

2 m 11. 2866.3

Université de Montréal

Design et synthèse de deux inhibiteurs de la sélectine E
à base de ligands diol-1,2 et alpha-hydroxyamide

par

Marc De Vleeschauwer

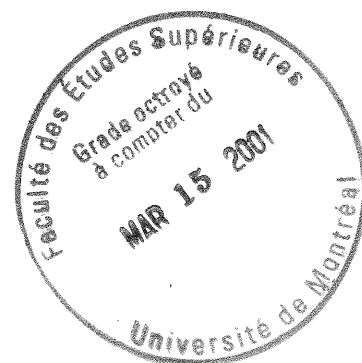
Département de chimie

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

Décembre, 2000

© Marc De Vleeschauwer, 2000



QD

3

154

2001

10.023

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :
Design et synthèse de deux inhibiteurs de la sélectine E
à base de ligands diol-1,2 et alpha-hydroxyamide

présenté par :
Marc De Vleeschauwer

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Hermann Dugas

président-rapporteur

Denis Gravel

directeur de recherche

Hélène Lebel

membre du jury

Mémoire accepté le :

Sommaire

L'adhésion cellulaire est un processus essentiel au fonctionnement de tous les êtres vivants. Il permet en premier lieu aux cellules d'un organisme de former des organes, puis des organismes en se liant les unes aux autres. De plus, l'adhésion cellulaire est aussi impliquée dans des mécanismes plus subtils tel que le système immunitaire qui protège l'organisme des agents pathogènes. Ainsi, lors d'une inflammation causée par une blessure ou un agent infectieux, des protéines sélectines et intégrines sont responsables du recrutement des globules blancs dans le flux sanguin pour les faire traverser la paroi du vaisseau sanguin et leur permettre de parvenir au site de l'inflammation.

Ces mécanismes sont essentiels à la survie, mais il arrive parfois qu'ils se dérèglent. Certains troubles médicaux, tels que l'arthrite rhumatoïde, proviennent d'un recrutement excessif des globules blancs. De plus, la colonisation d'un organisme par les cellules cancéreuses en métastase utilise aussi les protéines sélectines pour pénétrer de nouvelles parties de l'organisme. Ces raisons ont amené les chercheurs à envisager des traitements thérapeutiques basés sur l'inhibition des protéines impliquées dans ce processus. Nous allons nous concentrer sur la recherche effectuée au niveau des protéines sélectines.

Le ligand naturel des sélectines est le sialyl Lewis X, un tétrasaccharide. De nombreux dérivés ont été synthétisés et évalués dans des tests biologiques pour déterminer les groupes pharmacophores de ces protéines. À partir des résultats obtenus, on tente maintenant de synthétiser des inhibiteurs qui sont de plus en plus différents du sialyl Lewis X.

Dans le cadre des travaux menant au grade de maîtrise discutés dans ce mémoire, nous avons entrepris de faire le design et de synthétiser deux nouveaux types d'inhibiteurs. Pour faire le choix et le design de nos objectifs de synthèse, nous avons utilisé la modélisation moléculaire. Nous avons d'abord dû développer un modèle qui reproduisait de manière satisfaisante le comportement de la protéine que nous désirions observer. Ensuite, nous avons pu tester différentes molécules sur ce modèle

pour choisir celles qui seront synthétisées puis testé dans un test biologique pour vérifier leur activité face aux sélectines.

Nous avons choisi de synthétiser deux types de molécules. Le premier type est une molécule décalinique. Nous avons choisi cette molécule car elle présente toutes les fonctions qui sont considérées comme étant responsables de la liaison du sialyl Lewis X aux sélectines, mais sur un squelette beaucoup plus simple. Puisqu'il s'agit d'une petite molécule non-glycosidique, elle pourrait être un candidat intéressant pour démarrer une recherche d'agents thérapeutiques inhibiteurs des sélectines.

Le deuxième type de molécule comporte une fonction hydroxyamide. Le sialyl Lewis X se lie aux sélectine, entre autres, par l'interaction d'un diol avec un atome de calcium. Nous voulons vérifier si le remplacement de ce ligand par un groupe hydroxyamide augmente l'activité, car ce groupe devra't se lier plus fortement au calcium. Pour ce candidat, nous avons aussi voulu utiliser une petite molécule non-glycosidique.

Les synthèses des deux types d'inhibiteurs ont été complétées et ces molécules évaluées dans un test biologique. Dans le cas de la molécule de type décalinique, nous avons testé séparément les deux énantiomères et les deux ont présenté une activité semblable à celle du ligand naturel, le sialyl Lewis X. Ce résultat est intéressant, car il confirme que l'approche via la modélisation est une approche valable pour synthétiser des inhibiteurs des sélectines. Pour l'autre molécule de type hydroxyamide, les résultats sont plus décevants, le test biologique n'a pas démontré d'activité. Ceci ne nous permet pas de discuter de la valeur de notre hypothèse de départ sur les ligands au calcium.

Table des matières

Sommaire	iv
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xii
Liste des schémas	xiv
Liste des équations	xv
Liste des abréviations	xvii
Remerciements	xix
0 Introduction	1
0.1 L'adhésion cellulaire	2
0.1.1 Les protéines sélectines	3
0.1.1.1 La structure des sélectines	3
0.1.1.2 Le rôle des sélectines	5
0.1.1.3 Pathologies reliées aux sélectines	8
0.2 Le sialyl Lewis X : ligand des sélectines	9
0.2.1 Utilisation médicale du sLe ^x	9
0.2.2 Synthèse du sLe ^x	10
0.2.3 Étude de relation structure-activité sur le sLe ^x	11
0.3 Création de mimiques du sLe ^x	13
0.3.1 Modification systématique du sLe ^x	14
0.3.1.1 Remplacement de l'unité acide <i>N</i> -acétylneuraminique	14
0.3.1.2 Remplacement de l'unité acide <i>N</i> -acétylneuraminique et de l'unité <i>N</i> -acétylglucosamine	15
0.3.1.3 Remplacement de l'unité <i>N</i> -acétylglucosamine et de l'unité galactose	17
0.3.1.4 Remplacement des unités <i>N</i> -acétylglucosamine, galactose et acide <i>N</i> -acétylneuraminique	19
0.3.2 Ajout de chaînes hydrophobes aux mimiques du sLe ^x	24
0.3.3 Synthèse d'oligomères du sLe ^x	26
0.3.4 Utilisation de polyanions comme inhibiteurs	26

0.3.5 Utilisation de peptides comme inhibiteurs	27
0.3.6 Autres types d'inhibiteurs	28
0.3.7 Effet de la chiralité chez les inhibiteurs	29
0.3.8 Variation de la fonction permettant la liaison de l'inhibiteur au calcium	32
0.4 Objectifs pour la synthèse de nouveaux inhibiteurs	32
1 Design rationnel d'inhibiteurs des sélectines	34
1.1 Bref aperçu de la modélisation moléculaire	36
1.1.1 Homologie entre la protéine de liaison du mannose chez le rat (rMBP) et la sélectine E	37
1.1.2 Ajustement des nouvelles molécules au gabarit (template) du modèle	40
1.1.3 Arrimage des molécules cibles sur le modèle de la protéine	42
1.1.4 Évaluation des molécules	42
1.2 Choix des molécules à synthétiser	43
1.2.1 Choix des molécules et critères de sélection	43
1.2.2 Les décalines	43
1.2.3 Les hydroxyamides	47
2 Synthèse de l'objectif décalinique	50
2.1.1 Rétrosynthèse de l'objectif décalinique	51
2.1.2 Séquence de synthèse de l'objectif décalinique	52
2.2 Synthèse de l'énone, substrat de la réaction de Diels-Alder	53
2.2.1 Protection sélective du 1,4-cyclohexadiol	53
2.2.2 Oxydation de l'alcool 63 en cétone 58	54
2.2.3 Préparation de l'énone 59	54
2.3 Réaction de Diels-Alder	56
2.4 Formation du composé trioxycéné 74	59
2.4.1 Dihydroxylation du produit de Diels-Alder	59
2.4.2 Protection du diol	60
2.4.3 Désoxygénation de l'alcool 71	61
2.5 Résolution des énantiomères	62

2.5.1	Déprotection de l'hydroxyle benzylique	62
2.5.2	Évaluation et sélection de l'agent chiral	63
2.6	Complétion de la synthèse	64
2.6.1	Saponification de l'ester chiral	64
2.6.2	O-alkylation de l'hydroxyle libre	65
2.6.3	Déprotection finale	66
2.7	Test biologique	66
2.8	Discussion	67
3	Synthèse de l'objectif hydroxyamide	70
3.1	Approche via une désamination nitreuse	71
3.1.1	Analyse rétrosynthétique	71
3.1.2	Désamination nitreuse	72
3.2	Approche via l'oxydation d'un énolate d'ester	73
3.2.1	Analyse rétrosynthétique	73
3.2.2	Réduction de l'alcène, protection du phénol et estérification	74
3.2.3	Oxydation de Davis	75
3.3	Approche via une cyanohydrine	76
3.3.1	Analyse rétrosynthétique	76
3.3.2	Réduction de l'acide carboxylique	78
3.3.3	Protection sélective du phénol	78
3.3.4	Oxydation de l'alcool 98 en aldéhyde 95	79
3.3.5	Hydrocyanation de l'aldéhyde 95	80
3.3.6	Hydrolyse de la cyanohydrine 96	81
3.4	Approche via la réduction d'un époxyde	83
3.4.1	Analyse rétrosynthétique	83
3.4.2	Protection de l'acide 3-hydroxycinnamique 86	84
3.4.3	Amidation de l'ester 100	85
3.4.4	Époxydation de l'alcène 101	86
3.4.6	Ouverture sélective de l'époxyde	88
3.4.7	Déprotection du phénol 110	92

3.4.8 Alkylation sélective du phénol versus l'amide	92
3.4.9 Hydrogénolyse de l'ester en acide correspondant 54	94
3.5 Activité biologique des composés synthétisés	95
3.6 Discussion	96
Conclusion	97
4 Partie expérimentale	98
4.1 Généralités	99
4.2 Synthèse de la molécule décalinique	102
4.2.1 Préparation du 4-benzyloxy-cyclohexadiol 63	102
4.2.2 Préparation du 4-benzyloxy-cyclohexanone 58	103
4.2.3 Préparation du 4-benzyloxy-2-phénylsulfanyl-cyclohexanone 64	104
4.2.4 Préparation de la 2-benzènesulfinyl-4-benzyloxy-cyclohexanone 65	105
4.2.5 Préparation de la 4-benzyloxy-cyclohex-2-ènone 59	106
4.2.6 Préparation du 4-benzyloxy-1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-naphtalèn-1-ol 69	107
4.2.7 Préparation du 4-benzyloxy-decahydro-naphtalène-1,6,7-triol 70	108
4.2.8 Préparation du 8-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol 71	109
4.2.9 Préparation de l'ester <i>O</i> -(8-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yl) et ester <i>S</i> -méthyl de l'acide dithiocarbonique 72	110
4.2.10 Préparation du 5-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxole 73	112
4.2.11 Préparation du 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol 62	113
4.2.12 Préparation de l'ester 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yl de l'acide acétoxy-phényl-acétique 78 et 79	114
4.2.13 Régénération du 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol 62	115

4.2.14 Préparation de l'ester <i>tert</i> -butylique de l'acide (2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yloxy)-acétique 80	116
4.2.15 Préparation de l'acide (2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yloxy)-acétique 50i	117
4.3 Hydroxyamide	119
4.3.1 Préparation du 3-(2-hydroxy-éthyl)-phénol 94	119
4.3.2 Préparation du 2-(3-benzyloxy-phényl)-éthanol 98	120
4.3.3 Préparation du 2-(3-benzyloxy-phényl)-acétaldehyde 95	120
4.3.4 Préparation de l'ester de méthyl de l'acide 3-(3-hydroxy-phényl)-acrylique 103	121
4.3.5 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-acrylique 100	122
4.3.6 Préparation du 3-[3-(<i>tert</i> -Butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-acrylamide 101	123
4.3.7 Préparation de l'amide de l'acide 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-oxyrane-2-carboxylique 102	124
4.3.8 Préparation du 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-2-hydroxy-propionamide 110	125
4.3.8 Préparation du 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-2-hydroxy-propionamide 83	126
4.3.10 Préparation de l'ester de benzyl de l'acide [3-(2-carbamoyl-2-hydroxy-éthyl)-phénoxy]-acétique 111	127
4.3.11 Préparation de l'acide [3-(2-carbamoyl-2-hydroxy-éthyl)-phénoxy]-acétique 54	128
4.3.12 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-oxyrane-2-carboxylique 102	129
4.3.13 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-2-hydroxy-3-iodopropanoïque 107	130
4.3.14 Préparation du 3-[3-(<i>tert</i> -butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-propan-1,2-diol 109	131

Références

xxi

Annexe 1 : test biologique d'adhésion cellulaire

xxvii

Liste des tableaux

Tableau 0.1. Présentation des caractéristiques propres à chaque sélectine humaine ^{2c}	5
Tableau 0.2. Remplacement de l'unité NeuAc	14
Tableau 0.3. Modification de l'unité galactose	16
Tableau 0.4. Modification des unités galactose et acide neuraminique	17
Tableau 0.5. Modification des unités Gal et GlcNAc	18
Tableau 0.6. Modification des unités glucosamine, galactose et acide neuraminique	20
Tableau 0.7. Glycopeptides de Wong ³⁴	21
Tableau 0.8. Ajout de chaînes hydrophobes aux mimiques du sLe ^x	25
Tableau 0.9. Glycopeptides synthétisés par Kondo	29
Tableau 0.10. Diastéréoisomères obtenus par la réaction de Ugi	31
Tableau 2.1. Différents acides de Lewis utilisés pour la réaction de Diels-Alder	58
Tableau 2.2. Résultats des tests biologiques pour les deux énantiomères de type décalinique	67
Tableau 2.3. Distances entre le groupe acide carboxylique des énantiomères de 50i et les groupes accepteurs de ponts hydrogène sur la sélectine E	69
Tableau 3.1. Combinaisons acides de Lewis-réducteurs examinés pour la réduction régiosélective de 93	89
Tableau 3.2. Résultats des tests biologiques pour les molécule α -hydroxyamide	95

Liste des figures

Figure 0.1. Localisation des éléments structuraux responsables de l'adhésion cellulaire ^{2b}	4
Figure 0.2. Sialyl Lewis X	9
Figure 0.3. Site actif de la sélectine	12
Figure 0.4. SLe ^X et sélectine E	12
Figure 0.5. Agrandissement du site de liaison du sLe ^X et de la sélectine E	13
Figure 0.6. Glycoaromatiques de Kogan ³⁵	22
Figure 0.7. Composé le plus actif de l'équipe Kogan ³⁵	23
Figure 0.8. Molécules synthétisées par l'équipe Hanessian	24
Figure 0.9. Mimiques du sLe ^X ayant des propriétés de surfactants	26
Figure 0.10. Macrolide	28
Figure 0.11. Inhibiteur ne comportant pas de diol	28
Figure 1.1. Superposition du sLe ^X (rouge) et de l'oligomannose ligand de la protéine rMBP (jaune).	38
Figure 1.2. Superposition de la sélectine E (bleu marin) et de la rMBP (bleu pâle), les ligands du calcium (rose) apparaissent en jaune	39
Figure 1.3. Énergie d'une molécule en fonction de sa conformation	40
Figure 1.4. Objectif de synthèse de Monique Chan	44
Figure 1.5. Superposition de sLe ^X (vert) et des deux isomères de la chaîne oxyacétique la molécule 49 perhydrophénantrène (rose et bleu royal).	44
Figure 1.6. Superposition de la molécule perhydrophénantrène 49 (rouge) et de la molécule 50i (jaune).	45
Figure 1.7. Structures de type décaline modélisées	46
Figure 1.8. Modèle décalinique arrimé au site récepteur	47
Figure 1.9. Inhibiteurs des sélectines ayant menés à notre choix d'objectif	48
Figure 1.10. α -Hydroxyamide de configuration <i>R</i> . Distance de 2,28 Å entre l'acide carboxylique de la molécule 54 et l'arginine 97.	49
Figure 1.11. α -Hydroxyamide de configuration <i>S</i> . Distance de 3,05 Å entre l'acide carboxylique de la molécule 54 et l'arginine 97.	49
Figure 2.1. Objectif de synthèse en série décalinique	51

Figure 2.2. Acides chiraux testés pour la résolution	64
Figure 2.3. Arrimage de sLe ^X sur la sélectine E	68
Figure 2.4. Arrimage de la molécule 50i sur la sélectine E	69
Figure 2.5. Arrimage de l'énantiomère de la molécule 50i sur la sélectine E	69
Figure 3.1. Objectif de synthèse d'un α -hydroxyamide	71
Figure A.1. Modification de plasmides	xxviii
Figure A.2. Illustration des types d'interactions possibles lors des tests d'adhésion	

Liste des schémas

Schéma 0.1. Migration transendothéliale d'un lymphocyte	7
Schéma 0.2. Synthèse du sLe ^X par Hasegawa	10
Schéma 2.1. Rétrosynthèse de la molécule décalinique désirée	51
Schéma 2.2. Séquence des réactifs prévus pour atteindre l'objectif décalinique	53
Schéma 2.3. Épimérisation du produit primaire de la réaction de Diels-Alder	57
Schéma 3.1. Analyse rétrosynthétique impliquant une désamination nitreuse	71
Schéma 3.2. Rétention de configuration lors de la désamination des acides α -aminés	72
Schéma 3.3. Analyse rétrosynthétique impliquant l'oxydation d'un énolate d'ester	73
Schéma 3.4. Analyse rétrosynthétique impliquant un intermédiaire cyanohydrine	77
Schéma 3.5. Plan de synthèse impliquant un intermédiaire cyanohydrine	77
Schéma 3.6. Formation de la cyanohydrine via le dérivé bisulfite	81
Schéma 3.7. Utilisation du cyanure de triméthylsilyle pour former la cyanohydrine	81
Schéma 3.8. Tentative d'hydrolyse de la cyanohydrine à l'aide de Borax	82
Schéma 3.9. Tentative d'hydrolyse de la cyanohydrine à l'aide d'acide sulfurique 85%	83
Schéma 3.10. Analyse rétrosynthétique de la voie utilisant l'ouverture régiosélective d'un époxyde	83
Schéma 3.11. Réactifs prévus pour la voie utilisant la réduction d'un époxyde	84
Schéma 3.12. Époxydation par attaque de Michael d'un peroxyde	86
Schéma 3.13. Ouverture d'un époxyde par l'iodure de magnésium, suivi d'une ré- duction par l'hydrure de tributylétain	90

Liste des équations

Équation 0.1	30
Équation 2.1	54
Équation 2.2	54
Équation 2.3	55
Équation 2.4	55
Équation 2.5	56
Équation 2.6	58
Équation 2.7	60
Équation 2.8	61
Équation 2.9	61
Équation 2.10	62
Équation 2.11	62
Équation 2.12	64
Équation 2.13	65
Équation 2.14	65
Équation 2.15	66
Équation 3.1	74
Équation 3.2	74
Équation 3.3	75
Équation 3.4	76
Équation 3.5	78
Équation 3.6	79
Équation 3.7	79
Équation 3.8	85
Équation 3.9	85
Équation 3.10	85
Équation 3.11	86
Équation 3.12	87
Équation 3.13	88
Équation 3.14	90

Équation 3.15	91
Équation 3.16	91
Équation 3.17	92
Équation 3.18	93
Équation 3.19	94

Liste des abréviations

AIBN	azoisobutylnitrile
BMS	borane-sulfure de méthyle
Bu	butyl
°C	degré Celsius
CCM	chromatographie sur couche mince
DCC	dicyclohexylcarbodiimide
DMDO	diméthylodioxyrane
DMAP	diméthylaminopyridine
éq	équivalent
Et	éthyl
HMPA	hexaméthylphosphoramide
IR	infrarouge
KHMDS	hexaméthylidisilylamidure de potassium
LDA	diisobutylamidure de lithium
M	mol/litre
Me	méthyl
MMPP	sel de magnésium de l'acide monoperoxyphthalique
mol	mole
PCC	pyridiniumchlorochromate
Pd/C	palladium sur charbon
R _f	ratio du front de solvant
RMN	résonance magnétique nucléaire
sLe ^x	sialyl Lewis X
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl
tBu	<i>tert</i> -butyl
THF	tétrahydrofuranne
TP	température ambiante
U.V.	ultraviolet

Organic synthesis can bring great excitements

-R. B. Woodward

Remerciements

Dans cette liste de remerciements, je me dois en premier lieu de remercier mon directeur de recherche, Denis Gravel. Passionné de chimie, possédant une vaste et profonde connaissance de son domaine, c'est un excellent mentor qui sait communiquer sa passion. M. Gravel m'a toujours supporté, même si cela lui occasionnait parfois des soucis supplémentaires; j'ai grandement apprécié. En tant que directeur de recherche, il possède la grande qualité de ne pas s'intéresser qu'à la chimie, mais aussi de porter une attention aux personnes qui travaillent pour lui, il est prêt à les aider quel que soit leur cheminement ou leurs difficultés. Que le groupe de recherche soit gros ou petit, il était toujours possible d'aller cogner à sa porte. Merci.

Je veux souligner tout ce que ma copine Sophie a fait pour moi au cours de ma maîtrise, en support et conseils. Elle est demeurée à mes côtés pendant les hauts et les bas de ma maîtrise, maintenant nous pouvons profiter ensemble des bons moments.

Un remerciement particulier va à Caroline Labonté. Nos très fructueuses discussions chimiques m'ont permis plusieurs fois de surmonter quelque obstacle et je dois la remercier d'avoir débuté la synthèse de l'inhibiteur hydroxyamide. Mais je veux surtout souligner la forte amitié qui m'a beaucoup apportée, particulièrement ses encouragements à persévérer et à foncer malgré l'adversité.

Je dois souligner l'apport de Nathalie Goudreau, qui m'a tout enseigné de la modélisation moléculaire.

Il faut aussi que je remercie les autres membres du groupe Gravel dont l'aide m'a soutenu dans mon travail mais aussi sur le plan de l'atmosphère de travail. Je remercie particulièrement Ali Amoozadeh pour les discussions sociales et philosophiques, Abdelkrim Habi qui a dû partager sa hotte avec moi et Irina qui m'a donné un bon coup de main sur un projet particulier. Je ne peux non plus passer sous silence Roberto Chica, m'ont étudiant d'été de 1999, qui est depuis un grand ami.

Plus loin dans le département, je dois remercier le groupe de Davit Zargarian qui a accepté d'héberger un organicien pendant quelques mois au début de mes études supérieures, car nous avions alors de grandes contraintes d'espace. Je dois aussi remercier le groupe de Jeffrey Keillor qui m'a permis de participer à leurs réunions de

groupe, autant les plus officielles aux laboratoires que celles plus informelles après les heures de travail. Je ne les mentionnerai pas un à un, craignant d'en oublier, mais je veux quand même remercier particulièrement Paul Gagnon, un ami depuis le début du baccalauréat. Enfin, merci à tout le personnel du département de chimie, plus particulièrement à Lyne Laurin, pour l'aide concernant toutes les petites choses qui viennent compliquer une maîtrise.

Enfin je dois remercier le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada pour le support financier de mes études, ainsi que l'Association canadienne-française pour l'avancement de la science qui m'a offert une bourse d'étude.

Introduction

Introduction

Les cellules, tout comme les humains, sont des entités sociables : elles sont capables de se reconnaître, de communiquer, de faire des échanges et de s'associer. Nous allons, au cours de notre travail, nous concentrer sur la dernière fonction soit l'adhésion cellulaire.

0.1 L'adhésion cellulaire

Il existe de nombreuses molécules qui permettent aux cellules d'adhérer les unes aux autres. Selon le type de liaison, la durée (courte ou longue) et la force de l'adhérence, les biologistes les ont divisées en superfamilles d'adhérines : les cadhérines, sélectines, immunoglobulines et intégrines.¹ Une définition de l'adhérence cellulaire a aussi été élaborée comme étant le processus qui assure à tout organe ou organisme une cohésion de ses plus petites composantes, les cellules.

L'adhésion cellulaire est l'équivalent biologique de la force gravitationnelle en astronomie ou de la force électrostatique en physique : elle permet aux corps de « rester ensemble ». L'apparition et l'évolution de la vie reposent sur la formation et le regroupement de molécules de plus en plus complexes. Antérieurement, la cellule était l'unité qui retenait toutes les différentes superstructures moléculaires ensemble. En évoluant, la cellule est devenue un milieu de plus en plus complexe et est passée de procaryote à eucaryote en formant un noyau cellulaire. Toutefois, l'expansion seule n'était plus suffisante. Afin de survivre, elles ont fini par se combiner et se spécialiser pour devenir interdépendantes. Cette notion de spécialisation a fait naître ce qu'on appelle communément les tissus, les organes et finalement l'organisme. Cependant, est-ce que cette tendance évolutive aurait pu se produire si les cellules n'avaient eu aucun moyen de se fixer les unes aux autres? Puisque ce document s'attardera exclusivement au mécanisme de l'adhésion cellulaire, nous laissons à d'autres le soin de répondre à cette question de biogénèse. Néanmoins, l'adhésion cellulaire est à la base de l'organisation de plus en plus complexe de la vie. Et comme tout le reste, c'était un processus simple au début, qui s'est développé par des améliorations et spécialisations.²

Nous allons maintenant examiner plus spécifiquement la famille de molécules d'adhérence des sélectines.

0.1.1 Les protéines sélectines

Les protéines sélectines se retrouvent sous trois formes : E, P et L, qui sont très similaires. Elles sont présentes à la surface des cellules endothéliales, et ce, à des moments différents du processus de combat livré par le système immunitaire lors d'une infection. La sélectine L exprimée en tout temps se retrouve principalement à la surface des leucocytes. Pour leur part, les sélectines P que l'on retrouve à la surface des plaquettes et des cellules endothéliales activées sont exprimées dès le début d'une infection au site de la lésion grâce à des « facteurs » chimiques, par exemple l'histamine. Finalement, les sélectines de type E sont exprimées à la surface des cellules endothéliales activées et ne seront mobilisées qu'environ quatre heures après le début de l'infection. On dira donc que les sélectines P drainent les globules blancs d'avant-garde tandis que les sélectines E ne seront appelées qu'en cas de nécessité, mobilisant des lymphocytes d'arrière-garde.^{2a}

0.1.1.1 La structure des sélectines

La figure 0.1 montre les éléments structuraux qui constituent chacune des sélectines. Pour chacune des sélectines, il y a cinq domaines ou parties distinctes.

D'abord, on retrouve une queue cytosolique qui joue un rôle important au niveau de la transduction des signaux chimiques entre le milieu intra et extracellulaire; elle est attachée à un domaine transmembranaire. Ensuite viennent plusieurs domaines complémentaires, puis un domaine représentant le facteur épidermique de croissance (*EGF domain*). Finalement, on retrouve un domaine de reconnaissance des sucres (*CRD domain*), ce dernier étant responsable de la liaison du ligand à la protéine. Le ligand le plus courant, et commun à toutes les sélectines, est le sialyl Lewis X (sLe^X), dont nous discuterons plus loin.³ Différents dérivés ont été rapportés comme pouvant aussi interagir *in vivo* avec la sélectine E, soit le sLe^X sulfaté, le sLe^a et le sLe^a sulfaté.⁴

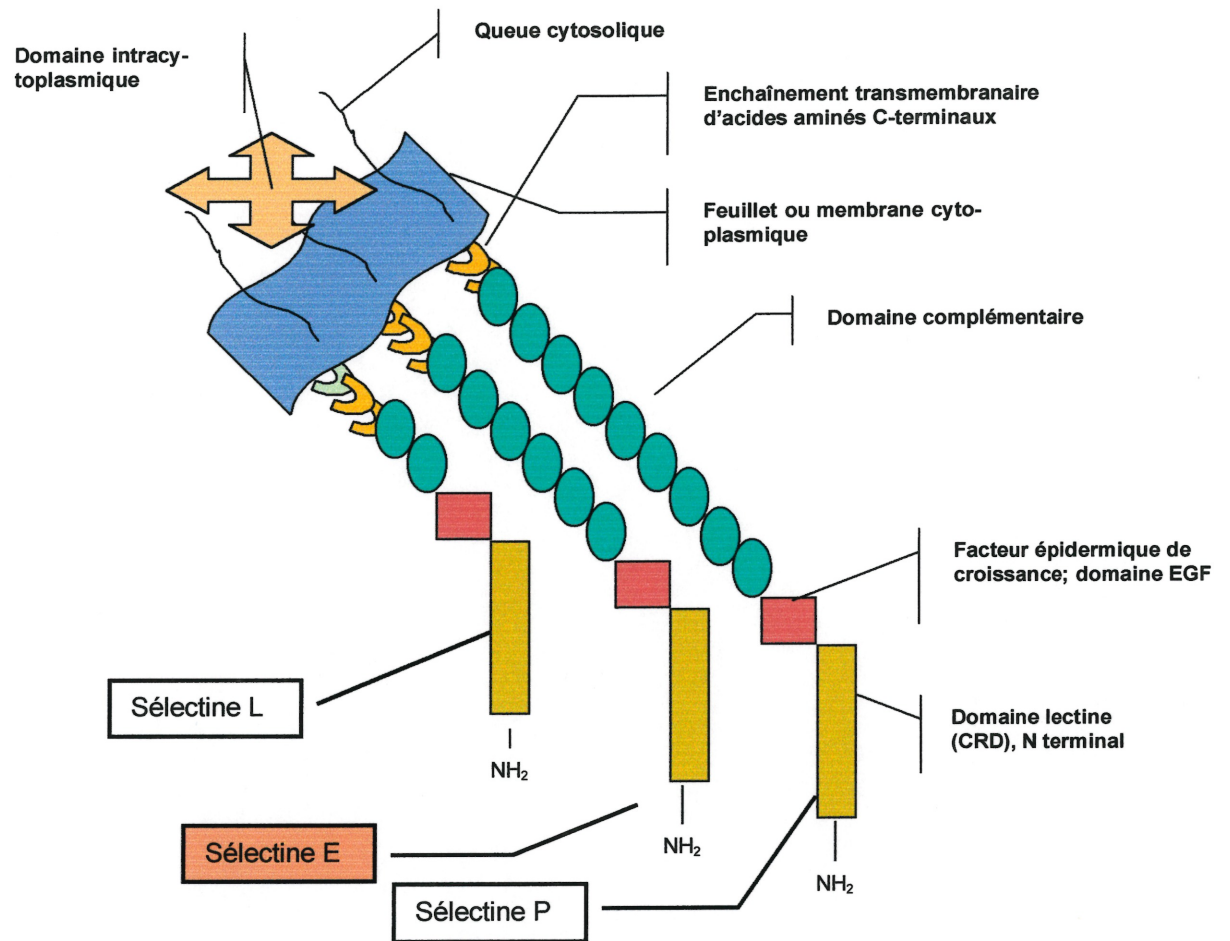


Figure 0.1. Localisation des éléments structuraux responsables de l'adhésion cellulaire ^{2d}

Le tableau 0.1 de la page suivante résume les différences et similitudes entre les trois sélectines humaines. On peut y voir que les sélectines E et P ont plus de similitudes entre elles qu'avec la sélectine L.

Nom	Localisée sur	Expression	Cellules adhérentes	Fonctions proposées
Sélectine L	Leucocytes	Toujours exprimée	Endothélium adjacent à l'inflammation	Recrutement des leucocytes lors d'inflammation des lymphocytes
Sélectine E	Cellules endothéliales	Quelques heures après le début de l'infection	Lymphocyte	Recrutement des leucocytes lors d'inflammation
Sélectine P	Plaquettes et cellules endothéliales	En réponse à un signal chimique, 30 min après l'infection	Lymphocyte	Recrutement des leucocytes lors d'inflammation et agrégation des plaquettes

Tableau 0.1. Présentation des caractéristiques propres à chaque sélectine humaine ^{2c}

0.1.1.2 Le rôle des sélectines

Le plus grand rôle des sélectines se joue dans la réponse immunitaire de l'organisme. Celles-ci jouent, au niveau des vaisseaux sanguins, le même rôle que les panneaux indicateurs de sortie sur les autoroutes : elles font ralentir les globules blancs pour les faire sortir de la circulation sanguine. Mais voyons plus en détail la réponse de l'organisme à une agression.

Que ce soit une infection ou une blessure des tissus, l'organisme doit déplacer des globules blancs vers le site de lésion pour prévenir une invasion d'agents pathogènes. Les globules blancs circulent rapidement dans le sang, ils doivent donc reconnaître la zone à risques, s'y arrêter et traverser la paroi pour se rendre au site de la

lésion.⁵ Comment se déroule ce processus ? Il se divise en six étapes : recrutement, contact, roulement, activation, arrêt et migration transmembranaire.⁶

En premier lieu, les cellules agressées émettent des signaux d'alarme (chimique), ceci activant l'expression des protéines sélectines à la surface des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, c'est l'étape de recrutement. Ces sélectines vont faire contact avec le ligand sLe^x se trouvant à la surface des leucocytes, entraînant une force d'interaction.⁷ Cette force, bien que faible, est suffisante pour maintenir le leucocyte près de la paroi du vaisseau sanguin. L'effet combiné de la force du flux sanguin et de l'adhésion à la paroi entraîne le roulement de la cellule sur la paroi. Ce roulement pourrait se continuer sur toute la zone activée, mais des protéines globulaires (G) liées aux sélectines émettent un signal chimique après les premiers instants du contact. Ce signal active les intégrines des leucocytes, amenant une plus grande adhésion. Les intégrines exprimées permettent de lier plus fortement les leucocytes et de les immobiliser à la surface du vaisseau sanguin. Ces globules blancs immobiles et aplatis peuvent alors traverser la paroi du vaisseau en se glissant entre deux cellules endothéliales pour se rendre au site d'inflammation. Le schéma 0.1 de la page suivante illustre cette activité.

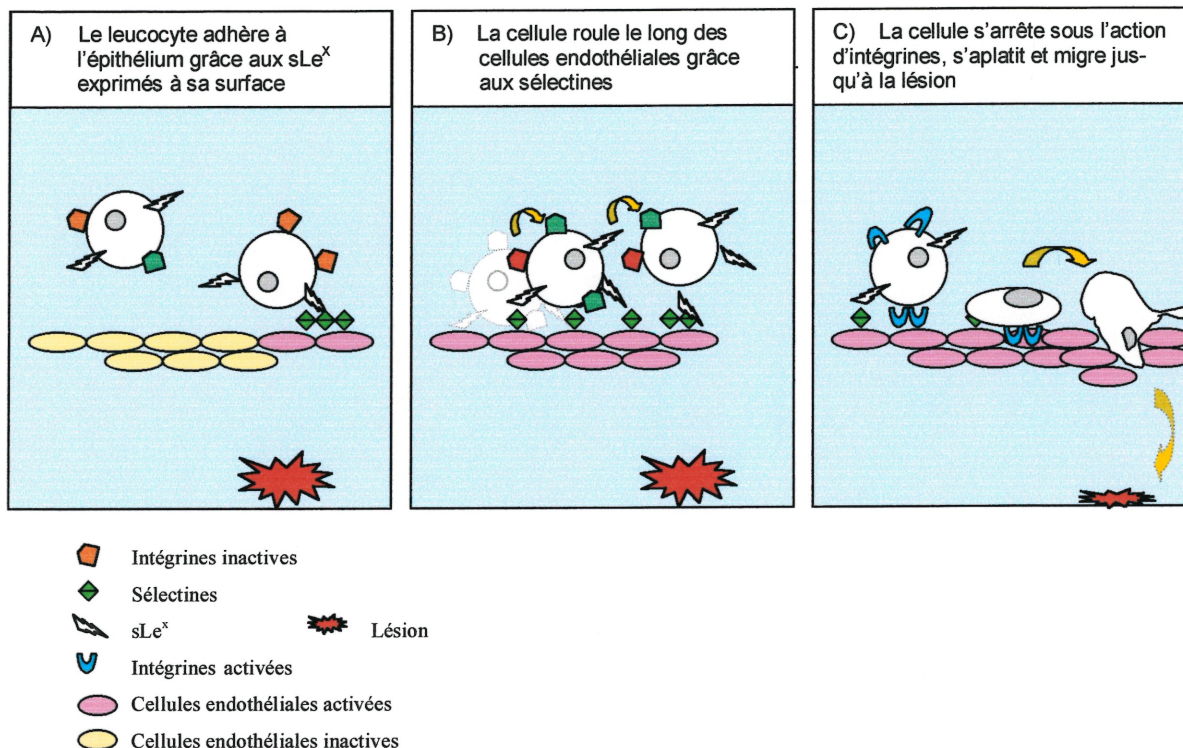


Schéma 0.1. Migration transendothéliale d'un lymphocyte^{2d}

Les deux types de protéines impliqués, soient les sélectines et les intégrines, sont essentiels au recrutement des leucocytes.⁸ Dans un organisme qui n'exprime pas les sélectines, les globules blancs ne peuvent être recrutés, car les intégrines ne sont pas activées. De plus, compte tenu de la vitesse à laquelle circulent les globules blancs, même si les intégrines étaient exprimées, elles ne pourraient se lier aux cellules endothéliales. Ensuite, dans un organisme présentant une déficience sur les intégrines, on assiste à un roulement des leucocytes sur la zone activée du vaisseau sanguin, sans immobilisation.

À ce titre, l'importance du recrutement des leucocytes *via* les molécules adhésives telles que les sélectines et les intégrines a été clairement démontrée par d'importantes études portant sur des patients diagnostiqués comme ayant une « déficience d'adhérence des leucocytes ».⁹ Il a été démontré que ces derniers avaient une propension aux infections de toutes sortes. Cette déficience est nommée par le corps médical « syndrome LAD » i.e. « *leucocyte adhesion deficiency* ». LAD I étant caractérisé par une baisse importante du taux d'intégrines $\beta 2$ et LAD II par une baisse

importante de sLe^X due à un mauvais métabolisme du fucose. Ces deux formes du syndrome entraînent chez les sujets affectés une variété de troubles dont une déformation faciale notable, un taux de nanisme élevé ainsi qu'un retard mental pouvant être sévère.^{1,9}

0.1.1.3 Pathologies reliées aux sélectines

Comme pour tout mécanisme biochimique de régulation de l'organisme, il est possible qu'un déséquilibre provoque une perturbation du fonctionnement du mécanisme de recrutement des leucocytes. Lorsque cela se produit, on assiste à un recrutement excessif de leucocytes et un déferlement hors des vaisseaux sanguins dans les tissus adjacents. Dans un tel cas, ces derniers s'accumulent dans les tissus et finissent par endommager ces derniers de façon parfois irréversible. En réponse à ce phénomène l'organe touché gonfle et devient souvent douloureux, c'est l'inflammation.^{2a} Par exemple, l'inflammation courante appelée polyarthrite rhumatoïde peut être causée par un dysfonctionnement de la migration transendothéliale des leucocytes. Ces derniers ainsi emmagasinés commanderont par la suite la libération de certaines substances parfois toxiques ainsi que différentes enzymes spécialisées dans la destruction de protéines structurales essentielles à l'organisme.

Plusieurs autres pathologies découlant d'une migration transendothéliale excessive des leucocytes sont jusqu'à maintenant répertoriées. Parmi les plus connues nous retrouvons les pathologies suivantes : psoriasis, asthme, choc traumatique, rejet d'organes, inflammation sévère de l'intestin.^{10,11,12}

Puisque nous savons maintenant qu'un recrutement excessif ou mal synchronisé de leucocytes vers une lésion amène divers problèmes de santé, nous pourrions être tentés d'enrayer ce processus. Il apparaît donc ingénieux de s'attarder à l'élaboration d'une stratégie de blocage, et ce, soit d'une ou de plusieurs étapes du processus de translocation des leucocytes.^{12,13} Toutefois, inhiber complètement ce processus laisserait l'organisme en question sans défense face à un agent pathogène; il faut donc trouver un moyen de contrôler la migration des leucocytes sans l'inhiber complètement.

Les sélectines jouent en plus un rôle dans la généralisation d'un cancer : les cellules cancéreuses en métastase qui circulent dans le sang les utilisent pour se fixer à une nouvelle région du corps et la coloniser, entraînant une complication de l'état du patient. Des chercheurs ont réussi à montrer qu'en utilisant un antagoniste de la sélectine E, ils pouvaient empêcher la colonisation de tissus pulmonaires par des cellules cancéreuses.¹⁴ Éventuellement, les connaissances accumulées sur les sélectines pourraient servir à prévenir la propagation de tumeurs cancéreuses.

0.2 Le sialyl Lewis X : ligand des sélectines

Le ligand sialyl Lewis^X est un tétrasaccharide composé d'un fucose, un aminoglucose N-acétylé, un galactose et un acide neuraminique acétylé (figure 0.2).

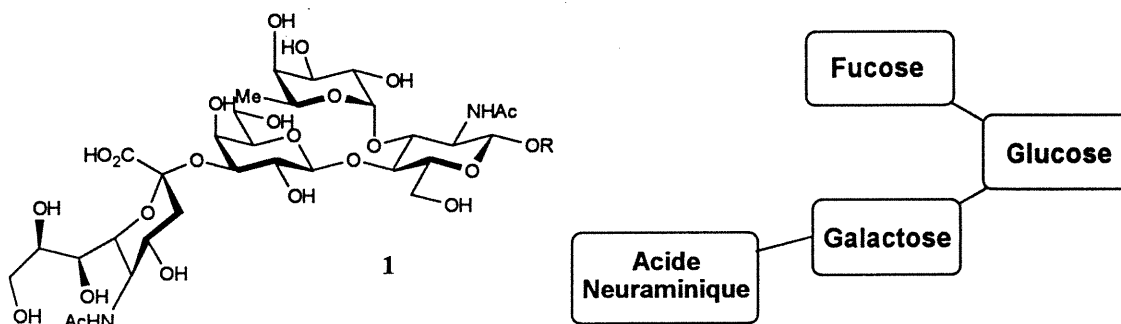


Figure 0.2. Sialyl Lewis X.

La liaison de ce ligand à la protéine est relativement faible, les valeurs calculées de K_D se situent dans le millimolaire.¹⁵ Néanmoins, le sLe^X peut être utilisé comme agent thérapeutique (*vide infra*).

0.2.1 Utilisation médicale du sLe^X

Comme tout carbohydate, le tétrasaccharide sLe^X a une très courte durée de vie dans l'organisme humain. Néanmoins, il est utilisé dans des cas très particuliers comme agent thérapeutique. Par exemple, lorsqu'au cours d'une intervention chirurgicale on doit interrompre la circulation sanguine qui irrigue un organe ou un tissu, il peut y avoir un problème de rejet lorsqu'on « réalimente » l'organe ou le tissu en sang : l'organisme ne semble plus reconnaître ce dernier et il est attaqué par le système immunitaire. En injectant de manière intraveineuse du sLe^X avant de

« réalimenter » l'organe, on affaiblit suffisamment le système immunitaire pour prévenir ce problème.¹⁶

Pour les essais cliniques du développement de tout médicament, on en a besoin de quantités importantes de la molécule étudiée, c'est pourquoi plusieurs groupes se sont lancés dans le développement de voies de synthèse du sLe^X.

0.2.2 Synthèse du sLe^X

La première synthèse du sLe^X a été rapportée par Hasegawa et ses collaborateurs en 1991. Le schéma 0.2 présente très brièvement l'approche utilisée par ce groupe de recherche.¹⁷ Les fragments fucose 2 et glucose 3 ont été les premiers couplés pour former le disaccharide 4. Ce dernier est couplé à un autre disaccharide 5, lequel est formé des portions galactose et acide neuraminique qui composeront le sLe^X. Après une série de manipulation des groupes protecteurs, ils ont obtenu le composé sLe^X.

