sub>2</sub> (73 mg) dans le THF (1 mL) a été préparée. La solution de PhNTf<sub>2</sub> a été ajoutée au mélange réactionnel puis agité pendant 1h30. La concentration de la réaction est d'environ 0,1M. Le mélange a été neutralisé par ajout de NH<sub>4</sub>Cl 2M (1 mL) puis évaporé *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'éluion de 15% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner un mélange isomérique de **3.39** (26 mg; 44%) et de **3.40** (33 mg; 56%) pour un rendement de réaction de 60 mg soit 75% sous forme d'une huile incolore.



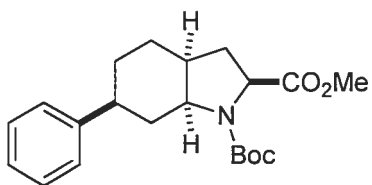
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange d'isomères et de rotamères) 5.97 (d, 0,44H,  $J=10.8\text{Hz}$ ), 5.74 (s, 0,56H), 4.60-4.47 (dm, 0,5H,  $J=9\text{ Hz}$ ), 4.35-4.17 (m, 1,5H), 3.74 (d, 3H,  $J=3.5\text{ Hz}$ ), 2.94-2.32 (m, 5H), 2.07-1.74 (m, 2H), 1.49-1.35 (m, 9H).



**4.2.16 (2*S*,3*aS*,7*aR*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-phényl-2,3,3*a*,4,5,7*a*-hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.41a)**

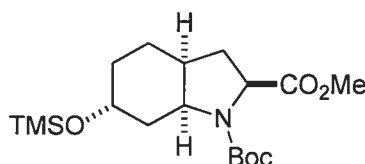
**4.2.17 (2*S*,3*aS*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-phényl-2,3,3*a*,4,7,7*a*-hexahydroindole-1,2-dicarboxylate de méthyle (3.41b)**

Un mélange des isomères **3.39** et **3.40** (20 mg; 47 mmol) a été solubilisé dans le THF (2 mL). L'acide boronique  $\text{PhB}(\text{OH})_2$  (8,5 mg; 70 mmol) a été ajouté.  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0,19 mL d'une solution 1M) suivi d'une quantité catalytique de 10% palladium 10% sur charbon (20% mol) ont été ajoutés. La réaction a été agitée pendant 2 heures à la température ambiante avant d'être concentrée sous pression réduite.  $\text{H}_2\text{O}$  (3 mL) a été ajouté et extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3x3 mL), la phase organique séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 3% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner un mélange isomérique non-séparable de **3.41a** et **3.41b** avec un rendement combiné de 12,5 mg soit 75% sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange d'isomères et de rotamères) 7.44-7.23 (m, 5H), 4.45-4.21 (m, 2H), 3.72 (m, 3H), 2.86-2.07 (m, 5H), 2.07-1.88 (m, 2H), 1.67 (s, 1H), 1.47 (m, 9H).



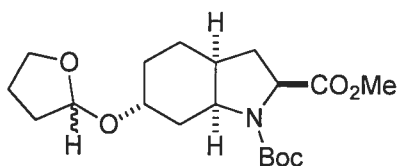
**4.2.18 (2*S*,3*aS*,6*S*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-phényloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.42)**

Un mélange des isomères **3.41a** et **3.41b** (27 mg; 76 mmol) a été solubilisé dans l'acétate d'éthyle (2 mL). Une quantité catalytique de palladium 10% sur charbon (20% mol) a été ajoutée et le mélange agité sous atmosphère d'hydrogène pendant toute la nuit (16 heures). Le catalyseur a été enlevé par filtration sur du verre poreux, lavé successivement avec du dichlorométhane (3x30 mL) et évaporé sous pression réduite. Le filtrat a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 20% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour obtenir **3.42** (27 mg, 100%) sous forme d'un solide blanc correspondant aux données spectroscopiques de la littérature.<sup>4</sup> <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 7.33-7.18 (m, 5H), 4.35-4.25 (m, 1H), 4.11-3.98 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.57-2.38 (m, 2H), 2.27-2.12 (m, 2H), 1.93-1.86 (m, 2H), 1.81-1.55 (m, 4H), 1.51-1.39 (m, 9H).



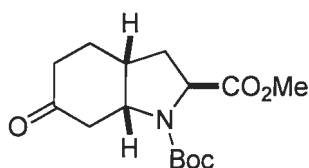
**4.2.19 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-(triméthylsilyloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.47)**

**3.33** (33 mg; 0,12 mol) a été solubilisé dans le THF (3 mL). L'iodure de méthyle (1 mL) suivi de KHMDS (0,25 mL d'une solution de 0,5M dans le toluène) ont été ajoutés à la température ambiante. Le mélange a été agité pendant 6h, neutralisé avec NH<sub>4</sub>Cl 2N (0,5 mL) puis évaporé *in vacuo*. H<sub>2</sub>O (3 mL) a été ajouté, le mélange a été extrait 3 fois avec du dichlorométhane et la phase organique a été séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.47** (18 mg; 44%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.26-4.09 (m, 3H), 3.73 (s, 3H), 2.32-2.30 (s, 1H), 2.12-2.04 (m, 3H), 1.93-1.87 (m, 1H), 1.65-1.55 (m, 2H), 1.46-1.37 (m, 11H), 0.10 (s, 9H). ESI/LRMS : C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>5</sub>Si calculée (M + H<sup>+</sup>) 372.2, trouvée 372.2.



**4.2.20 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-(tétrahydrofuran-2-yloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.50)**

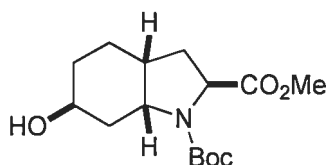
**3.33** (47 mg; 0,16 mol) a été solubilisé dans le THF (5 mL). Le bromure de benzyle (1 mL) et une quantité catalytique de TBAI (20% mol) ont été ajoutés à la température ambiante. L'hydruure de potassium (50 mg) a été ajouté à 0°C puis le tout agité à 40°C pendant 4 heures. Le mélange réactionnel a été neutralisé lentement avec du MeOH (3 mL) suivi de NH<sub>4</sub>Cl 2M (3 mL) puis évaporé sous pression réduite. H<sub>2</sub>O a été ajouté (7 mL), extrait 3 fois avec du dichlorométhane (4 mL), la phase organique séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'élution de 15%, 20% et 25% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.50** (14 mg; 23%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 5.27 (s, 0.3H), 5.18 (s, 0.7H), 4.20-4.12 (m, 1H), 3.93-3.82 (m, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.34-2.28 (m, 2H), 2.05-1.85 (m, 8H), 1.69-1.61 (m, 2H), 1.48-1.39 (m, 11H). ESI/LRMS : C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>6</sub> calculée (M + H<sup>+</sup>) 370.2, trouvée 370.2.



**4.2.21 (2*S*,3*aR*,7*aR*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-oxooctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.54)**

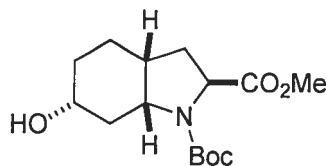
À partir de **3.12**, même procédure de changement de groupe protecteur que pour l'obtention de **3.27**. Le produit a été purifié avec un système d'élution de 30% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.54** (75%), une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz,

CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.47-4.45 (m, 0.5H), 4.38-4.36 (m, 1H), 4.25-4.23 (m, 0.5H), 3.75 (s, 3H), 2.99-2.90 (m, 1H), 2.87-2.77 (m, 1H), 2.45-2.31 (m, 2H), 2.26-2.11 (m, 3H), 1.78-1.72 (m, 1H), 1.72-1.64 (m, 1H), 1.48-1.41 (m, 9H). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 210.1, 173.3, 155.3, 80.5, 59.0, 56.2, 52.2, 42.5, 40.4, 38.6, 36.4, 33.7, 31.6, 28.1, 23.9. [α]<sub>D</sub> : -51.5° (1.0, CHCl<sub>3</sub>). ESI/LRMS : C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> calculée (M + H<sup>+</sup>) 298.2, trouvée 298.3.



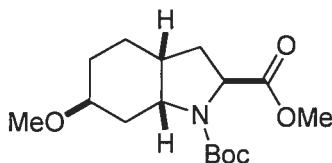
#### 4.2.22 (2S,3aR,6S,7aR)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.56)

**3.54** (98 mg; 0,33 mmol) a été solubilisé dans le THF (4 mL). LS-Selectride (0,43 mL dans une solution 1M dans le THF) a été additionné à -78°C sur une période de 15 minutes et agité pendant 6 heures. Le mélange a été neutralisé par l'ajout de NaHSO<sub>4</sub> (3 mL) et agité toute la nuit (16 heures). NaHCO<sub>3</sub> (3 mL) a été ajouté et le mélange évaporé *in vacuo*. Une solution saturée de NaCl (5 mL) a été ajoutée et extrait 3 fois avec du dichlorométhane (3x5 mL), 3 fois avec un mélange 3:1 de chloroforme et d'isopropanol (3x5 mL), la phase organique séchée avec Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 40% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.56** (84 mg; 85%) sous forme d'un solide blanc. Le produit a été cristallisé en solubilisant d'abord dans de l'acétate d'éthyle qui a été évaporé lentement pendant une fin de semaine (72h). t.f. : 111-113°C. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.48-4.21 (m, 2H), 4.15-4.03 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 2.21-2.12 (m, 3H), 1.89-1.76 (m, 3H), 1.62-1.57 (m, 2H), 1.45-1.40 (m, 10H). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 173.1, 153.4, 79.4, 65.1, 57.8, 53.6, 51.5, 34.7, 34.1, 32.0, 30.8, 29.0, 27.5, 20.2, 19.5.



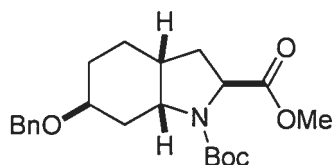
#### 4.2.23 (2*S*,3*aR*,6*R*,7*aR*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.57)

**3.54** (42 mg; 0,14 mmol) a été solubilisé dans le MeOH (2 mL) anhydre. La solution a été refroidie à  $-15^{\circ}\text{C}$  avec un bain de glace sursaturé de NaCl.  $\text{NaBH}_4$  (5,4 mg) a été ajouté et agité pendant 20 minutes. Le mélange a été neutralisé avec du  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 mL) et évaporé sous pression réduite pour enlever le MeOH.  $\text{H}_2\text{O}$  (3 mL) a été ajouté, la solution extraite 3 fois avec du dichlorométhane (3x3 mL), la phase organique séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporé *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.57** (41 mg ; 96%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.31 (dd, 1H,  $J=2.3$  Hz,  $J=7.5$  Hz), 4.14-4.04 (dm, 1H,  $J=8.1$  Hz), 3.73 (s, 3H), 3.57 (m, 1H), 2.49-2.42 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 2.05-1.71 (m, 5H), 1.48-1.40 (m, 11H).