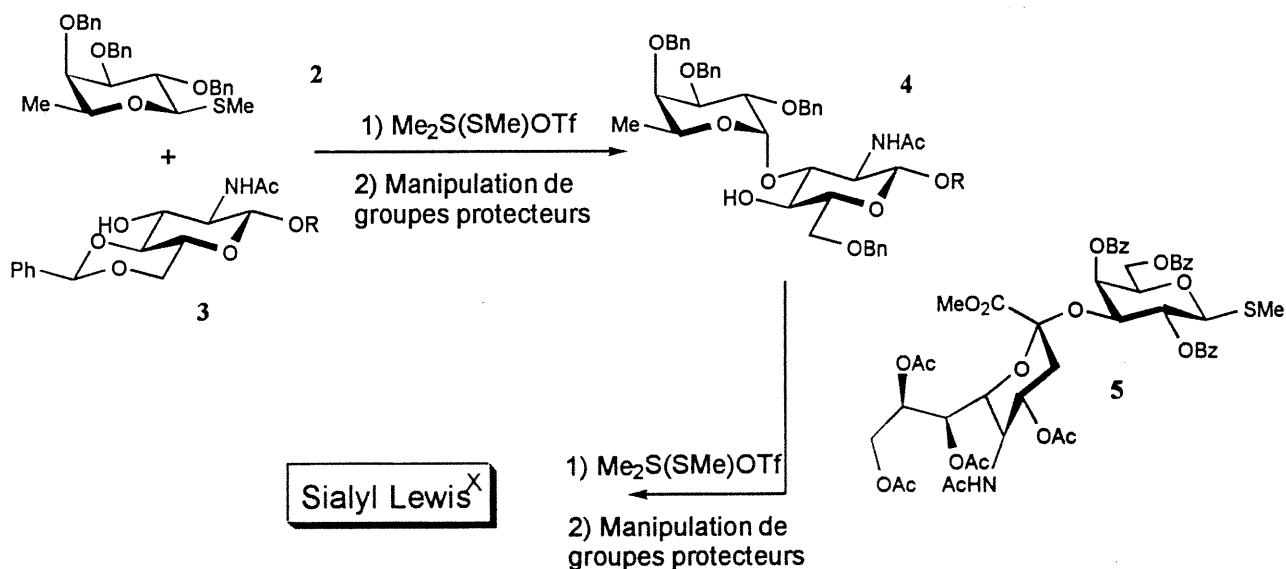


Schéma 0.2. Synthèse du sLe^X par Hasegawa

Depuis, plusieurs autres groupes ont proposé d'autres approches chimiques élégantes à la synthèse de ce ligand.¹⁸ Pour réduire le coût de sa fabrication et le nombre d'étapes, d'autres groupes ont développé des voies chemoenzymatiques.¹⁹

Ces séquences permettent de fabriquer sLe^X sur une plus grande échelle et la sélectivité des enzymes permet d'utiliser des carbohydrates non protégés, éliminant du coup les étapes de protection et déprotection. Néanmoins, malgré ces développements, le sLe^X demeure toujours un produit dispendieux.

0.2.3 Étude de relation structure-activité sur le sLe^X

Plusieurs études sur des dérivés tronqués du sLe^X ont été réalisées pour évaluer quels groupements sont essentiels à la liaison sur les sélectines. Ces données ont été couplées aux données de RMN sur le complexe sLe^X- sélectine E et du rayon X de la protéine seule pour évaluer avec quel acide aminé de la protéine ces groupements se lient.

Les groupements essentiels ont été identifiés comme étant les oxygènes 3 et 4 du fucose, qui font la liaison au calcium, ainsi que l'acide carboxylique de l'acide neuraminique (NeuAc), qui fait une liaison à l'arginine 97.²⁰ La modification du *N*-acétylglucosamine (GlcNAc) n'a que très peu d'influence sur la liaison à la protéine,²¹ tandis que l'utilité des hydroxyles portés par le galactose (Gal) sont sujets à débat. L'hydroxyle en position 4 devrait se lier à la tyrosine 94 du site actif, toutefois, alors que certains groupes argumentent qu'il soit essentiel à la liaison,²² d'autres ne l'identifient pas comme une fonction vitale à l'activité d'adhésion.²³ Nous croyons que cette polémique peut partiellement être comprise en regardant la force des interactions impliquées : la liaison au calcium et le pont salin entre l'acide et l'arginine peuvent être évaluées de même force soit une dizaine de kcal, alors qu'un simple pont hydrogène entre la tyrosine 94 et le galactose serait plutôt de l'ordre de trois kcal.²⁴ Ainsi, cette dernière liaison pourrait contribuer à la liaison du sLe^X à la protéine, mais de manière moins importante que les autres sites de liaison.

Les acides aminés de la protéine permettant la liaison sont situés dans une région d'environ 10 Å, qui peut être représentée par la figure 0.3 à la page suivante.²⁵

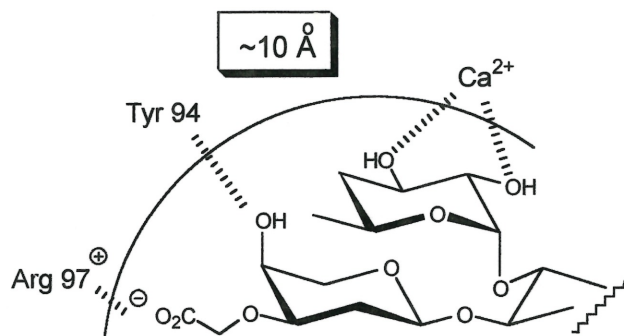


Figure 0.3. Site actif de la sélectine

Les figures 0.4 et 0.5 sont des représentations informatiques de la liaison du sLe^X à la sélectine E. La molécule de différentes couleurs (chacune représentant un type d'atome) est le sLe^X, tandis que le ruban bleu représente le squelette de la protéine, la sphère rose correspond à l'atome de calcium et les atomes jaunes sont les chaînes latérales des acides aminés impliquées au site actif, pour la liaison du sLe^X ou pour la liaison du calcium.

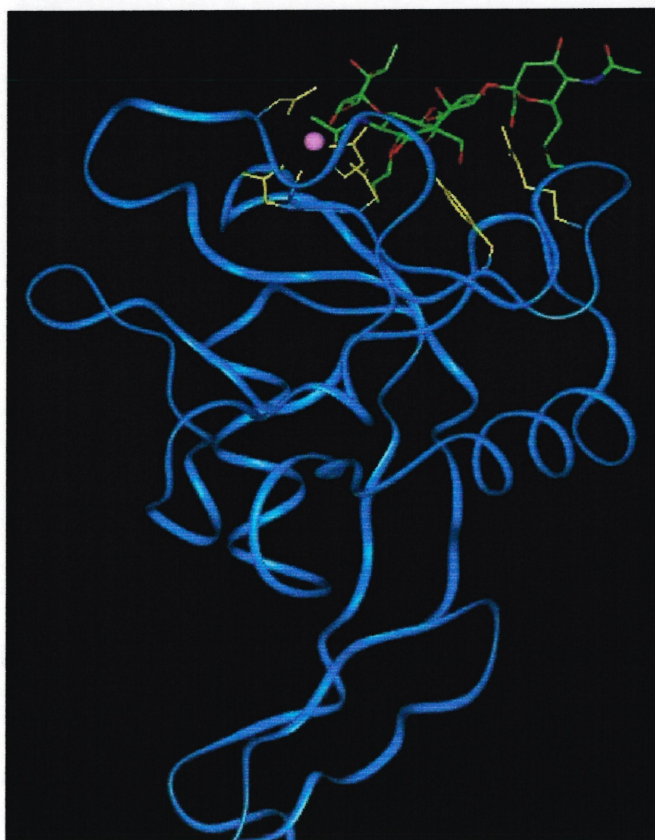


Figure 0.4. SLe^X et sélectine E

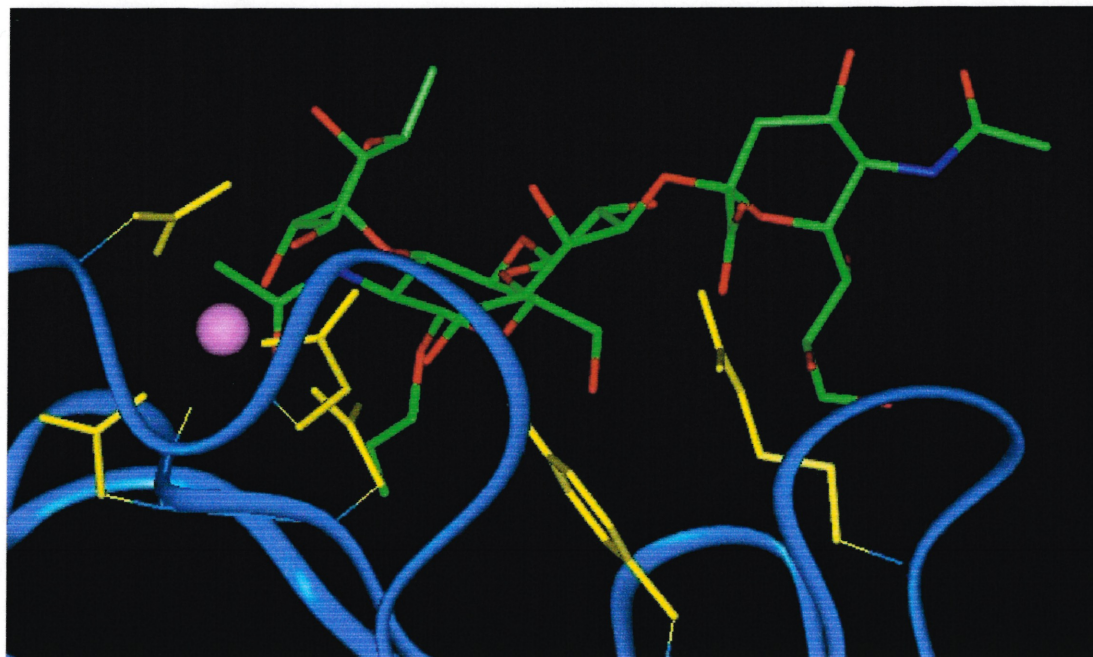


Figure 0.5. Agrandissement du site de liaison du sLe^X et de la sélectine E

0.3 Création de mimiques du sLe^X

Depuis cinq ans, plusieurs travaux ont été effectués en vue de la synthèse d'inhibiteurs du sLe^X, au point où une revue exhaustive de la littérature a déjà été publiée en 1998.²⁶

Les efforts (et les rêves) de ces scientifiques sont motivés par un objectif lointain : la conception d'un médicament. Et lorsqu'on pense à des molécules qui deviennent médicament, on songe à efficacité, stabilité et biodisponibilité. Les objectifs recherchés pour les inhibiteurs que l'on retrouve dans la littérature sont généralement une grande activité (au moins aussi grande que celle du sLe^X), des molécules qui contiennent le moins possible de fonctionnalités ou groupements instables dans les conditions métaboliques (comme les liens glycosidiques et peptidiques) et idéalement le candidat thérapeutique doit avoir une masse moléculaire inférieure à 500 g/mol et être passablement hydrophobe pour pouvoir pénétrer l'organisme à partir du système digestif.²⁷ Nous allons revoir très brièvement le chemin qui a été parcouru en ce sens durant les années en termes de design rationnel. C'est-à-dire comment, en modifiant le ligand naturel, les scientifiques se sont dirigés vers des inhibiteurs de plus en plus différents de la structure du sialyl Lewis X.²⁸

Il est à noter que dans la section qui suit, l'activité biologique des molécules synthétisées sera décrite en fonction de celle du sLe^X pour uniformiser les résultats : la liaison sLe^X/sélectine n'est pas très forte et la valeur de la liaison sLe^X/protéine mesurée peut changer selon le test et l'expérimentateur (nous y reviendrons à la section 0.4). Pour minimiser cette source d'erreur, on teste aussi le monomère du sLe^X dans le test biologique et on compare cette valeur obtenue à celle de la molécule étudiée. Donc, dans les tableaux, la valeur sera le ratio de l'activité de la molécule sur celle du monomère.

0.3.1 Modification systématique du sLe^X

À partir des groupements fonctionnels essentiels à la liaison du ligand au récepteur qui ont été discutés dans la section précédente, les scientifiques ont modifié systématiquement les sucres qui ne semblaient pas avoir d'interaction avec le site récepteur.

0.3.1.1 Remplacement de l'unité acide *N*-acétylneuraminique

En comparant la structure du sLe^X (figure 0.2) et les fonctions essentielles à la liaison (figure 0.3), on remarque que de toute la portion acide neuraminique, il ne semble y avoir que la fonction acide carboxylique d'essentielle, le reste de ce sucre n'est même pas un « espaceur » puisqu'il se trouve à une extrémité du ligand qui n'interagit pas avec la protéine. Plusieurs groupes ont effectué cette transformation, en remplaçant cette portion relativement complexe par un groupement chargé négativement.²⁹ Ce dernier devrait se lier à l'arginine 97 dans le site actif. Le tableau 0.2 montre certains composés type obtenus.

R	activité	numéro de molécule
CO ₂ ⁻	~1	6
OSO ₃ ⁻	3	7
OPO ₃ ²⁻	8	8

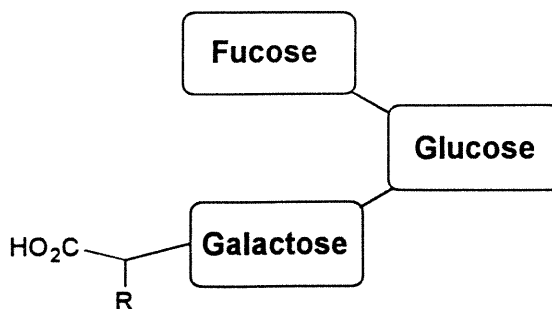


Tableau 0.2. Remplacement de l'unité NeuAc

Lorsqu'on remplace l'unité acide neuraminique par deux fonctions acides carboxyliques (molécule 6), on conserve la même activité que pour sLe^X . En remplaçant une de ces fonctions par un groupement sulfate (molécule 7) ou un groupement phosphate (molécule 8), l'activité a pu être légèrement améliorée. Elle n'est augmentée que par un facteur de 8, mais à ce stade les chercheurs désiraient plutôt vérifier s'il était possible de simplifier la structure du sLe^X au niveau de l'acide neuraminique. Les résultats obtenus indiquent que la simplification du sLe^X est possible, tout en s'assurant de conserver un groupement porteur d'une charge négative : la masse moléculaire a été réduite du quart et l'activité obtenue a été comparable à celle du ligand naturel.

0.3.1.2 Remplacement de l'unité acide *N*-acétylneuraminique et de l'unité *N*-acétylglucosamine

Comme on vient de le voir, l'acide neuraminique semble être majoritairement une portion de la molécule baignant dans le milieu aqueux lors de la liaison; une autre section du sLe^X semble aussi ne pas être extrêmement critique, soit l'unité glucosamine. Elle ne semble jouer qu'un rôle « d'espaceur » entre les parties agissant comme ligand sur la molécule de sLe^X (soit le diol du fucose et le groupe acide carboxylique de l'acide neuraminique). Les chercheurs ont testé plusieurs fragments permettant remplacer ce sucre. Le tableau 0.3 montre certains des résultats obtenus.³⁰

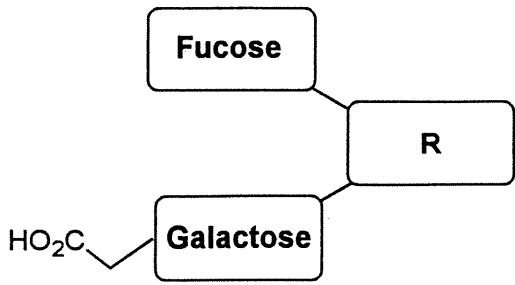
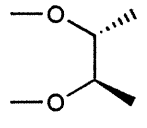
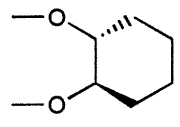
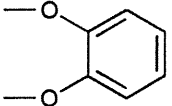
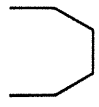
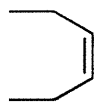
	<u>R</u>	<u>activité</u>	<u>référence</u>	<u>numéro</u>
		1	30a	9
		1,6	30b	10
		inactif	30b	11
		0,053	30c	12
		0,04	30c	13

Tableau 0.3. Modification de l'unité galactose

Mentionnons en premier lieu une différence entre ces inhibiteurs et ceux du tableau 0.2 concernant le remplacement de l'unité acide neuraminique. Les inhibiteurs illustrés au tableau 0.2 utilisaient deux fonctions chargées comme remplacement (acide carboxylique, sulfate ou phosphate), tandis que ceux du tableau 0.3 n'utilisent qu'une seule fonction acide carboxylique, la portion acide neuraminique étant remplacée par un fragment acide acétique lié au galactose.

Lorsqu'on utilise un fragment 2,3-butanediol (molécule 9) ou cyclohexanol *trans* (molécule 10) en remplacement de l'unité glucosamine, on conserve une activité de même ordre que sLe^X . Mais d'autres groupements comme un phényl (molécule 11), une chaîne butane (molécule 12) ou une chaîne (*Z*)-1,2-butène (molécule 13) produisent des mimiques ne présentant aucunes ou très peu d'activité. En choisissant bien le fragment, il est donc possible de simplifier la portion glucosamine tout en conservant l'activité de ces mimiques du sLe^X .

Certains groupes de recherche ont voulu pousser plus loin ce cheminement en retravaillant la portion de l'acide neuraminique, tout en conservant la modification de

la glucosamine. Le tableau 0.4 illustre les résultats obtenus en conservant le cyclohexandiol *trans* comme remplacement de la glucosamine.³¹

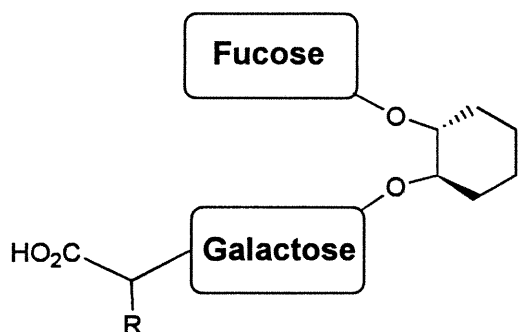
	<u>R</u>	<u>activité</u>	<u>référence</u>	<u>numéro</u>
	-H	1,6	30c	14
	-CH ₂ -Ph	2,29	31	15
	-CH ₂ -C ₆ H ₁₃	10	31	16

Tableau 0.4. Modification des unités galactose et acide neuraminique

Les molécules 14 et 15 présente une légère augmentation d'activité par rapport au sLe^X, mais avec un groupement cyclohexylméthylène (molécule 16), l'activité augmente d'un facteur de 10. Il est donc possible d'améliorer l'activité en simplifiant deux des quatre unités glycosidiques formant le sLe^X.

0.3.1.3 Remplacement de l'unité *N*-acétylglucosamine et de l'unité galactose

Une autre approche à la simplification du sLe^X a été de lier les portions fucose et acide neuraminique par des fragments plus simples, donc de remplacer les portions GlcNAc et Gal par un seul fragment simple, mais cette voie, comme on peut le voir dans le tableau 0.5, n'a pas eu tellement de succès.³²

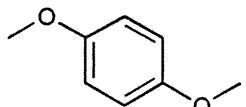
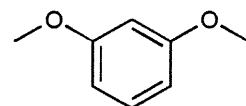

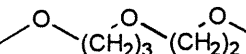
<div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">Fucose</div> <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">R</div> <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px;">Acide Neuramique</div>		R	activité	référence	numéro
			~0,05	32a	17
			~0,05	32a	18
			~0,05	32b	19
			inactif	32c	20

Tableau 0.5. Modification des unités galactose et *N*-acétylglucosamine

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'inefficacité de cette approche. Il y a d'abord la possibilité que la longueur du fragment ne soit pas convenable, c'est-à-dire que les groupements se liant au calcium à une extrémité et à l'arginine 97 à l'autre ne soient plus assez éloignés pour rejoindre leur cible. D'un autre côté, les molécules 17, 18 et 19 utilisent des fragments de remplacement rigides, qui pourraient empêcher les mimiques de se contorsionner suffisamment pour effectuer une bonne liaison.

De plus, les unités glycosidiques enlevées pouvaient avoir un rôle important d'orientation dans l'espace des groupements se liant à la protéine. Par exemple, le fragment utilisé pour la molécule 20, contrairement aux autres molécules du tableau 0.4, est extrêmement flexible, ce qui diminue d'autant plus la probabilité que la molécule se retrouve dans la conformation bioactive. En effet, cette molécule fait face à une perte d'entropie beaucoup plus grande que le sLe^X pour se lier au récepteur, car elle peut présenter beaucoup plus de conformations de basse énergie.

Enfin, il y a aussi l'hypothèse qui touche à l'utilité des hydroxyles de la portion galactose du sLe^X dans la liaison du substrat. Dans la section 0.2.3, nous avons indiqué que ceci faisait encore l'objet de débats. Malheureusement, ces exemples n'ont pas permis de trancher la question, ils ont plutôt ajouté à la confusion.

Bref, nous ne pouvons dire pourquoi ce type de molécule n'a pas une bonne activité, sauf que le peu de succès obtenu avec cette stratégie n'a pas incité beaucoup de chercheurs à persévérer dans cette voie. Comme on le verra, ce sont plutôt les inhibiteurs basés sur le fucose présentés à la section suivante qui attirent maintenant l'attention des chercheurs de ce domaine.

0.3.1.4 Remplacement des unités *N*-acétylglucosamine, galactose et acide *N*-acétylneuraminique

Dans la modification systématique du sLe^X, l'approche la plus radicale a été de remplacer les trois portions Gal, GlcNAc et NeuAc par un seul fragment plus ou moins complexe, créant des inhibiteurs basés sur le fucose. Puisqu'on sait que ce dernier peut se lier au calcium des sélectines, on doit y ajouter une fonction acide carboxylique pour lier l'arginine 97, ainsi qu'un groupe espaceur qui conférera une conformation bioactive à ces fonctions similaires à celles du sLe^X.

La première génération de ce type d'inhibiteurs utilisait une chaîne qui ressemble grandement au squelette du sLe^X (tableau 0.6).³³

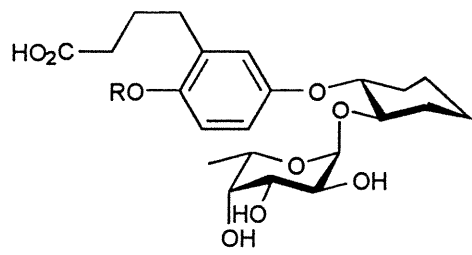
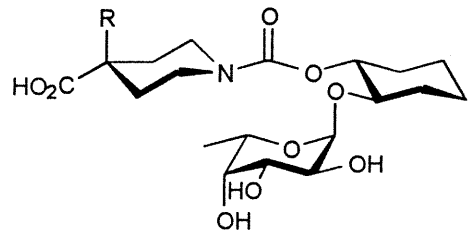
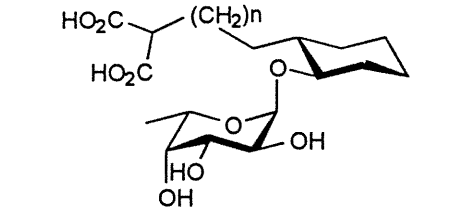
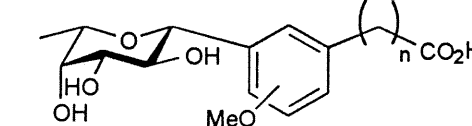
	<u>activité</u>	<u>référence</u>	<u>numér</u>
	R=H	inactif	33a 21
	R=Bn	0,24 (1R, 2R)	22
		1,09 (1S, 2S)	23
	R=H	inactif	33c 24
	R=CO ₂ H	0,5	25
	n=1	0,24	33b 26
	n=2	0,8	27
	n=3	0,20	28
	inactif pour E certaine activité pour P et L	33d	29

Tableau 0.6. Modification des unités glucosamine, galactose et acide neuraminique

Des molécules **21** à **29** illustrées au tableau 0.6, la seule molécule qui présente une activité supérieure à celle du sLe^X est la molécule **23**, mais celle-ci n'est plus active que de 9%. Il faut aussi remarquer que les autres molécules ont une activité similaire, bien que plus faible que celle du sLe^X. Les chercheurs ont donc dirigé leur attention vers des « espaceurs » plus élaborés entre les portions fucose et acide carboxylique.

Le groupe de Wong, par exemple, a utilisé un squelette peptidique pour mimer la portion entre le fucose et l'acide carboxylique. De nombreuses variantes ont été testées. Le tableau 0.7 illustre quelques-unes de celles-ci.³⁴

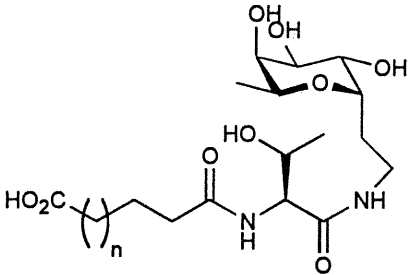
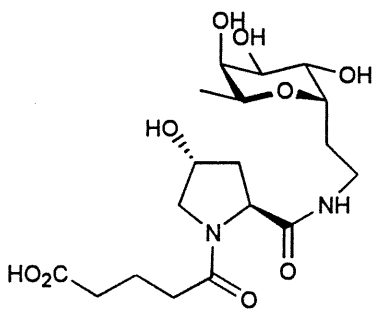
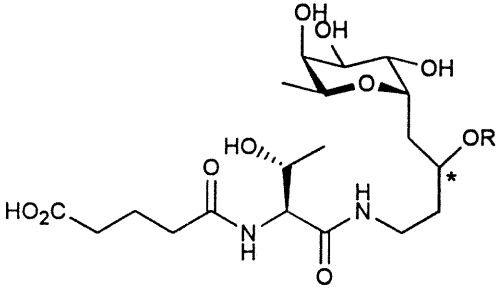
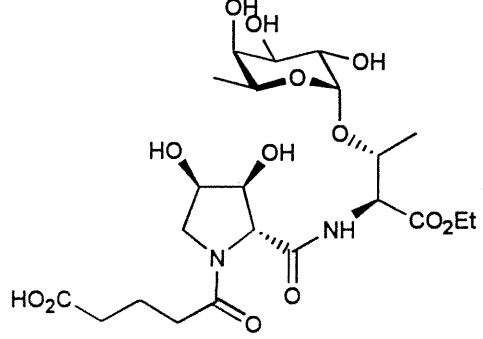
	<u>activité</u>	<u>référence</u>	<u>numér</u>
	n=1 =2	0,80 0,89	34a 31
	0,8	34b	32
	R=(CH ₂) ₂ Ph -(S) (CH ₂) ₂ Ph -(R) CH ₂ CONH(CH ₂) ₁₃ CH ₃	4,21 2,67 2,0	34a 34 35
	16,0	34b	36

Tableau 0.7. Glycopeptides de Wong³⁴

On remarque que Wong utilise des groupements hydroxyles sur le fragment servant « d'espaceur », afin de mimer le rôle de l'hydroxyle en position 4 du galactose, ce dernier pourrait faire un lien hydrogène avec la tyrosine 94. Tandis que les molécules 30, 31 et 32 présentent une activité légèrement plus faible que le sLe^X, les molécules 33 à 35 présentent une amélioration de l'activité. Dans ces dernières mo-

lécules, une chaîne hydrophobe est ajoutée au squelette principal et doit se lier à une portion hydrophobe de la protéine sélectine. Elle est rattachée à ce qui représenterait l'unité GlcNAc chez le sLe^X. Nous discuterons de ceci plus en détail à la section 0.3.2.

Le meilleur candidat de ces auteurs³⁴ est la molécule **36** puisque cette molécule présente une activité seize fois supérieure à celle de sLe^X.

Finalement, d'autres types de fonctions peuvent être utilisés avec succès pour espacer les fonctions de liaison essentielles des inhibiteurs : l'équipe de Kogan a choisi des fragments aromatiques substitués pour espacer le fucose de la fonction acide carboxylique.^{23b,35} La figure 0.6 illustre le type de molécules testées.

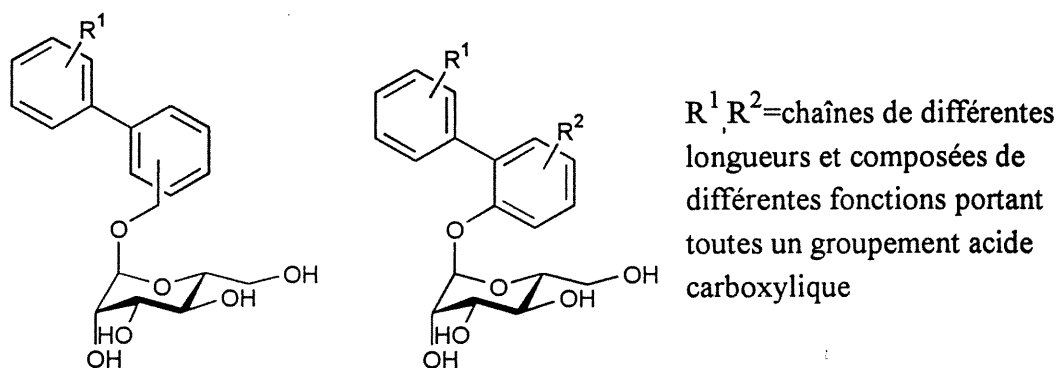


Figure 0.6. Glycoaromatiques de Kogan³⁵

Ce groupe a utilisé une part importante de modélisation moléculaire pour faire le design de ses inhibiteurs. Nous reparlerons en détail de cette approche au chapitre 1. Ainsi, une fois le travail informatique complété, plus de 40 composés ont été synthésés et testés. Le meilleur inhibiteur trouvé par ces derniers est le composé **37**, illustré à la figure 0.7. Il présente une activité 2,7 fois supérieure à celle du sLe^X.

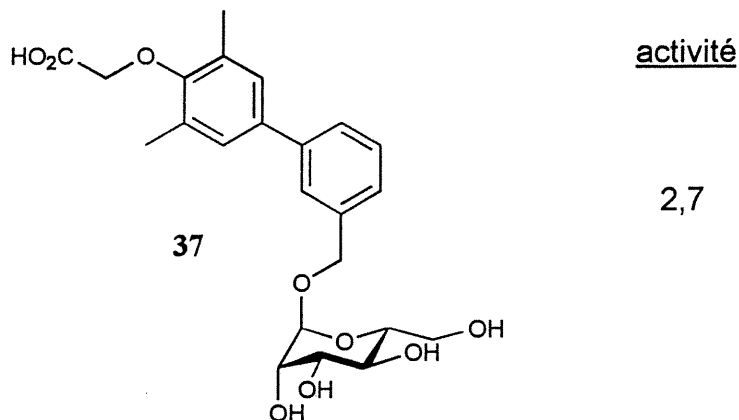


Figure 0.7. Composé le plus actif de l'équipe Kogan³⁵

Hanessian et ses collaborateurs ont pour leur part utilisé une indozilidone, reconnue pour induire des repliements β des chaînes peptidiques, pour espacer les composantes fucose et acide carboxylique de leurs inhibiteurs (figure 0.8).³⁶ Ils ont procédé systématiquement, en effectuant d'abord le remplacement de la partie glucosamine pour obtenir la molécule **38**. Ensuite, deux molécules ont été synthétisées où l'unité glucosamine est toujours remplacée par une fonction indozilidone, mais où l'acide neuraminique est lui aussi simplifié pour donner les composés **39a** et **39b**. Enfin, tout en gardant l'acide neuraminique simplifié, les unités galactose et glucosamine furent toutes deux remplacées par une fonction indozilidone pour donner la molécule **40**. Un dernier composé toujours basé sur le fucose, mais présentant un squelette différent des autres composants a aussi été synthétisé et testé, soit la molécule **41**. Malheureusement, aucun des analogues synthétisés n'a donné un niveau d'activité jugé satisfaisant ($IC_{50} > 10\mu M$).*

* Ces résultats décevants ont été expliqués par la modélisation moléculaire; en effet aucune des molécules synthétisées ne possédait de conformation de basse énergie similaire à la conformation bioactive.

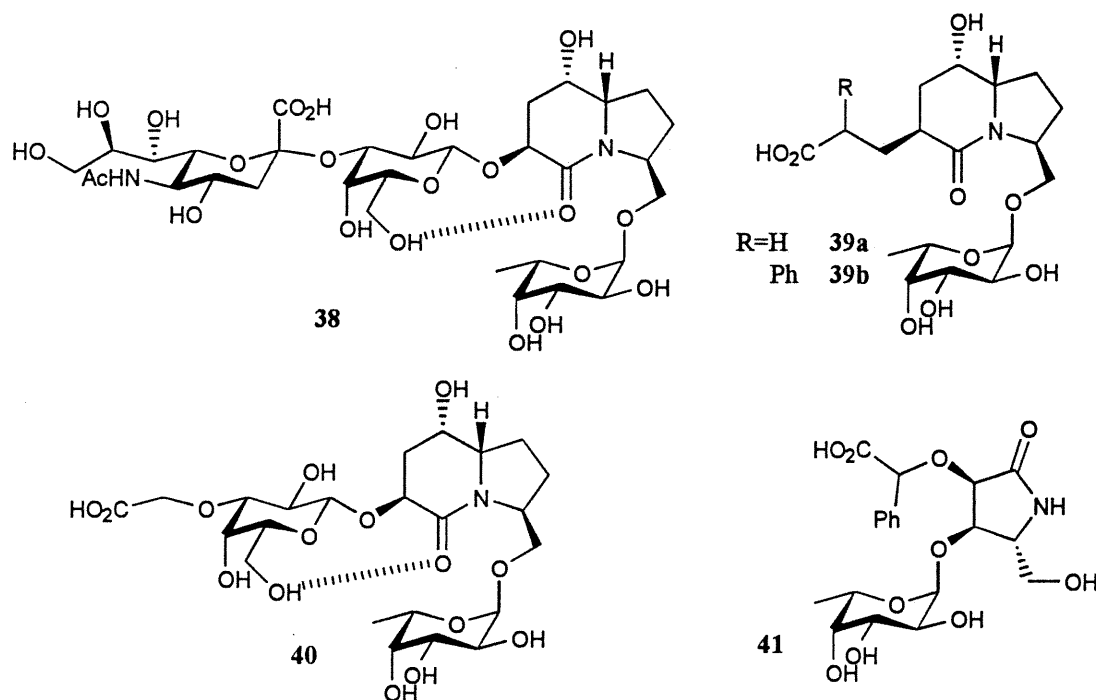


Figure 0.8. Molécules synthétisées par l'équipe Hanessian

En conclusion, il ressort de ces exemples qu'il est possible de simplifier la structure du ligand naturel sLe^X tout en conservant son activité. Cependant, l'augmentation d'activité qui semble pouvoir résulter de ces modifications n'est pas tellement grande; dans le meilleur des cas elle est de 16 fois supérieure à l'activité du sLe^X (molécule 36). C'est pourquoi différents groupes de recherche ont utilisé des stratégies autres que la simplification du sLe^X pour le développement de nouveaux inhibiteurs. C'est ce que nous verrons immédiatement dans les sections suivantes.

0.3.2 Ajout de chaînes hydrophobes aux mimiques du sLe^X

Dans le but de trouver une piste pour dépasser systématiquement le niveau d'activité du sLe^X , plusieurs groupes de recherche ont tenté de découvrir d'autres sites de reconnaissance du ligand naturel sur le récepteur. En particulier, ils ont tenté de cibler une zone plus hydrophobe que la partie hydrophile reconnue par le sLe^X . Comme on peut le voir dans le tableau 0.8, afin d'étudier cette zone différentes chaînes hydrophobes ont été ajoutées à la portion GlcNAc du sLe^X .³⁷

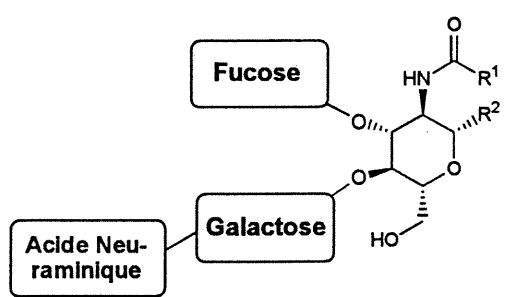
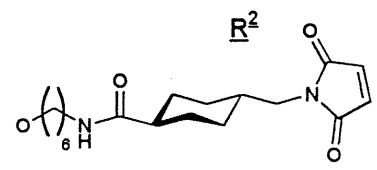
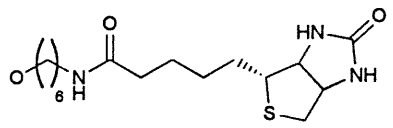
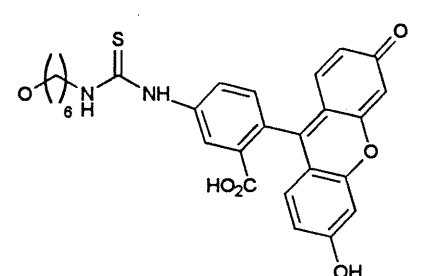
	R^1	R^2	activité	référence	numéro de molécule
	$C_{12}H_{25}$	C_4H_9	0,4	37b	42a
	Et	C_4H_9	0,8		42b
	$C_{12}H_{25}$	Me	0,5		42c
	Et	Me	0,53		42d
	$C_{12}H_{25}$	Napht	8		42e
	Et	Napht	8		42f
R^1	R^2				
H		1,4	37a	42g	
H		1,2	37a	42h	
H		2,9	37a	42i	

Tableau 0.8. Ajout de chaînes hydrophobes aux mimiques du sLe^X

De nombreuses chaînes ont été examinées : méthylée, éthylée, butylée, dodécylée et naphtylée (les molécules **42a-f**). De plus, des chaînes très complexes ont été synthétisées (molécule **42g, h et i**), mais hélas sans grand succès. Ce sont les groupements naphtaléniques qui ont montré la plus grande augmentation de l'activité (huit fois, molécules **42e, f**).

Pour vérifier le potentiel de cette interaction hydrophobe, on a même complètement enlevé les groupes utilisés pour faire une liaison sélective au calcium (généralement le fucose). Les molécules testées sont toutefois semblables à des surfactants avec la portion très polaire portant les groupements oxygénés reliés à une longue chaîne hydrophobe.³⁸ La figure 0.9 illustre le type de molécules synthétisées.

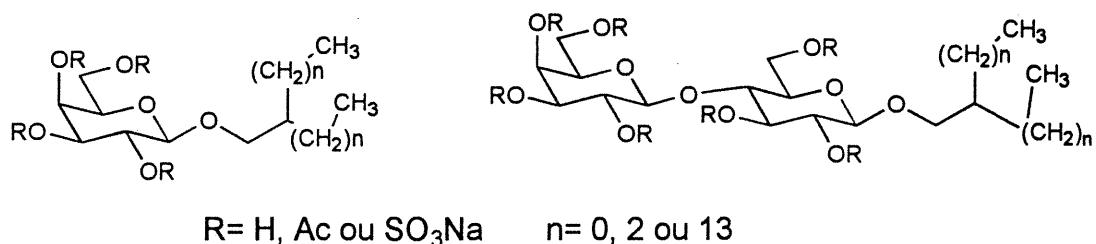


Figure 0.9. Mimiques du sLe^X ayant des propriétés de surfactants

Cette approche n'a malheureusement fourni que des composés qui, dans le meilleur des cas, n'avaient une inhibition que de 55% à 0,3 mM, ce qui suggère fortement que l'interaction ligand-calcium est très importante dans l'énergie totale de liaison.

0.3.3 Synthèse d'oligomères du sLe^X

Il a été démontré que le ligand sLe^X se retrouve toujours sous la forme de trimère sur les cellules des organismes; certains groupes ont donc exploré cette voie, pour tenter d'imiter la nature. Ils ont généré des multimères du ligand sLe^X. La principale difficulté avec ce type d'approche est que la disposition des unités sLe^X à l'état naturel n'est pas connue, ceci faisant en sorte que la longueur et la rigidité des liens entre les différentes unités de sLe^X sont presque aléatoires. Conséquemment, les chercheurs n'ont trouvé que peu d'augmentation d'affinité, mais en revanche, ils ont observé une perte totale de la sélectivité. Puisque ce type de recherches s'éloigne de notre objectif et n'apporte pas d'élément factuel à la discussion, nous n'entrerons pas dans les détails, mais les références citées amèneront le lecteur intéressé aux articles importants.³⁹

0.3.4 Utilisation de polyanions comme inhibiteurs

O'Connel et collaborateurs ont remarqué que des molécules polyanioniques relativement simples, par exemple des cyclodextrines sulfatées ou des polymères anioniques, présentent une grande affinité pour la sélectine L.⁴⁰ Cette observation a amené Kretzschmar et ses collaborateurs à construire une banque d'oligonucléotides qui présentent une grande affinité et sélectivité pour la sélectine E.⁴¹ Toutefois, en-

core ici, nous n'entrerons pas dans les détails de ces travaux car ils s'éloignent aussi de nos objectifs. Néanmoins, une observation très importante concernant les sélectines a été faite lors de ces travaux : il a été montré que des résidus de colonnes échangeuses d'ions pouvaient présenter une activité biologique!

L'équipe de Kretzschmar a observé que l'eau déionisée utilisée pour mouiller et rincer certaines de ces colonnes présentait une activité biologique dans les tests utilisés pour évaluer l'affinité de molécules pour les sélectines. Ces résines sont composées de polymères, mais il peut s'y retrouver des oligomères de poids moléculaire relativement bas, donc qui ne sont pas aussi bien retenus dans la résine. Ces oligomères seraient des chaînes polyanioniques et peuvent donc présenter le même type d'activité que les autres molécules discutées dans cette section. Ce résultat a fait planer une ombre sur les travaux publiés jusqu'à cette date, car comme la majorité des inhibiteurs présentent une fonction acide carboxylique pour se lier à l'arginine 97, ces molécules ont souvent été purifiées par ce type de résine. Le doute surgit principalement au niveau de l'activité biologique observée : provient-elle de la molécule ou de résidus provenant de la colonne ? Pour éviter ce problème, les molécules testées très polaires sont désormais purifiées sur des colonnes d'exclusion stérique, où elles sont séparées selon leur grosseur. On utilise principalement le gel Sephadex®, qui est formé de cellulose, un polymère du glucose. Jusqu'à ce jour, il n'y a pas eu de problème d'interférence signalé dans la littérature.

0.3.5 Utilisation de peptides comme inhibiteurs

Des peptides ont aussi été testés pour prévenir l'adhésion de neutrophiles aux sélectines. Ces derniers ont donné de bons résultats *in vitro*.⁴² Comme dans le cas des oligomères du sLe^x, établir la liste exhaustive des résultats de cette approche n'apporterait pas à la présente discussion. Ainsi, nous invitons une fois de plus les intéressés à consulter la référence 42 de Rao et ses collaborateurs.

0.3.6 Autres types d'inhibiteurs

D'autres familles de composés ont aussi été reconnues comme des inhibiteurs de la sélectine E.

Par exemple, deux macrolides (**43a** et **43b**) qui à prime abord ne semble pas présenter aucune des fonctions qui ont été décrites comme essentielles pour la liaison aux sélectines, a été décrit comme présentant une activité inhibitrice (figure 0.10).⁴³

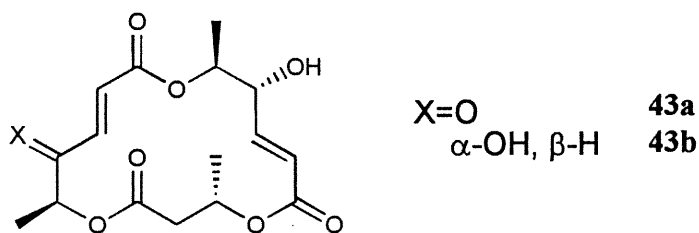


Figure 0.10. Macrolide

Malheureusement, d'une part les détails de son activité biologique ne sont pas expliqués dans la référence citée et d'autre part nous n'avons pu retracer une description plus détaillée à ce sujet dans la littérature depuis.

Finalement, le groupe de Kondo a récemment publié une molécule qui a été choisie sur la base de recherches dans une banque de données de molécules en trois dimensions. Les sites regardés étaient l'acide pour la liaison à l'arginine 97, la liaison au calcium, puis les sites de liaisons supplémentaires, soit les chaînes hydrophobes. La molécule **44** retenue est représentée à la figure 0.11.⁴⁴

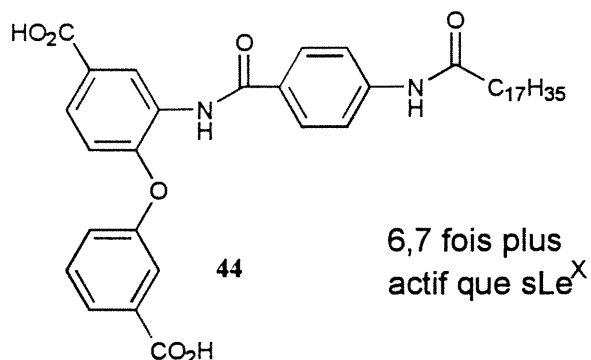


Figure 0.11. Inhibiteur ne comportant pas de diol

Cette molécule présente une activité 6,7 fois supérieure à celle de sLe^X. À notre avis, le point le plus intéressant à noter est la modification du ligand au calcium; en effet, un acide carboxylique peut remplacer le diol du fucose.⁴⁵

0.3.7 Effet de la chiralité chez les inhibiteurs

Dans la nature, tous les récepteurs ou presque sont chiraux, cependant certains sites actifs de protéine ont la particularité de pouvoir accommoder les deux énantiomères d'une molécule. Dans le cas des sélectines, la liaison au calcium se fait à l'aide du fucose naturel. Dans la littérature, il n'a pas d'exemple où l'utilisation de l'autre énantiomère de ce ligand a été testé. De plus, il n'y a pas non plus d'exemple où les deux énantiomères d'un mimique du fucose ont été testés.

Toutefois, puisque beaucoup d'inhibiteurs sont synthétisés à partir de produits naturels optiquement purs (le fucose ou le mannose par exemple), plusieurs groupes ont séparé les diastéréoisomères formés et ont testé les deux produits séparément afin de comparer leur activité. Revoyons ces exemples.

En premier lieu, on peut voir à la section 0.3.1.4 (tableau 0.8) que des diastéréoisomères peuvent présenter une différence d'activité. Néanmoins, les deux molécules sont actives et la différence d'activité entre les deux n'est pas tellement grande.

Kondo, pour sa part, a synthétisé des inhibiteurs basés sur un squelette peptidique, il a donc pu utiliser les acides aminés D et L pour tester les différentes permutations.⁴⁶ Le tableau 0.9 illustre ces résultats.

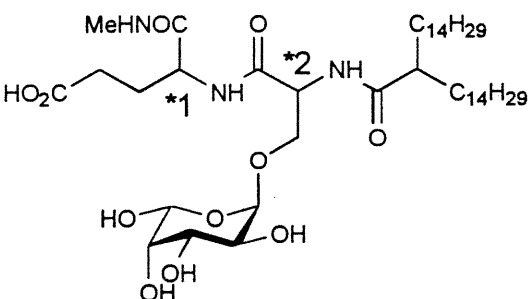
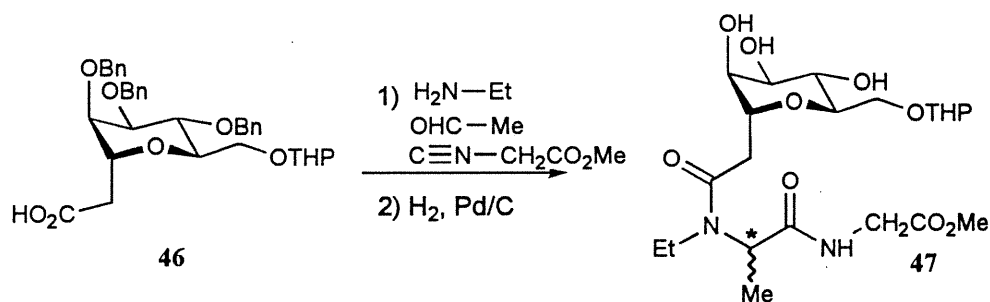
		<u>*1</u>	<u>*2</u>	<u>activité</u>	<u>numéro de molécule</u>
		D	L	46,2	45a
		L	D	109	45b
		L	L	inactif	45c
		D	D	inactif	45d

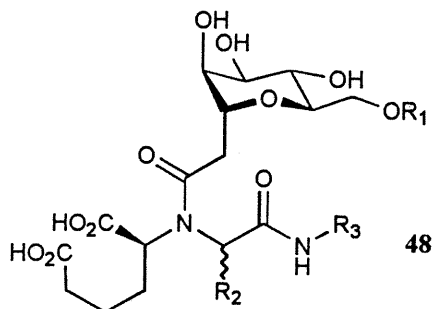
Tableau 0.9. Glycopeptides synthétisés par Kondo

Une étude de modélisation moléculaire a permis à ce groupe de montrer pourquoi les molécules formées seulement d'acides aminés de configurations opposées (**45 b et c** versus **a et d**) présentaient une activité biologique.

Le groupe de Chi-Huey Wong a d'autre part utilisé la réaction de Ugi qui combine quatre fragments de molécules pour accéder rapidement à une série d'analogues du sLe^X.⁴⁷ L'équation 0.1 montre un exemple de cette réaction qui permet de transformer le carbohydrate **46** en glycopeptide **47**. Puisque le mannose utilisé était optiquement pur, les diastéréoisomères formés ont pu être séparés et testés. Le tableau 0.10 montre les résultats d'inhibition de chacun des diastéréoisomères pour les différentes molécules synthétisées **48a-g**.



Équation 0.1



#	R ¹	R ²	R ³	diast.	activité
a	H	CH ₃	CH ₂ CO ₂ Me	1	0.48
				2	1.33
b	(CH ₂) ₄ OCH ₂ CH ₂ O) ₃ Et	CH ₃	CH ₂ CO ₂ Me	1	1.60
				2	0.96
c	(CH ₂) ₃ ArOArOPh	CH ₃	CH ₂ CO ₂ Me	1	1.14
				2	0.80
d	H	CH ₃	CH ₂ CO ₂ Me	1	0.14
				2	0.17
e	H	CH ₃	(CH ₂) ₂ Ph	1	<0.16
				2	<0.16
f	H	CH ₃	C(CH ₃) ₃	1	<0.16
				2	<0.16
g	H	(CH ₂) ₂ CO ₂ H	CH ₂ CO ₂ Me	1*	<0.16

* Un seul diastéréoisomère a été formé lors de cette réaction

Tableau 0.10. Diastéréoisomères obtenus par la réaction de Ugi

Encore une fois, on remarque que les deux diastéréoisomères d'une même paire ont sensiblement la même activité.

Malheureusement, on apprend que peu de chose lorsqu'on compare ces diastéréoisomères. En effet, les changements sont peu significatifs face au reste de la molécule en terme de taille et des autres centres stéréogéniques. Il semble que les fonctionnalités touchées par ces changements de stéréochimie ne sont pas les plus critiques pour la liaison au récepteur (la liaison au calcium demeure constante) ces dernières étant généralement situées sur de longues chaînes flexibles pouvant aisément compenser pour une inversion à un seul centre stéréogénique.

0.3.8 Variation de la fonction permettant la liaison de l'inhibiteur au calcium

Comme on l'a vu vérifié tout au long de cette revue de la littérature sur le sujet, la liaison au calcium se fait majoritairement soit par une unité fucose, comme dans le ligand naturel sLe^X, soit par un mannose, comme dans une protéine parente présentant un haut degré de similitude avec la sélectine E : la protéine de liaison du mannose chez le rat (chapitre 1). Certains inhibiteurs ne comportent pas de fonctions glycosidiques, tels les peptides, oligonucléotides et surfactants. On ne peut cependant dire si ces molécules se lient effectivement au site récepteur, et par quelle fonction. Il demeure la possibilité qu'elles se lient ailleurs sur la protéine entraînant un changement de conformation qui modifie la conformation du site récepteur et empêche le sLe^X de s'y lier (inhibition allostérique).

0.4 Objectifs pour la synthèse de nouveaux inhibiteurs

Quel chemin a été parcouru par tous ces travaux se rapportant aux sélectines ? Beaucoup de molécules présentant une activité biologique ont été synthétisées, mais d'autres critères sont essentiels pour un bon inhibiteur des sélectines, tels que l'efficacité, la stabilité et la biodisponibilité.

L'efficacité est le critère qui jusqu'à maintenant a donné le plus de résultats. On a réussi à synthétiser des inhibiteurs qui possèdent une plus grande activité *in vitro* que le ligand naturel. Les inhibiteurs se lient plus fortement que le sLe^X, mais les activités se situent généralement dans le millimolaire et se retrouvent dans le micro-molaire dans les meilleurs cas. Un autre problème rencontré est l'évaluation de cette activité biologique : les résultats pour une même molécule peuvent malheureusement varier selon la méthode utilisée.⁴⁷

Côté stabilité, on vise à long terme des molécules qui ne seront pas dégradées très rapidement par le corps. En regardant les structures, on remarque énormément de fragments carbohydrates liés par des liens glycosidiques et parfois combinés à des liens peptidiques. Ces composés utilisés comme agents thérapeutiques représentent

un risque important de dégradation dans le milieu digestif s'ils venaient à être administrés par voie orale.

Enfin, rappelons que l'on cherche à faire des molécules ayant un poids moléculaire inférieur à celui du sLe^X pour en faciliter l'absorption. Cependant, en regardant les composés synthétisés jusqu'à ce jour, ce sont encore de grosses molécules qui sont testées comme inhibiteurs des sélectines.

À la lumière de ces résultats, on peut conclure qu'il y a encore beaucoup de chemin à parcourir dans le domaine du développement d'inhibiteurs des sélectines. Pour notre part, nous nous sommes attaqués à ce champ d'étude en ayant quelques objectifs spécifiques en tête. Nous recherchons de petites molécules ne comportant pas d'unité carbohydate. Le chapitre suivant exposera le choix et le design *via* la modélisation moléculaire de tels inhibiteurs.

*Design rationnel
d'inhibiteurs des sélectines*

1 Design rationnel d'inhibiteurs des sélectines

Le XX^e siècle est celui où on a vu l'émergence d'un très grand nombre de médicaments pour soigner ou soulager la majorité des maladies et des maux des êtres humains, plusieurs maladies infectieuses ont pu être éradiquées ou du moins contrôlées. Traditionnellement, on utilisait des produits naturels comme remèdes, mais la science s'est raffinée jusqu'à être capable de faire le design et de synthétiser des médicaments que l'on ne retrouve pas à l'état naturel. Plusieurs méthodes ont été utilisées, selon les périodes, pour la création de nouvelles molécules biologiquement actives. Il y a d'abord eu la synthèse d'analogues de médicaments connus : ces nouveaux composés pouvaient présenter une plus grande efficacité, moins d'effets secondaires, etc. Dans la même veine, il avait et il y a toujours l'exploitation des effets secondaires. En effet, lorsqu'on observe un effet secondaire assez marqué chez un médicament qui peut avoir une utilité pour une autre indication (par exemple laxatif, somnolence,...), on peut tenter de modifier la structure de la molécule initiale pour réduire l'effet principal et maximiser l'effet secondaire (par exemple le *Viagra* de *Pfizer*). Aussi, lorsque les compagnies pharmaceutiques sont devenues suffisamment importantes et voyant qu'elles possédaient de vastes banques de composés, elles ont pu s'en servir à bon escient afin de faire le criblage biologique de tous leur produits dans le but d'identifier de nouvelles molécules biologiquement actives. L'automatisation des industries a grandement accéléré le développement de cette méthode, car on peut maintenant confier la tâche répétitive de faire les milliers de tests biologiques à des systèmes robotisés. Puis est venu le design rationnel avec l'amélioration des techniques biologiques couplées à l'informatique. Par exemple, on peut utiliser comme information de base des données de cristallographie des rayons X de la protéine, des études RMN de transfert nOe entre le ligand et la protéine ainsi que la modélisation moléculaire par homologie à partir d'une protéine similaire de structure connue, afin de faire le design d'une nouvelle structure moléculaire ayant des chances d'agir en tant qu'inhibiteur. Plus récemment, la chimie combinatoire a fait son entrée dans les laboratoires en tant que stratégie de découverte de molécules biologiquement actives. Il s'agit de synthétiser à la fois toute une famille de molécules plutôt qu'une seule, ceci augmentant de façon presque exponentielle la quantité de

molécules que l'on peut soumettre à un test biologique donné. On voit aussi de plus en plus de variantes intermédiaires combinant les deux approches, celle du design rationnel et de la chimie combinatoire. Puisque nous sommes dans un milieu académique, nous avons préféré utiliser une approche totalement rationnelle, qui nous permet d'impliquer une part plus importante de modélisation moléculaire et de principes fondamentaux reliés à la reconnaissance moléculaire.

1.1 Bref aperçu de la modélisation moléculaire

Pour notre travail, nous avons choisi l'approche de l'arrimage (docking) de la molécule cible sur le récepteur de la protéine. Ce type de modélisation moléculaire peut se résumer en trois points majeurs : le modèle, l'arrimage et l'évaluation.

Pour pouvoir arrimer une molécule à une protéine, il faut un modèle informatique de cette protéine, dans sa conformation bioactive. Tel qu'indiqué plus haut, il existe plusieurs méthodes pour obtenir ces modèles, mais la plus fiable et la plus pratique demeure la structure par diffraction de rayons X de la protéine de préférence co-cristallisée avec un ligand arrimé à son récepteur. Dans un tel cas, il ne reste plus qu'à accéder à la *Protein Data Bank* sur le réseau Internet et d'y télécharger les coordonnées de la protéine. Les logiciels de modélisations moléculaires peuvent ensuite les retransformer en structure tridimensionnelle. Si la structure par rayons X n'est pas disponible, le travail est beaucoup plus long et le modèle obtenu peut être passablement éloigné de la réalité. Il faut alors utiliser la structure primaire de la protéine, tenter de reconnaître des séquences d'organisation de structures secondaires, utiliser des données de spectroscopie RMN et faire des homologies avec des protéines similaires connues.

Une fois le modèle en main, nous pouvons passer à l'étape d'arrimage de la molécule cible. Encore une fois, plusieurs voies sont disponibles. Il est possible de simplement placer la molécule sur le récepteur en ayant soin de mettre à proximité les groupes devant fournir une interaction favorable i.e. attractive et celle-ci devrait s'y placer correctement en autant que les liaisons en question soient suffisamment fortes. Toutefois, la méthode optimale consiste à superposer la molécule candidate virtuelle

au ligand naturel sur le récepteur de façon à ce que les groupements fonctionnels imitant ceux du substrat naturel se retrouvent déjà orientés vers les bons sites de liaison. Certains logiciels de modélisation moléculaire permettent même de forcer ces groupements dans une conformation voulue en appliquant une force dont il sera tenu compte dans l'évaluation de l'énergie totale de liaison.

Enfin, lorsque la molécule est bien arrimée sur la protéine et que ceci correspond à une valeur favorable d'énergie, nous pouvons procéder à l'évaluation virtuelle des diverses molécules candidates. Le logiciel permet généralement de faire le bilan des interactions électrostatiques, de Van der Waals et des ponts hydrogène.

Voyons maintenant comment tout ceci s'est déroulé dans notre cas soit celui de la sélectine E.

1.1.1 Homologie entre la protéine de liaison du mannose chez le rat (rMBP) et la sélectine E⁴⁸

Heureusement pour les groupes de recherche s'intéressant à développer des mimiques du sLe^X, les coordonnées d'une structure par diffraction de rayons X de la sélectine E sont disponibles dans la littérature.⁴⁹ Selon le résumé fait plus haut, on pourrait être tenté de croire que cette étape est définitivement réglée. Toutefois, un problème surgit un peu plus loin et concerne l'atome de calcium retenu dans le récepteur de la protéine. Celui-ci est maintenu en place par quatre chaînes latérales d'acides aminés. Soulignons qu'au départ nous voulions utiliser le logiciel *Insight II* de *Biosym* avec le champ de force *cff91*,⁵⁰ mais malheureusement cette combinaison est surtout orientée vers les biopolymères et est moins précise pour les métaux. Par exemple, la sphère de coordination au calcium ne peut être considérée que sous la forme d'un octaèdre. Ainsi, il n'y a pas de paramètre pour tenir compte d'une variation de l'énergie de liaison en fonction de l'angle des ligands au métal.

La solution pour contourner cet obstacle, tel que proposé par Kogan *et al.*, est de transformer le calcium en une sphère chargée 2⁻, puis de fixer ses ligands pour ne pas qu'ils se « déplacent » lors de la modélisation.^{23b} En ce qui concerne les inhibi-

teurs du sLe^X à modéliser, on pose l'hypothèse que ces derniers se lieront au calcium de la même façon que le diol de la partie fucose du sLe^X , c'est-à-dire avec la même distance et les mêmes angles. Selon cette hypothèse, il ne reste qu'à superposer le diol (ou toute autre fonction destinée à le remplacer) à celui du fucose du sLe^X arrimé à la protéine ; de cette manière, les inhibiteurs cibles présentent la même orientation que le ligand naturel face au calcium. Ceci amène toutefois un nouveau problème : la structure rayons X disponible pour la sélectine E est celle de la protéine seule, car elle n'a pas été co-cristallisée avec son ligand. Il nous fallait donc obtenir, avant de procéder, un nouveau modèle soit celui du sLe^X arrimé sur la sélectine E.

Pour construire ce dernier, nous avons utilisé la technique de l'homologie avec une protéine similaire. La protéine de liaison du mannose chez le rat (rMBP) a été co-cristallisée avec un oligomère du mannose. Son ligand naturel présente une bonne similitude avec celui de la sélectine. La stratégie consiste donc à superposer la sélectine E au complexe rMBP/oligomannose en gardant fixe le calcium et ses ligands, tout en minimisant les distances entre les autres résidus.⁵¹ L'hypothèse est posée que sLe^X va se lier de la même manière que l'oligomannose. On superpose donc les hydroxyles 2 et 3 de l'unité fucose du sLe^X avec les hydroxyles 2 et 3 de l'oligomannose (figure 1.1), puis on retire le complexe rMBP/oligomannose, laissant un complexe sélectine E/ sLe^X . Préalablement à la superposition du sLe^X , il faut avoir utilisé des données de spectroscopie RMN pour s'assurer que ce dernier se trouve dans sa conformation bioactive. Une fois cette opération réussie, nous sommes donc en présence d'un modèle optimisé de la sélectine E/ sLe^X qui devrait permettre de faire l'évaluation virtuelle des nouvelles molécules projetées.

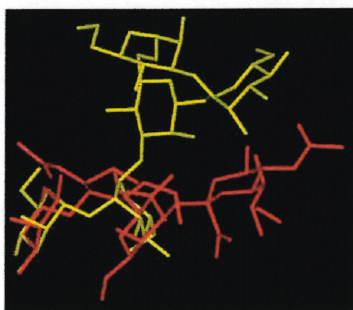


Figure 1.1. Superposition du sLe^X (rouge) et de l'oligomannose ligand de la protéine rMBP (jaune).

À ce stade, on pourrait se demander pourquoi peut-on se permettre d'utiliser la rMBP, sachant que cette protéine ne possède une similarité de séquence avec la sélectine E que de 25%. Nous devons donc spécifier que cette similarité est très grande *au niveau du site récepteur*. Avec la mutation d'un seul acide aminé (l'alanine 77 en une lysine), la sélectivité de la sélectine E passe de la liaison d'un composé du fucose à celle d'un oligomannose, ce qui montre bien sa ressemblance à la rMBP.⁵² En utilisant le calcium et ses ligands comme points de superposition, la minimisation de la droite des moindres carrés des différences de distances (RMS fit) donne une valeur de 0,134 Å, ce qui est jugé comme étant très bon. La figure 1.2 illustre cette superposition.



Figure 1.2. Superposition de la sélectine E (bleu marin) et de la rMBP (bleu pâle), les ligands du calcium (rose) apparaissent en jaune

Lorsqu'on regarde le modèle sélectine E/sLe^X présenté aux figures 0.4 et 0.5 du chapitre précédent, on voit que le diol du fucose est effectivement lié au calcium. Les figures montrent aussi que le carboxyle de l'acide neuraminique (NeuAc) du sLe^X se trouve à 2,13 Å de l'arginine 97 et que l'hydroxyle en position 4 du galactose se trouve aussi à 1,84 Å de la tyrosine 94 (il est à noter que Kogan^{28b} a délibérément choisi de négliger cette interaction dans le développement de ses inhibiteurs).

1.1.2 Ajustement des nouvelles molécules au gabarit (template) du modèle

Lorsqu'on dessine une molécule à l'écran en modélisation moléculaire, elle se retrouve dans une conformation quelconque qui est probablement peu ou pas représentée à température ambiante. On doit alors procéder à des minimisations pour diminuer l'énergie totale de la molécule en question. Toutefois, cette molécule ne peut généralement pas être utilisée tel quel pour l'arrimage sur la protéine car il y a le problème des minima locaux versus le minimum global pour chaque structure donnée (figure 1.3).

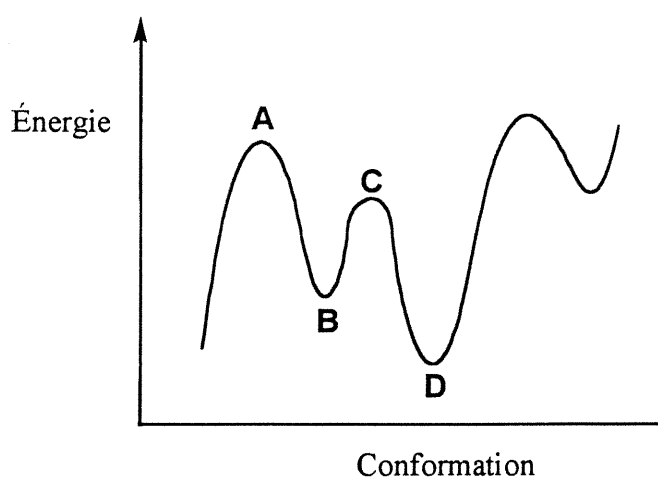


Figure 1.3. Énergie d'une molécule en fonction de sa conformation

En effet, si la molécule se retrouve dans un minimum local (**B**), elle n'aura peut-être pas assez d'énergie pour franchir la barrière d'activation pour l'amener à la conformation présentant le minimum global (**D**). Par exemple, si la molécule est dessinée dans la conformation **A** de la figure 1.3, elle sera minimisée vers son minimum le plus proche **B**. Cependant, lorsqu'elle aura atteint cette conformation, elle n'aura plus assez d'énergie (une minimisation signifie diminuer progressivement l'énergie d'une molécule jusqu'à une réduction maximale) pour passer par la conformation **C** pour finalement atteindre la conformation **D** plus basse en énergie que **B**. On peut faire un parallèle avec l'équilibre entre les conformations *gauche* et *anti* : la molécule doit passer par l'état *éclipsé* pour passer de l'une à l'autre. Plusieurs moyens existent pour atteindre le minimum global d'une molécule. La dynamique moléculaire et la simulation de Monte-Carlo en sont deux, et les esprits plus curieux pourront consulter la référence 53 pour plus de détails.⁵³

Par ailleurs, sachant que parfois la conformation active n'est pas nécessairement la conformation de plus basse énergie mais peut être ce qu'on a appelé un minimum local, il y a des raisons de douter de la pertinence de rechercher le minimum global lors d'études d'arrimage. Ainsi, à la lumière de ces réflexions, nous avons plutôt choisi d'utiliser la conformation de la molécule représentant un minimum le plus près de la conformation active. Pour déterminer la conformation active d'un composé dont nous ne sommes même pas certains qu'il pourra se fixer à la protéine, on utilise *l'ajustement au gabarit* (template forcing). Cette étape consiste à exercer une force sur les fonctions essentielles à la liaison (diol-1,2 et acide carboxylique) pour qu'elles s'approchent le plus possible de la disposition dans l'espace de la conformation bioactive du sLe^X. En même temps, on effectue une minimisation pour atteindre le minimum en énergie. Il faut toutefois être prudent à cette étape et trouver un bon compromis pour l'intensité de la force exercée, car si elle est trop faible, les groupements fonctionnels seront trop loin de ceux du gabarit, tandis que si elle est trop grande, la molécule risque de se retrouver dans une conformation instable i.e. haute en énergie. En définitive, la méthode est possible en autant que l'on dispose d'une structure de la protéine avec un ligand arrimé au récepteur.

1.1.3 Arrimage des molécules cibles sur le modèle de la protéine

Une fois cette opération terminée, il reste à arrimer la structure optimisée sur la protéine, en superposant le nouveau ligand du calcium au diol du fucose du sLe^X. Nous retirons alors le sLe^X pour obtenir le complexe sélectine E/nouvelle molécule. Nous permettons à ce complexe de « relaxer » en minimisant son énergie. Comme ces calculs sont très longs à effectuer, quelques simplifications sont apportées au système pour alléger le tout. D'abord, nous considérons que seules les chaînes latérales à proximité du site actif ont une influence, donc ces dernières seulement ont une liberté de mouvement, les autres étant fixées. De plus, la distance entre le ligand de la molécule et le calcium est aussi fixée, pour les raisons d'absence de champ de force approprié (*vide supra*). On pourrait croire que ces contraintes vont empêcher une molécule qui a une mauvaise interaction avec le site récepteur d'en sortir et donc de forcer l'obtention de bons résultats, mais s'il existe de mauvais contacts entre le récepteur et le ligand, ceux-ci deviendront apparents lors de l'étape suivante.

1.1.4 Évaluation des molécules

Une fois la minimisation terminée, nous utilisons le logiciel pour calculer la somme des interactions électrostatiques et celles de Van der Waals. Nous obtenons aussi le potentiel de force appliquée (forcing potentiel) qui indique la force qui a été appliquée à la molécule pour qu'elle respecte les contraintes de position et de distance que nous lui avons imposées. Plus la valeur de ces interactions est élevée, moins la molécule s'ajuste bien au site récepteur.

Nous mesurons aussi les ponts hydrogène entre la molécule et la protéine, car nous désirons observer un pont hydrogène entre l'acide carboxylique de la molécule cible et l'arginine 97. Nous utilisons des fonctions neutres plutôt que chargées sur nos molécules pour limiter les sources d'erreurs, car le modèle informatique ne tient pas compte des molécules de solvant. En conséquence, la structure modélisée se retrouve dans le vide, avec une valeur de permittivité (constante diélectrique) de 1. Dans ces conditions, les charges exercent une très grande attraction les unes sur les

autres et ce, sur des distances déraisonnables. Ainsi, pour atténuer cet effet, nous utilisons une constante diélectrique de $3r$ (trois fois la distance mesurée r), donc qui augmente avec l'éloignement. De plus, nous modélisons tous nos substrats avec des fonctions carboxyliques protonées ainsi qu'avec des amines neutres, ce qui évite aux charges opposées d'exercer une attraction sur de trop grandes distances.

1.2 Choix des molécules à synthétiser

Avant de se lancer dans le design de molécules candidates et les évaluer sur un modèle, on doit débiter par tracer quelques lignes directrices qui orienteront le choix des cibles.

1.2.1 Choix des molécules et critères de sélection

Pour le choix des molécules à modéliser et éventuellement à synthétiser, nous nous sommes imposés un certain nombre de critères. Nous recherchions des structures qui auraient:

- une bifonctionnalité vicinale, comme un diol, pour la liaison au calcium
- un acide carboxylique pour la liaison à l'arginine 97
- une certaine rigidité, car une molécule moins flexible subit une moins grande perte d'entropie lorsqu'elle se fixe sur la protéine
- une structure relativement simple et de faible masse moléculaire
- une structure stable à l'hydrolyse en milieu biologique
- une structure relativement facile d'accès

1.2.2 Les décalines

En regard à ce qui vient tout juste d'être mentionné, nous nous sommes tournés vers des molécules de type décalinique comme support rigide des groupes pharmacophores. Ce choix découle des travaux d'un autre mémoire de maîtrise effectués dans nos laboratoires.⁵⁴

Au cours de sa maîtrise, Monique Chan a travaillé à synthétiser des molécules tricycliques perhydrophénantrène comme inhibiteur des sélectine. La molécule **49** qui était visée est illustrée à la figure 1.4.



Figure 1.4. Objectif de synthèse de Monique Chan

À la figure 1.5, nous avons illustré la concordance entre sLe^X et la molécule **49**. On peut voir que les groupements diol et acide carboxylique de la molécule **49** se trouvent à proximité des groupements correspondant sur le sLe^X . Malheureusement, des problèmes ont surgit lors de la réalisation de la synthèse. Principalement en ce qui concerne les rendements et la faible solubilité des intermédiaires.

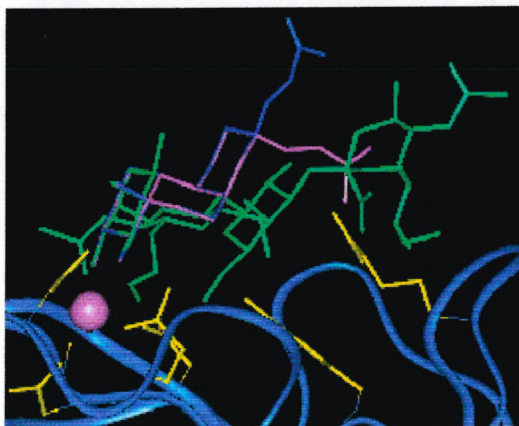


Figure 1.5. Superposition de sLe^X (vert) et des deux isomères de la chaîne oxyacétique de la molécule **49** perhydrophénantrène (rose et bleu royal).

Pour faire le design de molécules de la deuxième génération, nous avons cherché à simplifier le squelette de la molécule, ce qui devrait solutionner, ou du moins réduire, les deux problèmes mentionnés plus tôt. En premier lieu, nous avons cherché à supprimer un des cycles du composé tricyclique. Notre premier choix s'est arrêté sur une molécule de type décaline, soit la molécule **50e** illustrée à la figure 1.7. La

figure 1.6 illustre cette molécule et la molécule perhydrophénantrène sur le site récepteur de la sélectine E.

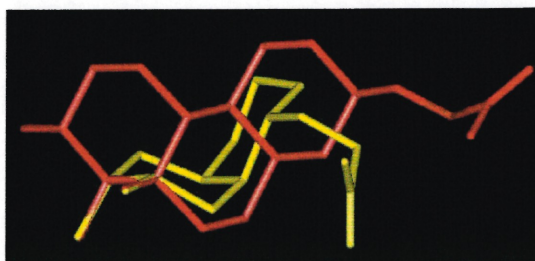


Figure 1.6. Superposition de la molécule perhydrophénantrène **49** (rouge) et de la molécule **50i** (jaune).

Malheureusement, les interactions entre cette nouvelle molécule et la sélectine E n'était pas très bonne. Nous avons donc modélisé une série d'autres dérivés avant de trouver une molécule qui soit satisfaisante. Les molécules **50a-l** illustrées à la figure 1.7 ont été évaluées sur notre modèle informatique de la sélectine E, selon la méthode décrite précédemment.

Nous avons fait varier la longueur de la chaîne portant le groupement acide carboxylique et nous avons regardé différents points d'attache de la chaîne sur le système bicyclique. Nous avons aussi fait varier le substituant à la jonction de cycle (**50i, j, l**), ces molécules étant suggérées par différentes voies de synthèse relativement courtes.

De toutes les structures étudiées, c'est la molécule **50i** qui présente les meilleurs résultats de modélisation moléculaire. Nous avons donc entrepris de synthétiser ce composé, ce qui sera discuté au chapitre 2. La figure 1.8 est une représentation informatique de cette dernière liée à la protéine.

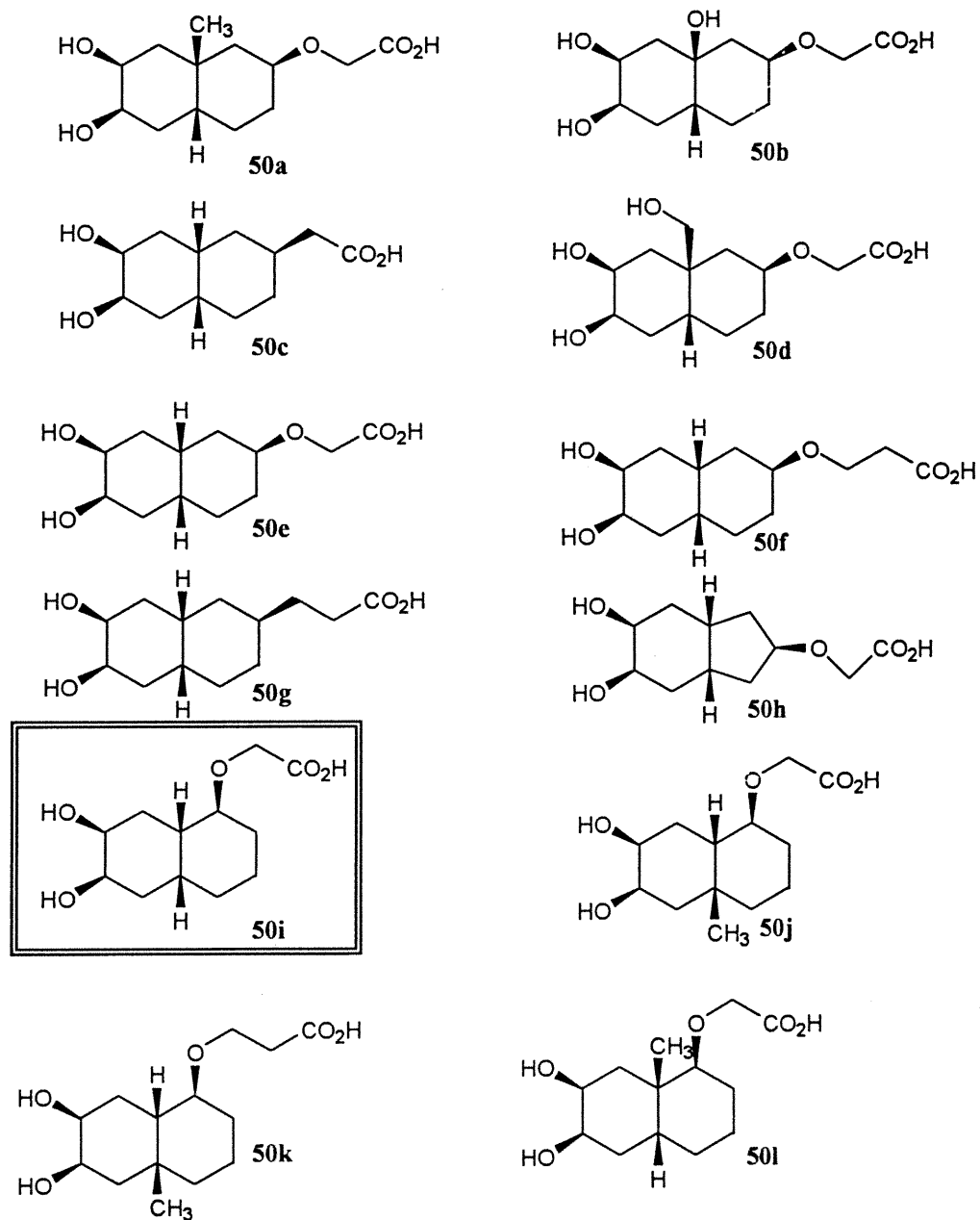


Figure 1.7. Structures de type décaline modélisées

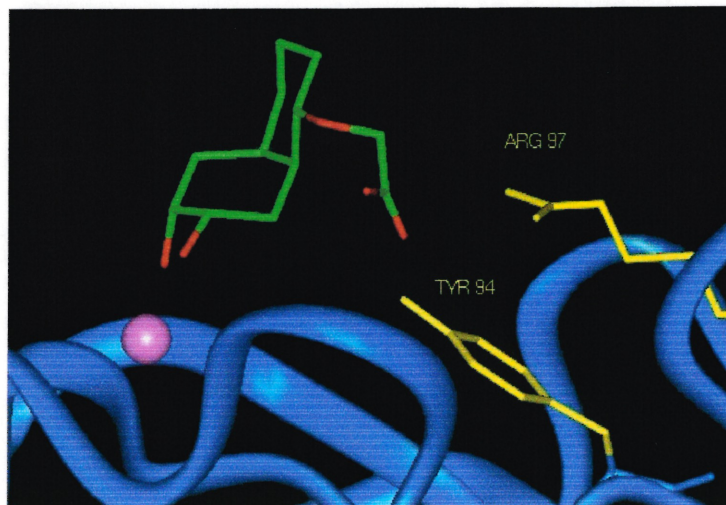


Figure 1.8. Modèle décalinique arrimé au site récepteur

Comme on peut le voir, l'acide carboxylique ne se trouve pas exactement à la même position que la fonction correspondante du sLe^X (figure 0.5). Dans le cas de la molécule **50i**, il se trouve entre l'arginine 97 (2,36 Å) et la tyrosine 94 (2,23 Å). Selon les calculs du logiciel de modélisation moléculaire, la fonction est assez bien positionnée pour interagir favorablement avec les deux fonctions.

1.2.3 Les hydroxyamides

La deuxième classe de molécules étudiées dans ce travail correspond à des α -hydroxyamides de dimensions appropriées. Le choix de cette classe a été motivé par le désir d'étudier l'effet d'un ligand au calcium différent des diols que l'on retrouve dans le substrat naturel sialyl Lewis^X et aussi dans la presque totalité des inhibiteurs rapportés dans la littérature. Pour ce faire, nous remplacerons une des fonctions hydroxyles par une fonction amide dans le but d'avoir une affinité accrue du substrat pour le calcium, car il est connu que les fonctions amides sont de meilleurs donneurs que les fonctions hydroxyles.

Pour choisir le squelette qui porterait ce ligand, nous nous sommes tournés vers des travaux déjà effectués dans nos laboratoires. Pierre Robitaille a synthétisé des dérivés arylglycosidiques comme inhibiteurs des sélectines.⁵⁵ Les molécules **51**, **52** et **53** présentées à la figure 1.9 ont toutes trois présentées une activité au moins du même ordre de grandeur que sLe^X . D'après les études de modélisation, l'acide car-

boxylique se lie à l'arginine 97, tandis que la paire de diol 3,4 de la portion glycosidique se lie au calcium. Nous avons choisi de conserver le groupement phényle substitué en position *mé*ta par une chaîne oxy-acétique et de remplacer la portion carbohydrate par notre ligand hydroxyamide. La molécule **54** aussi illustrée à la figure 1.9 est le candidat que nous avons choisi.

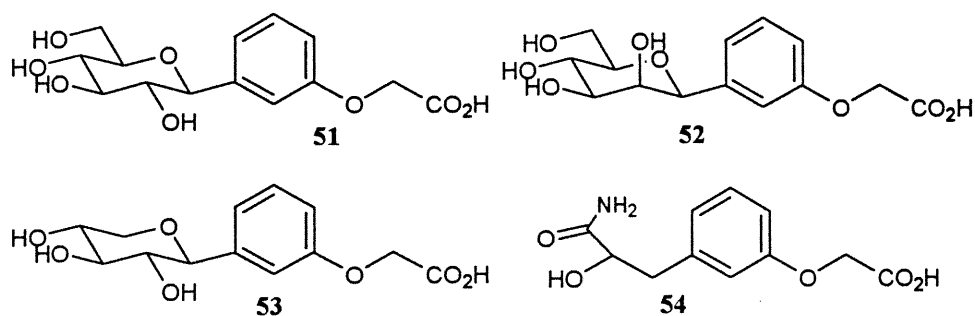


Figure 1.9. Inhibiteurs des sélectines ayant menés à notre choix d'objectif

Malgré qu'à première vue la chaîne de l'hydroxyamide semble trop courte d'un carbone par rapport aux dérivés arylglycosides, la modélisation moléculaire montre que la molécule **54** peut effectivement rejoindre les deux régions du site récepteur responsables de la liaison du ligand, soit le calcium et l'arginine 97. La cible synthétique respecte donc les conditions suivantes : 1) une fonction α -hydroxyamide, 2) une fonction acide, 3) un squelette partiellement rigide et 4) facile d'accès. Lorsque nous avons modélisé cette molécule, nous avons modélisé les deux énantiomères pour vérifier si l'une ou l'autre de ces molécules pouvaient présenter une activité accrue. Le résultat est toutefois un peu surprenant, les molécules sont assez flexibles pour compenser la différence de stéréochimie au carbone porteur du groupement hydroxyle et toutes deux se lient de façon efficace à la sélectine E de notre modèle, avec l'hydroxyamide au calcium et l'acide carboxylique à l'arginine 97. Les figures 1.10 et 1.11 illustrent les deux énantiomères arrimés sur le site.

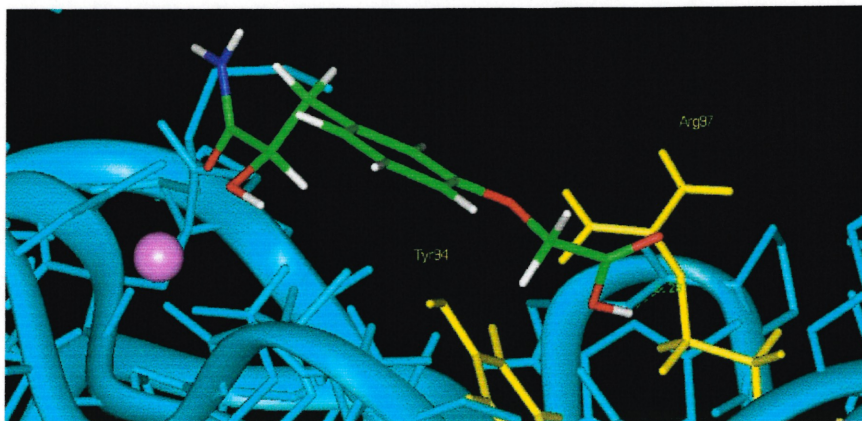


Figure 1.10. α -Hydroxyamide de configuration *R*. Distance de 2,28 Å entre l'acide carboxylique de la molécule **54** et l'arginine 97.

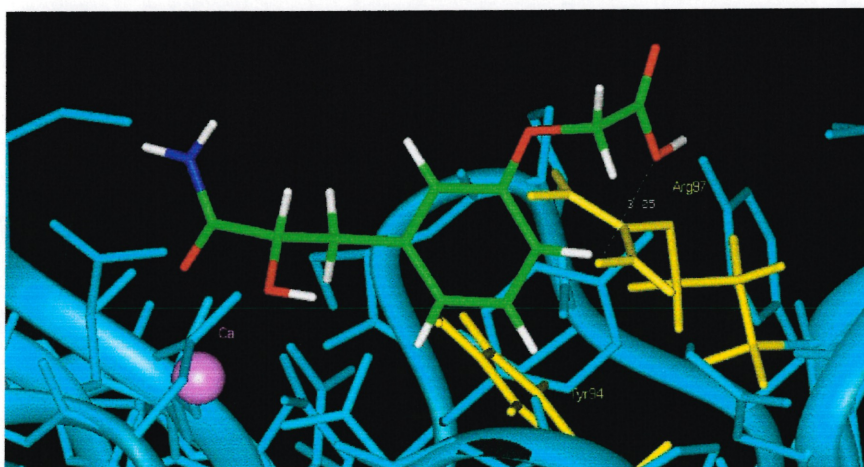


Figure 1.11. α -Hydroxyamide de configuration *S*. Distance de 3,05 Å entre l'acide carboxylique de la molécule **54** et l'arginine 97.