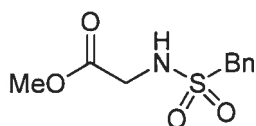
#### 4.2.24 (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.68)

Même procédure que pour **3.35** (60%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.33-4.24 (dd, 1H,  $J=9$  Hz,  $J=26$  Hz), 4.19-4.02 (dm, 1H,  $J=26$  Hz), 3.72 (s, 3H), 3.51 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.51-2.42 (m, 2H), 2.29-2.21 (m, 1H), 2.05- 1.96 (m, 1H), 1.83-1.79 (m, 1H), 1.75-1.62 (m, 1H), 1.52-1.40 (m, 12H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 173.4, 153.8, 79.4, 73.9, 58.3, 55.4, 53.5, 51.7, 34.5, 32.1, 31.0, 30.0, 29.2, 25.2, 24.3, 20.2. ESI/LRMS :  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_5$  calculée ( $\text{M}^+ \text{H}^+$ ) 314.2, trouvée 314.2.



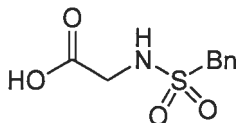
#### 4.2.25 (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-6-(Benzyloxy)-*N*-*tert*-butyloxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.70)

Même procédure que pour **3.37** (72%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 7.41-7.28 (m, 5H), 4.71 (s, 1H), 4.65-4.57 (m, 1H), 4.49-4.46 (m, 1H), 4.35-4.26 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.66-2.47 (m, 2H), 2.26-2.23 (m, 1H), 2.10-2.06 (m, 2H), 1.85-1.73 (m, 2H), 1.54-1.42 (m, 11H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 173.5, 153.8, 140.6, 138.6, 138.5, 128.2, 127.2, 126.9, 79.4, 69.2, 64.9, 58.3, 57.7, 53.8, 51.8, 34.5, 32.1, 31.0, 30.0, 25.1, 24.6, 20.3. ESI/LRMS :  $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_5$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 390.2, trouvée 390.3.



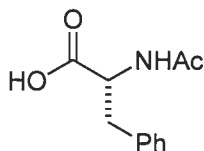
#### 4.2.26 2-(Phénylméthylsulfonamido)acétate de méthyle (3.73)

L'ester méthylique de la glycine (1,0 g; 8 mmol) a été solubilisé dans le dichlorométhane (20 mL) puis la pyridine (4,5 mL) a été ajoutée à la température ambiante. Le mélange a été agité vigoureusement pendant 15 minutes pour assurer une bonne solubilisation. À 0°C le chlorure de benzylsulfonamide (1,7 g; 8,8 mmol) a été ajouté lentement sur une période de 15 minutes. Le mélange a été agité pendant 16h. La pyridine et le dichlorométhane ont été évaporés in vacuo. Le mélange a été extrait avec un lavage acide HCl. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'éluion de 30% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.73** (1,3 g; 67%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.48-7.39 (m, 5H), 4.91-4.89 (m, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 2H).



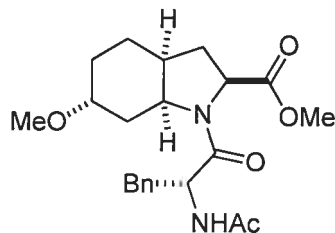
#### 4.2.27 Acide 2-(phénylméthylsulfonamido)acétique (3.74)

**3.73** (0,7 g; 2,9 mmol) a été solubilisé dans le THF (12 mL). LiOH (150 mg; 6,1 mmol) sous forme solide a été ajouté ainsi que H<sub>2</sub>O (1 mL). Le mélange a été agité pendant 2 heures à la température ambiante. Le mélange a été évaporé *in vacuo* puis extrait avec de l'acétate d'éthyle afin d'isoler le carboxylate dans la phase aqueuse. La phase aqueuse a été acidifiée avec HCl conc. (3 gouttes) puis extraite avec de l'acétate d'éthyle et évaporée sous pression réduite pour donner **3.74** (0,43 g; 65%) sous forme d'un solide blanc. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 7.50-7.47 (t, 3H, *J*=6.0 Hz), 7.42-7.36 (m, 5H), 4.38 (s, 2H), 2.51 (s, 1H).



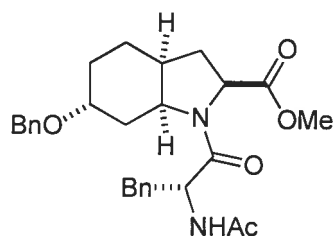
#### 4.2.28 Acide (*R*)-2-acétamido-3-phénylpropanoïque (3.76)

La D-phénylalanine (250 mg; 1,5 mmol) a été solubilisée dans NaOH 6N (1,5 mL) et H<sub>2</sub>O (5 mL). À 0°C a été ajouté l'anhydride acétique (0,37 mL; 3,9 mmol). Le mélange a été agité vigoureusement à la température ambiante pendant 2 heures. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N (1,5 mL) a été ajouté pour neutraliser la réaction puis évaporé *in vacuo*. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N (1,5 mL) a été ajouté une deuxième fois afin de protonner l'acide. Le résidu solide a été extrait 3 fois avec de l'acétate d'éthyle (3 x 7 mL). La phase organique a été séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée *in vacuo* pour donner **3.76** (235 mg; 72%) sous forme d'un solide blanc. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8.20-8.18 (d, 1H, *J*=8.1Hz), 7.31-7.20 (m, 5H), 4.44-4.38 (m, 1H), 3.07-3.02 (dd, 1H, *J*=4.8Hz, 13.8Hz), 2.87-2.81 (dd, 1H, *J*=4.8Hz, 13.8Hz), 1.79 (s, 3H).



**4.2.29 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-1-((*R*)-2-Acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-méthoxy octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.1)**

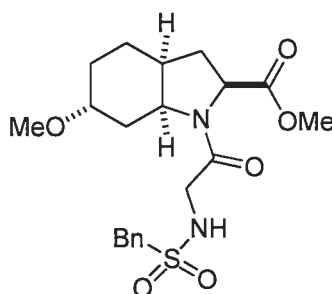
**3.35** (27 mg; 0,09 mmol) a été solubilisé dans le dichlorométhane (2 mL). L'acide trifluoroacétique (0,4 mL) a été ajouté à la température ambiante et agité pendant 30 min. Le mélange a été évaporé *in vacuo* et codistillé avec du toluène. Le résidu a été solubilisé dans le DMF (3 mL) et **3.76** (37 mg; 0,18 mmol) a été ajouté. À 0°C a été ajouté l'agent de couplage BOP (51 mg; 0,12 mmol) et la base *N*-méthylmorpholine (48 µL; 0,443 mmol). Le mélange a été agité pendant 24h. NH<sub>4</sub>Cl 2N (3 gouttes) a été ajouté et le mélange extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 5 mL). La phase organique a été séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 95% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **4.1** (32 mg; 90%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.32-7.21 (m, 5H), 6.40-6.38 (m, 1H), 4.45-4.40 (m, 1H), 3.75-3.73 (d, 3H, *J*=12Hz), 3.47-3.39 (m, 1H), 3.34-3.26 (m, 3H), 3.22-3.14 (m, 0.5H), 3.11-3.03 (m, 0.5H), 2.96-2.88 (m, 2H), 2.49-2.32 (m, 1H), 2.20-2.06 (m, 1H), 2.04-1.99 (m, 2H), 1.93-1.90 (m, 2H), 1.88-1.79 (m, 1H), 1.75-1.57 (m, 2H), 1.54-1.40 (m, 1H), 1.34-1.15 (m, 3H). ESI/LRMS : C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> calculée (M+ H<sup>+</sup>) 403.2, trouvé 403.2.





**4.2.30 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-1-((*R*)-2-Acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-(benzyloxy) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.2)**

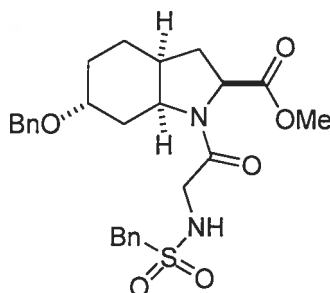
Même procédure que 4.1 (95%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.02 (s, 1H), 7.43-7.13 (m, 10H), 6.77-6.71 (m, 1H), 4.97-4.94 (m, 1H), 4.62-4.42 (m, 3H), 4.19-4.09 (m, 1H), 3.76 (m, 3H), 2.47-2.38 (m, 1H), 2.15-1.93 (m, 6H), 1.87-1.63 (m, 3H), 1.52-1.49 (m, 1H), 1.39-1.36 (m, 3H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.4, 169.5, 162.3, 138.4, 135.8, 129.2, 129.0, 128.0 (2C), 127.1 (2C), 126.9, 126.6, 126.5, 71.6, 69.3, 58.8, 54.7, 51.6, 51.5, 38.7, 36.9, 36.5, 31.1, 30.0, 22.9, 22.6, 19.2. ESI/LRMS :  $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 479.2, trouvée 479.4.



**4.2.31 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-6-Méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.3)**

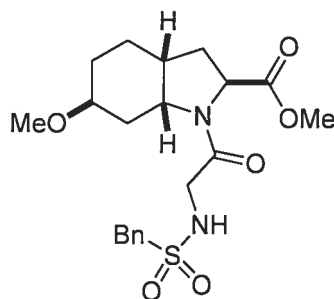
**3.35** (34 mg; 0,11 mmol) a été solubilisé dans le dichlorométhane (2 mL). L'acide trifluoroacétique (0,4 mL) a été ajouté à la température ambiante et agité pendant 30 mins. Le mélange a été évaporé *in vacuo* et codistillé avec du toluène. Le résidu a été solubilisé dans le DMF (3 mL) et **3.74** (52 mg; 0,22 mmol) a été ajouté. À 0°C a été ajouté l'agent de couplage BOP (65 mg; 0,1459 mmol) et la base N-méthylmorpholine (62  $\mu\text{L}$ ; 0,56 mmol). Le mélange a été agité pendant 24h.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2N (3 gouttes) a été ajouté et le mélange extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 5 mL) et une grande quantité d' $\text{H}_2\text{O}$ . La phase organique a été séchée avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographe éclair avec un système d'élution de 95% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **4.3** (48 mg; 100%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.46-7.36 (m, 5H), 5.44-5.39 (m, 1H), 4.41 (t, 3H,  $J=8\text{Hz}$ ), 4.31-4.29 (m, 2H), 3.79-3.73 (m, 4H), 3.64-3.60 (dd, 2H,  $J=4.5\text{Hz}$ , 16Hz), 3.27 (s, 3H), 2.21-

2.18 (m, 1H), 2.05-2.02 (m, 1H), 1.99-1.87 (m, 2H), 1.85-1.77 (m, 1H), 1.66-1.49 (m, 2H), 1.45-1.32 (m, 1H). ESI/LRMS :  $C_{20}H_{28}N_2O_6S$  calculée ( $M+H^+$ ) 425.2, trouvée 425.3.



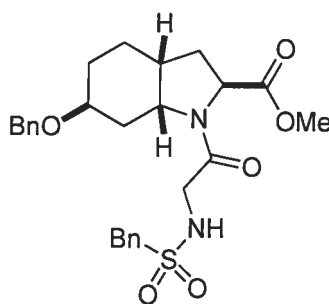
**4.2.32 (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-6-(Benzyloxy)-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.4)**

Même procédure que pour 4.3 donnant 4.4 (100%) sous forme d'une huile incolore.  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.46-7.28 (m, 10H), 5.30 (s, 1H), 4.72 (d, 1H,  $J=12$ Hz), 4.44-4.41 (m, 2H), 4.32-4.30 (m, 2H), 3.84-3.79 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.58-3.54 (m, 1H), 2.39-2.37 (m, 1H), 2.23-2.20 (m, 1H), 2.10-1.94 (m, 5H), 1.87-1.84 (m, 1H), 1.62-1.55 (m, 2H), 1.44-1.41 (m, 1H).  $^{13}C$  RMN (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  172.4, 165.5, 138.1, 130.5, 128.8 (2C), 128.4, 128.2, 128.1, 127.4, 127.2 (2C), 127.1, 71.8, 69.8, 59.5, 58.8, 53.7, 52.0, 44.3, 36.6, 30.8, 29.9, 22.4, 19.0, 13.9. ESI/LRMS :  $C_{26}H_{32}N_2O_6S$  calculée ( $M+H^+$ ) 501.2, trouvée 501.4.