Nous avons donc entrepris de synthétiser cette molécule, ces démarches seront discutées au chapitre 3.

*Synthèse de
l'objectif décalinique*

2 Synthèse de l'objectif décalinique

Dans cette section, nous allons maintenant examiner les travaux qui ont été effectués pour permettre la synthèse du composé décalinique **50i** (figure 2.1). Les sections qui suivent illustreront les efforts qui ont mené à l'obtention de la molécule désirée.

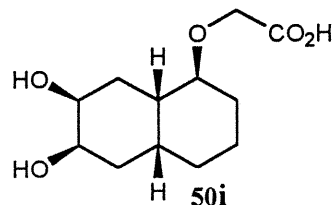


Figure 2.1. Objectif de synthèse en série décalinique

2.1.1 Rétrosynthèse de l'objectif décalinique

L'analyse rétrosynthétique qui nous semblait la plus appropriée pour cette molécule est illustrée au schéma 2.1. Le diol de la molécule **50i** proviendrait de la transformation en diol d'une double liaison par la face la moins encombrée de la décaline *cis* **55**, tandis que la chaîne oxyacétique proviendrait d'une *O*-alkylation. En ajoutant un groupe carbonyle, on remarque que ce produit peut provenir d'une réaction de Diels-Alder entre le butadiène et une cyclohexénone substituée **56**. Cette réaction concertée aurait l'avantage de fixer en une étape la stéréochimie relative des trois substituants de la décaline formée, pourvu que l'attaque se fasse sur la face opposée au substituant à la position 4. Cette énone peut être obtenue en quelques étapes à partir du 1,4-cyclohexadiol **57**. Ce substrat est disponible commercialement.

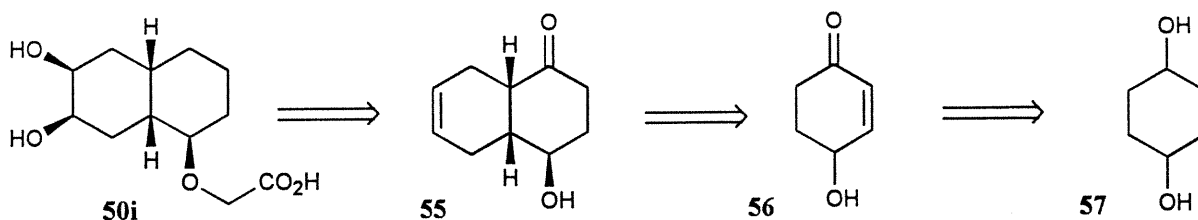


Schéma 2.1. Rétrosynthèse de la molécule décalinique désirée

2.1.2 Séquence de synthèse de l'objectif décalinique

Le schéma 2.2 illustre avec plus de détails la route que nous prévoyons prendre. La synthèse débiterait par la protection sélective d'un des deux hydroxyles du 1,4-cyclohexadiol **57**, puis l'oxydation de l'hydroxyle libre restant. Cette 4-benzyloxycyclohexanone **58** pourrait être transformée en 4-benzyloxycyclohexénone **59** en utilisant la méthodologie de Trost pour introduire l'insaturation. Ceci donnerait le substrat pour la réaction de Diels-Alder, où il faudrait s'assurer de pouvoir conserver la jonction de cycle à l'état *cis*, générant la molécule **60**. La séquence se poursuivrait en désoxygénant la fonction cétone, réaction pour laquelle il existe de nombreuses méthodes connues depuis fort longtemps. On pourrait se demander pourquoi utiliser un substituant oxygéné en position 4 de la cyclohexénone, puisque l'on pourrait former un alcool à partir de cette cétone. La réponse réside dans l'orientation désirée pour ce substituant. En effet, la réduction se ferait à partir de la face convexe de la molécule puisqu'elle est beaucoup moins encombrée, ceci conduisant à la stéréochimie inverse pour le groupe hydroxyle.

La double liaison de la décaline **61** pourrait ensuite être dihydroxylée à l'aide de la chimie de l'osmium. Cette nouvelle fonction serait protégée par un groupement acétonide. Nous avons préféré laisser de côté le groupement protecteur carbonate, car il n'aurait probablement pas résisté aux conditions basiques de la réaction de *O*-alkylation. Cette *O*-alkylation serait effectuée sur la molécule **62** avec l'ester *tert*-butylique de l'acide bromoacétique. Enfin, la dernière étape consisterait en une double déprotection des fonctions oxygénées de la molécule en milieu acide, pour fournir le composé désiré **50i**.

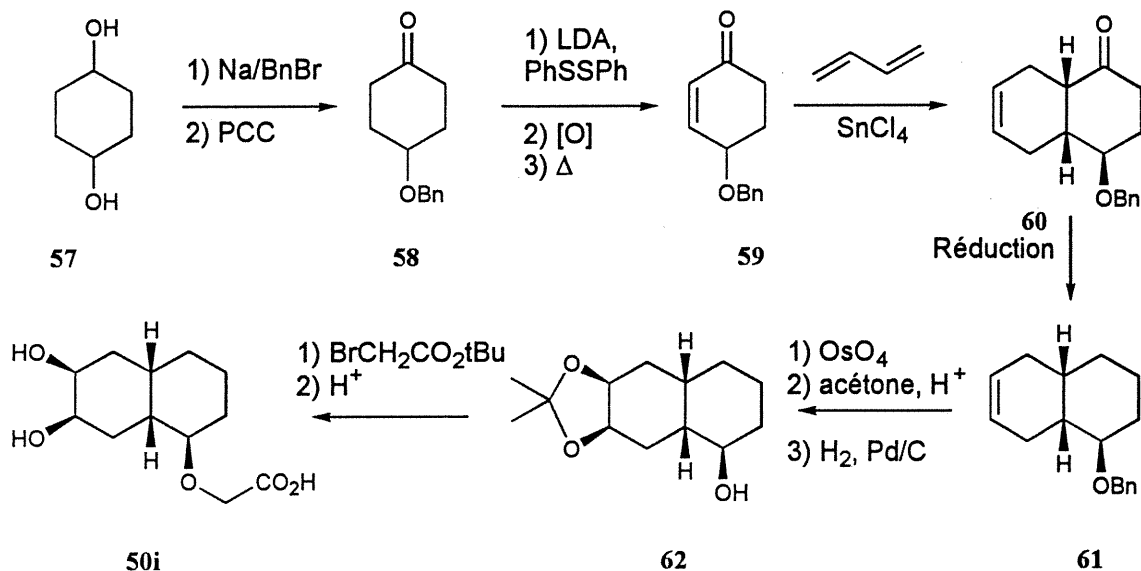


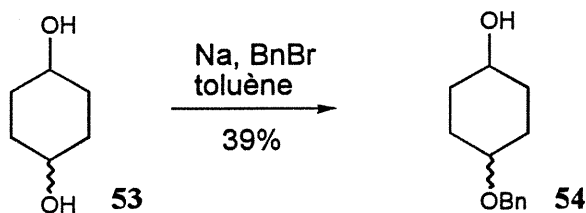
Schéma 2.2. Séquence des réactifs prévus pour atteindre l'objectif décalinique

2.2 Synthèse de l'énone, substrat de la réaction de Diels-Alder

2.2.1 Protection sélective du 1,4-cyclohexadiol

Nous avons utilisé le 1,4-cyclohexadiol **57** comme produit de départ pour cette synthèse. Il est vendu sous la forme d'un mélange d'isomères *cis* et *trans* que nous avons utilisé tel quel, sans séparation. La première étape de notre séquence consiste à protéger sélectivement un des deux groupements hydroxyles à l'aide d'un groupement benzyle. Nous avons choisi ce groupement, car il est très résistant à de nombreuses conditions, mais il peut généralement être enlevé facilement par des conditions douces d'hydrogénolyse.⁵⁶

De nombreuses procédures pour effectuer ce type de protection sont disponibles dans la littérature,⁹⁹ malheureusement peu d'entre elles se sont montrées satisfaisantes, car une difficulté surgissait de la faible solubilité du substrat de départ dans la majorité des solvants. Nous avons choisi une procédure utilisant du sodium métallique ainsi que le bromure de benzyle dans le toluène à reflux pour effectuer la transformation du composé **57** en composé **63**.⁵⁷

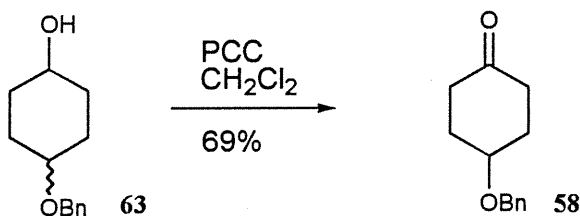


Équation 2.1

Comme on peut le voir à l'équation 2.1, les rendements ne sont pas tellement bons, car une certaine quantité de produit dibenzylé se forme et il demeure toujours une certaine quantité de produit de départ n'ayant pas réagi. Le produit obtenu était grossièrement purifié par une chromatographie « flash » rapide et était utilisé directement dans la réaction suivante.

2.2.2 Oxydation de l'alcool en cétone

L'étape suivante a été l'oxydation de l'alcool **63** en cétone **58**. Cette réaction a été faite en utilisant la procédure développée par Corey utilisant le réactif pyridinium chlorochromate (PCC), un oxydant doux.⁵⁸ Ceci nous a permis d'obtenir le composé désiré dans un rendement de 69%.



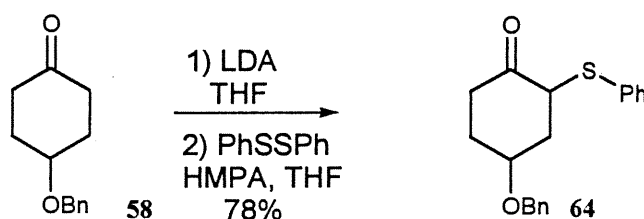
Équation 2.2

Comme pour la première étape, le rendement obtenu ici n'est pas très bon. Nous avons donc envisagé d'autres voies de synthèse, mais le faible coût des réactifs utilisés lors de ces deux étapes nous a convaincu de conserver cette manière de faire.

2.2.3 Préparation de l'énone 59

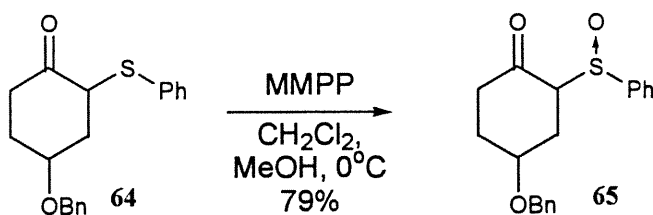
Il existe plusieurs procédures pour former une insaturation en α,β d'un groupe carbonyle. Nous avons d'abord exploré la chimie du sélénium⁵⁹ mais les différences de polarité en chromatographie « flash » entre les composés cétone, sélénure et énone

étaient trop petites pour pouvoir les séparer. Nous nous sommes alors tournés vers la chimie du soufre développée par Trost.⁶⁰ La première étape de cette approche en trois temps est la déprotonation de la cétone par le LDA et l'attaque de l'énolate sur le disulfure de diphenyle, pour former la cyclohexanone **64** substituée par un groupe phénylmercaptan.



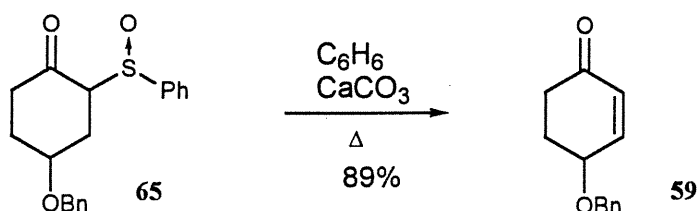
Équation 2.3

L'étape suivante consiste à oxyder le sulfure en sulfoxyde qui, contrairement au composé sélénylé équivalent, peut être isolé et purifié. La voie classique d'oxydation est l'utilisation du mCPBA, mais un problème provient du fait qu'on ne connaît pas la pureté de ce peracide disponible commercialement (elle se situe entre 57% et 86%).⁶¹ Ceci pouvait un problème majeur, car un excès d'oxydant transforme immédiatement le sulfoxyde en sulfone, un produit qui nous est d'aucune utilité. Il faut toutefois noter qu'il est possible de doser le peroxyde en titrant, à l'aide d'amidon, l'iode libéré lors de sa réaction avec de l'iodure de potassium. Cependant, nous avons choisi de remplacer ce peracide par le sel de magnésium de l'acide monoperoxyphthalique (MMPP).⁶² Cet oxydant a une pureté constante de 80% et il peut être utilisé à 0 °C. Ce réactif permet d'obtenir le sulfoxyde **65** avec un rendement de 79%.



Équation 2.4

Enfin, pour la troisième étape, on chauffe le sulfoxyde à reflux dans le benzène pour en éliminer le sulfoxyde. Nous avons ajouté un peu de carbonate de calcium au mélange réactionnel, car ce dernier diminue les réactions secondaires en neutralisant le résidu de l'élimination, l'acide phénylesulfurique.⁶¹ De cette manière, la cyclohexénone **59** est obtenue dans un rendement de 89%.



Équation 2.5

L'énone est alors utilisée dans l'étape-clé de cette synthèse : la réaction de Diels-Alder.

2.3 Réaction de Diels-Alder

La réaction de Diels-Alder entre des diènes et des cycloalcénone a été étudiée en détail.⁶³ Puisque cette réaction est concertée, les substituants à la jonction de cycle se retrouvent en relation *cis*. Cependant, cette configuration est défavorisée pour une décaline, car elle est beaucoup plus haute en énergie que la *trans*. Normalement, les deux isomères ne sont pas en équilibre car cette transformation nécessite une déprotonation de la jonction de cycle. Toutefois, dans notre cas, il y aura un groupe carbonyle en α de la jonction de cycle sur le composé **60** formé, ce qui risque d'entraîner une réaction secondaire d'épimérisation de jonction de cycle de *cis* à *trans*. Dans le cas modèle illustré au schéma 2.3 soit la réaction du butadiène sur la cyclohexénone **66**, on voit qu'un des deux protons à la jonction de cycle se trouve en α d'une cétone. Celui-ci est labile au point où il est difficile d'isoler le produit *cis* **67**, car le milieu réactionnel d'une réaction de Diels-Alder est, ou bien à des températures élevées, ou bien en présence un acide de Lewis. De plus, les méthodes de purification sont souvent suffisantes pour entraîner l'énolisation et la formation du composé **68**.⁶⁴ À l'équilibre, le ratio est de 9 pour 1 en faveur du composé à jonction de cycle *trans* **68**. Certains auteurs, plutôt que de s'échiner à isoler des quantités infimes de produit

cis de plusieurs réactions, ont plutôt développé un chemin synthétique permettant d'obtenir en plusieurs étapes la décaline à jonction de cycle *cis* à partir de l'équivalent *trans*, composé majoritaire de la réaction de Diels-Alder.⁶⁵

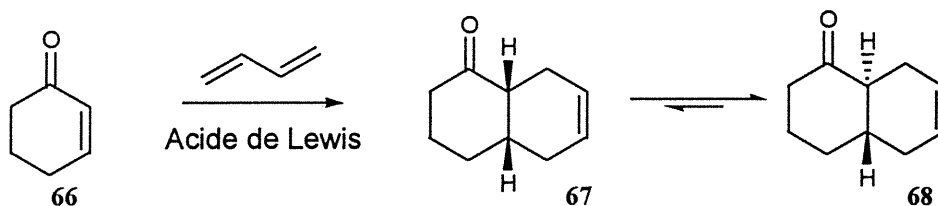


Schéma 2.3 : épimérisation du produit primaire de la réaction de Diels-Alder

Certains chercheurs ont tenté d'isoler directement le composé décalinique *cis*, et pour ce faire, ils ont cherché à ralentir l'épimérisation et/ou accélérer la cycloaddition. Regardons les moyens trouvés pour ralentir l'épimérisation.

La première possibilité est d'ajouter des substituants aux réactifs, pour ralentir l'épimérisation.⁶⁶ De plus, un substituant en α du groupement carbonyle et de la jonction de cycle bloquerait complètement l'épimérisation, mais malheureusement nous désirions conserver un proton à cette position. Deuxièmement, on peut utiliser des acides de Lewis moins forts, ce qui permet de mieux suivre le développement des produits.⁶⁷ Troisièmement, nous pouvons détruire la cétone une fois le produit désiré formé, car une partie de l'épimérisation a lieu lors du traitement de la réaction, particulièrement lors de contact avec un milieu aqueux.⁶⁸ Nous avons donc choisi de combiner ces effets à différents degrés pour maximiser nos chances.

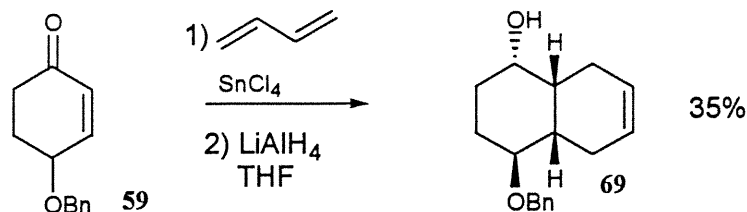
Pour la substitution, nous avons vu dans la littérature qu'une cyclohexénone substituée en position 4 pouvait ralentir considérablement l'épimérisation comparé à son équivalent non substitué.⁶⁹ De plus, nous voulions une attaque sur la face opposée au substituant, ce qui était pratiquement assuré par les travaux d'Oppolzer⁶⁷ qui observe une attaque sur une seule face en faisant la réaction de Diels-Alder à température de la pièce sur une cyclohexénone substituée en position 4. Nous avons donc testé différents acides de Lewis qui sont normalement employés pour catalyser des réactions de Diels-Alder. Nous nous sommes inspirés d'un article qui établissait une

table des forces relatives de ces acides pour réajuster notre tir entre chaque essai non productif.⁷⁰ Le tableau 2.1 illustre ces différents essais.

Acide de Lewis	Réaction d'addition observée	Réaction d'épimérisation observée
AlCl ₃	oui	oui
BF ₃	oui	oui
FeCl ₃	oui	oui
SnCl ₄	oui	peu
ZnCl ₂	peu	non

Tableau 2.1. Différents acides de Lewis utilisés pour la réaction de Diels-Alder

Les acides de Lewis comme le chlorure d'aluminium, le trifluorure de bore et le chlorure de fer se sont tout révélés trop efficaces à activer le carbonyle : il y avait beaucoup trop d'épimérisation. Avec le chlorure de zinc, nous avons eu le problème opposé, cet acide de Lewis n'était pas assez fort pour permettre la réaction d'addition. Le tétrachlorure d'étain s'est révélé être le meilleur acide de Lewis pour notre cas, car il représentait un bon compromis entre les deux vitesses de réaction. Nous avons de plus trouvé qu'il est possible d'isoler le produit *cis*, mais nous en perdons toujours durant le traitement aqueux. Pour éviter cela, nous avons choisi de réduire le groupe carbonyle en alcool *in-situ* après la cycloaddition à l'aide d'hydrure pour obtenir le composé **69**.



Équation 2.6

À l'équation 2.6, les indicateurs de stéréochimie ne sont présents que pour indiquer la stéréochimie relative des substituants, les molécules obtenues étaient des mélanges racémiques.

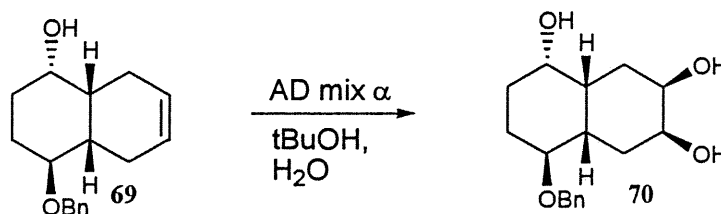
Le rendement du produit désiré n'est cependant pas très bon (37%), car nous ne pouvons pas totalement éliminer la formation du composé *trans*, qui représente environ 14% de rendement. Le reste de la masse est formé de produit de départ n'ayant pas réagi. De plus, nous avons trouvé un article qui décrit la débenzylation d'un composé sucre à l'aide de tétrachlorure d'étain.⁷¹ Cette réaction ne semble pas très importante dans notre cas, mais avec des temps de réaction de l'ordre de 18 heures, une certaine quantité de produit de départ ou de produit final peut se dégrader *via* cette voie. Nous avons aussi envisagé d'utiliser le perchlorate de lithium comme catalyseur doux d'une réaction de Diels-Alder mais nous avons laissé tombé ce réactif car il présente des risques importants d'explosion lorsque utilisé sur une échelle de quelques grammes.⁷² Nous avons donc considéré cette étape comme acceptable et avons poursuivi la synthèse.

2.4 Formation du composé trioxycéné 74

2.4.1 Dihydroxylation du produit de Diels-Alder

L'étape suivante a été la dihydroxylation de la double liaison. Nous nous sommes tournés vers une méthodologie utilisant le tétraoxyde d'osmium, une procédure bien étudiée.⁷³ Pour l'orientation des deux hydroxyles ajoutés à la molécule, l'attaque doit se faire sur la face la plus exposée de la molécule : la face convexe. Nous avons misé sur l'encombrement stérique du réactif pour obtenir une bonne sélectivité.⁷⁴ Toutefois la manipulation du réactif s'est avérée ardue sur de petites quantités, en plus de sa très grande toxicité. C'est donc pourquoi nous avons plutôt utilisé le réactif développé par Sharpless, le mélange ADmix- α .⁷⁵ Ce mélange est habituellement utilisé pour faire des réactions énantiosélectives, mais nous l'avons utilisé pour d'autres raisons. Premièrement, ce mélange contient des ligands énormes liés à l'osmium, ce qui nous assurait une sélectivité faciale lors de la réaction. Deuxièmement, la quantité d'osmium dans ce mélange est si petite qu'il est plus économique de l'utiliser que de travailler avec le réactif pur. Nous avons donc testé cette

réaction sur le produit de Diels-Alder **69**, pour obtenir le triol **70**. Nous nous sommes posés la question à savoir si nous pouvions tirer profit de la chiralité de ce réactif, mais en regardant de plus près, nous avons constaté que notre substrat était loin d'être propice pour une quelconque sélectivité, car la sélectivité de ce réactif est généralement très faible sur une double liaison *cis*.⁷⁶ De plus, les centres chiraux de la molécule **69** sont passablement éloignés du site de réaction. Ainsi, tel qu'attendu, nous obtenons un mélange racémique mais d'un seul isomère.

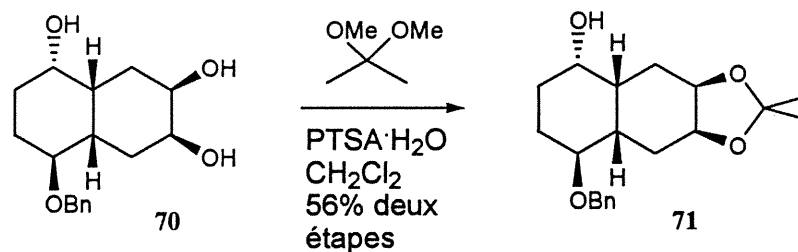


Équation 2.7

Un problème inattendu a jailli lors de cette réaction : la très faible solubilité du produit formé. En effet, malgré trois fonctions hydroxyles, ce dernier est faiblement soluble dans l'eau et le *tert*-butanol, ce qui le rend difficile à isoler après la réaction. Nous avons donc dû procéder directement à la protection du triol, sans purifier le produit.

2.4.2 Protection du diol

Nous avons choisi un acétonide comme groupe protecteur pour le diol. Il a été fixé à l'aide du 2,2-diméthoxypropane et d'une quantité catalytique de l'acide *para*-toluènesulfonique (PTSA).⁷⁷ Ceci a permis de transformer le triol **70** peu soluble en un composé protégé par une fonction acétonide, le composé **71** soluble dans les solvants organiques.

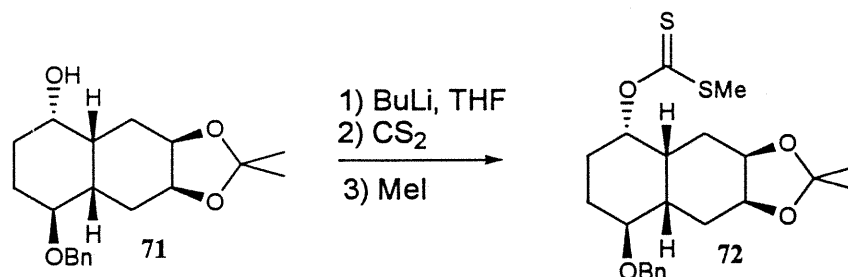


Équation 2.8

Cette réaction peut facilement être suivie à l'œil nu, car le nouveau produit formé est soluble dans le dichlorométhane : lorsque tout le produit de départ en suspension a disparu, la réaction est complète! Aussi, nous avons remarqué que cette réaction est lente à 0 °C; on ne note pas de changement observable par ccm après deux heures, tandis qu'elle est complète en soixante minutes à TP.

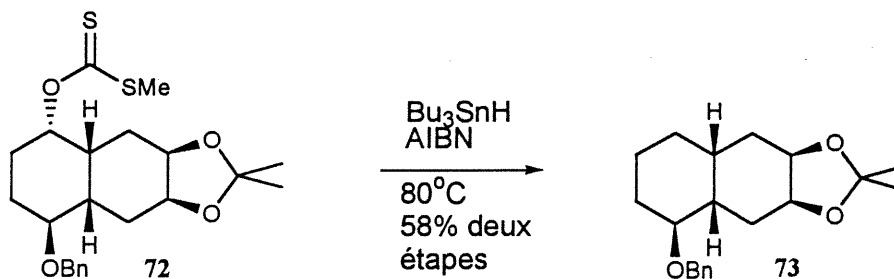
2.4.3 Désoxygénation de l'alcool 71

Pour enlever l'alcool libre, nous avons choisi la méthodologie de Barton, soit la formation d'un dérivé xanthogénate, suivie par une élimination.⁷⁸ Cette stratégie est particulièrement efficace pour les alcools secondaires, car elle est très peu affectée par l'encombrement stérique dans le voisinage de la fonction à réduire. Le xanthogénate **72** est donc formé en trois étapes. D'abord, l'alcool **71** est déprotoné à l'aide de butyllithium, ensuite on ajoute le disulfure de carbone, qui est attaqué par l'alcoolate pour former l'anion de l'acide dithiocarbonique correspondant. Enfin, l'iodure de méthyle est ajouté pour former le xanthogénate **72** désiré.



Équation 2.9

Cette réaction ne peut malheureusement pas être suivie par ccm, car le produit de départ et le produit de réaction présentent un R_f très similaire. Le composé **72** a été réduit à l'aide d'hydruire de tributylétain et d'AIBN, chauffés dans le toluène à 80 °C pour obtenir le composé désoxygéné **73** avec un rendement de 58% pour les deux étapes.⁷⁹

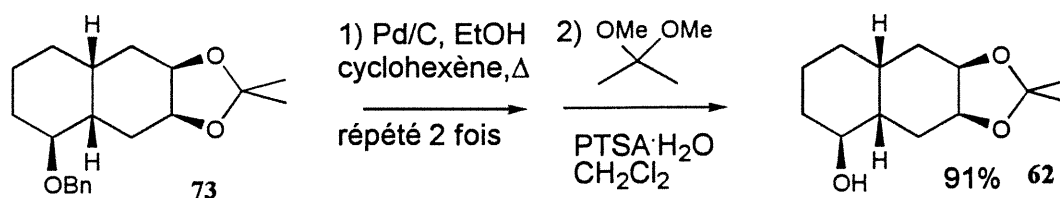


Équation 2.10

2.5 Résolution des énantiomères

2.5.1 Déprotection de l'hydroxyle benzylique

Dans le but d'effectuer la résolution du mélange racémique, nous devons d'abord déprotéger l'alcool benzylique **68** pour pouvoir s'en servir comme point d'attache lors de la résolution des deux énantiomères. Nous avons choisi l'utilisation d'un agent de transfert d'hydrogène plutôt que de l'hydrogène gazeux avec le palladium sur charbon pour l'hydrogénolyse.⁸⁰ Ce choix a été fait pour des raisons de sécurité. La transformation du composé **73** en composé **62** a cependant posé quelques problèmes.



Équation 2.11

Comme on peut le remarquer, nous avons dû répéter la procédure de débenzylation pour obtenir une réaction, car après un premier traitement, il n'y avait pas d'hydrogénolyse du groupe protecteur. Nous croyons que cette inhibition de la déprotection provient de résidus de la réaction précédente dans la séquence. En effet, la désoxygénation produit des composés sulfurés qui sont connus pour empoisonner les catalyseurs au palladium. Nous avons tenté de repurifier le produit de départ **73**, mais sans grand succès. Nous avons choisi de ne pas consacrer plus de temps à ce problème et d'aller de l'avant.

On remarque aussi que nous avons dû reprotéger le diol, car l'hydrogénolyse enlève totalement l'acétonide. Ceci pourrait être causé par une trace d'acide dans l'éthanol utilisé. Nous avons donc traité le solvant avec de l'hydroxyde de baryum, pour le neutraliser. Cependant, cet éthanol ne fonctionnait pas pour la déprotection, il n'y avait absolument aucune réaction; il est fort probable que cette fois-ci le baryum désactivait à son tour le catalyseur au palladium. Dans la littérature, nous avons trouvé une procédure qui utilisait le chlorure de palladium(II) ainsi qu'un agent de transfert (cétone ou alcool) pour déprotéger un acétonide.⁸¹ Nous croyons qu'il est possible que ce soit ici aussi le même type de réaction que nous observions sur notre composé. Encore une fois, étant donné que la reprotection du diol n'était pas compliqués, nous avons préféré cette voie, d'autant plus que le rendement total pour les trois étapes était de 91%.

2.5.2 Évaluation et sélection de l'agent chiral

Nous voulions séparer les deux énantiomères pour pouvoir comparer leur pouvoir respectif d'inhibition, car nous connaissions la configuration absolue de la molécule cible par modélisation. Donc suite à la résolution, on s'attendait à trouver une structure biologiquement active, qui correspondrait à la molécule modélisée, et une inactive, soit l'autre énantiomère. Nous avons donc cherché un acide chiral que nous pourrions coupler à l'hydroxyle libre du composé **62** sous la forme d'un ester, formant une paire de diastéréoisomères séparables par chromatographie.⁸² Nous avons donc testé quatre acides chiraux relativement simples (et peu coûteux) disponi-

bles commercialement, soit l'acide mandélique (*S*) **74**, ses dérivés *O*-méthoxy (*S*) (**75**) et *O*-acétyl (*S*) (**76**) ainsi que l'acide de Mosher (*R*) (**77**) (figure 2.2).

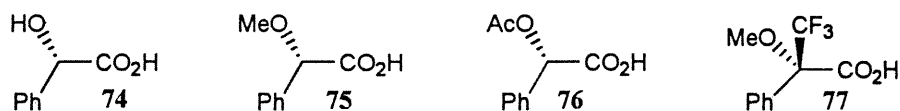
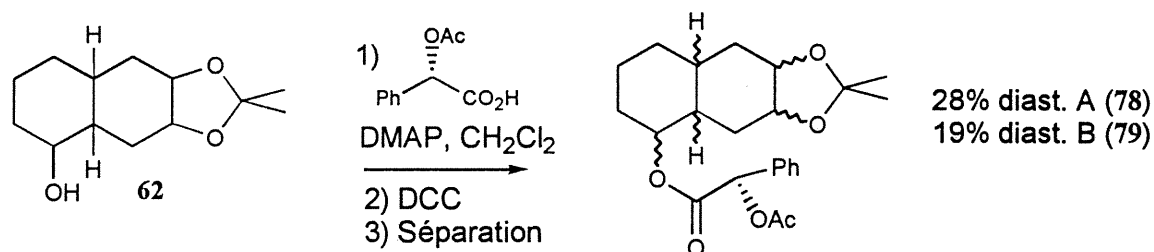


Figure 2.2. Acides chiraux testés pour la résolution

Une procédure générale pour former des esters est l'utilisation de DCC et de DMAP dans le dichlorométhane.⁸³ Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'acide *O*-acétylmandélique **76**,⁸⁴ qui d'après la ccm est l'acide qui offrait la meilleure séparation des diastéréoisomères. Le couplage se fait avec de très bons rendements, cependant il y a perte de produit lors de la séparation des deux diastéréoisomères **78** et **79** à cause du recouvrement des fractions lors de la chromatographie.



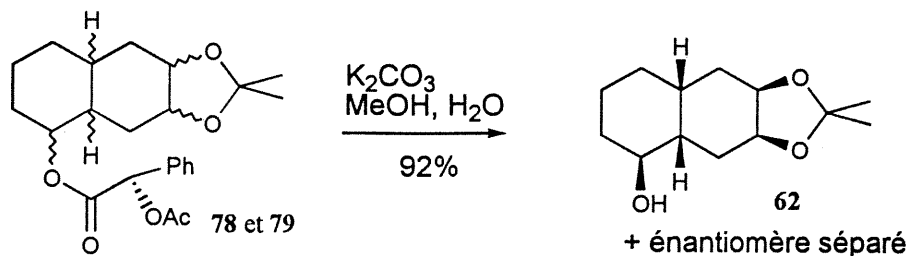
Équation 2.12

Après deux chromatographies flash pour chacun des composés, le RMN de chacun des diastéréoisomères ne montrait plus de trace de l'autre isomère.

2.6 Dernières étapes de la synthèse

2.6.1 Saponification de l'ester chiral

Pour recouvrer l'intermédiaire chiral **62**, il faut saponifier les esters **78** et **79**, ce qui a été fait à l'aide de carbonate de potassium dans un mélange eau/méthanol.⁸³

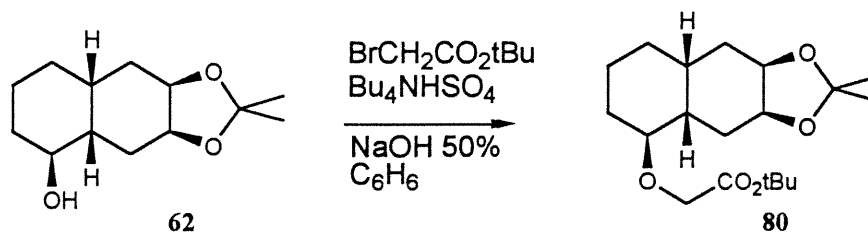


Équation 2.13

À partir de ce point, toutes les réactions ont été faites en parallèle sur les deux énantiomères et ces derniers présentaient évidemment la même réactivité et les mêmes caractéristiques spectrales.

2.6.2 O-alkylation de l'hydroxyle libre

L'étape suivante de la synthèse est l'ajout de la chaîne porteuse de l'acide carboxylique à l'oxygène de l'alcool libre. Nous avons en mains un article décrivant une réaction similaire à ce que nous voulions effectuer, soit l'alkylation d'un alcool aliphatique par l'ester *tert*-butylique de l'acide bromoacétique.⁸⁵ Cette réaction se déroulait en quinze minutes dans des conditions de transfert de phases, utilisant l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium à titre d'agent de transfert. Dans notre cas, cette réaction prenait plutôt plusieurs heures et il fallait aussi rajouter de l'ester, car il se dégrade rapidement dans ces conditions fortement basiques. Nous croyons que la lenteur la réaction dans notre cas était due à l'encombrement stérique de l'alcool, mais nous avons quand même réussi à « pousser » la réaction pour obtenir le produit protégé **80** en augmentant le temps de réaction à une nuit complète et en rajoutant du réactif et du catalyseur (ils peuvent être dégradés par le NaOH).

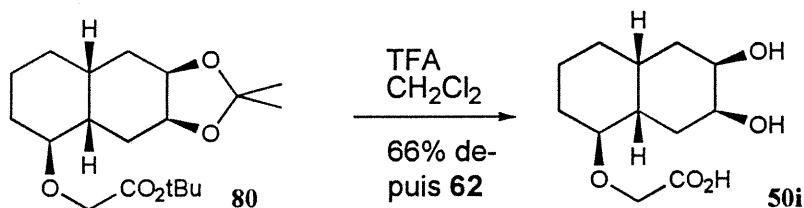


Équation 2.14

Il nous a été impossible de complètement purifier ce composé par chromatographie, car il demeurerait toujours un peu de l'ester *tert*-butylique de l'acide bromoacétique après chromatographie. Nous avons néanmoins décidé de poursuivre à l'étape suivante, où cette impureté pourrait être éliminée.

2.6.3 Déprotection finale

Nous en étions à la dernière étape. Il ne restait qu'à déprotéger les fonctions polaires de la molécule. Nous avons utilisé pour cette opération l'acide trifluoroacétique (TFA).^{86,87} Sous ces conditions, le groupement acétonide peut être enlevé rapidement dans le chloroforme en une heure, tandis qu'il faut laisser l'ester *tert*-butylique toute la nuit pour lui permettre de réagir. Donc après une nuit de réaction, le composé **50i** attendu est obtenu dans un rendement de 66% pour les deux dernières étapes combinées.



Équation 2.15

Étant donné la nature des fonctions en présence, l'isolement a été fait en « délicatesse ». Nous avons évaporé le solvant organique sans chauffer, pour éviter une autocondensation, puis purifié le composé par passage sur une colonne de Sephadex® C-10, une colonne à exclusion stérique. En éluant avec de l'eau déionisée, le produit désiré fut séparé des impuretés. Le produit isolé et recueilli dans l'eau fut ensuite lyophilisé, pour fournir un solide blanc qui est le produit **50i** désiré. Ce dernier a été soumis au test biologique développé par Marc Vaillancourt de l'IRCM.

2.7 Test biologique

Nos composés ne furent évalués que face aux sélectine E et P, car la sélectine L ne semble présenter que peu d'intérêt thérapeutique. Ce test est décrit plus en dé-

tail à l'annexe 1. Très brièvement, dans ce test, des cellules exprimant sLe^X sont liées aux sélectines fixées au fond des puits. En ajoutant une molécule inhibitrice à tester ou encore le monomère du sLe^X, on mesure l'affinité de cet inhibiteur pour les sélectines en mesurant la quantité de cellules déplacées des sélectines. Pour fin de comparaison, on regarde la différence entre les résultats obtenus pour les molécules candidates versus ceux obtenus pour le monomère du sLe^X. Le tableau 2.2 illustre ces résultats.

Composé	IC ₅₀ (mM)	
	sélectine E	sélectine P
sLe ^X	5.0	5.5
50i (énantiomère A)	7.0	5.0
50i(énantiomère B)	5.0	4.5

Tableau 2.2. Résultats des tests biologiques pour les deux énantiomères de type décalinique

2.8 Discussion

Nous avons donc été heureux de voir que les résultats biologiques ont montré une activité pour le composé 50i du même ordre que celui du sLe^X, justifiant ainsi l'approche par modélisation moléculaire. Nous avons testé les deux sous les noms A et B en prévoyant obtenir une activité pour un seul composé soit celui qui présente la configuration absolue établie par modélisation moléculaire à partir du sLe^X (voir figures 2.3 et 2.4). Nous observons toutefois une activité biologique quasi égale pour chacun des énantiomères!

Pourquoi ne pas avoir modélisé les deux composés au départ? Nous avons posé l'hypothèse comme l'avait fait Kogan³⁵, que les ligands au calcium devaient avoir la même disposition sur les inhibiteurs synthétisés que sur le sLe^X. Sur l'énantiomère non modélisé, l'angle entre les hydroxyles du diol est toujours d'environ 69°, mais ces fonctions ne se présentent pas au calcium avec la même orientation que celles du ligand naturel. En effectuant l'arrimage de cet autre énan-

tiomère sur la sélectine E, le diol de cette molécule a été superposé (autant qu'il se pouvait) à celui du sLe^X sur la sélectine E, en minimisant les distances entre les deux carbones et les deux hydroxyles. Il a ensuite été fixé dans cette orientation et à cette distance de l'atome de calcium du site récepteur de la sélectine E. Enfin, nous avons enlevé le sLe^X puis nous avons effectué un calcul de dynamique moléculaire. Une dynamique moléculaire consiste à donner de l'énergie au système pour lui permettre de bouger et de se placer dans sa conformation de plus basse énergie. Nous avons observé que, bien que la molécule ne peut bouger de l'atome de calcium, la chaîne porteuse de l'acide carboxylique pour cet énantiomère est assez flexible pour rejoindre un site de formation d'un pont hydrogène. Toutefois, ce pont hydrogène n'est pas formé avec l'arginine 97 comme dans le cas du sLe^X ou de l'autre énantiomère, mais avec l'acide glutamique 107. La figure 2.5 montre le résultat de cette modélisation et illustre de façon évidente l'impossibilité pour la chaîne oxyacétique d'interagir avec l'arginine 97 et/ou la tyrosine 94 ainsi que sa proximité au carboxylate de l'acide glutamique 107. Le tableau 2.3 montre les distances entre le entre le groupe carboxylate de chaque énantiomère de **50i** et les groupes accepteurs de ponts hydrogène répertoriés à des distances inférieures à 3 Å, ce qui témoigne de ponts hydrogène forts.

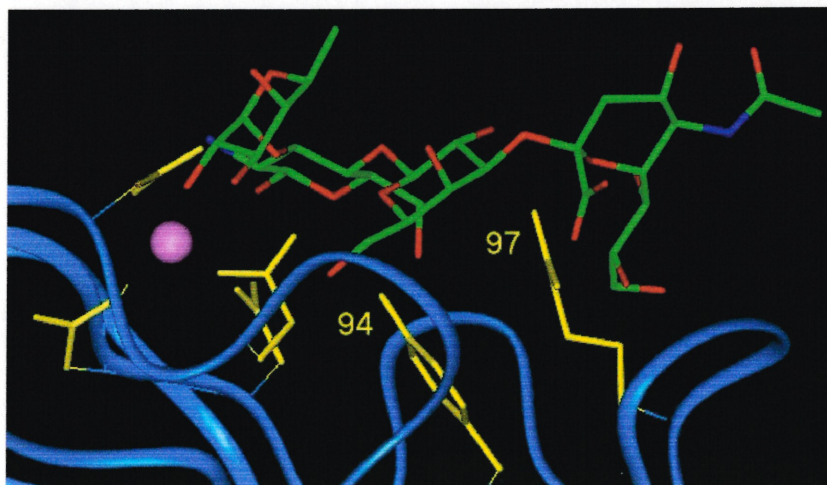


Figure 2.3. Arrimage de sLe^X sur la sélectine E

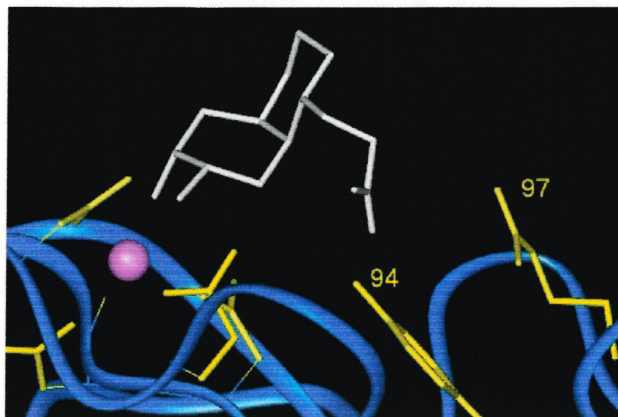


Figure 2.4. Arrimage de la molécule **50i** sur la sélectine E

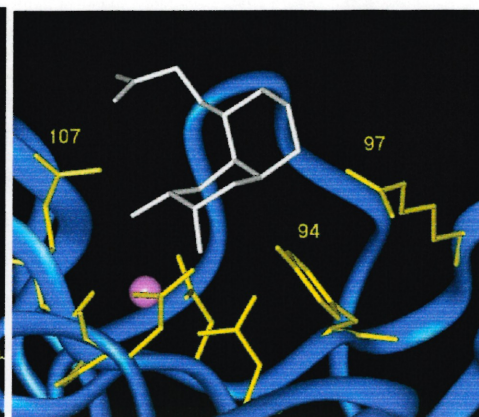


Figure 2.5. Arrimage de l'énantiomère de **50i** sur la sélectine E

Ces études sur l'énantiomère non modélisé à l'origine permettent donc d'expliquer cette observation surprenante (à première vue) du degré d'activité comparable des deux énantiomères du composé **50i** sur la sélectine E. De plus, ces résultats nous amènent à reconsidérer l'hypothèse de Kogan³⁵ à laquelle nous avons souscrit au départ à l'effet que les ligands à l'atome calcium doivent respecter l'orientation et la distance du ligand naturel. Nous sommes donc maintenant portés à croire que cette disposition n'est pas aussi critique que nous enseigne la littérature.