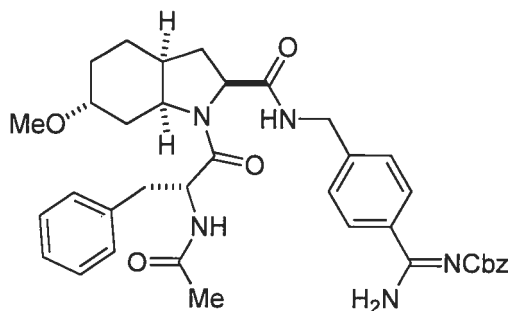
**4.2.33 (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-6-Méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.5)**

Même procédure que pour 4.3 donnant 4.5 (100%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.42-7.29 (m, 5H), 5.52 (s, 1H), 4.44 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ), 4.30-4.29 (m, 2H), 3.82-3.78 (m, 1H), 3.73-3.63 (m, 5H), 3.49 (s, 1H), 3.25 (s, 3H), 2.63-2.56 (m, 1H), 2.30-2.19 (m, 2H), 2.03-1.91 (m, 4H), 1.79-1.77 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.8, 162.3, 130.5, 130.0, 129.0, 128.7, 128.3, 128.2, 73.6, 60.0, 59.1, 58.0, 55.4, 52.0, 53.3, 44.4, 36.1, 31.0, 21.9, 20.7. ESI/LRMS :  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 425.2, trouvée 425.3.



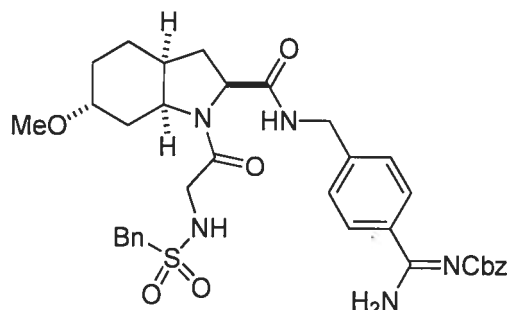
**4.2.34 (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-6-(Benzyloxy)-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl) octahydroindole-2-carboxylate de méthyle (4.6)**

Même procédure que pour 4.3 donnant 4.6 (100%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.44-7.36 (m, 10H), 5.34 (s, 1H), 4.54-4.43 (m, 3H), 4.30 (s, 2H), 4.12 (m, 0.5H), 3.95 (m, 0.5H), 3.73-3.71 (m, 5H), 3.64-3.60 (m, 1H), 2.63-2.61 (m, 1H), 2.30-2.27 (m, 2H), 2.13-2.01 (m, 4H), 1.83-1.81 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.8, 162.2, 138.1, 130.5, 128.8 (2C), 128.3, 128.2, 128.1 (2C), 127.3 (2C), 127.2, 127.0, 71.6, 69.8, 59.3, 58.0, 53.3, 44.4, 36.2, 34.9, 31.7, 29.5, 22.5, 18.9. ESI/LRMS :  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 501.2, trouvée 501.2.



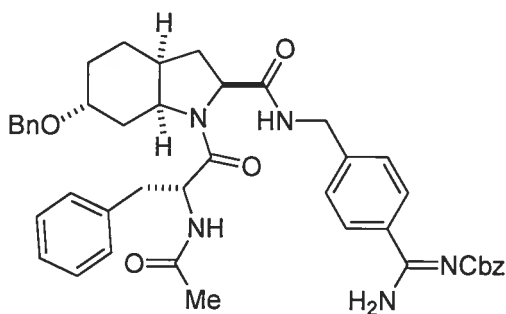
**4.2.35 Benzyl-(4-(((2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-1-((*R*)-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)(amino)méthylèncarbamate (4.7)**

**4.1** (19 mg; 0,05 mmol) a été solubilisé dans le THF (2 mL) et dans H<sub>2</sub>O (2 gouttes). LiOH (8 mg; 0,19 mmol) a été ajouté à la température ambiante et agité pendant 16h. Le mélange a été évaporé *in vacuo* pour enlever le THF puis acidifié jusqu'à pH 2 avec HCl 2N pour régénérer l'acide. Le mélange a été extrait 3 fois avec de l'acétate d'éthyle (3 x 4 mL), séché avec Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporé sous pression réduite. L'acide a été codistillé dans le toluène sous pression réduite avant d'être solubilisé dans le DMF (2 mL). L'amine 4-(aminométhyl)-*N*-carbobenzyloxybenzamidine (28 mg; 0,097 mmol) a été ajouté. L'agent de couplage BOP (28 mg; 0,064 mmol) et la base *N*-méthylmorpholine (0,03 mL) ont été ajoutés à 0°C puis le mélange agité pendant 3h. Le mélange a été neutralisé avec NH<sub>4</sub>Cl 2N (0,8 mL), extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 5 mL) et séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'élution de 80% , 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane suivi de 3% et 5% de méthanol dans l'acétate d'éthyle pour donner **4.7** (13 mg; 41%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.84 (d, 1H, *J*=8.3Hz), 7.45 (d, 1H, *J*=7Hz), 7.37-7.07 (m, 14H), 6.37 (m, 1H), 5.21 (s, 2H), 4.53-4.49 (m, 2H), 4.42-4.38 (m, 2H), 3.40 (s, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.11-3.07 (m, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.43-2.33 (m, 2H), 1.98-1.91 (m, 6H), 1.70-1.67 (m, 2H), 1.47-1.34 (m, 4H). ESI/LRMS : C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> calculée (M + H<sup>+</sup>) 654.3, trouvée 654.4.



**4.2.36 Benzylamino(4-(((2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)méthylènecarbamate (4.8)**

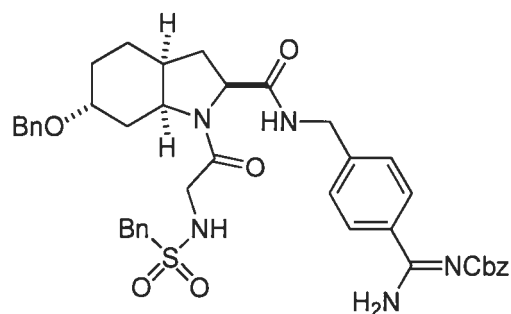
Même procédure que pour 4.7 donnant 4.8 (40%) sous forme d'une huile incolore. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'éluion de 80%, 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.46-7.28 (m, 15H), 5.22-5.21 (m, 2H), 4.17-4.07 (m, 4H), 3.58-3.47 (m, 3H), 3.35-3.30 (m, 2H), 3.23 (s, 1H), 2.32-1.95 (m, 3H), 1.82-1.69 (m, 3H), 1.65-1.55 (m, 2H), 1.48-1.35 (m, 2H). ESI/LRMS :  $\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 676.3, trouvée 676.4.



**4.2.37 Benzyl-(4-(((2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-1-((*R*)-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-(benzyloxy)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)(amino)méthylènecarbamate (4.9)**

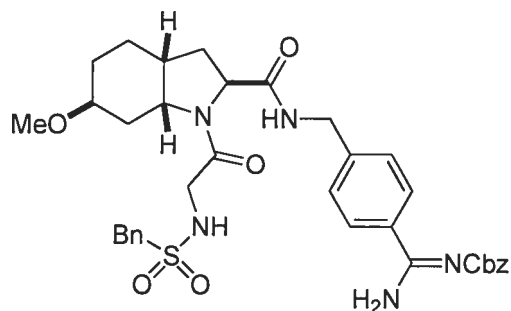
Même procédure que pour 4.7 donnant 4.9 (45%) sous forme d'une huile incolore. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'éluion de 80%, 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.88-7.85 (m, 2H), 7.51-7.25 (m, 19H), 5.21 (s, 2H), 4.73-4.65 (m, 2H), 4.52-4.43 (m, 4H),

3.65 (s, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.47-2.38 (m, 1H), 2.18-2.03 (m, 4H), 1.96-1.90 (m, 2H), 1.84-1.77 (m, 1H), 1.70-1.45 (m, 4H), 1.42-1.29 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  172.3, 171.3, 171.0, 168.9, 163.4, 142.9, 138.5, 136.7, 136.4, 132.7, 128.7 (2C), 128.6, 128.1 (2C), 127.9 (2C), 127.7 (2C), 127.6 (2C), 127.5 (2C), 127.3, 127.2 (2C), 126.9, 126.7, 126.1, 72.3, 69.1, 66.2, 60.4, 59.8, 55.0, 52.4, 41.9, 37.2, 36.2, 30.5, 30.2, 22.6, 20.3. ESI/LRMS :  $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_6$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 730.4, trouvée 730.6.



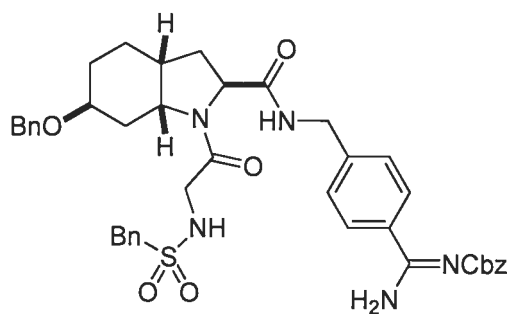
**4.2.38 Benzylamino(4-(((2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-6-(benzyloxy)-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyloctahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)méthylène-carbamate (4.10)**

Même procédure que pour 4.7 donnant 4.10 (45%) sous forme d'une huile incolore. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'élution de 80%, 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.64-7.22 (m, 20H), 5.22-5.21 (m, 2H), 4.48-4.29 (m, 4H), 4.20-4.07 (m, 3H), 3.71 (s, 1H), 3.64-3.58 (m, 1H), 3.51-3.42 (m, 1H), 3.3-3.1 (m, 1H), 2.32-2.25 (m, 1H), 2.21-1.97 (m, 3H), 1.83-1.69 (m, 3H), 1.65-1.37 (m, 3H), 1.33-1.29 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.3, 166.9, 166.8, 165.5, 142.6, 138.3, 136.4, 130.5, 130.4, 128.6 (2C), 128.3 (2C), 128.2 (2C), 128.1 (2C), 127.9 (2C), 127.6 (2C), 127.3 (2C), 127.2 (2C), 127.1 (2C), 126.7, 72.1, 69.8, 66.8, 60.9, 59.1, 53.9, 44.4, 42.9, 36.5, 30.8, 29.7, 22.2, 19.1. ESI/LRMS :  $\text{C}_{41}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 752.3, trouvée 752.4.



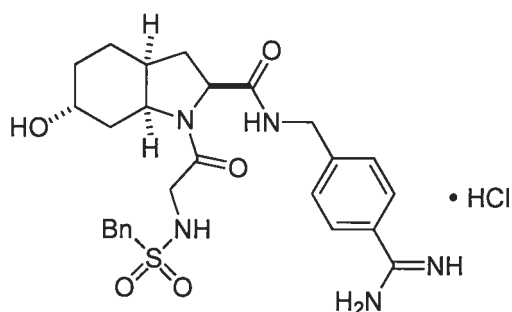
**4.2.39 Benzylamino(4-(((2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)méthylèncarbamate (4.11)**

Même procédure que pour **4.7** donnant **4.11** (43%) sous forme d'une huile incolore. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'éluion de 80%, 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.84-7.75 (m, 1H), 7.43-7.27 (m, 14H), 5.18 (s, 2H), 4.46-4.37 (m, 5H), 4.20-3.45 (m, 2H), 3.35-3.30 (m, 4H), 2.67-2.38 (m, 2H), 2.29-1.27 (m, 10H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.9, 169.6, 164.2, 162.8, 143.1, 137.2, 133.7, 133.4, 131.2, 130.3, 128.6, 128.5, 128.3, 128.1 (2C), 128.0, 127.7, 127.4, 74.9, 67.7, 67.0, 60.2, 59.2, 55.2, 54.4, 45.2, 44.8, 42.3, 41.2, 36.0, 35.9, 31.2, 30.8, 22.1, 19.2. ESI/LRMS :  $\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 676.3, trouvée 676.5.



**4.2.40 Benzylamino(4-(((2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-6-(benzyloxy)-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamido)méthyl)phényl)méthylèncarbamate (4.12)**

Même procédure que pour 4.7 donnant 4.12 (42%) sous forme d'une huile incolore. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un gradient d'élution de 80%, 90% et 100% d'acétate d'éthyle dans l'hexane.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.00 (s, 1H), 7.44-7.06 (m, 19H), 5.19 (s, 2H), 4.55-4.09 (m, 7H), 3.86-3.82 (m, 1H), 3.68-3.64 (m, 1H), 3.55-3.22 (m, 2H), 2.69-2.64 (m, 1H), 2.41-2.25 (m, 2H), 2.22-1.94 (m, 2H), 1.87-1.73 (m, 2H), 1.58-1.27 (m, 2H), 1.14-1.08 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.4, 167.8, 166.8, 162.3, 142.7, 138.3, 138.2, 136.2, 130.4, 128.4, 128.3, 128.1, 128.0 (2C), 127.9 (2C), 127.7 (2C), 127.6, 127.3, 127.2, 127.0, 71.7, 70.0 (2C), 66.9, 59.7, 59.3, 53.7, 45.0 (2C), 43.1, 36.2 (2C), 35.2, 32.4, 31.1 (2C), 30.1, 22.5 (2C), 18.9. ESI/LRMS :  $\text{C}_{41}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 752.3, trouvée 752.6.

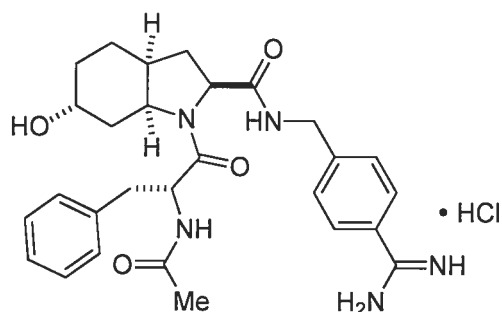


**4.2.41 Hydrochlorate de (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-6-hydroxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide (3.86)**

Même procédure que pour 3.90 donnant 3.86 (100%) sous forme d'un solide blanc. Le mélange a été agité vigoureusement sous atmosphère d'hydrogène pendant 48h.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.81-7.31 (m, 11H), 4.66-4.32 (m, 5H), 4.18-3.59 (m, 3H), 2.53-1.97 (m, 3H), 1.87-1.74 (m, 2H), 1.68-1.46 (m, 2H), 1.38-1.21 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  174.7, 169.2, 168.1, 147.1, 132.1 (2C), 131.2, 129.5 (2C), 129.4 (2C), 129.1, 128.9, 128.1, 127.9, 66.6, 62.2, 59.9, 55.6, 45.6, 43.6, 38.2, 34.2, 31.8, 26.9, 20.1.  $[\alpha]_D = +0,97^\circ$  (c 1,23;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :  $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>)

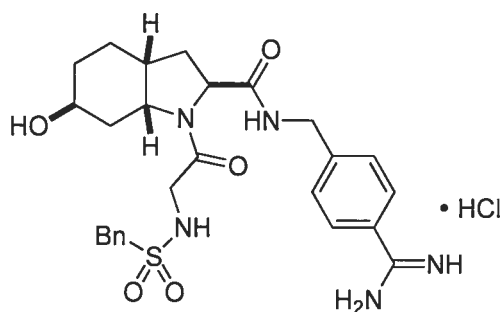


528.2, trouvée 528.3. **HRMS** :  $C_{26}H_{33}N_5O_5S$  calculée ( $M + H^+$ ) 528.22888, trouvée 528.22752.



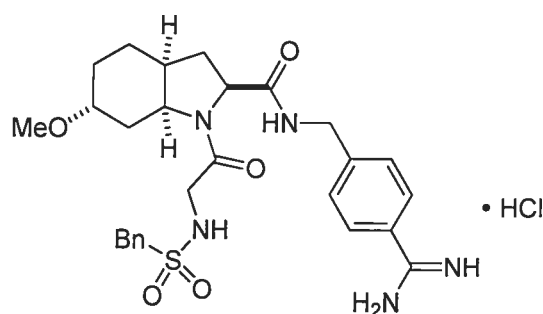
**4.2.42 Hydrochlorate de (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-1-((*R*)-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-hydroxyoctahydroindole-2-carboxamide (3.87)**

Même procédure que pour **3.90** donnant **3.87** (100%) sous forme d'un solide blanc. Le mélange a été agité vigoureusement sous atmosphère d'hydrogène pendant 48h.  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  9.28 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.82 (dd, 2H,  $J=16.0, 8.2$  Hz), 7.78 (dd, 2H,  $J=16.0, 8.2$  Hz), 7.36-7.20 (m, 5H), 4.81-4.41 (m, 5H), 3.18-3.09 (m, 1H), 3.05-2.97 (m, 1H), 2.95-2.86 (m, 1H), 2.47-2.38 (m, 1H), 2.22-2.09 (m, 3H), 2.07-1.77 (m, 4H), 1.72-1.24 (m, 5H).  $^{13}C$  RMN (100 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  172.6, 171.3, 170.9, 166.4, 145.4, 136.3, 128.9, 128.8, 128.6, 128.1, 127.8, 127.4, 127.3, 126.6, 126.3, 126.1, 64.9, 60.4, 54.7, 52.3, 41.8, 37.2, 36.4, 33.2, 30.2, 25.0, 20.2, 18.3.  $[\alpha]_D = -5,98^\circ$  (c 0,92;  $CH_3OH$ ). ESI/LRMS :  $C_{35}H_{41}N_5O_4$  calculée ( $M + H^+$ ) 506.3, trouvée 506.3. HRMS :  $C_{28}H_{35}N_5O_4$  calculée ( $M + H^+$ ) 506.27684, trouvée 506.27618.



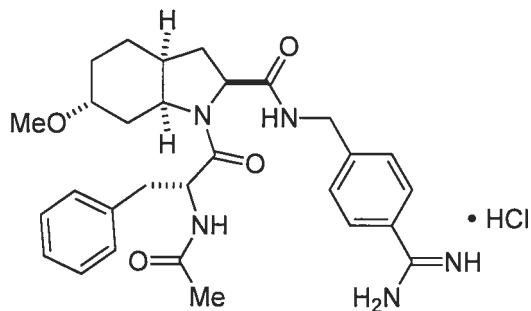
**4.2.43 Hydrochlorate de (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-6-hydroxy-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide (3.88)**

Même procédure que pour **3.90** donnant **3.88** (100%) sous forme d'un solide blanc.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9.18 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.81-7.27 (m, 9H), 4.64-4.30 (m, 5H), 4.19-3.62 (m, 3H), 2.57-2.31 (m, 3H), 2.28-1.92 (m, 3H), 1.89-1.26 (m, 7H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  175.1, 169.4, 168.1, 147.1, 132.1, 131.2, 131.1, 129.5 (2), 129.4 (2), 129.0, 128.3, 127.8, 66.6, 61.2, 59.9, 55.3, 45.7, 38.2, 37.1, 35.4, 34.5, 31.7, 26.8, 20.0.  $[\alpha]_{\text{D}} = -0.82^\circ$  (c 1.58;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :  $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 528.2, trouvée 528.3. HRMS :  $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 528.22818, trouvée 528.22752.



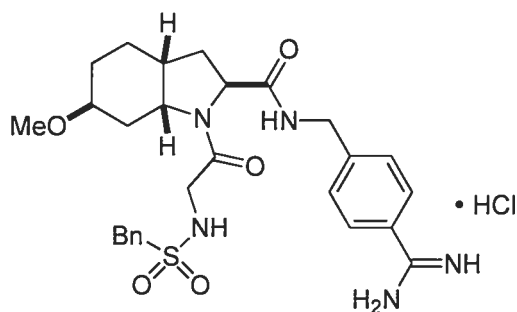
**4.2.44 Hydrochlorate de (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-6-méthoxy-1-(2-(phénylméthylsulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide (3.89)**

Même procédure que pour **3.90** donnant **3.89** (100%) sous forme d'un solide blanc. Le mélange a été agité vigoureusement sous atmosphère d'hydrogène pendant 48h.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.86-7.36 (m, 9H), 4.67-4.33 (m, 5H), 4.14-3.72 (m, 2H), 3.68-3.51 (m, 1H), 3.43-3.25 (s, 3H), 2.55-1.97 (m, 3H), 1.90-1.55 (m, 5H), 1.50-1.19 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  172.9, 171.4, 167.3, 166.3, 145.3, 130.4, 129.5, 127.8, 127.7, 127.4, 127.3, 127.2, 126.1, 74.3, 60.4, 58.4, 54.4, 54.0, 43.9, 41.8, 38.5, 37.3, 30.2, 26.7, 22.1, 21.5, 18.5.  $[\alpha]_{\text{D}} = -0.63^\circ$  (c 0.96;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 542.2, trouvée 542.3. HRMS :  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 542.24383, trouvée 542.24317.



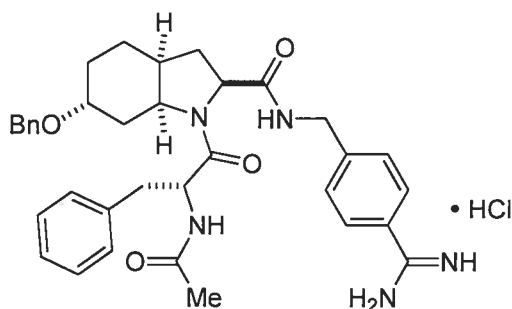
**4.2.45 Hydrochlorate de (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-1-((*R*)-2-acétamido-3-phénylpropanoyl)-6-méthoxyoctahydroindole-2-carboxamide) (3.90)**

4.7 (10 mg; 0,015 mmol) a été solubilisé dans le méthanol (2 mL). Une goutte de HCl concentré a été ajouté suivi du catalyseur de palladium 10% en poids sur charbon activé (20% mol/mol). Le mélange a été agité vigoureusement sous atmosphère d'hydrogène pendant 24h. Le mélange a été filtré sur celite en lavant avec du méthanol (10 mL) puis concentré sous pression réduite pour donner **3.90** (8,5 mg; 100%) sous forme d'un solide blanc.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9.30 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.81 (dd, 2H,  $J=65.9$ , 7.8 Hz), 7.65 (dd, 2H,  $J=65.9$ , 7.7 Hz), 7.36-7.22 (m, 5H), 4.76-4.40 (m, 5H), 3.38-3.24 (m, 3H), 3.19-3.09 (m, 1H), 3.03-2.95 (m, 1H), 2.93-2.82 (m, 1H), 2.47-2.30 (m, 1H), 2.19-1.88 (m, 3H), 1.80-1.21 (m, 8H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  176.7, 175.1, 170.6, 163.4, 149.6, 140.8, 132.9, 132.8 (2C), 132.2, 132.0 (2C), 131.6, 131.4, 130.5, 130.3, 78.4, 64.6, 58.9, 58.5, 41.4, 40.4, 34.6, 34.3, 33.1, 32.8, 26.3, 24.5, 22.8.  $[\alpha]_{\text{D}} = -3,17^\circ$  (c 0,82;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 520.3, trouvée 520.3. HRMS :  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 520.29249, trouvée 520.29183.