Énantiomère modélisé sur le sLe ^x (voir figure 2.4)	Énantiomère opposé
2,36 Å avec Arg 97	2,45 Å avec Glu 107
2,23 Å avec Tyr 94	

Tableau 2.3. Distances entre le groupe carboxylate des énantiomères de **50i** et les groupes accepteurs de ponts hydrogène sur la sélectine E

*Synthèse de l'objectif
hydroxyamide*

3 Synthèse de l'objectif hydroxyamide

Dans cette section, nous allons couvrir les travaux qui ont été effectués pour réaliser la synthèse du composé hydroxyamide **54** (figure 3.1). Plusieurs voies de synthèse ont dû être envisagées et testées avant la complétion de la molécule désirée, ces voies seront présentées dans les différentes sections qui suivent.

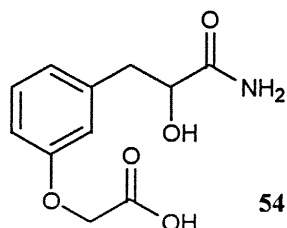


Figure 3.1. Objectif de synthèse d'un α -hydroxyamide

3.1 Approche via une désamination nitreuse

Cette partie du projet a été effectuée par Caroline Labonté, lors de ses études de maîtrise.⁸⁸ Nous allons donc rapidement voir ce qui a été fait pour illustrer les leçons qui ont été tirées de ces travaux préliminaires.

3.1.1 Analyse rétrosynthétique

En premier lieu, l'auteure avait remarqué que le squelette de la molécule **54** désirée est celui de la *méto*-tyrosine, un acide aminé non-naturel disponible commercialement sous sa forme racémique.⁸⁸ Le schéma 3.1 illustre le premier plan de synthèse :

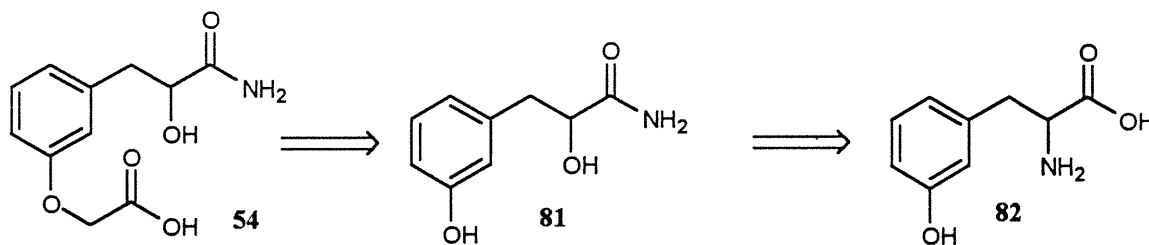


Schéma 3.1. Analyse rétrosynthétique impliquant une désamination nitreuse

L'étape-clé de cette séquence est la transformation de la fonction amine en hydroxyle. Généralement, ceci peut être accompli par la méthode de désamination nitreuse, qui consiste à transformer le groupement amine de la molécule **82** en sel de diazonium à l'aide d'acide nitreux, lequel est ensuite substitué par une molécule d'eau présente dans le milieu. Il ne reste alors qu'à transformer l'acide carboxylique en amide, puis à alkyler sélectivement la fonction phénol de la molécule **81** par un fragment α -acétique, pour obtenir le produit **54** désiré.

3.1.2 Désamination nitreuse

La désamination nitreuse des différents acides aminés est beaucoup étudiée dans la littérature, car cette réaction permet généralement de former des α -hydroxyacides avec rétention de configuration sans perte, ou presque, de pureté optique. Le schéma 3.2 illustre la réaction de diazotation où le départ de l'azote à partir de l'ion diazonium est assisté par l'arrière par le groupe carboxyle pour donner un intermédiaire α -lactone, lequel est ouvert par l'eau du milieu pour donner l'alpha-hydroxyacide avec rétention de configuration.

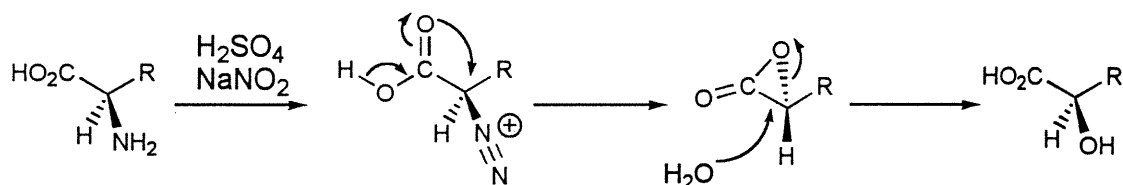


Schéma 3.2. Rétention de configuration lors de la désamination des acides α -aminés

Cependant, l'auteure n'a jamais pu trouver un exemple rapporté de cette réaction sur l'acide aminé non-naturel *mé*ta-tyrosine, malgré que beaucoup d'acides aminés non naturels se retrouvent parmi les exemples de la littérature.⁸⁹ Nous croyons maintenant comprendre pourquoi.

Cette réaction fonctionne bien avec la *para*-tyrosine (naturelle), mais pas avec la *mé*ta-tyrosine. Malgré tous les efforts déployés et les différentes modifications de procédures tentées, il ne fut pas possible de faire réagir ce substrat, seul le produit de départ était récupéré. Lorsque des conditions un peu plus robustes ont été utilisées,

seule la dégradation du produit de départ fut observée. Après plusieurs essais infructueux, cette voie fut abandonnée au profit d'une autre soit l'oxydation de l'énolate d'un ester.

3.2 Approche via l'oxydation d'un énolate d'ester

Cette partie du projet a aussi été étudiée par Caroline Labonté, lors de ses études de maîtrise, elle sert aussi de base pour mieux comprendre la suite du cheminement synthétique que j'ai utilisé.

3.2.1 Analyse rétrosynthétique

Le schéma 3.3 illustre la voie élaborée pour obtenir la molécule α -hydroxyamide utilisant cette fois une oxydation de l'énolate de l'ester correspondant. La molécule cible serait obtenue par alkylation sélective de la fonction phénol du composé **83**. L'amide proviendrait d'une conversion de l'ester **84** et l'alcool serait le fruit d'une oxydation de l'énolate de l'ester **85**. L'ester à son tour proviendrait d'une estérification et d'une réduction de l'acide 3-hydroxycinnamique **86**, disponible commercialement.

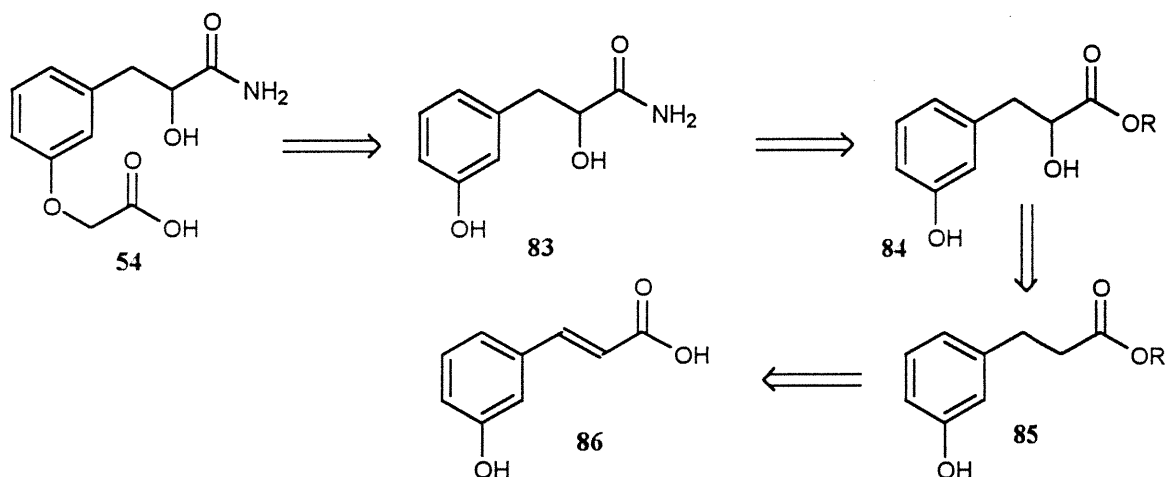
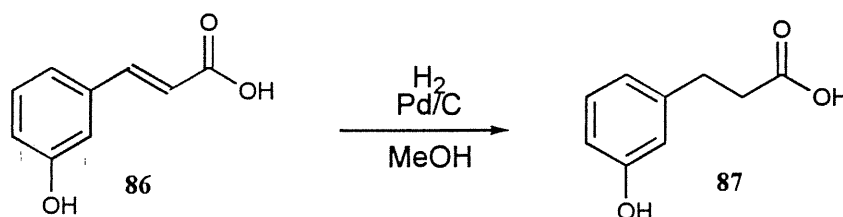


Schéma 3.3. Analyse rétrosynthétique impliquant l'oxydation d'un énolate d'ester

Parmi les différentes méthodes d'oxydation, certaines permettent d'obtenir sélectivement un énantiomère donné. Ceci serait avantageux, car l'auteure aurait pu comparer l'activité biologique de chaque énantiomère.

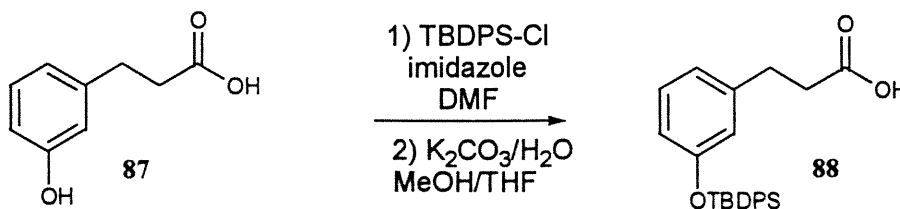
3.2.2 Réduction de l'alcène, protection du phénol et estérification

La double liaison de l'acide cinnamique de départ **86** est facilement réduite par hydrogénation catalysée par le palladium sur charbon, pour former l'acide **87** avec un rendement quantitatif.



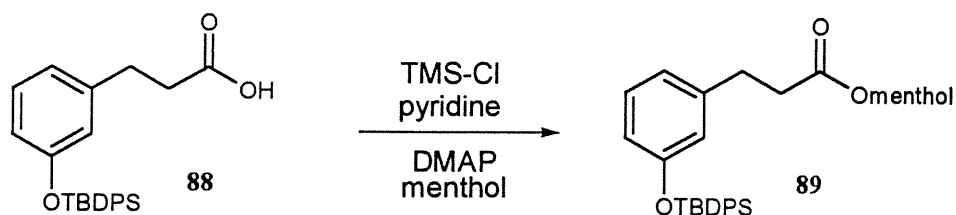
Équation 3.1

Pour la suite de la séquence, particulièrement l'étape clé de déprotonation/oxydation, il a été jugé nécessaire de protéger la fonction phénol; le groupement *tert*-butyldiphénylsilyl (TBDPS) a été choisi pour les conditions douces de protections et déprotection. Protéger le phénol du composé **87** a toutefois été plus compliqué qu'il peut le sembler à première vue; en effet dans les conditions de protection l'acide réagit à une vitesse seulement un peu inférieure à celle du phénol avec le groupement protecteur, offrant un mélange de produit mono- et diprotégé. La procédure offrant les meilleurs rendements consiste à traiter le mélange obtenu lors de la silylation par des conditions faiblement basiques, hydrolysant l'intermédiaire ester silylé formé en l'acide **88**.⁹⁰



Équation 3.2

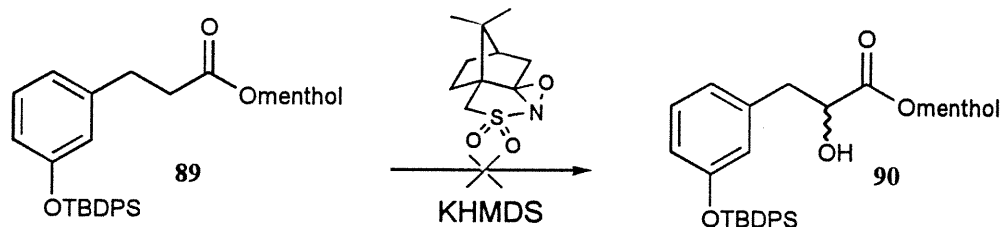
L'étape suivante consiste à former un dérivé ester. Comme mentionné plus haut, l'auteure a tenté de former séparément les deux énantiomères de cette molécule, c'est pourquoi en premier lieu un ester chiral a été choisi.⁸⁸ Elle espérait que la formation de diastéréoisomères permettrait de séparer ces composés. En plus, il demeurerait la possibilité qu'un groupement chiral à cette position permette une double stéréodifférenciation, augmentant la sélectivité du réactif d'oxydation. Le menthol a été choisi, car il est peu coûteux. Le menthol a donc été couplé au composé **88** à l'aide de chlorure de triméthylsilyl, de pyridine et de DMAP; c'est la procédure qui s'est révélée la plus efficace pour former l'ester **89**.



Équation 3.3

3.2.3 Oxydation de Davis

Plusieurs sources « d'oxygène positif » peuvent être utilisées pour une attaque électrophile sur un énolate, par exemple l'oxygène moléculaire, le diméthylodioxyrane (DMDO) et le MoOPH.^{91,92} Cependant, ces méthodes sont toutes non-stéréosélectives, c'est pourquoi l'auteure s'est plutôt tournée vers la méthode d'oxydation de Davis. Cette méthode utilise une sulfonyloxaziridine comme source d'oxygène et un réactif dérivé du camphre pour la rendre énantiosélective.⁹³ L'équation 3.4 illustre l'oxydation de Davis sur le substrat **89** : l'ester est déprotonné à l'aide de KHMDS, puis cet énolate est oxydé à l'aide du (camphorylsulfonyl)oxaziridine.



Équation 3.4

Malheureusement, cette réaction n'a pas donné les résultats attendus : la déprotonation suivie de l'oxydation n'a fait apparaître qu'une multitude de produits desquels il ne fut pas possible pour l'auteure d'isoler quelque chose d'autre que du produit de départ ou des dérivés de décomposition du réactif d'oxydation.⁸⁸ Après de grands efforts pour obtenir de bons résultats en jouant avec les conditions réactionnelles, cette voie aussi a été abandonnée par l'auteure.

3.3 Approche via une cyanohydrine

Le reste des travaux discutés dans ce chapitre sont le fruit de mes propres efforts.

3.3.1 Analyse rétrosynthétique

Un article traitant de l'hydrolyse douce de cyanohydrines en α -hydroxyamides a attiré notre attention vers une voie utilisant cette réaction clé, comme on peut le voir au schéma 3.4.

Nous utiliserons, pour cette séquence de synthèse, l'acide (3-hydroxyphenyl)-acétique **93** comme substrat de départ. La stratégie consiste à transformer la fonction acide carboxylique en aldéhyde **92**, puis celle-ci en cyanohydrine correspondante **91**. Par la suite, le nitrile doit être hydrolysé en amide **83**, utilisant la procédure clé discutée plus tôt. Enfin, comme dans les voies précédentes, le phénol est alkylé avec la chaîne appropriée pour fournir le substrat α -hydroxyamide **54** désirée.

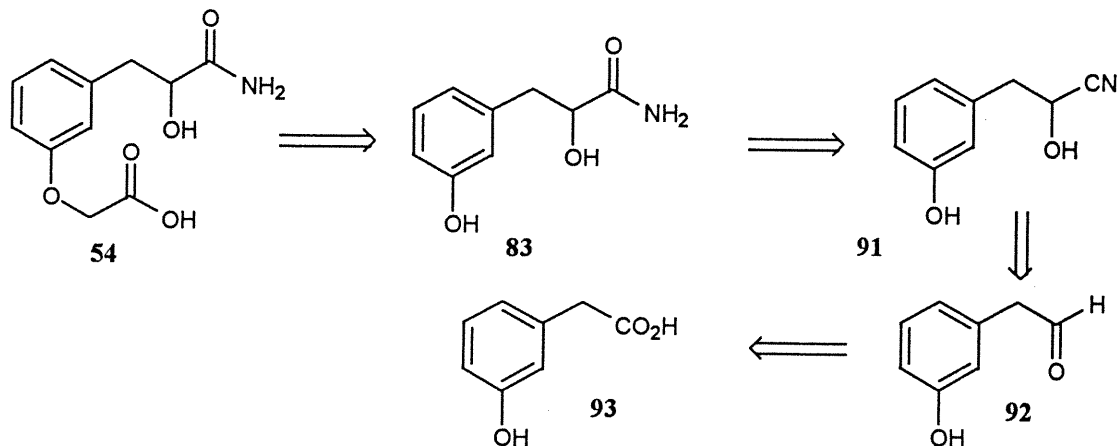


Schéma 3.4. Analyse rétrosynthétique impliquant un intermédiaire cyanohydrine

Le schéma 3.5 illustre les réactifs anticipés et dans quel ordre nous prévoyons atteindre l'objectif. Selon le plan élaboré, la première étape est la réduction de l'acide (3-hydroxyphényl)-acétique **93** à l'aide de borane pour former l'hydroxyphénol **94**. La protection sélective de l'hydroxyle du phénol puis l'oxydation douce de l'alcool devrait former l'aldéhyde **95**, qui peut être transformé en cyanohydrine **96** par une addition de cyanure. La fonction nitrile est hydrolysée en milieu légèrement acide, pour fournir l'hydroxyamide **97**. La suite consiste à hydrogéner le groupement benzyle, ce qui libère le phénol **83** et permettra de l'alkyler avec l'ester de méthyle de l'acide bromoacétique. Une hydrolyse de l'ester forme l'acide **54**, qui est le produit désiré.

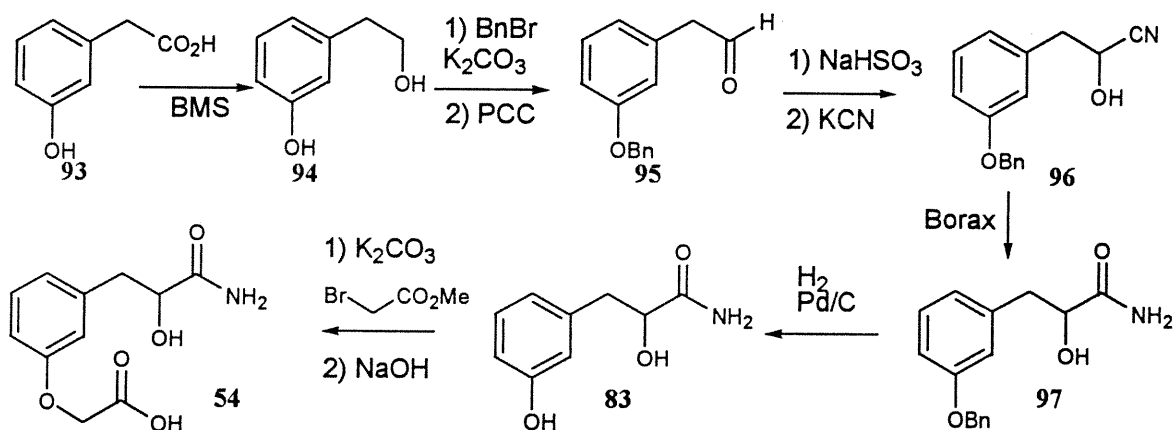
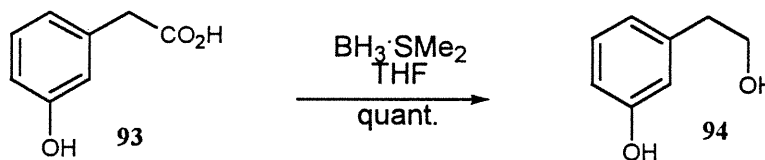


Schéma 3.5. Plan de synthèse impliquant un intermédiaire cyanohydrine

3.3.2 Réduction de l'acide carboxylique

Les résultats obtenus par Caroline Labonté discutés dans la section 3.2.2 sur la difficulté de protéger sélectivement le phénol en présence de l'acide carboxylique libre nous ont amenés à prendre des précautions particulières concernant la sélectivité de ces fonctions. Pour contourner le problème, nous avons choisi de réduire l'acide carboxylique en alcool, car il sera facile de différencier entre l'hydroxyle d'un phénol et celui d'un alcool. Nous avons utilisé le complexe borane-sulfure de diméthyle (BMS), ce réactif réduit sélectivement les acides en alcools tout comme le borane normalement utilisé, mais la complexation avec le sulfure lui confère une stabilité accrue, donc sa durée de vie est augmentée et les réactions secondaires sont minimisées.⁹⁴ La réduction de l'acide carboxylique **93** en l'alcool **94** à l'aide de ce réactif s'est faite avec un rendement quantitatif.

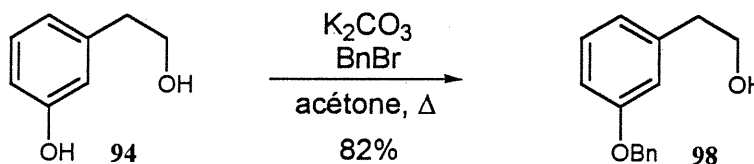


Équation 3.5

3.3.3 Protection sélective du phénol

Pour cette étape, nous avons choisi le groupe protecteur benzyl pour le phénol, car il peut généralement être enlevé dans des conditions neutres (hydrogénolyse), ce qui est très pratique à la fin d'une synthèse et il est résistant aux conditions acides qui pourraient être nécessaire pour hydrolyser le nitrile en amide, au cas où la procédure utilisant des conditions douces ne fonctionne pas. Le problème que nous avons envisagé lors de la protection est une benzylation non sélective des deux groupements hydroxyles présents sur la molécule. Néanmoins, un de ces groupements est aliphatique tandis que l'autre est aromatique et le pK_a (dans l'eau) du premier est de 16, tandis que celui du deuxième est plutôt de 8-11.⁹⁵ Ceci devrait donc nous permettre d'avoir une bonne sélectivité, mais pour s'assurer de déprotoner sélectivement le phénol (pour avoir une grande différence de nucléophilie), il faut une base dont

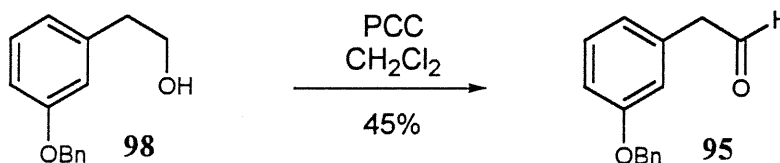
l'acide conjugué possède un pKa entre celui de ces deux groupements. Le bicarbonate (HCO_3^-) possède un pKa de 10.33, nous pouvons donc utiliser sa base conjuguée, le carbonate (CO_3^{2-}) pour la réaction. Nous avons effectué cette réaction et avons fait réagir le substrat **94** avec le carbonate de potassium en présence de bromure de benzyl dans l'acétone à reflux et le substrat mono-protégé **98** fut obtenu avec 82% de rendement.⁹⁶



Équation 3.6

3.3.4 Oxydation de l'alcool **98** en aldéhyde **95**

Une des procédures des plus pratique pour convertir un alcool primaire en aldéhyde sans passer à l'acide est d'utiliser le PCC, le réactif de Corey, car il est disponible commercialement et ne nécessite pas d'atmosphère inerte.⁵⁸ Nous avons donc converti l'alcool **98** en aldéhyde **95** dans le dichlorométhane.



Équation 3.7

Malheureusement, les rendements n'ont jamais dépassé 45%. L'ajout d'acétate de sodium pour tamponner la réaction et neutraliser l'acidité du réactif, comme suggéré dans l'article de Corey, n'a pas résolu le problème, les rendements sont demeurés aussi faibles. Étant donné qu'il existe un très grand nombre de méthodes pour oxyder sélectivement un alcool en aldéhyde, nous en avons donc testé d'autres. Nous nous sommes d'abord tourné vers des réactions qui utilisent des réactifs simples i.e. qui ne nécessitent pas plusieurs étapes pour les synthétiser. Nous

avons d'abord testé la réaction de Pfitzner-Moffatt, ainsi qu'une procédure développée dans les laboratoires Hanessian utilisant le *N*-iodosuccinimide et de l'iodure de tétrabutylammonium.^{97,98} Dans ces deux cas, nous nous sommes retrouvés avec une multitude de produits secondaires formés, contenant seulement une trace de l'aldéhyde désiré. Nous avons conclu que c'était probablement la nature même du substrat plutôt que le PCC qui causait les faibles rendements et puisque nous disposions quand même d'une bonne quantité d'aldéhyde pur, nous avons décidé d'aller de l'avant avec les autres étapes et de revenir optimiser l'oxydation plus tard au besoin.

3.3.5 Hydrocyanation de l'aldéhyde 95

L'addition de cyanure sur les aldéhydes et même les cétones est connue depuis longtemps et des dérivés de cette réaction sont maintenant utilisés comme groupes protecteurs pour les fonctions carbonyles.⁹⁹ La procédure originale de formation de cette fonction consiste à faire réagir du cyanure sur le carbonyle en milieu faiblement acide,¹⁰⁰ mais vue la grande toxicité de l'acide cyanhydrique dégagé, des méthodes alternatives plus pratiques et moins létales ont été développées. Nous avons considéré les deux méthodes les plus courantes : l'utilisation d'un intermédiaire bisulfite ainsi que la formation d'une cyanohydrine silylée.

En premier lieu, nous avons examiné la formation d'un dérivé bisulfite entre l'aldéhyde et la cyanohydrine. L'intermédiaire bisulfite, un précipité blanc, se forme par addition de bisulfite de sodium en milieux aqueux sur le carbonyle. Cet intermédiaire peut parfois être isolé, mais généralement il est utilisé *in situ* en le faisant directement réagir avec une source de cyanure.¹⁰¹ Comme montré au schéma 3.6, nous avons utilisé le cyanure de potassium comme source de nitrile pour déplacer le bisulfite et former la cyanohydrine 96. Lorsque tout le précipité formé lors de l'addition du bisulfite a disparu, on voit par ccm qu'il ne reste presque plus de composé de départ et on isole alors la cyanohydrine 96 désirée. Toutefois, la fonction cyanohydrine est très sensible aux conditions acides, basiques (particulièrement) ou encore thermique, nous avons donc préféré utiliser le composé tel quel, sans purification après l'extraction, de peur de libérer du cyanure gazeux lors de la purification du composé sur la silice ou par une autre méthode.

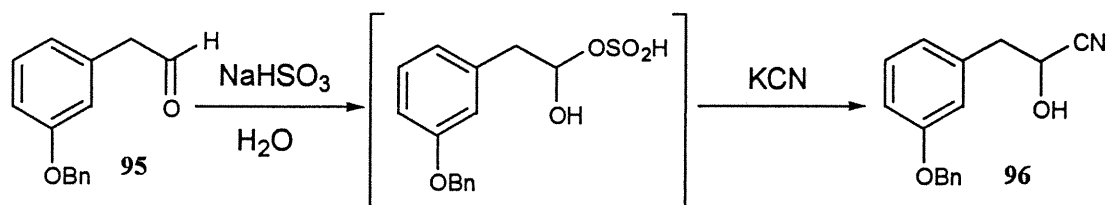


Schéma 3.6. Formation de la cyanohydrine via le dérivé bisulfite

L'autre voie courante pour la formation de cyanohydrines est l'utilisation du cyanure de triméthylsilyle, disponible commercialement ou formé *in situ*.^{101,102} Le schéma 3.7 montre la réaction prévue entre notre substrat **95** et le réactif pour former la cyanohydrine **96**.

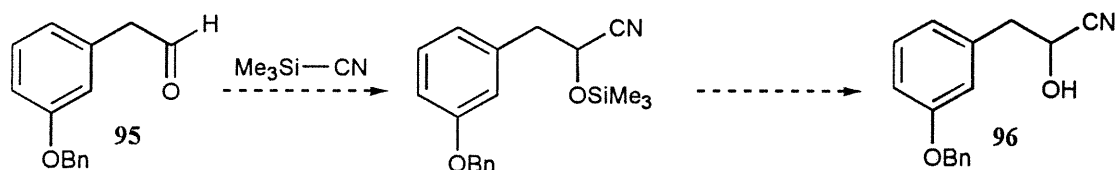


Schéma 3.7. Utilisation du cyanure de triméthylsilyle pour former la cyanohydrine

Puisque nous avons obtenu un certain succès avec la première méthode d'hydrocyanation, nous avons reporté à plus tard les essais sur la voie utilisant la triméthylsilylcyanohydrine, car d'abord nous avons craint que la silylation de l'alcool ne le transforme en trop bon groupe partant, amenant l'élimination pour former une double liaison doublement conjuguée, à la fois au cycle aromatique et au nitrile.

3.3.6 Hydrolyse de la cyanohydrine **96**

Il existe de nombreuses méthodes pour l'hydrolyse d'un nitrile en amide, mais elles impliquent généralement des conditions assez fortes. C'est pourquoi on voit peu de procédures équivalentes pour les α -hydroxynitriles, car ces derniers ne résistent pas à ces conditions et sont retransformés en aldéhydes correspondants (l'aldéhyde et la cyanohydrine sont en équilibre avec une faible barrière d'activation). C'est la raison qui nous a fait miser sur un article qui relatait l'hydrolyse de cyanohydrine avec

du Borax à un pH de 9-11 avec des rendements de 65% à 85%, en 1 heure à 8 heures à 80 °C.¹⁰³ Le schéma 3.8 relate l'application de cette procédure à notre substrat.

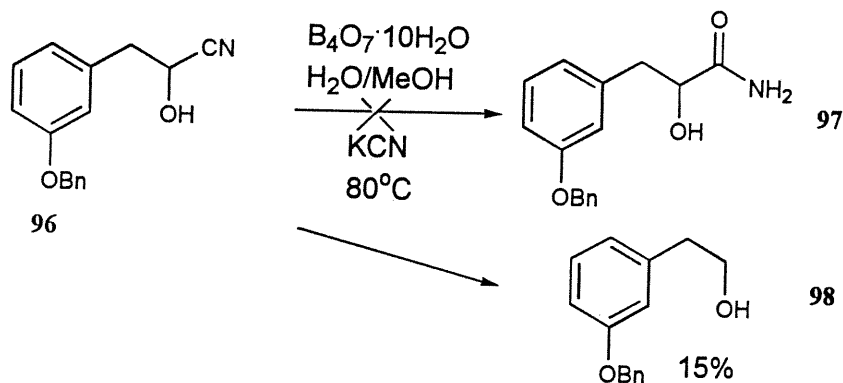


Schéma 3.8. Tentative d'hydrolyse de la cyanohydrine à l'aide de Borax

Comme on le remarque, le produit principal n'est pas le produit 97 désiré. Cette réaction forme de nombreux produits, dont le principal est le produit de réduction, l'alcool 98! Ce produit provient probablement de la réduction de l'aldéhyde qui peut se former lors de la réaction, mais nous n'avons, pour l'instant, aucune explication sur cette réaction.

Dans le *Chemical Abstracts*, nous avons trouvé le résumé d'un brevet qui décrit l'hydrolyse de la 2-hydroxy-2-méthylpropionitrile en amide α-hydroxyisobutyrique à l'aide de H_2SO_4 85% à $65^\circ C$, puis en acide α-hydroxyisobutyrique en diluant l'acide et en chauffant à $110^\circ C$.¹⁰⁴ Nous avons conclu qu'en n'utilisant que la première section de ce résumé, il nous serait peut-être possible d'obtenir l'α-hydroxyamide désirée. Nous avons donc tenté d'hydrolyser la cyanohydrine 96 en la chauffant à $60^\circ C$ en présence d'acide sulfurique 85%, mais le schéma 3.9 illustre l'échec de cette méthode : nous n'avons réussi à obtenir que des produits de décomposition.

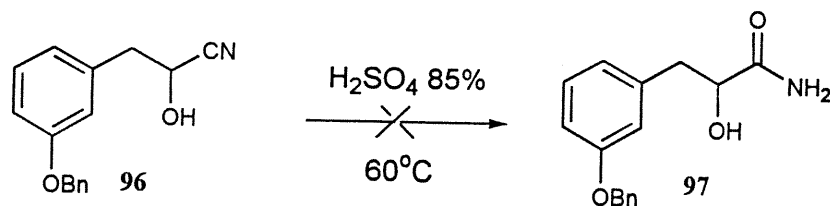


Schéma 3.9. Tentative d'hydrolyse de la cyanohydrine à l'aide d'acide sulfurique 85%

Par CCM, nous voyons plusieurs produits beaucoup moins polaires que le produit de départ et qui montrent une grande absorbance à l'ultraviolet. Nous croyons que les produits secondaires proviennent principalement de l'élimination de l'hydroxyle pour former une double liaison. Devant cette série de résultats décevants, nous avons décidé de modifier notre stratégie de synthèse.

3.4 Approche via la réduction d'un époxyde

3.4.1 Analyse rétrosynthétique

Dans le but d'éviter les problèmes relatés plus haut, nous avons modifié notre stratégie pour approcher la fonction α-hydroxyamide par la voie de réduction régio-sélective d'α,β-époxyamide. Le schéma 3.10 montre la nouvelle stratégie de synthèse : la chaîne vient toujours d'une alkylation du phénol, mais l'alcool vient d'une ouverture sélective d'un époxyde **99**, qui sera formé sur la double liaison de l'acide 3-hydroxycinnamique **86**.

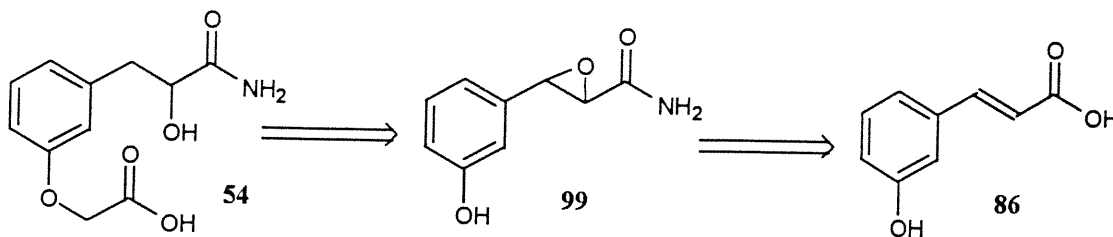


Schéma 3.10. Analyse rétrosynthétique de la voie utilisant l'ouverture régio-sélective d'un époxyde

Pour réaliser cette séquence, nous utilisons le même produit de départ que pour la voie discutée à la section 3.2 soit l'acide cinnamique **86**. Mais cette fois, la double liaison du produit de départ n'est pas un obstacle à réduire, mais plutôt un tremplin à l'aide duquel nous espérons atteindre le composé final. Le schéma 3.11 montre plus en détail le chemin que nous prévoyons parcourir.

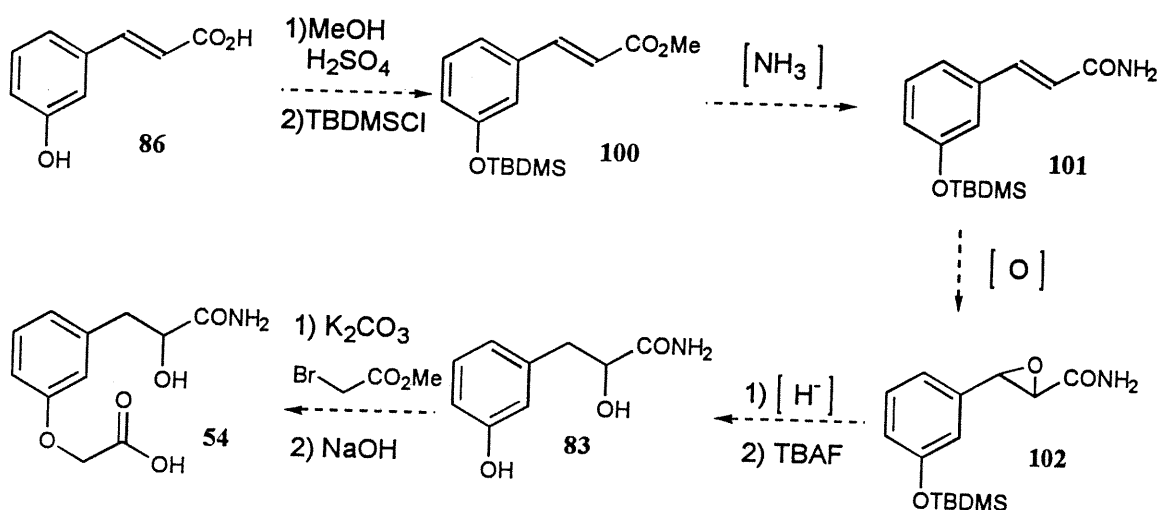
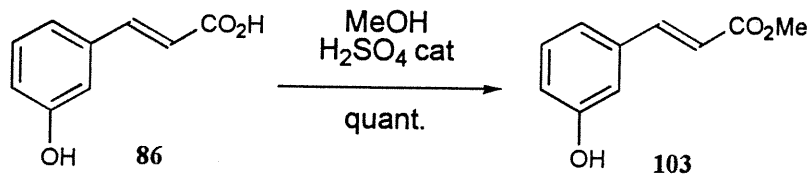


Schéma 3.11. Réactifs prévus pour la voie utilisant la réduction d'un époxyde

Voyons maintenant ce cheminement étape par étape.

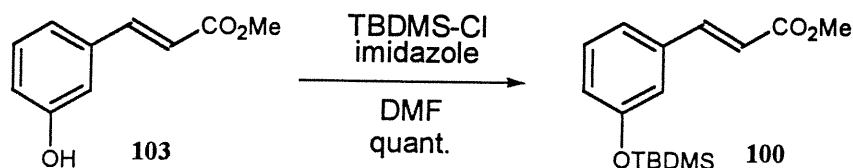
3.4.2 Protection de l'acide 3-hydroxycinnamique **86**

Nous avons appris de nos erreurs, ou plutôt de nos difficultés, sur ce composé. Nous savons que différencier le phénol de l'acide peut être difficile lors de la protection, c'est pourquoi nous avons décidé d'attaquer le groupement acide carboxylique en premier lieu, en le transformant en ester.¹⁰⁵ Cette transformation, en plus de faciliter la protection du phénol, facilitera l'amidation de ce composé, c'est une similitude. Nous avons donc formé l'ester de méthyle **103** plutôt qu'un autre ester, car il sera plus réactif que des esters plus encombrés lorsque viendra le temps de l'amidation.



Équation 3.8

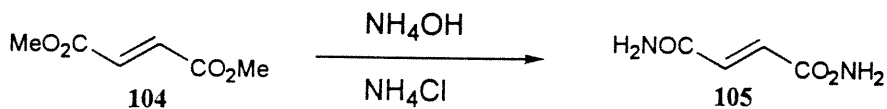
Le phénol **103** est ensuite facilement protégé par un groupement silyle dans les conditions usuelles pour fournir le composé **100**.⁹¹



Équation 3.9

3.4.3 Amidation de l'ester **100**

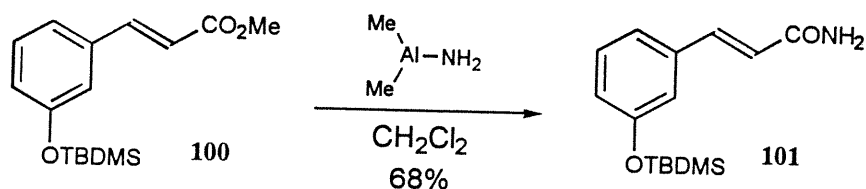
Il existe de nombreuses méthodes pour convertir un ester en amide. La première procédure que nous avons testée est une des plus simple que nous avons pu trouver dans la littérature : une conversion du diéthyl fumarate **104** en diamide correspondant **105** utilisant de l'hydroxyde d'ammonium concentré et du chlorure d'ammonium directement sur le composé, sans solvant.¹⁰⁶



Équation 3.10

Cependant, l'application de cette procédure à notre substrat n'a pas été efficace, car nous n'avons obtenu aucun succès avec cette méthode sur notre produit, même après plusieurs jours de chauffage : il n'y avait toujours que du produit de départ. Nous nous sommes donc tournés vers une méthode plus fine : l'utilisation de l'amidure de diméthylaluminium, le réactif de Weinreb.¹⁰⁷ Ce réactif est préparé *in*

situ en mélangeant simplement dans le dichlorométhane une quantité égale de triméthylaluminium et d'amine choisie, l'ammoniaque dans notre cas. Après une vingtaine de minute, on ajoute l'ester et on chauffe à 40 °C. Il faut être prudent avec le chauffage, car si la température devient trop élevée, l'amide formé peut se transformer en nitrile. Cette transformation peut même fournir des rendements allant jusqu'à 90%.¹⁰⁸ Dans notre cas, nous avons transformé l'ester **100** en amide **101** avec un rendement de 68%.



Équation 3.11

3.4.4 Époxydation de l'alcène **101**

La méthode d'époxydation la plus courante est la réaction d'un peracide avec une double liaison. Cependant, cette réaction devient très lente, voir impossible pour des doubles liaisons pauvres en électrons, comme lorsque substituées par des groupes électroattracteurs. Dans ces cas, la procédure usuelle est légèrement différente : on utilise l'attaque nucléophile de type Michael d'un peroxyde sur la double liaison, et l'énolate formé attaque l'oxygène α du peroxyde pour former l'époxyde et expulser un alkoxyde ou un hydroxyde, selon le réactif utilisé (schéma 3.12).¹⁰⁹

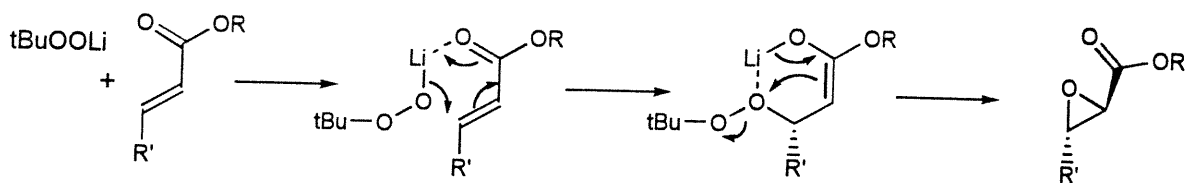
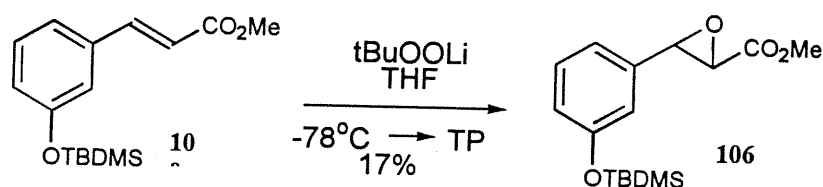


Schéma 3.12. Époxydation par attaque de Michael d'un peroxyde

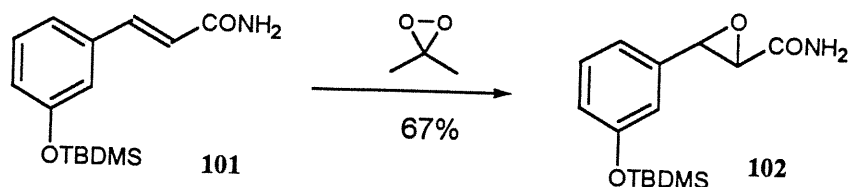
Cette réaction est possible sur des amides α,β -insaturés, mais les protons de l'azote doivent être remplacés par des groupes protecteurs ou bien des substituants.

Nous avons d'abord testé cette méthode sur le dérivé méthyle ester **100** de notre substrat, avant de tester des groupes protecteurs d'amide. Nous étions confiants, car cette réaction a été effectuée sur l'ester de méthyle de l'acide cinnamique, soit notre substrat sans la fonction phénol protégée, avec un rendement de 93%. Malheureusement pour nous, il ne faut jamais sous-estimer la puissance d'un substituant, le produit majoritaire était effectivement l'époxyde désiré **106** mais le rendement n'a pas été mieux que de 17% lors de deux essais.



Équation 3.12

Nous avons donc regardé la voie plus classique d'époxydation, soit l'utilisation du peracide *mé*ta-chloroperoxybenzoïque (mCPBA). Nous avons réussi à trouver un article qui relatait l'époxydation de l'ester d'éthyle de l'acide cinnamique avec un rendement de 70%.¹¹⁰ Mais, nous avons réalisé que dans ce cas l'effet du substituant était encore plus drastique : nous n'avons observé aucune réaction. Nous avons aussi testé un autre peracide : le sel de magnésium de l'acide monoperoxyphthalique (MMPP) mais sans succès.¹¹¹ Le prochain réactif sur notre liste était le diméthylidioxyrane (DMDO), formé par oxydation de l'acétone à l'aide d'oxone. Nous avons encore trouvé un article qui traitait de l'époxydation de l'acide cinnamique, mais cette fois la réaction était effectuée directement sur l'acide carboxylique libre.¹¹² Nous avons donc rapidement testé ce réactif directement sur l'amide **101** non protégé, surtout que les essais préliminaires sur l'ester de méthyle correspondant avaient été très positifs. Nous avons obtenu l'époxyamide **102** désirée avec 67% de rendement.



Équation 3.13

Nous avons utilisé un montage qui nous permettait de distiller le DMDO formé dans le mélange eau/acétone/bicarbonate de sodium/oxone directement sur le produit. Ceci évitait les extractions pour enlever les sels, car le résidu de la réaction du DMDO est de l'acétone, que l'on peut simplement évaporer. Un problème a toutefois surgit, la réaction n'était jamais complète au premier traitement avec le DMDO, même en variant la quantité de produit de départ. Le problème a été contourné en évaporant simplement le mélange réactionnel et en le retraitant avec du réactif frais, ce qui permettait d'augmenter graduellement la quantité d'époxyde formée. Ce problème semblait plus important sur des échelles de plus d'un gramme. De plus, la répétition de la réaction sous-entend des temps de contact plus long et les époxydes sont des composés sensibles aux attaques nucléophiles, dont les molécules d'eau. Une trace de produit passablement plus polaire apparaissait avec le temps sur la CCM; celui-ci provenait probablement de l'ouverture de l'époxyde par l'eau.

3.4.6 Ouverture sélective de l'époxyde

Les réactifs pour l'ouverture d'un époxyde se divisent en deux catégories, selon qu'ils possèdent un caractère plus nucléophile ou électrophile.¹¹³ Les premiers sont « basiques », par exemple LiAlH_4 ou NaOH , et attaquent l'époxyde par un état de transition négativement chargé, générant ainsi un alcoolate. Sur notre substrat, ces réactifs attaqueraient probablement en position α du carbonyle, pour donner un β -hydroxyamide plutôt que la α -hydroxyamide désirée, car il y aurait un certain recouvrement des orbitales intervenant lors de la formation de l'état de transition de la substitution avec celles du lien π du groupe carbonyle.

L'autre catégorie de réactif est de type « acide », elle consiste à activer l'oxygène de l'époxyde par un acide générant une charge positive partielle à la posi-

tion la plus stabilisée. Un nucléophile relativement faible (trop faible pour une ouverture, mais assez fort pour un site pauvre en électron) peut alors attaquer à la position déficiente en électrons. Dans le cas présent, la charge positive partielle devrait apparaître en α du noyau aromatique à cause de la stabilisation qu'il fournit et donc conduire au développement d'un hydroxyle en α de l'amide et l'entrée d'un nucléophile en β . Dans le cas où le nucléophile est un hydrure, on obtient une réduction régiosélective de l'époxyde.

Nous avons testé plusieurs conditions réactionnelles, décrites dans le tableau 3.1 et pour ces essais préliminaires, nous avons utilisé l'ester de méthyle **106** plutôt que l'amide **102**. De plus, étant donné la source d'hydrure présente, des acides de Lewis plutôt que de Brønsted ont été utilisés.

Entrée	Acide de Lewis	Réducteur	Fonction observée
1	MgI ₂	Bu ₃ SnH	α -halo-alcool
2	ZnI ₂	Bu ₃ SnH	α -halo-alcool
3	MgI ₂	NaBH ₄	α -halo-alcool
4	BF ₃	NaB(CN)H ₃	alcène
5	BF ₃	NaBH ₄	alcène
6	BF ₃	BH ₃	alcène
7	BH ₃	LiBH ₄	alcool

Tableau 3.1. Combinaisons acides de Lewis-réducteurs examinés pour la réduction régiosélective de **106**

Nous avons regardé en premier lieu l'iodure de magnésium, car ce réactif a été développé spécialement pour transformer des α,β -hydroxyesters en α -hydroxyamides.¹¹⁴ Le caractère divalent du magnésium lui permet de complexer à la fois avec le carbonyle et l'époxyde, favorisant l'ouverture du côté désiré (schéma 3.13).

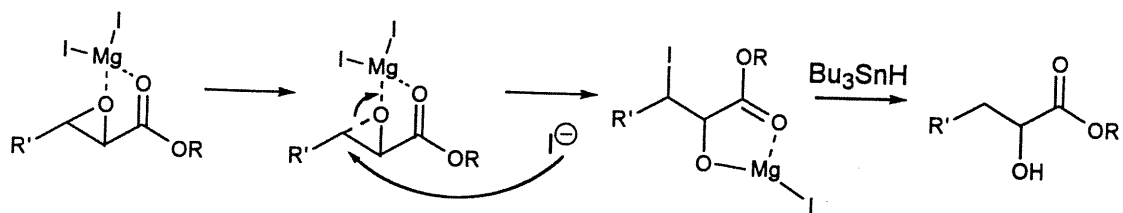
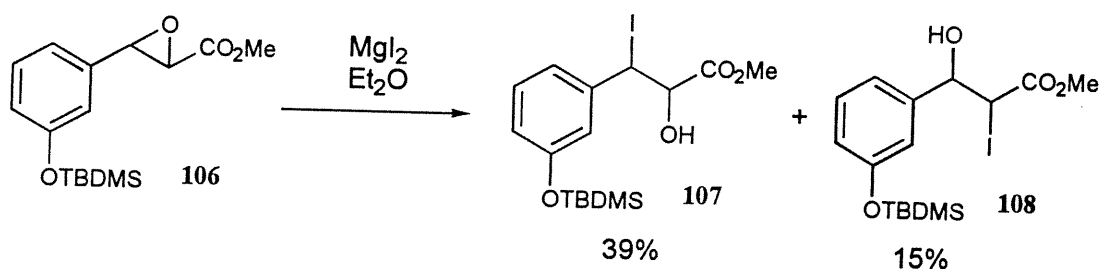


Schéma 3.13. Ouverture d'un époxyde par l'iodure de magnésium, suivi d'une réduction par l'hydrure de tributylétain

Cette ouverture doit être faite en deux étapes. En premier lieu, le nucléophile qui vient ouvrir l'époxyde activé par le magnésium est l'iode. Ce dernier est ensuite réduit par l'hydrure de tributylétain. Dans notre cas, l'ouverture a eu lieu, mais la sélectivité n'était pas de 200 à 1 comme dans la publication. La réaction sur le composé **106** produisait plutôt, dans un rendement total de 54%, un mélange 5 : 2 des composés désiré **107** et non-désiré **108**.

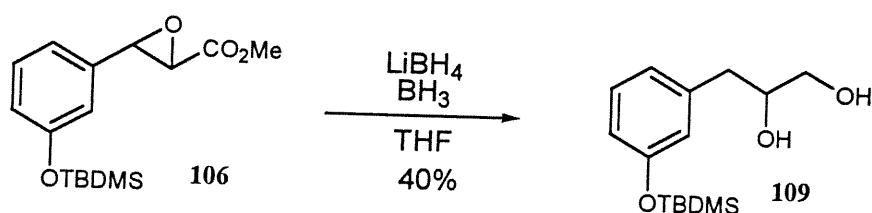


Équation 3.14

Dans l'article, on mentionnait que la réaction fonctionnait aussi bien avec l'iodure de zinc, mais qu'elle prenait une journée plutôt qu'une heure. Nous avons donc aussi testé ce réactif, mais comme attendu, la sélectivité ne semblait pas s'être améliorée et il restait beaucoup plus de produit de départ. De plus, nous n'avons pas réussi à effectuer la réduction avec le réactif d'étain, que l'on ait utilisé l'iodure de magnésium ou de zinc comme acide de Lewis. L'attaque nucléophile d'un hydrure provenant du NaBH_4 pour déplacer l'halogène a été testée,¹¹⁵ mais les résultats n'ont pas été satisfaisants et nous avons envisagé d'autres méthodes que les réactifs iodés divalents.

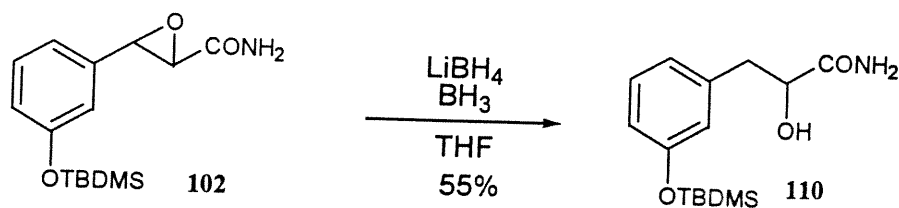
La stratégie suivante a consisté à combiner un acide de Lewis pour l'activation suivi d'une source relativement faible d'hydrure. La combinaison $\text{BF}_3/\text{NaBH}_3\text{CN}$ n'a absolument rien donné;¹¹⁶ très peu de produit a été formé, et le principal produit est l'alcène correspondant **100**. Nous avons ensuite remplacé la source d'hydrure, en utilisant du borohydrure de sodium, puis du borane.¹¹⁷ Ces combinaisons ont amené beaucoup de décomposition, dont l'apparition d'alcène; l'acide de Lewis est probablement trop fort et il doit causer l'élimination de l'alcool formé. La double liaison formée étant doublement conjuguée, avec le groupement aromatique et avec le carbonyle, cette élimination doit être très facile. De plus, le milieu devenait beaucoup plus visqueux, ce qui pourrait témoigner d'une polymérisation de l'époxyde.

La combinaison suivante utilise le borane comme acide de Lewis et un sel de borohydrure comme source d'hydrure.¹¹⁸ Avec l'ester **106**, nous avons récolté le diol **109**, témoignant de l'ouverture dans le sens désiré, mais aussi d'une certaine réduction de la fonction ester.



Équation 3.15

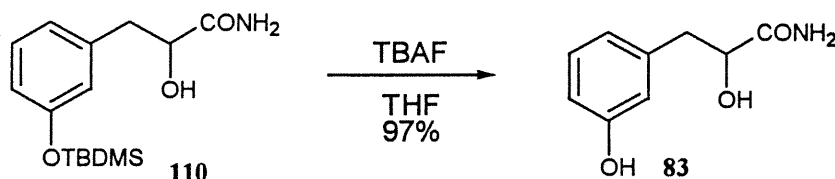
Nous étions cependant confiant que l'amide serait plus résistant à la réduction que l'ester, nous avons donc utilisé cette procédure sur l'époxyamide **102**. Nous avons effectivement obtenu l' α -hydroxyamide **110** avec un rendement de 53%.



Équation 3.16

3.4.7 Déprotection du phénol 110

L'étape suivante consistait à déprotéger le phénol **110** avant de procéder à son alkylation. Nous avons testé en premier lieu la méthode la plus simple et la plus courante : l'utilisation de fluorure de tétrabutylammonium.¹¹⁹ Nous avons obtenu le produit déprotégé **83** avec un excellent rendement de 97%.



Équation 3.17

Un problème a néanmoins surgit : la très grande polarité du substrat formé. Ceci se traduit par une très faible solubilité, compliquant l'étape suivante.

3.4.8 Alkylation sélective du phénol versus l'amide

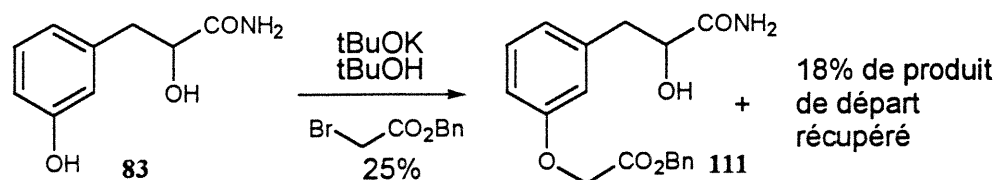
Nous désirions introduire la chaîne oxyacétique par un déplacement d'halogène. Nous planifions utiliser pour ce faire un ester de l'acide bromoacétique, bien qu'il existe des exemples où l'alkylation d'un alcool est directement faite avec le sel de lithium de l'acide bromoacétique lui-même.¹²⁰ Nous avons considéré trois possibilités d'esters : les esters méthylique, *tert*-butylique et benzylique. Ce qui nous préoccupait surtout était les conditions de déprotection et leur compatibilité avec le reste de la molécule. Les trois esters mentionnés plus haut peuvent être convertis en acide carboxylique correspondant dans des conditions basiques, acides et d'hydrogénolyse respectivement. En travaillant l'ouverture de l'époxyde, nous avons appris que les conditions acides n'étaient pas compatibles avec l'alcool sur la molécule. À partir de cette unique observation, nous pouvons déjà prédire des problèmes avec les groupements *tert*-butyl et méthyl, car le premier est déprotégé dans un milieu acide relativement fort, tandis que le deuxième conduit à un anion carboxylate que l'on doit réacidifier pour le protoner, ce qui pourrait aussi perturber l'alcool. Les

conditions neutres qui peuvent être utilisées lors d'une hydrogénéolyse nous ont convaincus d'utiliser l'ester benzylique de l'acide bromoacétique.

La difficulté de cette étape est la sélectivité : la molécule possède trois fonctions qui présentent le potentiel de se faire alkyler par un ester de l'acide bromoacétique, soit alcool, phénol et amide. Comme discuté à la section 3.3.3, la distinction entre l'alcool et le phénol ne devrait pas être un problème, puisqu'il y a un important écart entre leur valeur de pKa. Pour l'amide, les choses n'étaient pas aussi claires, car ce n'est plus seulement que les valeurs de pKa qui entrent en jeu, mais aussi la nucléophilie appréciable du groupement amide.

Nous avons pensé en premier lieu utiliser la méthodologie qui avait fonctionné à la section 3.3.3 pour protéger le phénol, soit du carbonate de potassium dans l'acétone avec l'ester correspondant. Mais le substrat n'était pas du tout soluble dans le solvant de la réaction, nous obtenions donc de mauvais résultats.

Nous avons donc recherché les solvants dans lesquels le substrat était soluble, mais nous désirions aussi un solvant qui serait facile à enlever une fois la réaction terminée. Le choix s'est porté sur le *tert*-butanol dans lequel nous avons pu dissoudre le produit, moyennant un peu de chauffage et une bonne agitation. Lorsque la solution revenait à TP, on n'observait pas de précipitation du substrat. Avec ce solvant, la base qui vient naturellement à l'esprit est le *tert*-butylate de potassium, qui déprotonera sélectivement et complètement le phénol. La procédure que nous avons utilisée consiste à dissoudre le substrat dans le *tert*-butanol à chaud. Une fois la solution revenue à TP, on ajoute une solution de base dans le *tert*-butanol. Ceci amène la précipitation du phénolate une fois que la déprotonation a eu lieu, mais nous avons néanmoins agité fortement cette suspension et nous avons ajouté l'ester au bout de 20 min. Cette procédure a permis d'obtenir le produit 111 à partir du produit multifonctionnalisé 83 mais dans un bas rendement de 25%.



Équation 3.18

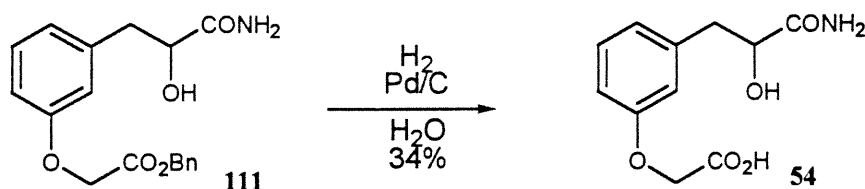
À notre avis, les rendements sont faibles d'abord parce que la réaction n'est pas complète et aussi à cause de la difficulté de traiter et de purifier la réaction : le produit formé possède une meilleure solubilité que le produit de départ dans le solvant, mais il demeure toujours une bonne quantité de ce dernier à la fin de la réaction. Toutefois, puisque nous disposions à ce moment de suffisamment de produit, nous avons procédé à l'étape suivante, la dernière.

3.4.9 Hydrogénolyse de l'ester en acide correspondant 54

L'hydrogénolyse d'un ester benzylique en acide requiert généralement des conditions douces : une atmosphère d'hydrogène et du palladium sur charbon comme catalyseur, dans un solvant comme l'éthanol ou le méthanol. Nous avons toutefois une crainte à utiliser ces solvants, car l'acide formé pourrait catalyser sa propre estérification pour engendrer des impuretés.

Nous avons regardé du côté de l'eau et avons trouvé un article décrivant l'hydrogénolyse d'un ester benzylique pour former l'acide correspondant.¹²¹ La description expérimentale était toutefois très succincte.

Nous avons donc décidé de suivre la méthodologie décrite pour l'éthanol, mais en substituant l'eau comme solvant, pour transformer l'ester benzylique 111 en acide 54.



Équation 3.19

Le produit fut encore une fois obtenu avec un faible rendement de 34%. Nous croyons que la principale explication pour le faible rendement est la faible solubilité du produit de départ dans l'eau. Dans la réaction, le catalyseur (noir) et le produit de

départ (blanc) sont en suspension. Et, au fur et à mesure que la réaction avance, le solide blanc disparaît, mais il pourrait subsister des particules blanches très fines, impossibles à distinguer du mélange noir. Nous avons pu être induit en erreur par le ccm, car le produit de départ **111** n'est que très peu soluble dans le solvant, donc difficile à suivre. Néanmoins cette réaction n'a pas été optimisée, car nous disposions de suffisamment de produit pour la caractérisation et les tests biologiques, objectif ultime de ce travail.

3.5 Activité biologique des composés synthétisés

Les molécules de cette séquence n'ayant pas été résolues, nous avons testé le mélange racémique. Plutôt que de soumettre un seul composé, nous avons choisi de soumettre aussi deux intermédiaires avancés de la synthèse, pour vérifier que l'activité proviendrait effectivement des fonctions que nous avons ajoutées à notre molécule. Les composés **83**, **111** et **54** ont été testés, les résultats sont illustrés dans le tableau 3.2.

Composé	IC ₅₀ (mM)	
	sélectine E	sélectine P
sLe ^x	2.2	2.9
83	10	>10
111	>10	>10
54	10	9.8

Tableau 3.2. Résultats des tests biologiques pour les molécules α -hydroxyamide

Malheureusement comme on peut le voir, aucune de ces molécules ne présentent d'activité dans la limite de détection de ce type de test biologique. Le test présente une limite de détection de concentration de 10 mM. à ces concentrations, nos molécules ne présentaient toujours pas d'activité biologique.

3.6 Discussion

À l'origine, nous avons choisi cet objectif de synthèse pour vérifier si l'utilisation de ligand plus fort qu'un diol soit un hydroxyamide pourrait augmenter l'affinité d'un ligand pour la protéine. Malheureusement, ces résultats complètement négatifs n'apporteront pas beaucoup à la discussion sur la liaison des ligands aux sélectines, car plusieurs facteurs autres que le ligand au calcium peuvent être responsables de l'absence d'activité biologique, soit la distance entre les groupements fonctionnels essentiels à la liaison, une conformation bio-active qui est trop haute en énergie, etc.

Conclusion

Nous avons cherché, au cours de ces travaux de maîtrise, à développer des inhibiteurs des sélectines, des protéines qui interviennent dans le processus d'adhésion cellulaire. Le ligand naturel des sélectines est le sLe^X , un tétrasaccharide, mais nous avons plutôt cherché à synthétiser des inhibiteurs qui ne seront pas basés sur des carbohydrates.

Pour faire le choix et le design de nos objectifs de synthèse, nous avons utilisé la modélisation moléculaire. Nous avons d'abord dû développer un modèle qui reproduisait de manière satisfaisante le comportement de la protéine que nous désirions observer, puis nous avons pu tester différentes molécules sur ce modèle pour choisir celles qui seront synthétisées puis testé dans un test biologique pour vérifier son activité face aux sélectines.

Nous avons choisi de synthétiser deux types de molécules. Le premier type est une molécule décalinique. Nous avons choisi cette molécule, car elle présente toutes fonctions qui sont considérées comme étant responsables de la liaison du sLe^X aux sélectines mais sur un squelette beaucoup plus simple. Le ligand qui devrait se lier au calcium est un diol, tout comme dans le sLe^X .

Le deuxième type de molécule porte un ligand différent, soit une fonction α -hydroxyamide. Notre hypothèse était que cette modification devrait faire augmenter l'activité de cet inhibiteur, car ce ligand devrait se lier plus fortement au calcium qu'un diol. Pour ce candidat aussi, nous avons choisi un squelette non-glycosidique.

Les synthèses des deux types d'inhibiteurs ont été complétées et ces molécules évaluées dans un test biologique. Dans le cas de la molécule de type décalinique, les deux énantiomères ont été testées séparément et ils ont tous deux présenté une activité semblable à celle du ligand naturel, sLe^X . Ce résultat est intéressant, car il confirme que l'approche via la modélisation est une approche valable pour synthétiser des inhibiteurs des sélectines. Pour l'autre molécule de type α -hydroxyamide, les résultats sont plus décevants, le test biologique n'a pas démontré d'activité de ces molécules à la concentration de 10 mM, la limite de détection de ce test. Ce résultat négatif ne peut toutefois pas être attribué uniquement au ligand, d'autres facteurs peuvent être responsables de cette mauvaise affinité pour la protéine.

Partie expérimentale

4 Partie expérimentale

4.1 Généralités

Tout d'abord, les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (^1H) et du carbone (^{13}C) furent enregistrés sur un des appareils suivants : Brücker AMX-300 (^1H , 300 MHz; ^{13}C , 75 MHz) et le Brücker ARX-400 (^1H , 400 MHz; ^{13}C , 100 MHz). Les déplacements chimiques, symbolisés par δ , sont exprimés par rapport à la fréquence de résonance du tétraméthylsilyl en partie par million. Les constantes de couplage, lorsqu'elles sont mesurables, sont exprimées en hertz.

Pour leur part, les spectres infrarouges (IR) ont été enregistrés sur un appareil spectrophotométrique FTIR. Il s'agit d'un spectrophotomètre de la compagnie Bomem (MB-series) appartenant au département de chimie de l'Université de Montréal.

Les spectres de masse des composés caractérisés ont été enregistrés sur spectromètres VG-Micromass 1212, AEI-MS 902 ou KRATOS MS-50 TCTA. Les échantillons à analyser ont été soumis à différents modes de fragmentation, selon la nature du composé à analyser. Bien que le bombardement atomique rapide (FAB) soit le mode de fragmentation le plus employé, parfois le mode d'ionisation électrique (EI+) a été employé.

Les analyses élémentaires ont toutes été effectuées sous la supervision de S. Gariépy au Laboratoire d'analyse élémentaire de l'Université de Montréal.

Pour leur part, les points de fusion ont été mesurés sur un appareil Büchi. Notons que les valeurs de points de fusion ne sont pas corrigées.

La détermination des noms systématiques des molécules selon les règles de l'UIPAC des composés a été rendue possible principalement grâce au logiciel Auto-nom[®].

Concernant les solvants utilisés dans les réactions, lorsque des conditions anhydres n'étaient pas requises, les solvants acétate d'éthyle, hexanes, chloroforme et dichlorométhane ont été distillés avant d'être utilisés. Les autres solvants non anhydres de qualité spectroscopique et disponible commercialement étaient utilisés directement dans les réactions.

Lorsque des réactions nécessitaient des conditions anhydres, différentes procédures étaient utilisées pour sécher les solvant. Le tétrahydrofurane était pré-séché en distillant de l'hydruure de lithium aluminium, puis conservé sur sodium/benzophénone, et finalement distillé juste avant son utilisation. Pour leur part, la diisopropylamine, la pyridine, la triéthyle amine ainsi que le dichlorométhane ont été distillés sur CaH_2 . Le diéthylether était distillé sur le sodium, ainsi que le benzène et le toluène.

Les produits de départ et les réactifs chimiques ont été achetés chez Aldrich, et utilisés sans purification supplémentaire.

Le suivi des réactions a été effectuée grâce à la chromatographie sur couches minces (CCM). Elle était effectuée sur des plaques Merck enduites de gel de silice Kieselgel 60 F₂₅₄ de 0.2 mm d'épaisseur et imprégné d'un indicateur fluorescent, le tout étant supporté par une plaque d'aluminium. La révélation des substances ayant un chromophore fut effectuée grâce à une lampe U.V. de 254 nm. Pour les autres, nous avons dû utiliser un révélateur chimique. Différents révélateurs ont été utilisés selon les fonctions sur les molécules à observer. Parmi tout le choix de mélange disponibles dans la littérature, nous en avons utilisé quatre : à la vanilline, au vert de bromocrésol, au CAM et au KMnO_4 . La description de la préparation de ces mélanges sui.

CAM : Une préparation d'acide sulfomolybdique (CAM) est obtenue en dissolvant 12,5 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et 5 g de $\text{NH}_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ dans 50 mL de H_2SO_4 concentré et 450 mL d'eau. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on la chauffe à 250-300°C sur une plaque chauffante, jusqu'à révélation, soit apparition d'une tache bleue.

KMnO_4 : Une préparation de permanganate de potassium est obtenue en dissolvant 2 g de KMnO_4 dans 200 mL d'eau distillée. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on la chauffe à 250-300°C sur une plaque chauffante, jusqu'à révélation, soit l'apparition de taches jaunes sur la plaque mauve.

Vanilline : Une préparation de vanilline est réalisée en dissolvant 6 g de vanilline dans 250 mL d'éthanol absolu, auxquels on ajoute, après agitation, 2,5 mL d'acide sulfurique concentré. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on la

chauffé à 250-300°C sur une plaque chauffante, jusqu'à révélation, soit apparition de taches de différentes couleurs selon les fonctions présentes.

Vert de bromocrésol : Une préparation de vert de bromocrésol est obtenue en dissolvant 0,08 g de vert de bromocrésol dans 200 mL d'éthanol 100%. On ajoute par la suite du NaOH 0,1 M jusqu'au moment où la solution devient bleue. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on la chauffe à 250-300°C sur une plaque chauffante, jusqu'à révélation, soit apparition de d'une tache bleue s'il y a présence d'un acide.

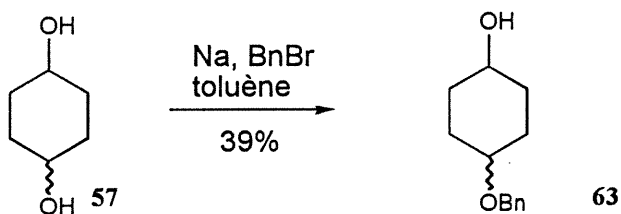
Les chromatographies sur colonne décrites sous le nom de « chromatographies flash » furent réalisées selon la méthode mise au point par Still, en utilisant de la silice Merck 9385 de maille de 230-400 mesh.¹²²

Lorsque des conditions anhydres ont été requises, l'atmosphère inerte a été obtenue en maintenant une pression d'azote extra-sec sur le mélange réactionnel. Les seringues et les aiguilles ont toujours été préalablement séchées dans une étuve à 150°C pendant un minimum de 8 heures, quant à la verrerie, elle a été séchée à la flamme et ramenée à la température ambiante sous azote extra-sec.

Partout où l'on spécifiera l'énoncé « traitement habituel », ceci sous-entendra que les phases organiques combinées ont été séchées à l'aide de $MgSO_4$ ou de Na_2SO_4 . Après filtration par aspiration sur un filtre en verre poreux, le ou les solvants organiques ont été évaporés sous vide par un évaporateur rotatif de marque Büchi.

4.2 Synthèse de la molécule décalinique

4.2.1 Préparation du 4-benzyloxycyclohexadiol 63



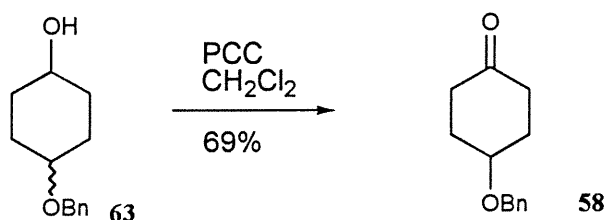
On agite une suspension de 40,05 g (0,345 mol) d'un mélange *cis* et *trans* de 1,4-cyclohexadiol dans 200 mL de toluène anhydre. On amène le tout à ébullition et on ajoute 8,70 g (1,1 équ.) de sodium métallique en petits morceaux à travers le réfrigérant. Une fois l'addition complétée, on laisse sous reflux pendant 4 heures. Après ce temps de chauffage, on ajoute sur une période de 20 minutes 45,0 mL (1,1 équ.) de bromure de benzyl. La réaction commence alors à devenir bleue. On continue à chauffer à reflux pour 3h25 supplémentaire, puis on laisse revenir à TP. En utilisant un bain d'eau froide pour absorber un possible dégagement de chaleur, on ajoute très doucement 200 mL d'eau pour détruire l'excédant de sodium toujours présent. On sépare les deux phases et on lave la phase aqueuse avec 120 mL de benzène. On évapore les deux phases organiques combinées.

Le produit brut est purifié par une petite chromatographie « flash » (7 cm de long) avec un gradient d'acétate d'éthyle dans l'hexane, débutant à 10%, puis 20% pour finir avec 30%. On récupère 28,03 g (136,0 mmol; 39% de rendement) d'un mélange 2 : 1 des isomères *cis* et *trans* du composé monobenzylé désiré 63.

R_f 0,24 (100% acétate d'éthyle), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** mélange 2:1 des isomères *cis* et *trans* (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.37-1.45 (2H, m), 1.56-1.73 (2H, m), 1.89-2.02 (2H, m), 2.05-2.10 (2H, m), 3.38-3.42 (A, 0,66H, m, CHOH), 3.49-3.52 (B, 0,33H, m, CHOH), 3.53-3.70 (A, 0,66H, m, CHOBn), 3.70-3.75 (B, 0,33H, m, CHOBn), 4.52 (A, 0,66H, s, OCH₂Ph), 4.54 (B, 1,33H, s, OCH₂Ph), 7.28-7.33 (5H, m); **RMN-¹³C** mélange 2:1 des isomères *cis* et *trans* (100.4

MHz; CDCl_3); (δ ppm) 27.4, 29.3, 30.4, 32.5, 69.4(A), 69.5(B), 70.0, 76.1, 127.3(2C de l'isomère B), 127.4 (2C de l'isomère A), 128.2 (2C de l'isomère A), 128.3 (2C de l'isomère B); **SM** (EI+) m/z 206 (M⁺), 188 (M-H₂O), 115 (M-Bn), 98 (M-OBn); **SMHR** calculé pour $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$ 206.1307 (M⁺), mesuré 206.1298; **IR**_{NaCl} (cm^{-1}) 2864, 2935, 3027, 3386.

4.2.2 Préparation du 4-benzyloxy-cyclohexanone 58

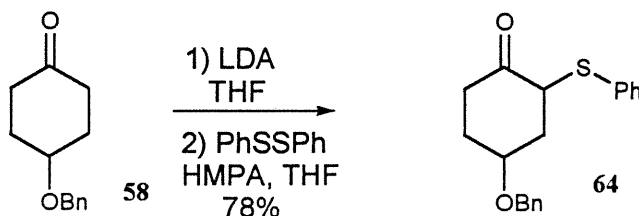


On agite une suspension de 34,5 g (1,2 éq.) de PCC dans 200 mL de dichlorométhane anhydre. On ajoute alors une solution de 27,54 g de composé **63** dans 25 mL de dichlorométhane. Un réfrigérant est nécessaire à ce point, car la chaleur dégagée par la réaction fait bouillir le solvant. Après trente minutes, un solide noir commence à se former. Par suivie sur ccm, on voit que la réaction est complète après 1 heure, on ajoute alors 200 mL de diéther puis on décante le tout sur un filtre contenant du Florisil (60-100 mesh). On rince le solide noir qui demeure dans le ballon à l'aide de trois portions supplémentaires de 50 mL de diéther, que l'on passe aussi sur le filtre contenant du Florisil. On évapore les solvants organiques et on purifie par une chromatographie « flash » (gradient de 15% acétate d'éthyle/hexanes, puis 30%, enfin 40%), on recueille 18,79 g (92,0 mmol; 69% de rendement) d'une huile incolore **58**.

R_f 0.38 (30% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 1.92-2.04 (2H, m), 2.12-2.21 (2H, m), 2.25-2.34 (2H, m), 2.58-2.59 (2H, m), 3.84 (1H, m, CHOBn), 4.62 (2H, s, OCH_2Ph), 7.30-7.40 (5H, m); **RMN-¹³C** (100.4 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 30.4 (2C), 37.1 (2C), 70.2, 72.2, 127.3 (2C), 127.5, 128.3 (2C), 138.4; **SM** (FAB) m/z 205 (MH^+), 98 (M-OBn); **SMHR** cal-

culée pour $C_{13}H_{17}O_2$ (MH) 205.1129, mesurée 205.1234; $IR_{(NaCl)}$ (cm^{-1}) 1100, 1708, 2866, 2933.

4.2.3 Préparation du 4-benzyloxy-2-phenylsulfanyl-cyclohexanone 64



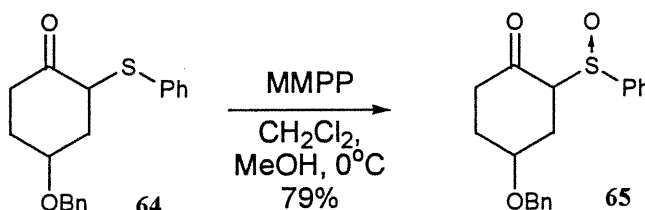
On prépare une solution de LDA en ajoutant, sous agitation sur une période de 10 minutes, 40,7 mL de BuLi 2,5 M (103 mmol) à une solution de 14,3 mL (103 mmol) de diisopropylamine dans 90 mL de THF préalablement refroidi à $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vingt-cinq minutes après la fin de l'addition, on canule cette solution dans une deuxième solution, composée de 9,44 g (46 mmol) de cétone **58**, 13 mL de THF et 65 mL de HMPA. Ce mélange est agité à $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour 40 minutes à partir de la fin de l'addition. Celui-ci est ensuite réchauffé à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour une période de 30 minutes, puis à TP pour une nouvelle période de 40 minutes. Le mélange réactionnel devient alors orange-noir. On refroidit ce dernier à nouveau à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ et on y canule, sur une période de 15 minutes, une troisième solution composée de 25,05 (115 mmol) g de disulfure de diphenyle et de 60 mL de THF. Après l'addition le mélange réactionnel redevient orange-rouge. On ramène alors le tout à TP et on laisse agiter la solution 75 minutes. On piège enfin la réaction en ajoutant du HCl 10% (p/v) et de l'acétate d'éthyle. On extrait deux fois la phase aqueuse, puis on lave les phases organiques combinées avec une solution saturée de NaHCO_3 , puis une solution saturée de NaCl. Avant de soumettre celles-ci au traitement habituel, on extrait une nouvelle fois les deux phases aqueuses utilisées pour les lavages, puis toutes les phases organiques sont combinées. Le produit de la réaction et le produit de départ présente des R_f similaires, il est donc très difficile de les séparer parfaitement sans perte de importante de produit. On récupère donc des fractions contenant 9,22g (30 mmol; 64%) de produit désiré, mais

contaminé par de la cétone de départ. Cependant, cette impureté pourra facilement être enlevée lors de l'étape suivante. De plus, le produit isolé est constitué d'un mélange des isomères *cis* (*A*) et *trans* (*B*).

R_f 0.34 (20% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 2.01-2.32 (3H, m), 2.46-2.54 (1H, m), 2.56-2.62 (2H, m), 3.03-3.12 (1/3H, m, CHSPh *A*), 3.77-3.84 (1/3H, m, CHOBn *A*), 3.94-3.97 (2/3H, m, CHOBn *B*), 4.20 (2/3H, dd, *J*₁= 10 Hz, *J*₂= 6 Hz, CHSPh *B*), 4.57 (2H, s, OCH₂Ph), 7.26-7.42 (5H, m);

4.2.4 Préparation de la 2-benzènesulfinyl-4-benzyloxy-cyclohexanone

65

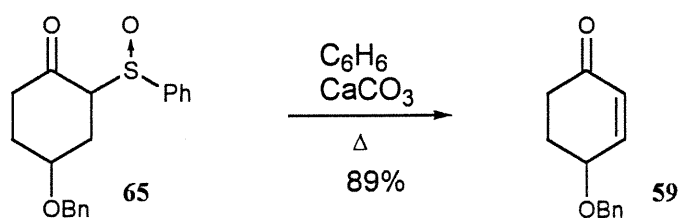


On dissout en agitant 9,22 g (29,5 mmol) du sulfure **64** dans 80 mL de dichlorométhane et 40 mL de méthanol, qu'on refroidit à 0 °C. On ajoute alors à ce mélange 9,11g (0,98 éq.; 80% de pureté) du peracide MMPP et on place le tout sous azote. Après une heure et demie d'agitation, la CCM ne montre plus de sulfure, on piège donc la réaction en ajoutant de l'eau et du dichlorométhane, en plus de quelques gouttes d'une solution saturée de NaHCO₃. On sépare les deux phases et on extrait à nouveau la phase aqueuse avec du dichlorométhane. On lave les phases organiques combinées avec une solution saturée de NaHCO₃, puis une solution saturée de NaCl. Avant de soumettre celles-ci au traitement habituel, on extrait une nouvelle fois les deux phases aqueuses utilisées pour les lavages avec du dichlorométhane, puis on combine toutes les phases organiques. Une chromatographie « flash » (50% acétate d'éthyle/hexane, puis 75%) donne 7,62 g (79%) d'un solide jaunâtre.

Bien que cette réaction ajoute un nouveau centre asymétrique à notre molécule, nous n'avons pas noté l'apparition de nouvelles paires de diastéréoisomères, les composés isolés sont les isomères cis et trans qui avaient déjà été formés lors de la réaction précédente, soit la sulfuration de l'énolate.

R_f 0.18 et 0.25 (40% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; CDCl₃) (δ ppm) 1.76-1.96 (1H, m), 2.06-2.51 (4H, m), 2.69-2.79 (1H, m), 3.41 (1/3H, dd, $J_1=9$ Hz, $J_2=6$ Hz, CHS(O)Ph A), 3.65 (2/3H, dd, $J_1=12$ Hz, $J_2=6$ Hz, CHS(O)Ph B), 3.86 (1/3H, quint., CHOBn A), 4.03 (2/3H, m, CHOBn B), 4.35 (2/3H, d, $J_1=12$ Hz, OCHHPh B), 4.44 (2/3H, d, $J_1=12$ Hz, OCHHPh B), 4.58 (1/3H, d, $J_1=12$ Hz, OCHHPh A), 4.73 (1/3H, d, $J_1=12$ Hz, OCHHPh A), 7.19 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=2$ Hz), 7.30-7.39 (4H, m), 7.50-7.55 (3H, m), 7.62-7.68 (2H, m); **SM** (FAB) m/z 329 (MH⁺); **IR**_(NaCl) (cm⁻¹) 1048, 1089, 1681, 1712, 2866, 2949, 3026, 3062.

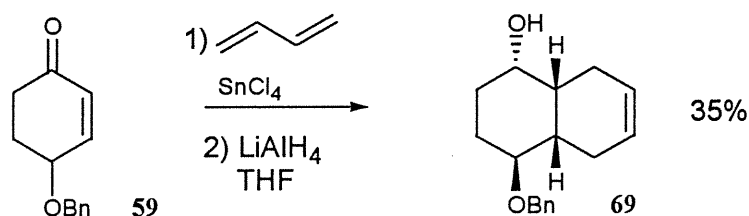
4.2.5 Préparation de la 4-benzyloxy-cyclohex-2-ènone **59**



On agite une suspension de 16,93 g (51,6 mmol) de sulfoxyde **65** dans 400 mL de benzène, à laquelle on ajoute 5,16 g (51,6 mmol) de CaCO₃. On place le mélange réactionnel sous azote et on le chauffe à reflux pour 1h45. Après qu'on ait laissé le mélange réactionnel revenir à température ambiante, on le filtre sur un filtre Buchner pour enlever le solide. On évapore ensuite le solvant organique. Une purification par chromatographie « flash » nous permet d'isoler 9,30 g (89%) d'une huile, le produit **59**.

R_f 0.38 (30% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline, $KMnO_4$ et UV; **RMN- 1H** (400 MHz; $CDCl_3$) (δ ppm) 2.03-2.10 (1H, m), 2.31-2.39 (2H, m), 2.58-2.64 (1H, m), 4.24-4.28 (1H, m, $CHOBn$), 4.63 (1H, d, $J_1=12$ Hz, $OCHHPH$)*, 4.68 (1H, d, $J_1=12$ Hz, $OCHHPH$)*, 6.00 (1H, dq, $J_1=10$ Hz, $J_2=1$ Hz, $R(O)CCH=CH$), 6.99 (1H, dq, $J_1=10$ Hz, $J_2=1$ Hz, $R(O)CCH=CH$), 7.31-7.39 (5H, m) *Ces deux protons forment un système AB; **RMN- ^{13}C** (100.4 MHz; $CDCl_3$) (δ ppm) 29.1, 35.2, 70.9, 72.4, 127.6 (2C), 127.8, 128.4 (2C), 129.6, 137.7, 150.4, 198.6; **SM** (FAB) m/z 203 (MH^+), 96 ($M-OBn^+$); SMHR calculé pour $C_{13}H_{15}O_2$ (MH) 203.1072, trouvé 203.1079; **IR**($NaCl$) (cm^{-1}) 1675, 2898, 2943, 303; **Analyse élémentaire** Calculée pour $C_{13}H_{14}O_2$: C (77.20), H (6.98), N (0). Mesurée C (77.00), H (7.13), N (0).

4.2.6 Préparation du 4-benzyloxy-1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-naphtalèn-1-ol 69



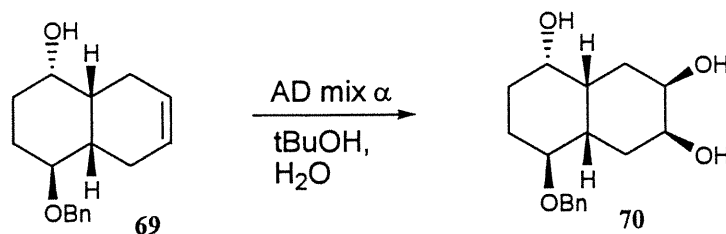
À une solution de 9,22 g (46,0 mmol) de 4-benzyloxycyclohexènone **59** dans 25 mL de toluène anhydre, on ajoute en agitant une solution de 21,9 g (11 équ.) de butadiène dans 140 mL de toluène anhydre. Cette dernière solution a été obtenue en bullant du butadiène gazeux dans le toluène jusqu'à saturation (~20%) de cette solution. On refroidit le mélange à 0 °C et on ajoute 5,34 mL (46,0 mmol) de $SnCl_4$ en 3 minutes; le mélange réactionnel devient alors jaune. On le laisse lentement revenir à température ambiante en laissant la glace du bain fondre. Après 24 h d'agitation, les CCM ne semblent plus montrer aucun changement, donc on piège la réaction en la canulant sur une suspension de 6,6 g (183 mmol) de $LiAlH_4$ dans 150 mL de THF anhydre, refroidit par un bain de glace. Après 10 minutes d'agitation supplémentaires, on dé-

truit prudemment l'excès d'hydrure en ajout du méthanol, puis de l'eau, toujours en maintenant le ballon dans un bain de glace. Ensuite, on ramène alors le tout à température ambiante et on y ajoute une solution saturée de NH_4Cl , puis de l'acétate d'éthyle. On extrait deux fois la phase aqueuse avant de soumettre les phases organiques combinées au traitement habituel. Une chromatographie « flash » (25% acétate d'éthyle/hexane) nous permet d'isoler 4,13 g (35%) du produit majeur: la décaline à jonction de cycle *cis* **69**.