**4.2.47 Hydrochlorate de (2*S*,3*aR*,6*S*,7*aR*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-6-methoxy-1-(2-(phénylméthyl sulfonamido)acétyl)octahydroindole-2-carboxamide (3.91)**

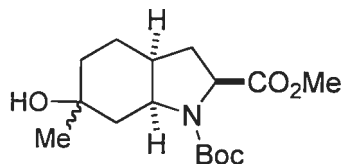
Même procédure que pour **3.90** donnant **3.91** (100%) sous forme d'un solide blanc. Le mélange a été agité vigoureusement sous atmosphère d'hydrogène pendant 48h.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9.36 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.96-7.31 (m, 9H), 4.58-4.20 (m, 5H), 4.11-3.49 (m, 3H), 3.38-3.19 (m, 3H), 2.71-2.33 (m, 3H), 2.27-1.99 (m, 3H), 1.80-1.69 (m, 2H), 1.63-1.21 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  175.1, 169.4, 168.1, 167.8, 147.1, 140.7, 132.2, 131.2, 131.0, 130.1, 129.8, 129.6, 129.5, 129.3, 129.1, 127.8, 75.9, 61.2, 60.2, 60.1, 56.2, 45.9, 43.5, 36.9, 32.2, 31.8, 23.1.  $[\alpha]_{\text{D}} = +4.51^\circ$  (c 2,55;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 542.2, trouvée 542.4. HRMS :  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 542.24383, trouvée 542.24317.



**4.2.48 Hydrochlorate de (2*S*,3*aS*,6*R*,7*aS*)-*N*-(4-carbamimidoylbenzyl)-1-((*R*)-2-acetamido-3-phénylpropanoyl)-6-(benzyloxy)octahydroindole-2-carboxamide (3.92)**

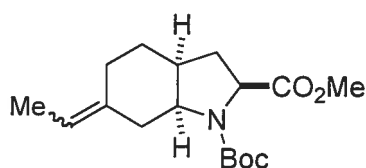
Même procédure que pour **3.90** donnant **3.92** (100%) sous forme d'un solide blanc. Le mélange a été agité pendant 16h au maximum ou jusqu'à disparition du produit de départ par chromatographie sur couche mince.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.78 (dd, 2H,  $J=44.5, 8.2$  Hz), 7.56 (dd, 2H,  $J=44.5, 8.2$  Hz), 7.37-7.22 (m, 10H), 4.74-4.62 (m, 2H), 4.57-4.38 (m, 5H), 3.19-3.09 (m, 1H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.47-2.38 (m, 1H), 2.20-2.01 (m, 3H), 1.97-1.26 (m, 10H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  172.4, 171.3, 170.9, 166.1, 143.2, 138.5, 136.7, 130.3, 128.8, 128.7, 128.6, 128.0, 127.9, 127.6, 127.5, 127.4, 127.0, 126.8 (2C), 126.7, 126.5, 126.2, 72.3, 69.2, 60.4, 55.0, 52.5, 37.6, 36.3, 34.4, 30.5, 30.2, 22.6, 20.3, 18.9.  $[\alpha]_{\text{D}} = -21,85^\circ$  (c 1,3;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). ESI/LRMS :

$C_{35}H_{41}N_5O_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 596.3, trouvée 596.5. HRMS :  $C_{35}H_{41}N_5O_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 596.32379, trouvée 596.32313.



#### 4.2.48 (2*S*,3*aS*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-hydroxy-6-méthyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.94)

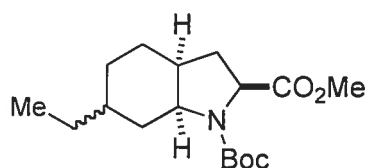
**3.27** (89 mg; 0,30 mmol) a été solubilisé dans le THF (5 mL). MeMgBr (0,11 mL d'une solution de 1M dans le THF) a été additionnée à -78°C et agité pendant 4 heures. Le mélange a été neutralisé avec NH<sub>4</sub>Cl 2N (2 mL), évaporé *in vacuo* puis extrait avec du dichlorométhane et de l'eau. La phase organique a été séchée avec Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, évaporée sous pression réduite et le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.94** (80 mg; 85%) sous forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 4.31-4.18 (m, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.47-1.85 (m, 7H), 1.81-1.69 (m, 1H), 1.62-1.33 (m, 3H), 1.30-1.17 (m, 9H). ESI/LRMS : C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub> calculée (M + H<sup>+</sup>) 314.2, trouvée 314.1.



#### 4.2.49 (2*S*,3*aS*,7*aS*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-6-éthylidèneoctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.96)

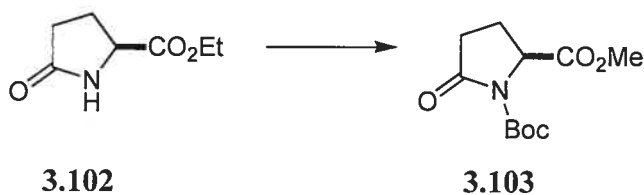
Bromure d'éthyltriphenylphosphonium (435 mg) a été solubilisé dans le THF (5 mL) auquel a été ajouté le *n*-butyllithium (0,375 mL d'une solution de 2.5M dans le THF) à -78°C. Le mélange a été agité en permettant d'atteindre la température ambiante puis agité 15 minutes supplémentaires. **3.27** (70 mg; 0,23 mmol) a été ajouté à -78°C et agité

pendant 3 heures. Le mélange réactionnel a ensuite été neutralisé par ajout de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2N (5 mL), évaporé *in vacuo* et extrait avec du dichlorométhane et de l'eau. La phase organique a été séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , évaporé sous pression réduite et le produit brut purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 10% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.96** (60,2 mg; 94%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 5.28 (s, 1H), 4.29-4.22 (m, 1H), 3.87-3.83 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.37-2.31 (m, 1H), 2.24-1.90 (m, 5H), 1.82-1.59 (m, 6H), 1.51-1.33 (m, 9H). ESI/LRMS :  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 310.2, trouvée 310.1.



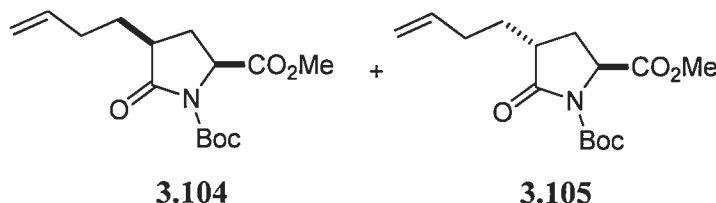
#### 4.2.50 (2S,3aS,7aS)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6-éthyl-2-méthyle-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydroindole-3-carboxylate de méthyle (**3.97**)

**3.96** (30 mg; 0,1 mmol) a été solubilisé dans l'acétate d'éthyle (2 mL). Pd/C (environ 5 mg) a été ajouté puis la solution agitée sous atmosphère d'hydrogène à la pression atmosphérique pendant toute la nuit (16 heures). La solution a été filtrée sur un verre poreux, le filtrat évaporé *in vacuo* et purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 10% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.97** (30 mg; quant.) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.27-4.10 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.36-1.90 (m, 4H), 1.79-1.58 (m, 3H), 1.54-1.37 (m, 10H), 1.35-1.19 (m, 2H), 1.15-0.98 (m, 1H), 0.95-0.78 (m, 4H). ESI/LRMS :  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_4$  calculée (M + H<sup>+</sup>) 312.2, trouvée 312.1.



**4.2.51 (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.103)**

(S)-(+)-2-pyrrolidone-5-carboxylate d'éthyle (5,4 g; 34 mmol) a été solubilisé dans du méthanol (90 mL) anhydre. Le méthanolate de sodium a été ajouté jusqu'à l'obtention d'une solution d'environ pH 9. Le mélange a été agité pendant 24h. La solution a été neutralisée avec de la résine Amberline IR-120 (plus) très acide préalablement lavée avec de l'eau et du méthanol. Le mélange a été filtré sur du verre poreux, évaporé sous pression réduite et extrait avec du dichlorométhane (3 x 30 mL). Le résidu a été solubilisé dans du dichlorométhane (125 mL).  $\text{Boc}_2\text{O}$  (11,2 g),  $\text{Et}_3\text{N}$  (14,5 mL) et DMAP (10% mol) ont été ajoutés successivement. La solution a été agitée pendant 3 jours, neutralisée avec  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2N (8 mL) et extraite avec du dichlorométhane (3 x 30 mL). Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.103** (7,6 g; 91%) sous forme d'une huile légèrement jaune.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.30-4.28 (m, 1H), 3.42 (s, 3H), 2.29-1.97 (m, 3H), 1.74-1.60 (m, 1H), 1.18-1.01 (m, 9H).

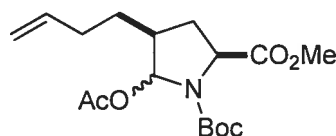


**4.2.52 (2S,4S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-4-(but-3-ènyl)-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.104)**

**4.2.53 (2S,4R)-N-tert-Butyloxycarbonyl-4-(but-3-ènyl)-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.105)**

**3.103** (1,5 g; 6,1 mmol) a été solubilisé dans le THF (20 mL) puis LHMDS (1M dans le THF; 6,47 mL) a été ajouté à  $-78^\circ\text{C}$ . Le mélange a été agité pendant 20 minutes pour s'assurer de la formation de l'énolate. Pendant ce temps, le but-3-ènyltrifluorométhanesulfonate (2,0 g; 9,8 mmol) a été solubilisé dans le THF et porté à  $-78^\circ\text{C}$ . Ce dernier a été transféré via une canule dans le ballon réactionnel contenant l'énolate. Le mélange réactionnel a été agité pendant 5 heures. La réaction a été neutralisée par ajout de

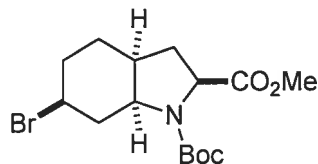
NH<sub>4</sub>Cl 2N (3 mL) puis concentré *in vacuo*. Le résidu a été extrait avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et de l'eau et la phase organique séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'éluion de 10% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.104** (339 mg; 24%) et **3.105** (1,07 g; 76%) avec un rendement de 77%. **3.104** : <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 5.68-5.57 (m, 1H), 4.91-4.80 (m, 2H), 4.35-4.29 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.47-2.38 (m, 2H), 2.11-1.83 (m, 3H), 1.55-1.47 (m, 1H), 1.35-1.31 (m, 10H). **3.105** : <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de rotamères) 5.65-5.50 (m, 1H), 4.86-4.74 (m, 2H), 4.08-3.93 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 2.31-2.12 (m, 2H), 1.98-1.81 (m, 3H), 1.77-1.67 (m, 1H), 1.27-1.18 (m, 10H).