R_f 0.38 pour le produit *cis* et 0.27 pour le produit *trans* (30% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** KMnO_4 ; **RMN- ^1H** (400 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 1.44-1.53 (1H, m), 1.62-1.67 (1H, m), 1.72-2.08 (5H, m), 2.10-2.24 (2H, m), 2.31-2.46 (3H, m), 3.52-3.56 (1H, m, CHOBn), 4.54 (1H, d, $J_f=12$ Hz, OCHHP)*, 4.58 (1H, d, $J_f=12$ Hz, OCHHP)*, 5.79-5.82 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.86-5.90 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.27-7.38 (5H, m); *Ces deux protons forment un système AB; **RMN- ^{13}C** (100.4 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 33.9 (2C), 36.3 (2C), 69.6, 72.5, 79.2, 105.0 (2C), 125.5 (2C), 127.2 (2C), 127.3, 128.2 (2C), 139.0; **SM (FAB)** m/z 259 (MH^+), 167 (M-OBn); **SMHR** calculé pour $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_2$ (MH) 259.1698, mesuré 259.1706; **IR**_(NaCl) (cm^{-1}) 2882, 3021, 3409; **Analyse élémentaire** Calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$: C (79.03), H (8.58), N (0). Mesurée C (78.62), H (8.95), N (0).

4.2.7 Préparation du 4-benzyloxy-décahydro-naphtalène-1,6,7-triol

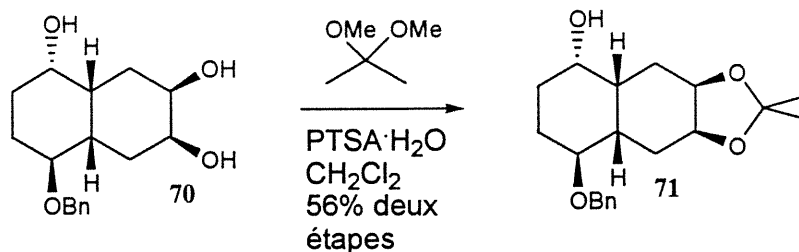
70



À 4,03 g (15,60 mmol) de l'alcool **69**, on ajoute 75 mL de *tert*-butanol, puis 75 mL d'eau, tout en agitant. On additionne alors 21,8 g (1 éq.) de AD-mix α ® en deux portions, suivi de 1,48 g (15,6 mmol) de méthanesulfonamide. Après une heure d'agitation, un précipité commence à apparaître; le mélange réactionnel devient jaune après quelques heures. On piège la réaction après 66 heures en ajoutant 5,9 g de Na_2SO_3 ; la suspension redevient alors blanche. Après 2 heures supplémentaires d'agitation, on ajoute de l'eau, mais cela ne suffit pas pour dissoudre le précipité. Ce dernier se révélera être le produit désiré, mais il présente une très faible solubilité, même dans les solvants très polaires du milieu. On passe donc le mélange à travers un filtre Buchner pour récupérer le précipité, soit 4,00 g d'un solide blanc. On ajoute de l'acétate d'éthyle au filtrat et on extrait ce dernier trois fois avec le même solvant. On ajoute ensuite du NaCl solide aux phases organiques combinées qui contiennent une quantité importante d'eau, puis on les sèche à l'aide de MgSO_4 . La filtration des sels et l'évaporation des solvants donne 4,05 g d'une huile jaune qui cristallisera sous le vide de la pompe. Les deux formes du produit sont utilisées, tel quel, dans la réaction suivante.

R_f 0.19 (100% acétate d'éthyle); **Révélateur chimique** vanilline.

4.2.8 Préparation du 8-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol **71**

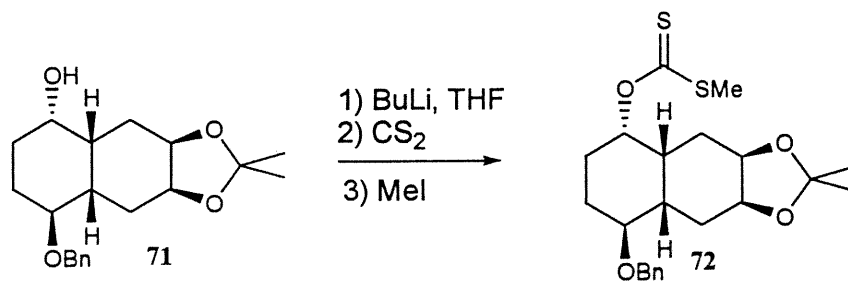


Aux produits bruts de la réaction de dihydroxylation, on ajoute 70 mL de 2,2-diméthoxypropane et 140 mL de dichlorométhane. Le produit de départ n'est que

très peu soluble, mais la réaction peu quand même se faire. On agite en additionnant quelques cristaux de PTSA•H₂O. Après une heure, tout le solide est dissout et la CCM ne montre plus de triol de départ **70**. On ajoute alors une solution saturée de NaHCO₃ et du dichlorométhane, puis on extrait trois fois la phase aqueuse avec ce même solvant. On lave alors les phases organiques combinées avec de l'eau, puis une solution saturée de NaCl. Enfin, on extrait ces phases aqueuses une dernière fois avec du dichlorométhane, puis on soumet les phases organiques combinées au traitement habituel. On obtient ainsi 2,91 g (56% pour 2 étapes, depuis l'alcène **69**) de l'acétonide **71**.

R_f 0.33 (50% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.35 (3H, s, CH₃), 1.42-1.50 (1H, m), 1.51 (3H, s, CH₃), 1.58-1.62 (1H, m), 1.74-1.95 (3H, m), 1.96-2.09 (4H, m), 3.53 (1H, sé, CHOBn), 3.53 (1H, sé, CHOH), 4.40 (2H, sé, diol), 4.43 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHPh)*, 4.56 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHPh)*, 7.28-7.33 (5H, m); *Ces deux protons forment un système AB; **SM (FAB)** *m/z* 333 (MH⁺), 275 (MH-iPrO⁺), 167 (MH-Bn-iPrO⁺); **Analyse élémentaire** Calculée pour C₂₀H₂₈O₄: C (72.26), H (8.49), N (0).
Mesurée : C (72.35), H (8.78), N (0).

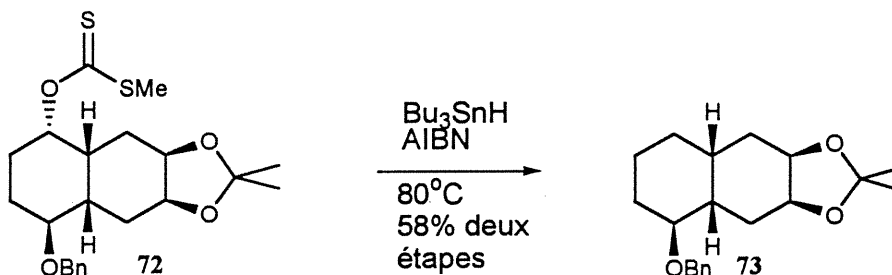
4.2.9 Préparation de l'ester *O*-(8-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yl) et *S*-méthyl de l'acide dithiocarbonique **72**



On dissout 682 mg (2,05 mmol) de l'alcool 71 dans 11 mL de THF anhydre qu'on agite à 0 °C sous azote. On ajoute au mélange réactionnel 0,90 mL (2,26 mmol) de BuLi 2,5 M goutte à goutte, ce qui le colore en jaune clair. Après 20 minutes d'agitation, on ajoute 0,15 mL (2,46 mmol) de CS₂; la solution devient orange. Après 30 minutes supplémentaires, on la laisse revenir à température ambiante et on y ajoute 0,15 mL d'iodure de méthyle (2,46 mmol), ce qui transforme la solution orange-rouge en jaune-orange. On agite pour une période supplémentaire de 30 minutes, puis on ajoute une solution saturée de NH₄Cl pour piéger la réaction. On ajoute ensuite de l'acétate d'éthyle, puis de l'eau. On extrait deux fois la phase aqueuse avec le même solvant organique, puis on lave les phases organiques combinées avec une solution saturée de NaCl, avant d'extraire une dernière fois la phase aqueuse avec de l'acétate d'éthyle. On soumet les phases organiques combinées au traitement habituel pour obtenir une huile, celle-ci étant utilisée tel quel, sans purification, dans la réaction suivante.

R_f 0.48 (30% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.34 (3H, s, CH₃), 1.42-1.50 (1H, m), 1.51 (3H, s, CH₃), 1.74 (2H, sé), 1.87-2.26 (7H, m), 2.32-2.38 (1H, m), 2.57 (3H, s, SCH₃), 3.57-3.60 (1H, m, CHOBn), 4.22 (1H, q, *J*_I= 6 Hz, diol), 4.41 (1H, q, *J*_I= 6 Hz, diol)[#], 4.48 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHPh)^{*,#}, 4.56 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHPh)^{*}, 5.75-5.80 (1H, m, CHOC(S)SMe), 7.30-7.37 (5H, m); ^{*}Ces deux protons forment un système AB; [#]Ces deux signaux sont superposés.

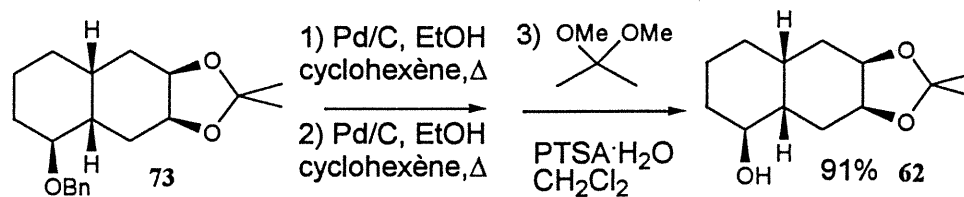
4.2.10 Préparation du 5-benzyloxy-2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxole 73



Au produit brut de la réaction de formation du xanthogénate 72, on additionne 63 mg (0,41 mmol) d'AIBN, puis 40 mL de toluène anhydre. Pendant une période de 20 minutes, on bulle de l'azote dans cette solution pour la désoxygénée. On y injecte alors, en agitant, 0,83 mL (3,08 mmol) de Bu_3SnH , puis chauffe le mélange réactionnel à 75°C . Le mélange devient noir vers la quarante-cinquième minute de la réaction, mais on laisse le chauffage et l'agitation se poursuivre pendant une période de trois heures. Après que le mélange soit revenu à température ambiante, on évapore le solvant et on purifie le produit résiduel par chromatographie « flash » (15% acétate d'éthyle/hexane), pour obtenir 530 mg (82% depuis l'alcool 71) du composé 73 sous la forme d'une huile jaune.

R_f 0.48 (30% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN- ^1H** (400 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 1.19-1.35 (2H, m)[#], 1.34 (3H, s, CH_3)[#], 1.45-1.52 (1H, m), 1.52 (3H, s, CH_3), 1.65-1.88 (6H, m), 2.06-2.12 (1H, m), 2.47-2.51 (1H, m), 3.49-3.53 (1H, m, CHOBn), 4.11-4.15 (1H, m, diol), 4.29-4.31 (1H, m, diol), 4.48 (1H, d, $J_1 = 12$ Hz, OCHHPh)^{*}, 4.61 (1H, d, $J_1 = 12$ Hz, OCHHPh)^{*}, 7.25-7.35 (5H, m); ^{*}Ces deux protons forment un système AB; [#]Ces deux signaux sont superposés; **RMN- ^{13}C** (100.4 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 22.5, 23.3, 25.4, 26.2, 26.3, 28.5, 32.6, 33.9, 34.3, 69.5, 72.5, 73.1, 78.7, 107.4, 127.2, 127.3 (2C), 128.2 (2C), 138.9; **SM** (FAB) 317 (MH^+).

4.2.11 Préparation du 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol 62



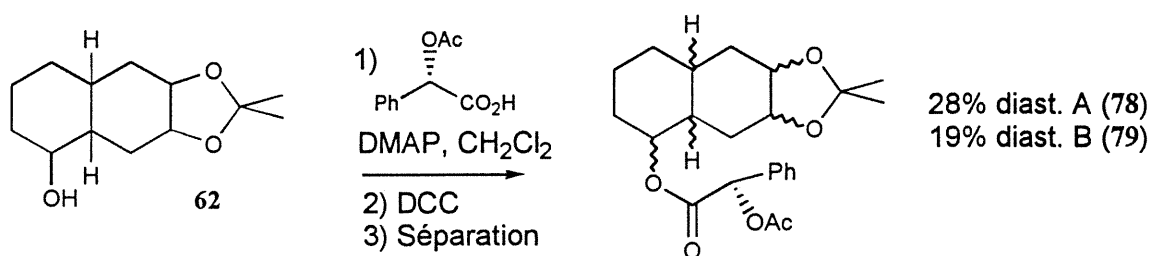
À 269 mg (0,98 mmol) de triol triprotégé **73**, on ajoute 8 mL d'éthanol 100% et 4 mL de cyclohexène, puis 80 mg de Pd/C 10%. On chauffe suffisamment la suspension noire pour obtenir un léger reflux et on laisse sous agitation pour la nuit. Toutefois, le lendemain seul le groupement protecteur acétonide est enlevé de la molécule; on filtre alors le mélange réactionnel pour enlever le palladium et on évapore les solvants organiques, générant ainsi un solide blanc. À ce produit, on rajoute 8 mL d'éthanol 100%, 4 mL de cyclohexène et 80 mg de Pd/C 10%, puis on chauffe à reflux sous agitation 2 heures. Après filtration de ce mélange réactionnel et évaporation des solvants organiques, on obtient le triol complètement déprotégé.

On ajoute ce dernier à 7 mL de dichlorométhane et 2,5 mL de 2,2-diméthoxypropane, tout en ajoutant quelques cristaux de PTSA·H₂O à 0 °C. Suite à l'addition, on laisse revenir le tout à température ambiante tout en maintenant une bonne agitation. Après un laps de temps de 1h45, on piège la réaction en ajoutant une solution saturée de NaHCO₃ et du dichlorométhane, pour ensuite extraire trois fois la phase aqueuse avec ce dernier. On lave alors les phases organiques combinées avec de l'eau, puis une solution saturée de NaCl. Finalement, on extrait ces phases aqueuses une dernière fois avant d'utiliser le traitement habituel sur les phases organiques combinées. On obtient ainsi 204 mg (91%) de l'alcool protégé **62**.

R_f 0.35 (50% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.21-1.42 (3H, m)[#], 1.31 (3H, s, CH₃)[#], 1.50 (3H, s, CH₃), 1.61-1.82 (7H, m), 2.06-2.11 (1H, m), 2.15-2.20 (1H, m), 3.78-3.82 (1H, m, CHOH), 4.10-4.14 (1H, m, diol), 4.27-4.30 (1H, m, diol), [#]Ces deux signaux sont

superposés; RMN-¹³C (100.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 21.5, 23.4, 24.6, 26.3, 28.4, 28.5, 34.0, 34.8, 35.7, 72.0, 72.4, 73.0, 107.5; SM (FAB) m/z 227 (MH⁺), 211 (M-O⁺), 154 (M-Me₂CHO₂⁺); SMHR calculé pour C₁₃H₂₁O₃ (MH) 227.1652, mesuré 227.1647; Analyse élémentaire, Calculée pour C₁₃H₂₀O₃: C (68.99), H (9.80), N (0), mesurée : C (68.74), H (10.30), N (0).

4.2.12 Préparation de l'ester 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yl de l'acide acétoxy-phényl-acétique 78 et 79

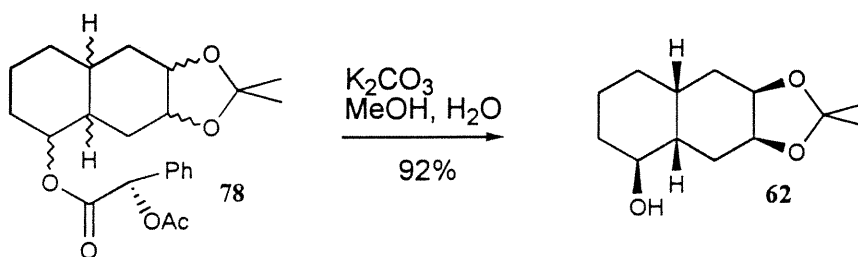


À 0,602 g (2,66 mmol) d'alcool **62**, on ajoute 6 mL de dichlorométhane anhydre, 0,540 g (2,79 mmol) de (R)-acide-*O*-acétylmandélique, 0,10 g (0,80 mmol) de DMAP et on refroidit le mélange réactionnel à l'aide d'un bain d'eau froide (~10 °C). On additionne alors une solution de 0,57 g (2,79 mmol) de DCC dans 6 mL de dichlorométhane anhydre et on abandonne le mélange réactionnel sous agitation pour la nuit. On filtre le solide blanc apparu (dicyclohexylurée) et on sèche le filtrat à l'aide de MgSO₄ avant d'évaporer le solvant. La différence de polarité entre les deux diastéréoisomères est suffisantes pour pouvoir les séparer par chromatographie « flash », mais on doit s'y prendre à deux reprises. La première chromatographie (10% acétate d'éthyle/toluène) permet de diviser les produits en trois fractions de masses semblables: une avec le produit moins polaire majoritaire, une mixte et une avec le produit plus polaire. Une deuxième chromatographie est nécessaire pour repurifier les deux fractions contenant chacune des diastéréoisomères. Seulement une quantité négligeable de matériel a pu être récupérée de la deuxième chromatographie de la fraction mixte, elle n'a pas été rajouté au produit déjà isolé. On obtient ainsi 0,303 g (rende-

ment de 28%) du diastéréoisomère moins polaire **78** pur (sans trace de l'autre diastéréoisomère par RMN) et 0,203 g (rendement 20%) du diastéréoisomère plus polaire **79** pur.

R_f 0.28 et 0.33 (10% acétate d'éthyle/toluène), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.20-1.33 (4H, m), 1.32 (3H, s, CH₃), 1.49 (3H, s, CH₃), 1.51-1.57 (1H, m), 1.64-1.85 (4H, m), 1.99-2.04 (1H, m), 2.20 (3H, s, OAc), 2.25-2.30 (1H, m), 4.10-4.14 (1H, m, diol), 4.25-4.27 (1H, m, diol), 4.90-4.95 (1H, m, CHO₂CR*), 5.89 (1H, s, O₂CH(OAc)Ph), 7.37-7.39 (3H, m), 7.43-7.46 (2H, m); **RMN-¹³C** (100.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 20.6, 22.1, 23.2, 25.0, 25.2, 26.3, 28.4, 33.2, 33.3, 33.6, 33.8, 72.2, 72.5, 74.4, 76.0, 107.5, 127.4 (2C), 128.6 (2C), 129.0, 134.0, 168.0, 170.0; **SM** (FAB) m/z 403 (MH⁺), 345 (MH-OAc⁺); SMHR calculé pour C₂₃H₃₁O₇ (MH) 403.2121; mesuré 403.213; [α]_D²⁰ diastéréoisomère **78**: +46°, diastéréoisomère **79**: -15°.

4.2.13 Régénération du 2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-ol **62**



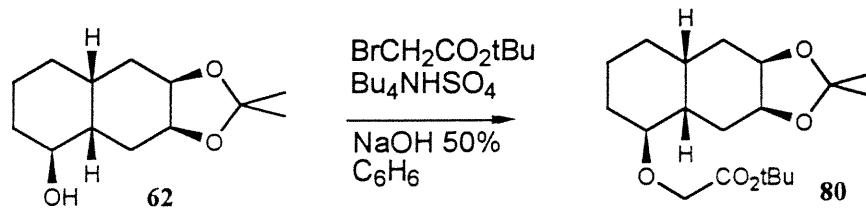
À 0.303 g (0,753 mmol) de substrat **78** dissout dans 8 mL de méthanol, on ajoute 0,50 g de carbonate de potassium en agitant. Après environs 30 secondes, le mélange réactionnel devient une suspension jaune. On ajoute alors suffisamment d'eau (7,2 mL) pour dissoudre le sel et on laisse agiter pour la nuit. On ajoute donc de l'acétate d'éthyle et une solution de NH₄Cl saturé. On sépare les phases et on extrait deux fois

supplémentaires la phase aqueuse avec de l'acétate d'éthyle. Ensuite, on lave les phases organiques combinées avec une solution saturée de NaCl, que l'on extrait ensuite une fois avec de l'acétate d'éthyle. On applique enfin le traitement habituel et le produit obtenu ne nécessite pas de purification supplémentaire. On recueille 0,157 g (92%) d'un solide blanc de **62**.

La procédure pour la réaction de l'isomère **79** est la même, ainsi que les propriétés.

R_f 0.35 (50% acétate d'éthyle/hexanes); **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.21-1.42 (3H, m)[#], 1.31 (3H, s, CH₃)[#], 1.50 (3H, s, CH₃), 1.61-1.82 (7H, m), 2.06-2.11 (1H, m), 2.15-2.20 (1H, m), 3.78-3.82 (1H, m, CHOH), 4.10-4.14 (1H, m, diol), 4.27-4.30 (1H, m, diol), [#]Ces deux signaux sont superposés; **RMN-¹³C** (100.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 21.5, 23.4, 24.6, 26.3, 28.4, 28.5, 34.0, 34.8, 35.7, 72.0, 72.4, 73.0, 107.5; **SM (FAB)** m/z 227 (MH⁺), 211 (M-O⁺), 154 (M-Me₂CHO₂⁺); **SMHR** calculé pour C₁₃H₂₁O₃ (MH) 227.1652, mesuré 227.1647; [α]_D²⁰ énantiomère A: +33°, énantiomère B: -30°.

4.2.14 Préparation de l'ester *tert*-butylique de l'acide (2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yloxy)-acétique **80**

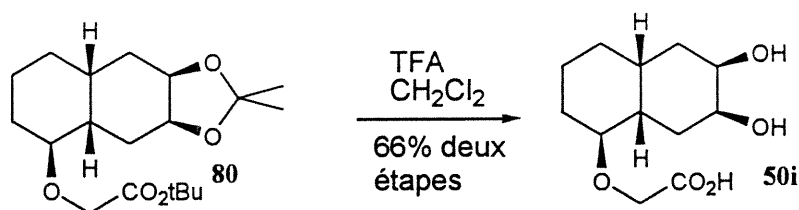


On dissout 0,102 g (0,45 mmol) de l'alcool **62** dans 1 mL de benzène en agitant. On ajoute ensuite 1 mL d'une solution de NaOH 50%, puis 77 mg (0,5 éq.) de l'agent de transfert de phase : l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium. Après 10 min de forte agitation, on ajoute 0,20 mL (3 éq.) de l'ester *tert*-butylique de l'acide bromoacétique et on laisse sous forte agitation pour la nuit. On piège la réaction en addition-

nant 2 mL d'hexane et 2 mL d'eau. En plus des 2 phases attendues, on remarque la présence d'une huile jaune. On sépare d'abord les deux phases et on extrait à nouveau la phase aqueuse (contenant toujours l'huile) avec de l'hexane, ce qui ne change à la présence de l'huile. Finalement, on récupère l'huile à l'aide de chloroforme, elle y est soluble. Après le traitement habituel des phases organiques combinées, on purifie le produit par chromatographie « flash » (100% chloroforme). Malheureusement, la polarité du produit est la même que celle de l'ester *tert*-butylique de départ, qui a été utilisé en excès; notre produit se retrouve donc contaminé par le réactif utilisé dans la réaction. Nous procédons quand même à l'étape suivante, car nous croyions qu'il sera possible de séparer ces deux composés après l'étape de déprotection.

R_f 0.63 (30% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.17-1.30 (3H, m), 1.30 (3H, s, CH₃), 1.45 (9H, s, tBu), 1.49 (3H, s, CH₃), 1.59-1.85 (7H, m), 1.95-2.03 (1H, m), 2.25-2.31 (1H, m), 3.42-3.48 (1H, m, CHOCH₂), 3.99 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHCO₂), 4.01 (1H, d, *J*_I= 12 Hz, OCHHCO₂), 4.09-4.14 (1H, m, diol) 4.28 (1H, q, *J*_I= 12 Hz, diol); **SM (FAB) m/z** 341 (MH⁺), 227 (MH-CH₂CO₂tBu⁺); **SMHR** calculé pour C₁₉H₃₃O₅ (MH) 341.2328, mesuré 341.2339; **IR**_(NaCl) (cm⁻¹) 1745, 2872, 2929, 2986.

4.2.15 Préparation de l'acide (2,2-diméthyl-décahydro-naphto[2,3-d][1,3]dioxol-5-yloxy)-acétique 50i



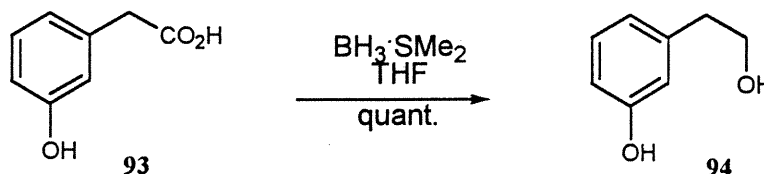
On dissout tout le produit de la réaction de *O*-alkylation de l'étape précédente dans 3 mL de dichlorométhane et on ajoute quelques gouttes d'acide trifluoroacétique (TFA). On laisse sous agitation une nuit, puis on rajoute quelques gouttes de TFA

supplémentaires. Après un total 24 h, on ajoute quelques mL d'eau et on évapore le dichlorométhane sous pression réduite. Il est important d'éviter de chauffer lors de cette étape pour éviter qu'il y ait auto-condensation du composé **50i**. On purifie ensuite le composé en passant le produit sur une colonne d'exclusion stérique composé de Sephadex® G-15. On lyophilise enfin les fractions contenant du produit (observé par CCM) pour isoler de cette façon 22 mg de produit **50i** (66% de rendement depuis l'alcool **62**).

R_f 0.24 (20% méthanol/chloroforme+1% acide acétique), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; DMSO); (δ ppm) 1.13-1.22 (3H, m), 1.30-1.48 (3H, m), 1.50-1.72 (5H, m), 2,26-2,34 (1H, m), 3.76 (1H, sé, CHOCO₂), 3,91 (1H, s, OCHHCO₂), 3,95 (1H, s, OCHHCO₂), 4.07 (1H, sé, diol), 4.20 (1H, sé, diol); **SM** (EI+) m/z 227 (M-OH⁺), 208 (M-2(OH)⁺), 151 (M-OH-OCH₂CO₂H⁺), 134 (M-2(OH)-OCH₂CO₂H⁺).

4.3 Hydroxyamide

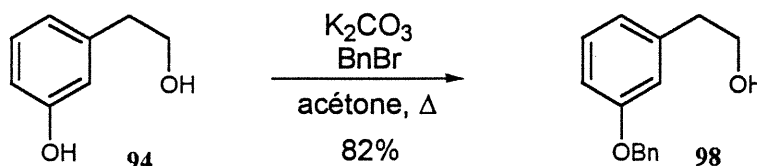
4.3.1 Préparation du 3-(2-hydroxy-éthyl)-phénol 94



On dissout d'abord 3,00 g (19,7 mmol) d'acide (3-hydroxyphényl)-acétique **93** dans 30 mL de THF anhydre en agitant. On ajoute ensuite lentement la solution de BMS 2,0 M dans le THF, ce qui produit immédiatement un dégagement gazeux et fait apparaître un précipité vers la moitié de l'addition. Lorsque 10 mL de solution de BMS ont été ajoutés, on chauffe le mélange réactionnel à reflux jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement gazeux, puis on additionne le reste du réactif pour un total de 16,5 mL (1,6 éq.). Après 2h, on cesse le chauffage et on laisse revenir le mélange réactionnel à température ambiante. On neutralise alors l'excès de réactif avec 45 mL de méthanol, ce qui produit de l'effervescence. On évapore tous les solvants et on purifie le résidu à l'aide d'une chromatographie « flash » (50% AcOEt/hex → 60%). Le produit désiré est le seul recueilli selon le spectre RMN, mais il n'est pas complètement pur car on récupère un excédant de matière : 2,99 g d'une huile jaunâtre, ce qui correspondrait à un rendement de 110%. On l'utilise quand même tel quel dans la réaction suivante.

R_f 0.38 (50% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** CAM; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 2.85 (2H, t, $J_1 = 6$ Hz, ArCH₂CH₂OH), 3.50 (1H, d, $J_1 = 3$ Hz, CH₂OH), 3.87 (2H, dd, $J_1 = 6$ Hz, $J_2 = 4$ Hz, CH₂CH₂OH), 5.19 (1H, sé, ArOH), 6.69-6.71 (2H, m), 6.80 (1H, d, $J_1 = 7$ Hz), 7.18-7.22 (1H, m).

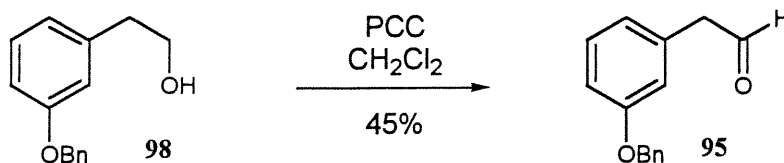
4.3.2 Préparation du 2-(3-benzyloxy-phényl)-éthanol 98



On ajoute 2,46 g (2,0 éq.) de carbonate de potassium à 1,23 g (8,90 mmol) de l'hydroxyphénol **94** dissout dans 85 mL d'acétone. On chauffe en agitant jusqu'à l'obtention d'un léger reflux et on ajoute alors 1,16 mL (1,1 éq.) de bromure de benzyloxy. Après une nuit complète de chauffage, on laisse revenir à TP et on piège la réaction en ajoutant 100 mL d'eau et 200 mL d'acétate d'éthyle. On sépare les phases et on extrait la phase aqueuse deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Après le traitement habituel, on purifie le produit brut par chromatographie « flash » (30% acétate d'éthyle/hexanes) pour récolter 1,66 g (82%) d'un solide blanc **98**.

R_f 0.23 (30% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 1.27 (1H, sé, **OH**), 2.86 (2H, t, $J_1 = 6$ Hz, ArCH₂CH₂OH), 3.87 (2H, sé, CH₂CH₂OH), 5.07 (2H, s, ArOCH₂), 6.84-6.90 (3H, m), 7.23-7.29 (1H, m), 7.35-7.48 (5H, m).

4.3.3 Préparation du 2-(3-benzyloxy-phényl)-acétaldéhyde 95

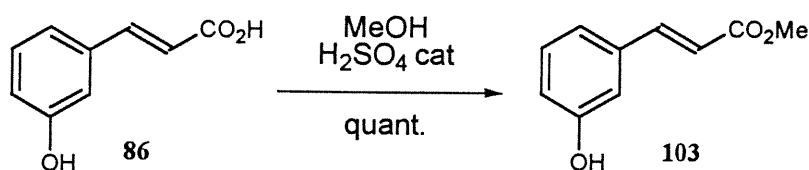


On dissout 220 mg (0,964 mmol) de l'alcool **98** dans 3 mL de dichlorométhane, puis, tout en agitant fortement, on ajoute 0,31 g (1,5 éq.) de PCC. Après 2h15 d'agitation à température de la pièce, on ajoute de l'éther diéthylique pour faire précipiter le résidu

de chrome, puis on filtre le surnageant sur Florisil®. Ensuite, on lave le résidu noir trois fois avec de l'éther diéthylique et on filtre à chaque fois sur Florisil®. Après le traitement habituel, on purifie le produit brut par chromatographie « flash » (100% chloroforme) pour obtenir 99 mg (45%) de l'aldéhyde 95.

R_f 0.29 (10% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 3.67 (2H, d, *J*₁ = 2 Hz, ArCH₂), 5.08 (2H, s, ArOCH₂), 6.84-6.90 (3H, m), 7.28-7.49 (6H, m), 9.75 (1H, t, *J*₁ = 2 Hz, CHO).

4.3.4 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-(3-hydroxyphényl)-acrylique 103

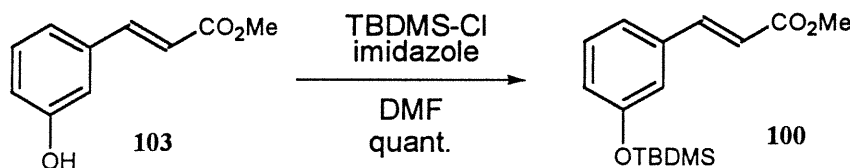


On dissout 15,46 g (94,2 mmol) d'acide 3-hydroxycinnamique 86 disponible commercialement dans 300 mL de méthanol, puis on ajoute 3 mL d'acide sulfurique concentré et on chauffe le tout à reflux pour une heure. On élimine ensuite le chauffage et on laisse refroidir jusqu'à la température de la pièce, pour ensuite neutraliser la réaction en ajoutant une solution saturée de NaHCO₃. On dilue avec de l'eau et de l'acétate d'éthyle et on extrait trois fois la phase aqueuse avec le même solvant. On lave les phases organiques combinées avec une solution une solution saturée de NaCl qu'on extrait ensuite une fois avec de l'acétate d'éthyle. Après le traitement habituel, on obtient 16,61 g (99%) d'un solide blanc 103. Le spectre RMN montre que le produit est pur.

R_f 0.75 (50% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur UV**; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 3.82 (3H, s, CO₂Me), 6.41 (1H, d, *J*₁ = 16 Hz, ArCH=CH-), 6.90

(1H, dt, $J_1=8$ Hz, $J_2=2$ Hz, Ar), 7.04 (1H, t, $J_1=2$ Hz, Ar), 7.08 (1H, d, $J_1=8$ Hz, Ar), 7.26 (1H, t, $J_1=8$ Hz, Ar), 7.65 (1H, d, $J_1=16$ Hz, ArCH=CH-); **RMN- 13 C** (75.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 52.0, 114.6, 117.7, 117.8, 120.7, 130.1, 135.7, 145.1, 156.2, 168.0; **SM** (EI+) m/z 178 (M^+); **SMHR** calculé pour C₁₀H₁₁O₃ (MH) 178.0630, mesuré 178.0635; **Analyse élémentaire** Calculée pour C₁₀H₁₀O₃: C (67.40), H (5.66), Mesurée : C (67.26), H (5.75).

4.3.5 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(*tert*-butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-acrylique **100**

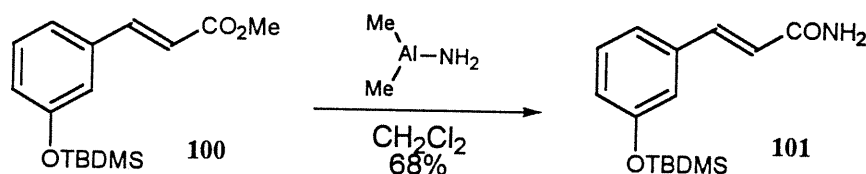


On ajoute 75 mL de diméthylformamide anhydre au produit **103** et on agite pour le dissoudre. On place ensuite le ballon dans un bain d'eau à température ambiante pour absorber la chaleur dégagée lors de l'ajout des réactifs. On ajoute alors 32,0 g (5 éq.) d'imidazole, puis 37,4 g (2,5 éq.) de TBDMS-Cl. On agite le mélange réactionnel pour la nuit et on le piège ensuite en ajoutant 350 mL d'une solution saturée de NaCl et 350 mL de dichlorométhane. On sépare les phases et on extrait la phase aqueuse deux fois supplémentaires avec 300 mL de dichlorométhane. On lave les phases organiques combinées avec 100 mL d'une solution saturée de NaCl et on extrait cette dernière phase aqueuse avec 100 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont soumises au traitement habituel, puis l'huile obtenue est purifiée par chromatographie « flash » (5% acétate d'éthyle/hexanes). On obtient 29,85 g (quant.) d'un liquide jaunâtre **100**.

R_f 0.55 (10% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur** UV; **RMN- 1 H** (300 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 0.22 (6H, s, SiMe₂), 1.00 (9H, s, SitBu), 3.82, (3H, OMe), 6.40

(1H, d, $J_1 = 16$ Hz, ArCH=CH-), 6.89 (1H, dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, Ar), 7.00 (1H, s, Ar), 7.12 (1H, d, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 7.27 (1H, t, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 7.64 (1H, d, $J_1 = 16$ Hz, ArCH=CH-); SM (FAB) m/z 293 (MH^+).

4.3.6 Préparation du 3-[3-(*tert*-butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-acrylamide 101



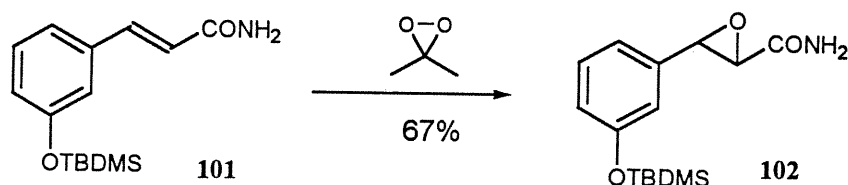
La préparation *in situ* du réactif se fait en ajoutant, avec agitation et sur une période de 5 minutes, 25 mL d'une solution 2,0 M de triméthylaluminium dans le toluène (2,0 équ.) à un ballon tricol de 500 mL équipé d'un thermomètre et d'un réfrigérant contenant 120 mL de dichlorométhane anhydre et 100 mL d'une solution 0,5 M d'ammoniaque dans le 1,4-dioxane (2,0 équ.). La température interne du ballon monte jusqu'à 37 °C et il y a dégagement gazeux (méthane). Après 30 minutes, on ajoute lentement une solution de 7,31 g (25,0 mmol) du produit **100** préalablement dissout dans 30 mL de dichlorométhane anhydre. On chauffe le mélange jusqu'à 49 °C et on laisse réagir pendant 19 h.

On ajoute alors de l'eau pour piéger la réaction, puis une solution saturée de NH_4Cl . On extrait trois fois la phase aqueuse à l'aide de dichlorométhane et on applique ensuite le traitement habituel aux phases organiques combinées. On récolte un solide blanc que l'on purifie par la technique de chromatographie « flash » (100% acétate d'éthyle). On obtient ainsi 4,71 g (17,0 mmol; 68%) d'un solide blanc **101**.

R_f 0.40 (100% acétate d'éthyle), Révélateur UV; RMN- ^1H (400 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 0.19 (6H, s, SiMe_2), 0.98 (9H, s, $\text{Si}t\text{Bu}$), 5.98 (1H, sé, NH_2), 6.40 (1H, sé, NH_2), 6.44 (1H, d, $J_1 = 16$ Hz, ArCH=CH-), 6.83 (1H, dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, Ar),

6.97 (1H, s, Ar), 7.10 (1H, d, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 7.20 (1H, t, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 7.57 (1H, d, $J_1 = 16$ Hz, ArCH=CH-); RMN- 13 C (100.4 MHz; CDCl_3); (δ ppm) -4.4 (2C), 18.2, 25.6 (3C), 119.4, 119.8, 121.1, 121.8, 129.8, 135.9, 142.3, 156.0, 168.3; SM (EI+) m/z 277 (M^+); SMHR calculé pour $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NO}_2\text{Si}$ (MH) : 277.1498, mesuré 277.1494; Analyse élémentaire Calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_2\text{Si}$: C (64.94), H (8.36), N (5.05), Mesurée : C (64.99), H (8.71), N (4.99).

4.3.7 Préparation de l'amide de l'acide 3-[3-(*tert*-butyl-diméthylsilanyloxy)-phényl]-oxyrane-2-carboxylique 102



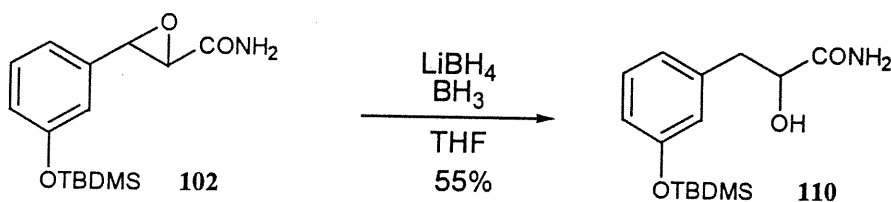
On prépare le réactif diméthyl-dioxyrane (DMDO) en mélangeant 120 g d'oxone à une suspension de 250 mL d'eau, 150 mL d'acétone et 58 g de NaHCO_3 . Le DMDO ayant un point d'ébullition plus bas que l'acétone, on peut le distiller dans un ballon contenant le produit de départ sur lequel on veut faire réagir le DMDO, ceci évite d'avoir à éliminer une grosse quantité de sels après la réaction.

On a donc distillé, en utilisant le vide d'une trompe à eau et de la glace sèche pour le réfrigérant, environ 75 mL de DMDO dans un ballon contenant 1,50 g (5,41 mmol) du produit 101 et on a agité le tout pour la nuit. Après ce laps de temps, seulement la moitié du produit semblait avoir réagi. Le solvant contenu dans le ballon réactionnel a été évaporé et on a alors distillé une nouvelle quantité de DMDO sur le produit, en lui permettant de réagir une nuit supplémentaire.

Après ce deuxième traitement, les CCM ne montrent plus de produit de départ. Le solvant contenu dans le ballon est donc évaporé et on purifie le produit brut par chromatographie « flash » (75% acétate d'éthyle/hexanes), ce qui a permis d'obtenir 1,316 g (83%) d'une huile 102 qui cristallise sous le vide de la pompe.

R_f 0.41 (75% acétate d'éthyle/hexanes), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN-¹H** (300 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 0.20 (6H, s, SiMe₂), 0.99 (9H, s, SitBu), 3.47 (1H, d, *J*₁= 2 Hz, ArCHCH), 3.91 (1H, d, *J*₁= 2 Hz, ArCHCH), 5.88 (1H, sé, NH₂), 6.20 (1H, sé, NH₂), 6.73 (1H, s, Ar), 6.82 (1H, ddd, *J*₁= 8 Hz, *J*₂= 2 Hz, *J*₃= 1 Hz, Ar), 6.89 (1H, dt, *J*₁= 8 Hz, *J*₂= 1 Hz, Ar), 7.23 (1H, t, *J*₁= 8 Hz, Ar); **RMN-¹³C** (75.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) -4.5 (2C), 18.1, 25.6 (3C), 58.5, 58.7, 117.2, 118.8, 120.8, 129.7, 136.3, 156.0, 170.2; **SM (FAB) m/z** 294 (MH⁺), SMHR calculé pour C₁₅H₂₄NO₃Si (MH) : 294.1526, mesuré 294.1538; **Analyse élémentaire** Calculée pour C₁₅H₂₃NO₃Si: C (61.39), H (7.90), N (4.77), Mesurée : C (61.36), H (8.44), N (4.84).