#### 4.2.54 (2S,5RS)-5-Acétoxy-1-N-tert-butylloxycarbonylpyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.107)

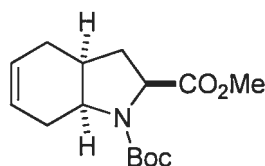
**3.104** (254 mg; 1,05 mmol) a été solubilisé dans le THF (4 mL) à -78°C. LiHBEt<sub>3</sub> (1,254 mL de 1M dans le THF) a été ajouté et agité pendant 1h. Ensuite le mélange a été neutralisé avec une solution de NaHCO<sub>3</sub> saturée ainsi qu'une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% v/v dans l'eau) puis concentré *in vacuo*. La phase aqueuse a été extraite avec du dichlorométhane (3 x 5 mL), séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu a été solubilisé dans du dichlorométhane (4 mL). La triéthylamine (0,44 mL), l'anhydride acétique (0,29 mL) et le catalyseur DMAP (10% mol) ont été ajoutés. La solution a été agitée à la température ambiante pendant toute la nuit. La solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub> et extraite avec du dichlorométhane (3x15 mL). La phase organique a été séchée avec du sulfate de sodium puis purifiée par chromatographie éclair avec un système d'éluion de 20% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.107** (233 mg, 80 %) sous la forme d'une huile incolore.





**4.2.55 (2S,3aS,6S,7aS)-6-Bromo-1-N-tert-butylloxycarbonyloctahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.108)**

**3.107** (171 mg; 0,50 mmol) a été solubilisé dans le dichlorométhane (5 mL).  $\text{SnBr}_4$  a été ajouté (0,65 mL d'une solution de 1M dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) à  $-78^\circ\text{C}$  puis le mélange réactionnel agité pendant 10 mins. La réaction a été neutralisée avec du  $\text{NaHCO}_3$  (1 mL) et laissé graduellement atteindre la température ambiante avant d'être filtré sur celite. Le résidu a été extrait avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et de l'eau, la phase organique séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis concentrée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 25% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.108** (140 mg; 77%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.29-4.11 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.16-2.10 (m, 1H), 2.05-1.94 (m, 4H), 1.83-1.73 (m, 3H), 1.44-1.37 (m, 10H).



**4.2.56 (2S,3aS,7aS)-N-tert-Butylloxycarbonyl-2,3,3a,4,7,7a-hexahydroindole-2-carboxylate de méthyle (3.109)**

DBU (0,6 mL) a été ajouté directement à **3.108** (85 mg; 0,25 mmol) sans solvant et la réaction a été agitée pendant 3 heures à  $70^\circ\text{C}$ . Le mélange a été neutralisée par ajout de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2 mL), extrait avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et de l'eau, la phase organique séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis concentré *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'éluant de 10% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.109** (49 mg; 70%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de

rotamères) 5.65-5.60 (m, 2H), 4.29-4.21 (m, 1H), 4.02-3.93 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.75-2.55 (m, 1H), 2.47-2.1 (m, 4H), 1.86-1.81 (m, 1H), 1.48 (s, 1H), 1.48-1.30 (m, 9H).



#### 4.2.57 (*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.115)

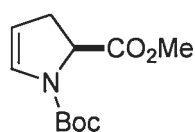
L'acide pyroglutamique (4,1 g; 32 mmol) a été solubilisé dans le méthanol anhydre, SOCl<sub>2</sub> (3,5 mL) a été additionné lentement sur une période de 30 minutes à 0°C puis la réaction a été agitée pendant 2 heures. Le mélange a été évaporé *in vacuo*, du méthanol (20 mL) a été ajouté puis évaporé *in vacuo* et ainsi de suite 3 fois. Le toluène (20 mL) a été ajouté puis évaporé *in vacuo*. Le résidu a été solubilisé dans le dichlorométhane (20 mL), neutralisé par ajout de NaHCO<sub>3</sub> solide et la solution a été agitée pendant 2 heures. Le mélange a été filtré sur un verre poreux et le filtrat évaporé *in vacuo*. Le filtrat a été ensuite solubilisé dans le dichlorométhane (20 mL) puis Boc<sub>2</sub>O (10,4 g), Et<sub>3</sub>N (13 mL) et DMAP (50 mg) ont été additionnés. La réaction a été agitée pendant toute la nuit. NH<sub>4</sub>Cl 2N (3 mL) a été ajouté pour neutraliser le mélange avant d'être extrait avec du dichlorométhane et de l'eau. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 35% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.115** (7,7 g; 70%) sous forme d'une huile incolore ayant les mêmes données spectroscopiques que **3.103**.



#### 4.2.58 (*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-5-hydroxypyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.116)

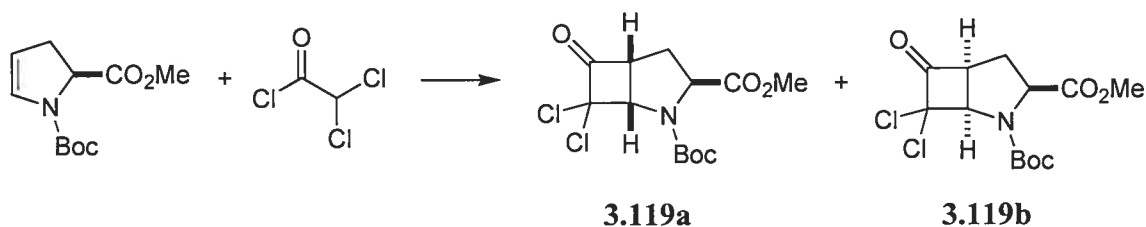
**3.103** (9,3 g; 38 mmol) a été solubilisé dans le THF (70 mL) à -78°C. LiHBEt<sub>3</sub> (46 mL de 1M dans le THF) a été ajouté et agité pendant 2h. Ensuite le mélange a été neutralisé

avec une solution de  $\text{NaHCO}_3$  saturée ainsi qu'environ 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% v/v dans l'eau) puis concentré *in vacuo*. La phase aqueuse a été extraite avec du dichlorométhane (3 x 25 mL), séchée avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 30% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner un mélange de diastéréoisomères **3.116** (10,4 g; 95%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 5.41-5.32 (m, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.09-4.05 (m, 1H), 3.48 (s, 3H), 2.31-2.18 (m, 1H), 2.04-1.57 (m, 3H), 1.26-1.02 (m, 9H).



#### 4.2.59 (*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2,3-dihydropyrrole-2-carboxylate de méthyle (3.117)

**3.116** (74 mg; 0,30 mmol) a été solubilisé dans du dichlorométhane (3 mL). TFAA (44  $\mu\text{L}$ ; 0,318 mmol) a été ajouté à  $-78^\circ\text{C}$  puis agité pendant 7 heures.  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,8 mL) a été ajouté à  $-78^\circ\text{C}$  puis la température a été laissée remonter graduellement jusqu'à la température de la pièce durant 16h d'agitation.  $\text{NaHCO}_3$  (1 mL) a été ajouté pour neutraliser la réaction, le mélange évaporé *in vacuo*, extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 5 mL) et séchée avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 15% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.122** (51 mg; 74%) sous forme d'une huile légèrement jaune.<sup>6</sup>  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 6.60 (d, 1H,  $J=13.0$  Hz), 4.95 (d, 1H,  $J=4.7$  Hz), 4.64 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3.08 (m, 1H), 2.70 (m, 1H), 1.47 (m, 9H). ESI/LRMS :  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_4$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 228.1, trouvée 228.1.



**4.2.60 (1S,3S,5R)-N-tert-Butyloxycarbonyl-7,7-dichloro-6-oxo-2-azabicyclo[3.2.0]heptane-3-carboxylate de méthyle (3.119a)**

**4.2.61 (1R,3S,5S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-7,7-dichloro-6-oxo-2-azabicyclo[3.2.0]heptane-3-carboxylate de méthyle (3.119b)**

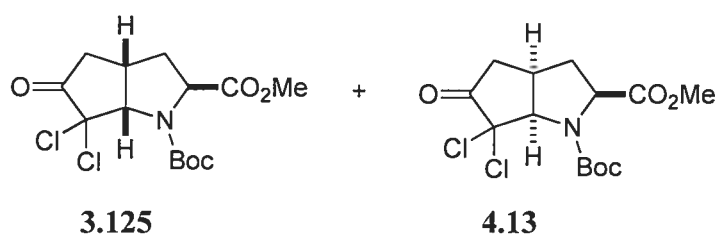
**3.117** (119 mg; 0,52 mmol) a été solubilisé dans l'hexane (3 mL), refroidi à 0°C et Et<sub>3</sub>N (109 µL; 0,78 mmol) a été ajouté. Le chlorure de 2,2-dichloroacétylène (55 µL; 0,58 mmol) a été solubilisé dans l'hexane (2 mL), ajouté au mélange réactionnel sur une période de 30 minutes et le tout agité pendant 2 heures à la température ambiante. Le mélange a été évaporé *in vitro* et le résidu extrait avec de l'acétate d'éthyle et de l'eau, la phase organique séchée avec Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 20% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.119a** (61 mg; 34%) et **3.119b** (23 mg; 14%) dans un rendement global de 48% sous forme d'une huile jaune. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 5.01 (d, 0,3H, *J*=7.8 Hz), 4.85 (d, 0,7H, *J*=7.8 Hz), 4.52 (t, 0,7H, *J*=6.4 Hz), 4.40 (t, 0,3H, *J*=6.3 Hz), ( 4.23-4.18 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.66-2.60 (m, 1H), 2.31-2.23 (m, 1H), 1.52-1.48 (m, 9H). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 194.8, 171.2, 153.1, 88.1, 81.9, 66.2, 60.9, 58.3, 57.1, 52.2, 31.2, 30.5, 27.7.



**4.2.62 (2S,5RS)-5-Acétoxy-1-N-tert-butylloxycarbonylpyrrolidine-2-carboxylate de méthyle (3.107)**

**3.103** (254 mg; 1,05 mmol) a été solubilisé dans le THF (4 mL) à -78°C. LiHBEt<sub>3</sub> (1,3 mL de 1M dans le THF) a été ajouté et agité pendant 1h. Ensuite le mélange a été neutralisé avec une solution de NaHCO<sub>3</sub> saturée ainsi qu'une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% v/v

dans l'eau) puis concentré *in vacuo*. La phase aqueuse a été extraite avec du dichlorométhane (3 x 5 mL), séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu a été solubilisé dans du dichlorométhane (4 mL). La triéthylamine (0,44 mL), l'anhydride acétique (0,29 mL) et le catalyseur DMAP (10% mol) ont été ajoutés. La solution a été agitée à la température ambiante pendant toute la nuit. La solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub> et extraite avec du dichlorométhane (3x15 mL). La phase organique a été séchée avec du sulfate de sodium puis purifiée par chromatographie éclair avec un système d'élution de 20% acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.121** (235 mg, 78 %) sous la forme d'une huile incolore. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 5.61-5.49 (m, 1H), 4.41-4.25 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.51-2.25 (m, 1H), 2.05-1.77 (m, 6H), 1.45-1.33 (m, 9H).



**4.2.63 (2S,3aS,6aS)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6,6-dichloro-5-oxohexahydrocyclopenta[b]pyrrole-2-carboxylate de méthyle (3.125)**

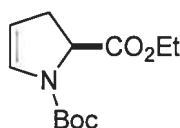
**4.2.64 (2S,3aR,6aR)-N-tert-Butyloxycarbonyl-6,6-dichloro-5-oxohexahydrocyclopenta[b]pyrrole-2-carboxylate de méthyle (4.13)**

Un mélange de **3.119a** et **3.119b** (257 mg; 0,73 mmol) a été solubilisé dans le méthanol. CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (5 mL) d'une solution de Diazald<sup>MC</sup> 1M dans l'éther a été ajouté. Le mélange a été agité pendant 15 minutes et neutralisé avec NH<sub>4</sub>Cl puis évaporé *in vacuo*. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 25% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner un mélange de diastéréoisomères **3.125** et **4.13** (151 mg, 59%) sous forme d'une huile légèrement jaune. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (mélange de diastéréoisomères et de rotamères) 4.99 (d, 0,3H, *J*=8.8 Hz), 4.90 (d, 0,7H, *J*=8.5 Hz), 4.56 (d, 0,7H, *J*=9.0 Hz), 4.49 (d, 0,3H, *J*=9.2 Hz) 3.78 (s, 3H), 3.24-3.13 (m, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.57-2.50 (m, 1H), 2.32-2.21 (m, 1H), 2.12-2.03 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 9H).



#### 4.2.65 (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylate d'éthyle (3.128)

Même procédure que pour **3.115** mais en remplaçant le méthanol par de l'éthanol pour donner **3.128** (74%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 4.35-4.32 (m, 1H), 3.51 (s, 3H), 2.33-2.05 (m, 3H), 1.84-1.61 (m, 1H), 1.37-1.28 (m, 9H), 1.19-1.09 (m, 3H).



#### 4.2.66 (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2,3-dihydropyrrole-2-carboxylate d'éthyle (3.130)

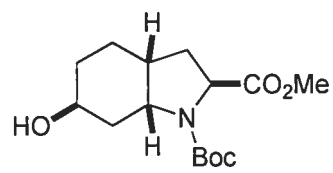
**3.118** (2,3 g; 9,5 mmol) a été solubilisé dans le THF (20 mL) à  $-78^\circ\text{C}$ .  $\text{LiHBEt}_3$  (10,4 mL de 1M dans le THF) a été ajouté et agité pendant 1 heure. DIPEA (9,4 mL), DMAP (environ 15 mg) et TFAA (1,6 mL) ont été ajoutés à  $-78^\circ\text{C}$  puis laissé graduellement atteindre la température ambiante. Le mélange réactionnel a été agité pendant 2 heures, évaporé *in vacuo*, puis extrait avec du dichlorométhane et de l'eau. La phase organique a été séchée avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis évaporée sous pression réduite. Le produit brut a été purifié par chromatographie éclair avec un système d'élution de 20% d'acétate d'éthyle dans l'hexane pour donner **3.130** (1,5 g; 68%) sous forme d'une huile incolore.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (mélange de rotamères) 6.54-6.42 (m, 1H), 4.86-4.81 (m, 1H), 4.48-4.44 (m, 1H), 4.15-4.04 (m, 2H), 3.00-2.90 (m, 1H), 2.61-2.50 (m, 1H), 1.40-1.32 (m, 9H), 1.23-1.16 (m, 3H). ESI/LRMS :  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_4$  calculée ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 242.1, trouvée 242.1.

### 4.3 Références

- <sup>1</sup> Siedel, W.; Sturm, K.; Geiger, R. « Synthesen eines vasopressorisch wirkenden Peptids: [O-Methyl-tyrosin]<sup>2</sup>-Lysin<sup>8</sup>-Vaspressin (OMTLV) », *Chem. Ber.*, **1963**, *96*, 1436.
- <sup>2</sup> Baker, B. R.; Joseph, J. P.; Williams, J. H. « Puromycin. Synthetic Studies. VII. Partial Synthesis of Amino Acid Analogs », *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 1.
- <sup>3</sup> Valls, N.; López-Canet, M.; Vallribera, M.; Bonjoch, J. « First Total Syntheses of Aeruginosin 298-A and Aeruginosin 298-B, Based on a Stereocontrolled Route to the New Amino Acid 6-Hydroxyoctahydroindole-2-carboxylic Acid », *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 3446.
- <sup>4</sup> Tremblay, M., « Synthèse d'azabicycles d'importance biologique », Thèse de doctorat de l'Université de Montréal, **2004**.
- <sup>5</sup> Hanessian, S.; Reinhold, U.; Saulnier, M.; Claridge, S. « Probing the importance of spatial and conformational domains in captopril analogs for angiotensin converting enzyme activity », *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 2123-2128.
- <sup>6</sup> Oliveira, D. F.; Miranda, P. C. M. L.; Correia, C. R. D. « Efficient and Expedious Protocols for the Synthesis of Racemic and Enantiomerically Pure Endocyclic Encarbamates from N-Acyl Lactams and N-Acyl Pyrrolidines. », *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 6646-6652.

## ANNEXE I

### RAPPORT CRISTALLOGRAPHIQUE DU COMPOSÉ 3.56





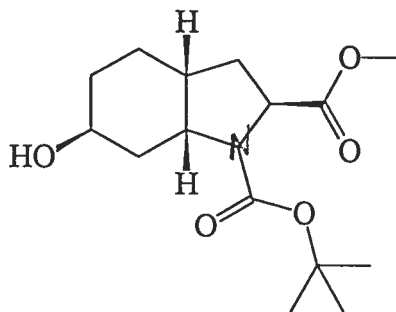
CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF  
C<sub>15</sub> H<sub>25</sub> N O<sub>5</sub> COMPOUND (HAN396)

Thursday, June 17, 2004

Equipe Hanessian

Département de chimie, Université de Montréal,

C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3J7 (Canada)



Structure solved and refined in the laboratory of X-ray diffraction  
Université de Montréal by Dr. Michel Simard.

Table 1. Crystal data and structure refinement for C<sub>15</sub> H<sub>25</sub> N O<sub>5</sub>.

Identification code	HAN396
Empirical formula	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> N O <sub>5</sub>
Formula weight	299.36
Temperature	100(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P212121
Unit cell dimensions	a = 5.6646(2) Å    α = 90° b = 15.8986(5) Å    β = 90° c = 17.3979(6) Å    γ = 90°
Volume	1566.84(9) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.269 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.781 mm <sup>-1</sup>
F(000)	648
Crystal size	0.34 x 0.08 x 0.04 mm
Theta range for data collection	3.77 to 67.86°
Index ranges	-5 ≤ h ≤ 6, -19 ≤ k ≤ 18, -20 ≤ l ≤ 20
Reflections collected	13034
Independent reflections	2820 [R <sub>int</sub> = 0.067]
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9800 and 0.4700
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	2820 / 0 / 196
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.044
Final R indices [I > 2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0.0783, wR <sub>2</sub> = 0.1996
R indices (all data)	R <sub>1</sub> = 0.0900, wR <sub>2</sub> = 0.2097
Absolute structure parameter	0.1(4)

Extinction coefficient	0.0013(11)
Largest diff. peak and hole	0.461 and -0.451 e/Å <sup>3</sup>

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for C15 H25 N O5.

$U_{eq}$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U_{eq}$
O(7)	5674 (6)	1815 (2)	509 (2)	53 (1)
O(10)	8773 (5)	4575 (1)	284 (1)	39 (1)
O(11)	8125 (5)	5602 (1)	1171 (1)	32 (1)
O(15)	11017 (6)	4738 (2)	2414 (1)	47 (1)
O(16)	8574 (5)	4935 (2)	3409 (1)	40 (1)
N(1)	7303 (6)	4267 (2)	1466 (2)	34 (1)
C(2)	6851 (7)	4489 (2)	2256 (2)	33 (1)
C(3)	5787 (8)	3671 (2)	2595 (2)	38 (1)
C(4)	7031 (8)	2995 (2)	2120 (2)	38 (1)
C(5)	6017 (8)	2111 (2)	2171 (2)	41 (1)
C(6)	3692 (8)	1995 (2)	1740 (2)	43 (1)
C(7)	3902 (8)	2286 (2)	909 (2)	40 (1)
C(8)	4621 (8)	3212 (2)	895 (2)	38 (1)
C(9)	6958 (8)	3370 (2)	1303 (2)	34 (1)
C(10)	8162 (7)	4798 (2)	921 (2)	31 (1)
C(11)	9596 (7)	6235 (2)	776 (2)	34 (1)
C(12)	9176 (8)	7007 (2)	1274 (2)	39 (1)
C(13)	12139 (8)	5964 (2)	796 (2)	43 (1)
C(14)	8672 (8)	6386 (2)	-39 (2)	41 (1)
C(15)	9079 (8)	4736 (2)	2688 (2)	35 (1)
C(16)	10547 (9)	5138 (3)	3898 (2)	49 (1)

Table 3. Hydrogen coordinates ( $\times 10^4$ ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for C15 H25 N O5.

	x	y	z	U <sub>eq</sub>
H(7)	5047	1400	291	79
H(2)	5668	4955	2282	40
H(3A)	6155	3614	3149	45
H(3B)	4055	3650	2523	45
H(4)	8719	2971	2288	45
H(5A)	5764	1970	2719	49
H(5B)	7190	1710	1963	49
H(6A)	3238	1394	1751	52
H(6B)	2436	2321	2000	52
H(7A)	2348	2215	645	48
H(8A)	4753	3400	354	46
H(8B)	3371	3551	1145	46
H(9)	8299	3148	989	40
H(12A)	9600	6878	1808	58
H(12B)	7506	7166	1249	58
H(12C)	10151	7473	1088	58
H(13A)	12349	5466	472	65
H(13B)	12586	5829	1326	65
H(13C)	13139	6421	605	65
H(14A)	6979	6509	-19	62
H(14B)	8937	5882	-351	62
H(14C)	9510	6863	-268	62
H(16A)	11271	5664	3724	74
H(16B)	11715	4684	3874	74
H(16C)	9997	5204	4428	74

Table 4. Anisotropic parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for C15 H25 N O5.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

$$-2 \pi^2 [ h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12} ]$$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(7)	75(2)	35(1)	47(2)	-5(1)	6(2)	-3(2)
O(10)	65(2)	24(1)	28(1)	-1(1)	4(1)	-5(1)
O(11)	45(2)	23(1)	29(1)	3(1)	1(1)	-2(1)
O(15)	48(2)	60(2)	34(1)	1(1)	0(1)	6(2)
O(16)	59(2)	33(1)	27(1)	-2(1)	-2(1)	-2(1)
N(1)	51(2)	20(1)	30(1)	3(1)	0(1)	4(1)
C(2)	46(2)	25(2)	28(2)	2(1)	0(2)	3(2)
C(3)	58(3)	27(2)	29(2)	1(1)	1(2)	4(2)
C(4)	56(3)	26(2)	31(2)	1(1)	2(2)	3(2)
C(5)	68(3)	25(2)	30(2)	6(1)	6(2)	6(2)
C(6)	61(3)	26(2)	42(2)	1(2)	8(2)	0(2)
C(7)	57(3)	27(2)	36(2)	-2(1)	0(2)	0(2)
C(8)	58(3)	29(2)	28(2)	1(1)	-1(2)	5(2)
C(9)	54(2)	21(2)	27(2)	1(1)	3(2)	3(2)
C(10)	44(2)	26(2)	24(2)	1(1)	-5(2)	4(2)
C(11)	49(3)	22(2)	31(2)	3(1)	5(2)	-2(2)
C(12)	53(3)	27(2)	37(2)	0(1)	5(2)	-3(2)
C(13)	53(3)	33(2)	43(2)	-2(2)	6(2)	-2(2)
C(14)	61(3)	25(2)	38(2)	4(1)	5(2)	-5(2)
C(15)	55(3)	21(2)	28(2)	6(1)	-2(2)	2(2)
C(16)	71(3)	47(2)	30(2)	3(2)	-8(2)	-10(2)

Table 5. Bond lengths [Å] and angles [°] for C15 H25 N O5

---

O(7)-C(7)	1.433(5)	N(1)-C(2)-C(3)	103.0(3)
O(10)-C(10)	1.215(4)	C(15)-C(2)-C(3)	110.6(3)
O(11)-C(10)	1.350(4)	C(4)-C(3)-C(2)	101.8(3)
O(11)-C(11)	1.477(4)	C(5)-C(4)-C(3)	116.4(3)
O(15)-C(15)	1.197(5)	C(5)-C(4)-C(9)	113.6(3)
O(16)-C(15)	1.325(4)	C(3)-C(4)-C(9)	102.3(3)
O(16)-C(16)	1.441(5)	C(4)-C(5)-C(6)	114.2(3)
N(1)-C(10)	1.359(4)	C(7)-C(6)-C(5)	111.3(4)
N(1)-C(2)	1.443(4)	O(7)-C(7)-C(6)	110.9(3)
N(1)-C(9)	1.466(4)	O(7)-C(7)-C(8)	108.0(3)
C(2)-C(15)	1.520(5)	C(6)-C(7)-C(8)	109.2(3)
C(2)-C(3)	1.550(5)	C(9)-C(8)-C(7)	112.5(3)
C(3)-C(4)	1.528(5)	N(1)-C(9)-C(8)	111.5(3)
C(4)-C(5)	1.520(5)	N(1)-C(9)-C(4)	101.3(3)
C(4)-C(9)	1.542(4)	C(8)-C(9)-C(4)	112.9(3)
C(5)-C(6)	1.527(6)	O(10)-C(10)-O(11)	125.0(3)
C(6)-C(7)	1.522(5)	O(10)-C(10)-N(1)	123.9(3)
C(7)-C(8)	1.528(5)	O(11)-C(10)-N(1)	111.0(3)
C(8)-C(9)	1.524(6)	O(11)-C(11)-C(13)	109.5(3)
C(11)-C(13)	1.504(6)	O(11)-C(11)-C(12)	101.3(3)
C(11)-C(12)	1.522(5)	C(13)-C(11)-C(12)	111.5(3)
C(11)-C(14)	1.529(5)	O(11)-C(11)-C(14)	110.2(3)
		C(13)-C(11)-C(14)	113.3(3)
C(10)-O(11)-C(11)	119.2(3)	C(12)-C(11)-C(14)	110.4(3)
C(15)-O(16)-C(16)	116.4(3)	O(15)-C(15)-O(16)	125.1(4)
C(10)-N(1)-C(2)	125.1(3)	O(15)-C(15)-C(2)	124.4(3)
C(10)-N(1)-C(9)	121.2(3)	O(16)-C(15)-C(2)	110.5(4)
C(2)-N(1)-C(9)	113.5(3)		
N(1)-C(2)-C(15)	112.8(3)		

---

Table 6. Torsion angles [°] for C15 H25 N O5.

---

C(10)-N(1)-C(2)-C(15)	-63.5(5)	C(5)-C(4)-C(9)-N(1)	163.0(3)
C(9)-N(1)-C(2)-C(15)	110.9(4)	C(3)-C(4)-C(9)-N(1)	36.7(4)
C(10)-N(1)-C(2)-C(3)	177.2(4)	C(5)-C(4)-C(9)-C(8)	43.7(4)
C(9)-N(1)-C(2)-C(3)	-8.3(4)	C(3)-C(4)-C(9)-C(8)	-82.6(4)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	31.2(4)	C(11)-O(11)-C(10)-O(10)	-21.2(6)
C(15)-C(2)-C(3)-C(4)	-89.6(3)	C(11)-O(11)-C(10)-N(1)	162.0(3)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-166.7(3)	C(2)-N(1)-C(10)-O(10)	171.5(4)
C(2)-C(3)-C(4)-C(9)	-42.2(4)	C(9)-N(1)-C(10)-O(10)	-2.6(6)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	73.8(4)	C(2)-N(1)-C(10)-O(11)	-11.7(6)
C(9)-C(4)-C(5)-C(6)	-44.7(5)	C(9)-N(1)-C(10)-O(11)	174.2(3)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	52.8(4)	C(10)-O(11)-C(11)-C(13)	-57.6(4)
C(5)-C(6)-C(7)-O(7)	60.3(4)	C(10)-O(11)-C(11)-C(12)	-175.5(3)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-58.7(4)	C(10)-O(11)-C(11)-C(14)	67.6(4)
O(7)-C(7)-C(8)-C(9)	-61.9(4)	C(16)-O(16)-C(15)-O(15)	-2.4(5)
C(6)-C(7)-C(8)-C(9)	58.9(4)	C(16)-O(16)-C(15)-C(2)	176.7(3)
C(10)-N(1)-C(9)-C(8)	-82.7(4)	N(1)-C(2)-C(15)-O(15)	-0.9(5)
C(2)-N(1)-C(9)-C(8)	102.5(4)	C(3)-C(2)-C(15)-O(15)	113.8(4)
C(10)-N(1)-C(9)-C(4)	156.9(4)	N(1)-C(2)-C(15)-O(16)	179.9(3)
C(2)-N(1)-C(9)-C(4)	-17.8(4)	C(3)-C(2)-C(15)-O(16)	-65.3(4)
C(7)-C(8)-C(9)-N(1)	-164.7(3)		
C(7)-C(8)-C(9)-C(4)	-51.5(4)		

---



Table 7. Bond lengths [Å] and angles [°] related to the hydrogen bonding for C15 H25 N O5.

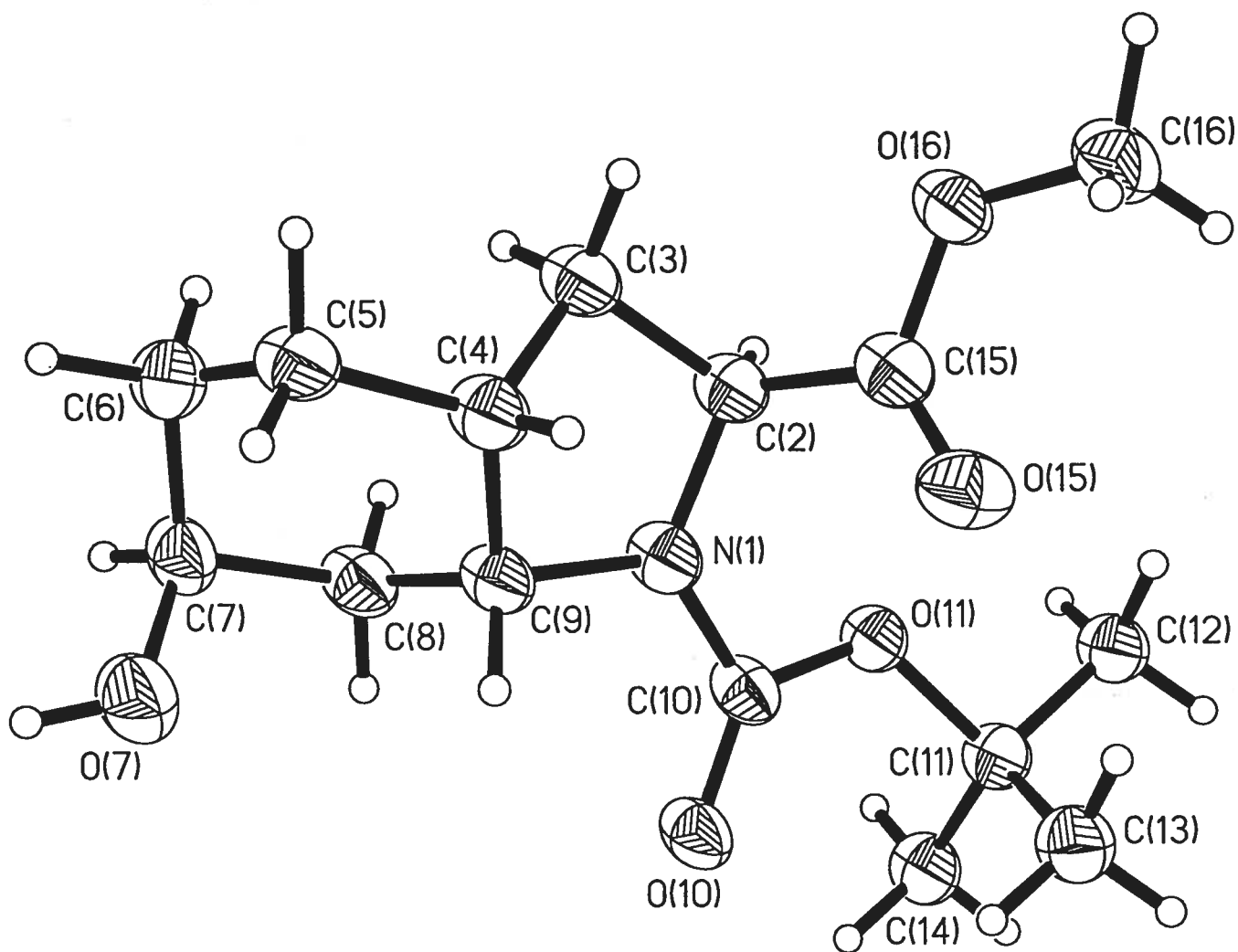
---

D-H	..A	d(D-H)	d(H..A)	d(D..A)	<DHA
O(7)-H(7)	O(10)#1	0.84	1.98	2.819(4)	175.5

---

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1  $x-1/2, -y+1/2, -z$



ORTEP view of the C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub> compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.

## REFERENCES

Flack, H.D. (1983). Acta Cryst. A39, 876-881.

International Tables for Crystallography (1992). Vol. C. Tables 4.2.6.8 and 6.1.1.4, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

SAINT (1999) Release 6.06; Integration Software for Single Crystal Data. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

Sheldrick, G.M. (1996). SADABS, Bruker Area Detector Absorption Corrections. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

Sheldrick, G.M. (1997). SHELXS97, Program for the Solution of Crystal Structures. Univ. of Gottingen, Germany.

Sheldrick, G.M. (1997). SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures. Univ. of Gottingen, Germany.

SHELXTL (1997) Release 5.10; The Complete Software Package for Single Crystal Structure Determination. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

SMART (1999) Release 5.059; Bruker Molecular Analysis Research Tool. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

Spek, A.L. (2000). PLATON, Molecular Geometry Program, 2000 version. University of Utrecht, Utrecht, Holland.

XPREP (1997) Release 5.10; X-ray data Preparation and Reciprocal space Exploration Program. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