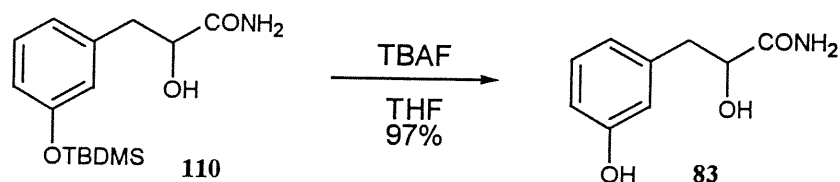
4.3.8 Préparation du 3-[3-(*tert*-butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-2-hydroxy-propionamide 110



On prépare le réactif en suspendant 0,24 g de LiBH₄ (1,0 éq.) dans 25 mL de THF anhydre, puis en ajoutant 11,1 mL de BH₃·THF (1,0 éq.). On refroidit le mélange à environ -10 °C à l'aide d'un bain acétone/glace, puis on additionne une solution de 3,26 g (11,1 mmol) de produit **102** dans 25 mL de THF anhydre préalablement refroidi à 0 °C. On laisse réagir 90 minutes à 0 °C, puis à TP pour 45 minutes. Pour terminer la réaction, on ajoute de l'eau (effervescence), puis une solution saturée de NH₄Cl jusqu'à un pH de 7 à 8. On filtre sur Büchner et on évapore le filtrat pour ensuite le purifier par chromatographie flash (100% acétate d'éthyle). On isole ainsi 1,79 g (55%) d'un solide blanc **110**.

R_f 0.25 (5% méthanol/chloroforme), **Révélateur** UV; **RMN-¹H** (400 MHz; CDCl₃); (δ ppm) 0.19 (6H, s, SiMe₂), 0.98 (9H, s, SitBu), 2.59 (1H, sé, CH-OH), 2.83 (1H, dd, *J*₁= 14 Hz, *J*₂= 8 Hz, ArCH₂-), 3.18 (1H, dd, *J*₁= 14 Hz, *J*₂= 4 Hz, ArCH₂-), 4.27 (1H, dd, *J*₁= 8 Hz, *J*₂= 4 Hz, ArCH₂CHOH), 5.75 (1H, sé, NH₂), 6.44 (1H, sé, NH₂), 6.75* (1H, d, *J*₁= 8 Hz, Ar), 6.76* (1H, s, Ar), 6.85 (1H, d, *J*₁= 8 Hz, Ar), 7.19 (1H, t, *J*₁= 8 Hz, Ar); * Ces deux pics se chevauchent; **RMN-¹³C** (100.4 MHz; CDCl₃); (δ ppm) -7.0 (2C), 15.6, 23.1 (3C), 38.1, 70.1, 116.3, 118.7, 119.9, 127.2, 135.6, 153.5, 172.9; **IR**_(NaCl) (cm⁻¹) 1586, 1669, 2851, 2930, 2954, 3260, 3411; **Analyse élémentaire**, Calculée pour C₁₅H₂₅NO₃Si: C (60.98), H (8.53), N (4.74), Mesurée : C (61.03), H (8.89), N (4.75).

4.3.9 Préparation du 2-hydroxy-3-(3-hydroxy-phényl)-propionamide **83**

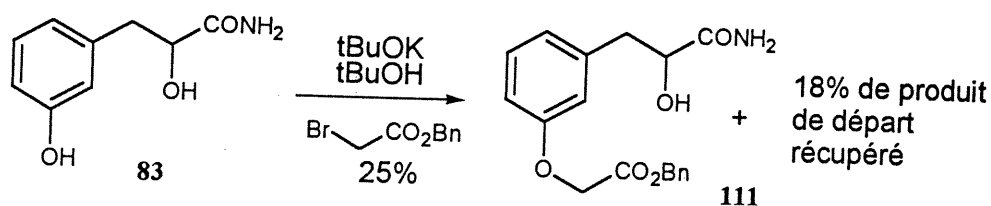


On dissout 1,74 g (5,89 mmol) de produit **110** en l'agitant dans 30 mL de THF anhydre. On refroidit la solution à 0 °C et on y ajoute lentement 8,8 mL (1,5 éq.) d'une solution 1,0 M de TBAF dans le THF. Un précipité blanc apparaît après quelques minutes. Lorsque la réaction est terminée, suivie par CCM, on évapore tous les solvants. Le produit brut est purifié par une chromatographie « flash » (15% méthanol/chloroforme, puis 20%, suivi de 30%), ce qui permet d'isoler 1,03 g (97%) d'un solide blanc **83**.

R_f 0.17 (10% méthanol/chloroforme), **Révélateur chimique** vanilline et UV; **RMN-¹H** (400 MHz; DMSO-*d*₆); (δ ppm) 2.49 (1H, sé, CH-OH), 2.56 (1H, dd, *J*₁= 13 Hz, *J*₂= 7 Hz, ArCH₂-), 2.86 (1H, dd, *J*₁= 9 Hz, *J*₂= 3 Hz, ArCH₂-), 5.38 (1H, d, *J*₁= 6 Hz,

ArCH₂CHOH), 6.56 (1H, d, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 6.64 (2H, sé, Ar), 7.03 (1H, t, $J_1 = 8$ Hz, Ar), 7.12 (1H, sé, NH₂), 7.19 (1H, sé, NH₂), 9.21 (1H, s, ArOH); SM (FAB) m/z 182 (MH⁺), SMHR calculé pour C₉H₁₂NO₃ (MH) : 182.0817, mesuré 182.0812; **Analyse élémentaire** Calculée pour C₉H₁₁NO₃ : C (59.66), H (6.12), N (7.73), mesurée : C (59.71), H (6.18), N (7.60).

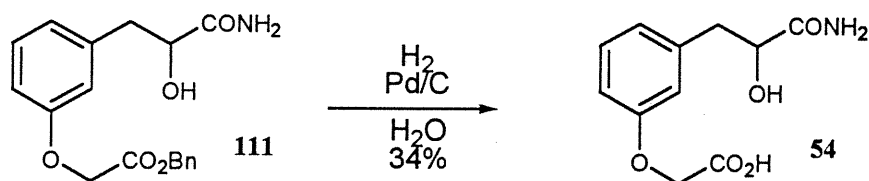
4.3.10 Préparation de l'ester de benzyle de l'acide [3-(2-carbamoyl-2-hydroxy-éthyl)-phénoxy]-acétique 111



On dissout 0,95 g (5,24 mmol) de produit **83** dans 55 mL de *tert*-butanol en le chauffant légèrement, car le produit y est peu soluble, puis on laisse revenir cette solution à TP; le produit demeure en solution. On ajoute alors goutte à goutte 5,24 mL (1,0 éq.) d'une solution 1,0 M de *tert*-butanolate de potassium dans le *tert*-butanol. La déprotonation du phénol rend le composé insoluble et il précipite dans le mélange réactionnel. On agite la suspension 15 minutes avant d'injecter 0,91 mL (1,1 éq.) d'ester de benzyle de l'acide bromoacétique. On laisse avec forte agitation pour la nuit, pour ensuite piéger la réaction avec 3 mL d'une solution saturée de NH₄Cl. On évapore le *tert*-butanol, puis on ajoute environs 100 mL de méthanol pour dissoudre tout le produit (un peu de chauffage est nécessaire). De 15 à 20 mL de silice est ajoutée à la solution pour pré-adsorber le produit, puis le tout est séché, d'abord sur l'évaporateur rotatif, puis sur la pompe. On ajoute cette silice à une colonne pour faire une chromatographie « flash » (5% méthanol/chloroforme, puis gradient de 10%, 20%, et enfin 30%). On obtient ainsi 0,44 g (25%) d'un solide blanc qui est le nouveau produit majeur **111**, après l'alkylation du phénol. On réussit aussi à récupérer 0,17 g (18%) de produit de départ pur.

R_f 0.23 (10% méthanol/chloroforme), **Révélateur chimique** vanilline et UV; **RMN- 1H** (400 MHz; $CDCl_3$); (δ ppm) 2.40 (1H, sé, CH-OH), 2.85 (1H, dd, $J_1=14$ Hz, $J_2=8$ Hz, ArCH $_2$ -), 3.18 (1H, dd, $J_1=14$ Hz, $J_2=4$ Hz, ArCH $_2$ -), 4.26 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=4$ Hz, ArCH $_2$ CHOH), 4.66 (2H, s, O-CH $_2$ -CO $_2$ H), 5.24 (2H, s, CO $_2$ -CH $_2$ -Ph), 5.55 (1H, sé, NH $_2$), 6.43 (1H, sé, NH $_2$), 6.79* (1H, d, $J_1=8$ Hz, Ar), 6.81* (1H, s, Ar), 6.89 (1H, d, $J_1=7$ Hz, Ar), 7.24 (1H, t, $J_1=9$ Hz, Ar), 7.36 (5H, sé, CO $_2$ CH $_2$ Ph), * Ces deux pics se chevauchent; **RMN- ^{13}C** (100.4 MHz; $CDCl_3$); (δ ppm) 38.2, 62.6, 64.5, 70.0, 110.6, 113.3, 120.3, 125.9 (2C), 126.0 (2C), 126.1 (2C), 127.4, 136.0, 155.4, 166.3, 172.7; **SM (FAB)** m/z 330 (MH^+), SMHR calculé pour C $_{18}H_{20}NO_5$ (MH) : 330.1342, mesuré 330.1330; **Analyse élémentaire**, Calculée pour C $_{18}H_{19}NO_5$: C (65.64), H (5.82), N (4.25), mesurée : C (65.51), H (6.00), N (4.20).

4.3.11 Préparation de l'acide [3-(2-carbamoyl-2-hydroxy-éthyl)-phénoxy]-acétique 54

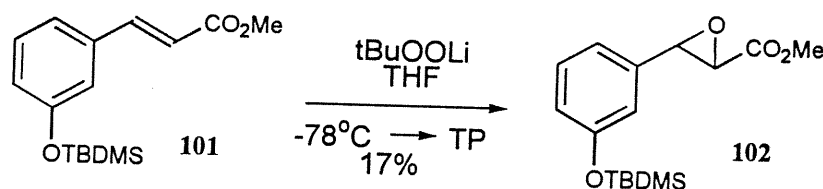


On suspend 250 mg (0,91 mmol) de produit **111** dans 6 mL d'eau distillée dans un tube à hydrogénation et on ajoute 60 mg de palladium sur charbon 10%. On agite fortement le tout et on place le mélange réactionnel sous une légère pression d'hydrogène (~ 2 atmosphères). On laisse réagir pendant trois jours en rajoutant du gaz pour conserver la pression.

On filtre sur de la Celite, puis on évapore sous vide, sans chauffer, environs le $\frac{3}{4}$ du solvant. On passe alors le produit sur une colonne d'exclusion stérique, de Sephadex® G-10. Les fractions contenant du produit sont lyophilisées et on récupère 61 mg (34%) d'u composé final, un solide blanc **54**.

R_f 0.08 (20% méthanol/chloroforme + 1% acide acétique), Révélateur chimique vert de bromocrésol; **RMN- ^1H** (400 MHz; D_2O); (δ ppm) 2.90 (1H, dd, $J_1=14$ Hz, $J_2=8$ Hz, ArCH_2-), 3.10 (1H, dd, $J_1=14$ Hz, $J_2=4$ Hz, ArCH_2-), 4.39 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=4$ Hz, ArCH_2CHOH), 4.73 (2H, s, $\text{O-CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$), 6.88* (1H, s, Ar), 6.89* (1H, d, $J_1=7$ Hz, Ar), 6.95 (1H, d, $J_1=7$ Hz, Ar), 7.31 (1H, t, $J_1=7$ Hz, Ar), * Ces deux pics se chevauchent; **RMN- ^{13}C** (100.4 MHz; D_2O); (δ ppm) 40.3, 65.7, 72.7, 113.7, 116.2, 123.9, 130.6, 139.7, 157.9, 174.5, 179.7; **SM (FAB)** m/z 240 (MH^+), SMHR calculé pour $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5$ (MH) : 240.0872, mesuré 240.0879; **Analyse élémentaire**, Calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_5$: C (55.23), H (5.45), N (5.85), Mesurée : C (54.91), H (5.76), N (5.85).

4.3.12 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(*tert*-butyldiméthyl-silanyloxy)-phényl]-oxyrane-2-carboxylique 102

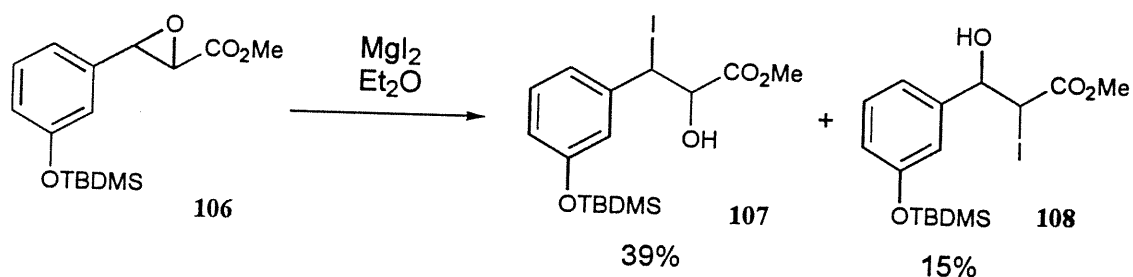


Sous agitation, on dilue 0,34 mL (1,5 éq.) d'une solution 3,0M de tBuOOH dans l'isooctane dans 1,5 mL de THF. On refroidit cette solution à -78°C et on ajoute alors goutte à goutte 0,30 mL (1,1 éq.) d'une solution 2,5M de butyllithium dans l'hexane. Après cinq minutes, on ajoute alors à ce mélange réactionnel une solution de 0,196 g (0,67 mmol) du produit de départ 101 dans 1,5 mL de THF. Après cinq minutes supplémentaires d'agitation à -78°C , on ramène le mélange réactionnel à TP, puis on le laisse réagir pour la nuit. Après un total de 21 heures, on ajoute 68 mg de sulfite de sodium pour neutraliser le peroxyde qui peut demeurer dans le mélange réactionnel. Après cinq minutes d'agitation, on dilue avec 3 mL de diéthyléther et on filtre sur de la celite. Les solvants organiques sont évaporés et on purifie le résidu par

chromatographie « flash » (acétate d'éthyle 5% dans l'hexanes). On récupère le produit majoritaire pour obtenir 33 mg du composé désiré **102**.

R_f 0.45 (10% acétate d'éthyle/hexanes), Révéléateur chimique CAM; RMN- ^1H (300 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 0.21 (6H, s, SiMe_2), 0.98 (9H, s, SitBu), 3.47 (1H, d, $J_1=2$ Hz, ArCH(O)CH), 3.84 (3H, s, CO_2Me), 4.03 (1H, d, $J_1=2$ Hz, ArCH(O)CH), 6.72 (1H, t, $J_1=2$ Hz, Ar), 6.82 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=2$ Hz, Ar), 6.89 (1H, dt, $J_1=8$ Hz, $J_2=2$ Hz, Ar), 7.21 (1H, t, $J_1=8$ Hz, Ar).

4.3.13 Préparation de l'ester de méthyle de l'acide 3-[3-(*tert*-butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-2-hydroxy-3-iodopropanoïque **107**

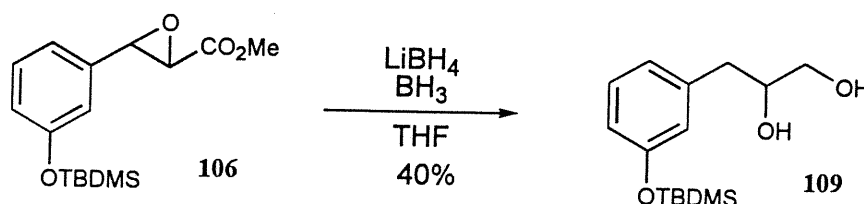


On dissout 0,21 g (0,68 mmol) du produit de départ **106** dans 5 mL de diéthyléther. On refroidit le mélange réactionnel à 0 °C, puis on ajoute rapidement 0,28 g (1,5 éq.) d'iodure de magnésium. En agitant, on réchauffe le mélange réactionnel à température de la pièce. On agite pour cinq minutes supplémentaires, en s'assurant que tout le solide soit dissout. On évapore les solvants sous pression réduite et l'on purifie le mélange réactionnel par une chromatographie « flash » (20% d'acétate d'éthyle/hexanes). On récupère 0,16 g (54%) d'un mélange 5 :2 des composé **107** (A) et **108** (B).

R_f 0.21 (B) et 0.22 (A) (10% acétate d'éthyle/hexanes), Révéléateur chimique vanilline; RMN- ^1H (300 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 0.20 (6H A+B, s, SiMe_2), 0.98 (9H A+B, s, SitBu), 3.71 (3H A, s, CO_2Me), 3.83 (3H B, s, CO_2Me), 4.05 (1H B, d, $J_1=2$ Hz),

4.62 (1H A, d, $J_1=4$ Hz), 5.36 (1H A, d, $J_1=4$ Hz), 5.53 (1H B, d, $J_1=2$ Hz), 6.72 (1H A+B, d, $J_1=8$ Hz, Ar), 6.99 (1H A+B, m, Ar), 7.12 (2H A+B, m, Ar).

4.3.14 Préparation du 3-[3-(*tert*-butyl-diméthyl-silanyloxy)-phényl]-propan-1,2-diol 109



On agite 0,01g (1 éq.) de LiBH_4 dans 1 mL de THF anhydre. On ajoute au mélange réactionnel 0,45 mL (1 éq.) d'une solution 1,0 M de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$. On refroidit le tout à 0°C puis on ajoute une solution de 0,14 g (0,45 mmol) du produit de départ **106** dans 2 mL de THF anhydre, ce qui cause une légère effervescence. On agite pour la nuit, en laissant le mélange réactionnel se réchauffer à TP. Après un total de 23 heures, on ajoute de l'eau, puis une solution saturée de NH_4Cl puis de l'acétate d'éthyle. On sépare les phases et on réextrait deux fois supplémentaire avec de l'acétate d'éthyle. On soumet les phases organiques au traitement habituel, puis on purifie le résidu par chromatographie « flash » (75% acétate d'éthyle dans l'hexanes) et on récupère 0,05 g du composé **109** (0.18 mmol, 40% de rendement).

R_f 0.46 (100% acétate d'éthyle), **Révélateur chimique** vanilline; **RMN- ^1H** (300 MHz; CDCl_3); (δ ppm) 0.19 (6H, s, SiMe_2), 0.98 (9H, s, $\text{Si}t\text{Bu}$), 2.16 (2H, s, **OH**), 2.72 (2H, m, CH_2OH), 3.52 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=6$ Hz, ArCH_2), 3.69 (1H, dd, $J_1=8$ Hz, $J_2=3$ Hz, ArCH_2), 3.94 (1H, m, CH_2CHOH), 6.70 (1H, s, Ar), 6.72 (1H, d, $J_1=8$ Hz, Ar), 6.83 (1H, d, $J_1=8$ Hz, Ar), 7.22 (1H, t, $J_1=8$ Hz, Ar).

Références

- ¹ Horowitz, A. *Pour la science*, Dossier Hors-série, 1998, 54.
- ² a) Alberts, Bray, Lewi, Raff, Roberts, Watson *Molecular Biology of the Cells*, 3^e éd., Garland, New York, 1994, 503, 1150. b) Bevilacqua, M. P.; Nelson, R. M. *J. Clin. Invest.*, 1991, 379. c) Lasky, L. A. *Science*, 1992, 258, 964. d) Labonté, C. *Partie 1 Design et synthèse d'un inhibiteur de la sélectine E. Partie 2 : Synthèse du régioisomère ortho du sotalol[®], un agent β -bloqueur*, mémoire de maîtrise, Université de Montréal, 1999.
- ³ a) Berg, E. L.; Robinson, M. K.; Mansson, O.; Butcher, E. C.; Magnani, J. L. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 14869. b) Phillips, M. L.; Nudelman, E.; Gaeta, F. C. A.; Perez, M.; Sinhal, A. K.; Hakomori, S.-I.; Paulson, J. C. *Science* 1990, 250, 1130. c) Walz, G.; Aruffo, A.; Kolanus, W.; Bevilacqua, M.; Seed, B. *Science* 1990, 250, 1132.
- ⁴ Yuen, C.-T.; Lawson, A. M.; Chai, W.; Larkin, M.; Stoll, M. S.; Stuart, A. C.; Sullivan, F. X.; Ahern, T. J.; Feizi, T. *Biochemistry* 1992, 31, 9126.
- ⁵ Sharon, N.; Lis, H. *Pour la science*, 1997, 54.
- ⁶ Collins, T. *Scientific American*, 1995, 28.
- ⁷ Pour une revue de l'aspect biologique de la liaison entre les sélectines et leurs ligands : Vestweber, D.; Blanks, J. E. *Physiol. Rev.* 1999, 79, 181.
- ⁸ Forrest, M.; Paulson, J. C. *Physiology and Pathophysiology of Leukocyte Adhesion*, Oxford University Press, New York, 1995, 43.
- ⁹ Borman, S. *C&En News*, 1992, 25.
- ¹⁰ Boschelli, D.H. *Drugs of the Future*, 1995, 20, 805.
- ¹¹ a) Seekamp, P. A. *Amer. J. Patho.* 1993, 44, 592. b) Fischer, A., Veber, F. *Lancet* 1986, 2, 1058.
- ¹² Paulson, J. *Amer. J. Physio.* 1994, 267, H-2124.
- ¹³ Díaz-González, F.; Sánchez-Madrid, F. *Immun. Today* 1998, 169.
- ¹⁴ Fukuda, M. N.; Ohyama, C.; Lowitz, K.; Matsuo, O.; Pasqualini, R.; Ruoslahti, E.; Kukuda, M. *Cancer Res.* 2000, 60, 450.
- ¹⁵ Cooke, R. M.; Hale, R. S.; Lister, S. G.; Shah, G.; Weir, M. P. *Biochemistry*, 1994, 33, 10591.
- ¹⁶ Mulligan, M. S.; Paulson, J. C.; DeFrees, S. A.; Zheng, Z.-L.; Lowe, J. B.; Ward, B. A. *Nature*, 1993, 364, 149.
- ¹⁷ Kameyawa, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *Carbohydr. Res.* 1991, 209, c1.
- ¹⁸ a) Nicolaou, K. C.; Hummel, C. W.; Bockovich, N. J.; Wong, C.-H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1991, 870. b) Nakahara, Y.; Jiyima, H.; Sibayama, S.; Ogawa, T. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 6897. c) Danishefsky, S. J.; Gervay, J.; Peterson, J. M.; McDonald, F. E.; Koseki, K.; Griffith, D. A.; Oriyama, T.; Marsden, S. P.; *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 1940. d) Yan, L.; Kahne, D. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 9239. e) Ellervik, U.; Magnusson, G. *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 9314. f) Kretschmar, G.; Stahl, W. *Tetrahedron*, 1998, 54, 6351.
- ¹⁹ Ichikawa, Y.; Lin, Y.-C.; Dumas, D. P.; Shen, G.J.; Garcia-Juneda, E.; Williams, M. A.; Bayer, R.; Ketchum, C.; Walker, L. E.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H. *J. Am.*

- Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9283. b) Blixt, O.; Norberg, T. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 2705.
- ²⁰ Ramphal, J. Y.; Zheng, Z.-L.; Perez, C.; Walker, L. E.; DeFrees, S. A.; Gaeta, F. C. *A. J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459.
- ²¹ Nelson, R.; Dolich, S.; Aruffo, A.; Cecconi, O.; Bevilacqua, M. P. *J. Clin. Invest.* **1993**, *91*, 1157.
- ²² Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Kunz, H. *Angew. Chem., Intl. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2096. b) Poppe, L.; Brown, G. S.; Philo, J. S.; Nikrad, P. V.; Shah, B. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 1727.
- ²³ a) Ichikawa, Y.; Halcomb, R. L.; Wong, C.-H. *Chem. Br.* **1994**, 117. b) Kogan, T. P.; Dupre, B.; Keller, K. M.; Scott, I. L.; Bui, H.; Market, R. V.; Beck, P. J.; Voytuis, J. A.; Revelle, R. M.; Scott, D. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4976. c) Wu, S.-H.; Shimazaki, M.; Lin, C.-C.; Moree, W. J.; Weitz-Schmidt, G.; Wong, C.-H. *Angew. Chem., Intl. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 88.
- ²⁴ Granner, D. K.; Mayes, P. A.; Murray, R. K.; Rodwell, V. W. *Précis de biochimie*, 7^e éd., Les Presses de l'Université Laval et Éditions Eska, Québec, **1989**, 36.
- ²⁵ DeFrees, S. A.; Kosch, W.; Way, W.; Paulson, J. C.; Sabesan, S.; Halcomb, R. L.; Huang, D.-H.; Ichikawa, Y.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 66.
- ²⁶ Simanek, E. E.; McGravey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C.-H. *Chem. Rev.*, **1998**, *98*, 833.
- ²⁷ Wong, C.-H. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 376.
- ²⁸ DeFrees, S. A.; Phillips, L.; Guo, L.; Zapilsky, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 6101.
- ²⁹ a) Ohmoto, H.; Nakamura, K.; Inoue, T.; Kondo, N.; Inoue, Y.; Yoshino, k.; Kondo, Y.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1339. b) Manning, D.D.; Bertozzi, C. R.; Rosen, S.D.; Kiessling, L.L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1953. c) Thoma, G.; Schwarzenbach, F.; Duthale, R.O. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 514.
- ³⁰ a) Prodger, J. C.; Bamford, M. J.; Gore, P. M.; Holmes, D. S.; Saez, V.; Ward, P. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2339. b) Bamford, M. J.; Bird, M.; Gore, P. M.; Holmes, D. S.; Priest, R.; Prodger, J. C.; Saez, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 239. c) Uchiyama, T.; Vassilev, V. P.; Kajimoto, T.; Wong, W.; Huang, H.; Lin, C. C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5395. d) Thoma, G.; Kinzy, W.; Bruns, C.; Patton, J. T.; Magnani, J. L.; Banteli, R. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4909. e) Ragan, J. A.; Cooper, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2563.
- ³¹ Huang, H.; Wong, C.-H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3100.
- ³² a) Kaila, N.; Yu, H.-A.; Xiang, Y. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5503. b) Birbeck, A. A.; Ley, S. V.; Prodger, J. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2637. c) Dekany, G.; Wright, K.; Ward, P.; Toth, I. *J. Carbohydr. Chem.* **1996**, *15*, 383.
- ³³ a) Liu, A.; Dillon, K.; Campbell, R. M.; Cox, D. C.; Huryn, D. M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3785. b) Kretzschmar, G.; Toepfer, A.G.; Huls, C.; Krause, M. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 2485. c) Toepfer, A.G.; Kretzschmar, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1997. d) Kuribayashi, T.; Ohkawa, N.; Satoh, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3307.
- ³⁴ a) Wong, C.-H.; Moris-Varas, F.; Hung, S.-C.; Marron, T. G.; Lin, C.-C.; Gong, K. W.; Weitz-Schmidt, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8152. b) Cappi, M. W.; Moree, W. J.; Marron, T. G.; Weitz-Schmidt, G.; Wong, C.-H. *Angew. Chem., Intl.*

- Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2346. c) Marron, T. G.; Woltering, T. J.; Weitz-Schmidt, G.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 9037
- ³⁵ Dupre, B.; Bui, H.; Scott, D.; Market, R. V.; Keller, K. M.; Beck, P. J.; Kogan, T. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 569.
- ³⁶ Hanessian, S.; Huynh, H. K.; Reddy, G. V.; McNaughton-Smith, G.; Ernst, B.; Kolb, H. C.; Magnani, J.; Sweeley, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2803.
- ³⁷ a) Sprengard, U.; Kunz, H.; Hüls, C.; Schmidt, W.; Seiffge, D.; Kretzschmar, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *5*, 509. b) Hayashi, M.; Tanaka, M.; Itoh, M.; Miyauchi, H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2938.
- ³⁸ Ikami, T.; Tsuruta, N.; Inagaki, H.; Kakigami, T.; Matsumoto, Y.; Tomiya, N.; Jomori, T.; Usui, T.; Suzuki, Y.; Tanaka, H.; Miyamoto, D.; Ishida, H.; Hasegawa, A.; Kiso, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 797.
- ³⁹ a) Manning, D. D.; Hu, X.; Beck, P.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 3161. b) Roy, R.; Park, W. K. C.; Srivastava, O. P.; Foxall, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6* 1399. c) Kretzschmar, G.; Sprengard, U.; Kunz, H.; Bartnik, E.; Schmidt, W.; Toepfer, A.; Horsch, B.; Krause, M.; Seiffge, D. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 13015. d) Baisch, G.; Ohrlein, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1812. e) Lin, C. H.; Shimazaki, M.; Wong, C.-H.; Koketsu, M.; Juneja, L. R.; Kim, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *3*, 1625. f) Miyauchi, H.; Yuri, M.; Tanaka, M.; Kawaura, N.; Hayashi, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 989. g) Sakagami, M.; Horie, K.; Nakamoto, K.; Kawaguchi, T.; Hamana, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2783.
- ⁴⁰ O'Connell, D.; Koenig, A.; Jennings, S.; Hicke, B.; Han, H.-L.; Fitzwater, T.; Chang, Y.-F.; Varki, N.; Parma, D.; Varki, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 5883.
- ⁴¹ Kretzschmar, G.; Toepfer, A.; Hüls, C.; Krause, M. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 2485.
- ⁴² Rao, B. N. N.; Anderson, M. B.; Musser, J. H.; Gilbert, J. H.; Schaefer, M. E.; Foxall, C.; Brandley, B. K. *J. Biol. Chem.*, **1994**, *269*, 19663.
- ⁴³ Sunazuka, T.; Hirose, T.; Harigaya, Y.; Takamatsu, S.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Omura, S.; Sprengler, P. A.; Smith III, A. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 10247.
- ⁴⁴ Hiramatsu, Y.; Tsukida, T.; Nakai, Y.; Inoue, Y.; Kondo, H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1476.
- ⁴⁵ Nayal, M.; Di Cera, E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 817.
- ⁴⁶ Tsukida, T.; Hiramatsu, Y.; Tsujishita, H.; Kiyoi, T.; Yoshida, M.; Kurokawa, K.; Moriyama, H.; Ohmoto, H.; Wada, Y.; Saito, T.; Kondo, H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3534.
- ⁴⁷ Tsai, C.-Y.; Park, W. K. C.; Weitz-Schmidt, G.; Ernst, B.; Wong, C.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2333.
- ⁴⁸ Le travail pour construire le modèle sélectine E/sLe^x selon la méthode de Kogan a été fait par Nathalie Goudreau, maintenant chez Bio-Méga.
- ⁴⁹ Graves, B. J.; Crowther, R. L.; Chandran, C.; Rumberger, J. M.; Li, S.; Huang, K.-S.; Presky, D. H.; Familletti, P. C.; Wolitsky, B. A.; Burns, D. K. *Nature* **1994**, *367*, 532.
- ⁵⁰ Il existe deux types de calculs de modélisation : orbitales moléculaires et semi-empirique. Le premier utilise l'équation de Schrödinger dans son ensemble, tandis que le deuxième ajoute plusieurs paramètres pour simplifier l'équation. La pre-

- mière technique est beaucoup plus précise, mais gourmande en temps de calcul, c'est pourquoi nous utilisons une méthode semi-empirique. Le champ de force est l'ensemble de paramètres utilisés pour calculer les différentes interactions entre les atomes. Pour une comparaison entre différents champs de force : Gundertofte, K.; Liljefors, T.; Norrby, P.-O.; Pettersson, I. *J. Comp. Chem.* **1996**, *17*, 429.
- ⁵¹ Bajorath, J.; Stenkamp, R.; Aruffo, A. *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 3.
- ⁵² Kogan, T. P.; Revelle, B. M.; Tapp, S.; Scott, D.; Beck, P. J. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 14047.
- ⁵³ Dugas, H. *Modélisation moléculaire : stéréochimie et analyse conformationnelle : SHM-6361 : un pas vers la 3^{ième} dimension*, 3^e éd., La Librairie de l'Université de Montréal, **1994**, chapitre III.
- ⁵⁴ Chan M. *Vers la synthèse d'un modèle rigide du pharmacophore du Sialyl Lewis X*, mémoire de maîtrise, Université de Montréal, **1999**.
- ⁵⁵ Robitaille, P. *Design et synthèse de nouveaux glycomimétiques : application comme ligand des sélectines*, mémoire de maîtrise, Université de Montréal, **1999**.
- ⁵⁶ Heathcook, C. H.; Ratcliffe, R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, *93*, 1746.
- ⁵⁷ Bloss, A. S.; Brook, P. R.; Ellam, R. M. *J. Chem. Soc. Perkin II*, **1973**, 2165.
- ⁵⁸ Corey, E. J.; Suggs, W. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 2647.
- ⁵⁹ a) Sharpless, K. B.; Lauer, R. F.; Teranishi, A. Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 6137. b) Reich, H. J.; Reich, I. L.; Renga, J. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 5813.
- ⁶⁰ Trost, B. M.; Salzmann, T. N.; Hiroi, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 4887.
- ⁶¹ Gravel, D.; Amoozadeh, A.; Wang, Y. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 8039.
- ⁶² Brougham, P.; Cooper, M. S.; Cummerson, D. A.; Heaney, H.; Thompson, N. *Synthesis*, **1987**, 1015.
- ⁶³ Pour une revue : Fringuelli, F.; Taticchi, A.; Wenkert, E. *Org. Prep. and Proc. Intl.*, **1990**, *22*, 131.
- ⁶⁴ Harayama, T.; Cho, H.; Ohtani, M.; Inubushi, Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **1974**, *22*, 2784.
- ⁶⁵ Fishman, J.; Torigoe, H.; Guzik, M. *J. Org. Chem.*, **1963**, *28*, 1443.
- ⁶⁶ Angell, E. C.; Fringuelli, F.; Halls, T. D. J.; Pizzo, F.; Porter, B.; Taticchi, A.; Tourris, A. P.; Wenkert, E. *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*, 4691.
- ⁶⁷ Das, J.; Kakushima, M.; Valenta, Z.; Jankowski, K.; Luce, R. *Can. J. Chem.*, **1984**, *62*, 411.
- ⁶⁸ Oppolzer, W.; Petrzilka, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 6722.
- ⁶⁹ Angell, E. C.; Fringuelli, F.; Pizzo, F.; Minuti, L.; Taticchi, A.; Wenkert, E. *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 1217.
- ⁷⁰ Childs, R. F.; Mulholland, D. L.; Nixon, A. *Can. J. Chem.*, **1981**, *60*, 801.
- ⁷¹ Hori, H.; Nishida, Y.; Ohuri, H.; Meguro, H. *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 1346.
- ⁷² a) Grieco, P. A.; Nunes, J. J.; Gaul, M. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 4595. b) Silva, R. A. *C&EN*, **1992**, 2.
- ⁷³ Danishefsky, S.; Schuda, P. F.; Kitahara, T.; Etheredge, S. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 6066.
- ⁷⁴ Corey, E. J.; Danheiser, R. L.; Chandrasekaran, S.; Siret, P.; Keck, G. E.; Gras, J.-L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 8031.
- ⁷⁵ Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, Y.; Crispino, G. A.; Hartung, J.; Jeong, K.-S.; Kwong, H.-L.; Morikawa, K.; Wang, Z.-M.; Xu, D.; Zhang, X.-L. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 2768.

- ⁷⁶ Wang, Z.-M.; Kakiuchi, K.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 6895.
- ⁷⁷ Anastasia, M.; Allevi, P.; Ciuffreda, P.; Fiecchi, A.; Scala, A. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1986**, 2117.
- ⁷⁸ a) Hagiwara, H.; Uda, H. *Chem. Comm.*, **1987**, 1351. b) Barton, D. H. R.; McCombie, S. W. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1975**, 1574.
- ⁷⁹ Robins, M. J.; Wilson, J. S.; Hansske, F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 4059.
- ⁸⁰ Anantharamaiah, G. M.; Sivanandaiah, K. M. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1976**, 490.
- ⁸¹ a) Lipshutz, B. H.; Pollart, D.; Monforte, J.; Kotsuki, H. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 705. b) Schmeck, C.; Hegedus, L. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 9927.
- ⁸² Klyashchitskii, B. A.; Shvets, V. I. *Russ. Chem. Rev.*, **1972**, *41*, 592.
- ⁸³ a) Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1978**, *17*, 522. b) Trost, B. M.; Belletire, J. L.; Godleski, S.; McDougal, P. G.; Balkovec, J. M.; Baldwin, J. J.; Christy, M. E.; Ponticello, G. S.; Varga, S. L.; Springer, J. P. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 2370.
- ⁸⁴ Whitesell, J. K.; Reynolds, D. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 3548.
- ⁸⁵ Pietraszkiewicz, M.; Jurczak, J. *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 2967.
- ⁸⁶ Leblanc, Y.; Fitzsimmons, B. J.; Adams, J.; Perez, F.; Rokach, J. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 789.
- ⁸⁷ Bryan, D. B.; Hall, R. F.; Holden, K. G.; Huffman, W. F.; Gleason, J. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 2353.
- ⁸⁸ Résultats non publiés de travaux effectués par Caroline Labonté lors de ses travaux de maîtrise au département de chimie de l'Université de Montréal
- ⁸⁹ a) Noordam, A.; Maat, L.; Beyerman, H. C. *Recl. J. R. Neth. Chem. Soc.*, **1981**, *100*, 441. b) Brewster, P.; Hiron, F.; Hugues, E. D.; Ingold, C. K.; Rao, P. A. D. S. *Nature*, **1950**, *166*, 179.
- ⁹⁰ Morton, D. R.; Thompson, J. L. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2102.
- ⁹¹ Pour O₂: Wasserman, H. H.; Lipshutz, B. H. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 1731.
- ⁹² Pour MoOPH: Vedejs, E.; Engler, D. A.; Telschow, J. E. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 188.
- ⁹³ Pour une revue: Davis, F. A.; Chen, B.-C. *Chem. Rev.*, **1992**, *92*, 919.
- ⁹⁴ Krishnamurthy, S.; Thompson, K. L. *J. Chem. Ed.*, **1977**, *54*, 778.
- ⁹⁵ March, J. *Advanced Organic Chemistry 4 ed.*, **1992**, John Wiley, New York, p. 251.
- ⁹⁶ Hendrickson, J. B.; Kandall, C. *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 343.
- ⁹⁷ a) Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87*, 5661. b) Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87*, 5670.
- ⁹⁸ Hanessian, S.; Wong, D. H.; Therien, M. *Synthesis*, **1981**, 394.
- ⁹⁹ Green, T. W.; Wuts, P. G. *Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed.*, **1992**, John Wiley, New York, p. 210.
- ¹⁰⁰ Nerdel, F.; Rachel, H. *Chem. Ber.*, **1956**, *89*, 671.
- ¹⁰¹ Gassman, P. G.; Talley, J. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 41383
- ¹⁰² a) Sukata, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, *60*, 3820. b) Yoneda, R.; Santo, K.; Harusawa, S.; Kurihara, T. *Synthesis*, **1986**, 1054. c) Groutas, W. C.; Felker, D. *Synthesis*, **1980**, 861. d) Livinghouse, T. *Org. Synth.*, **1981**, *60*, 127. e) Evans, D. A.; Truesdale, L. K.; Carroll, G. L. *Chem. Comm.*, **1973**, 55. f) Parham, W. E.; Roosevelt, C. S. *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 923.
- ¹⁰³ Jammot, J.; Pascal, R.; Commeyras, A. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 563.

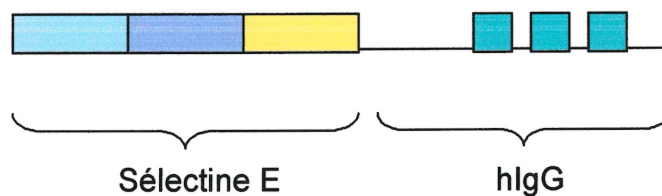
- ¹⁰⁴ Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc. *C. A.*, **1982**, *97*, 215565b.
- ¹⁰⁵ Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz Jr., G. S. *Introduction to Organic Laboratory Technique 2nd ed.*, Saunders College Publishing, New York, **1976**, 89.
- ¹⁰⁶ Mowry, D. T.; Butler, J. M. *Org. Syn. Coll. Vol. IV*, **1963**, 486.
- ¹⁰⁷ a) Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 4171. b) Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. *Org. Syn.*, **1979**, *59*, 49.
- ¹⁰⁸ Wood, J. L.; Khatri, N. A.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4907.
- ¹⁰⁹ Meth-Cohn, O.; Moore, C.; Taljaard, H. C. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1988**, 2663.
- ¹¹⁰ MacPeck, D. L.; Starcher, P. S.; Phillips, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 680.
- ¹¹¹ Brougham, P.; Cooper, M. S.; Cummerson, D. A.; Heaney, H.; Thompson, N. *Synthesis*, **1987**, 1015.
- ¹¹² Corey, P. F.; Ward, F. E. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 1925.
- ¹¹³ réf. 95 p.444
- ¹¹⁴ Otsubu, K.; Inanaga, J.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 4435.
- ¹¹⁵ Hutchins, R. O.; Kandasamy, D.; Dux III, F.; Maryanoff, C. A.; Rotstein, D.; Goldsmith, B.; Burgoyne, W.; Cistone, F.; Dalessandro, J.; Puglis, J. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2259.
- ¹¹⁶ Hutchins, R. O.; Taffer, I. M.; Burgoyne, W. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 5214.
- ¹¹⁷ Brown, H. C.; Yoon, N. M. *Chem. Comm.*, **1968**, 1549.
- ¹¹⁸ Brown, H. C.; Yoon, N. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 2686.
- ¹¹⁹ Corey, E. J.; Snider, B. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 2549.
- ¹²⁰ Bernady, K. F.; Poletto, J. F.; Nocera, J.; Mirando, P.; Schaub, R. E.; Weiss, M. J. *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 4702.
- ¹²¹ Cavallito, C. J.; Harley, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, *72*, 815.
- ¹²² Still, W. C.; Kahn, A. M. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2923.

Annexe 1
Test biologique
d'adhésion cellulaire

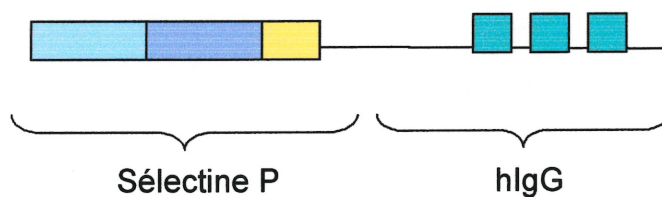
Cette annexe décrira sommairement la méthode mise au point et employée par Marc Vaillancourt de l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal, pour mesurer l'affinité relative des antagoniste à la sélectine E et P.

L'étape préliminaire au test consiste à produire une quantité suffisante de la protéine d'intérêt, i.e., pour nous, la sélectine E et la P. Pour ce faire, on emploie habituellement la mutagenèse dirigée dans le but de modifier des plasmides, ceci de façon à y intégrer une séquence spécifique d'ADN responsable de l'expression des sélectines E et P.

Sélectine E/IgG :



Sélectine P/IgG :



Plasmide :

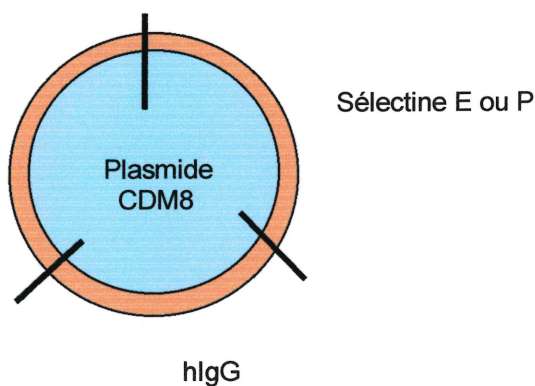


Figure A.1. Modification de plasmides

En deuxième lieu, on intégrera une séquence exprimant l'immunoglobuline G humaine (hIgG), ceci dans le but de faciliter la fixation de la sélectine E et P sur les plaques à microtitration (plaques de polystyrène dans lesquelles on effectue les tests).

Par la suite, on insère ces vecteurs d'expression de la protéine dans les cellules appropriées, les cellules COS (cellules provenant des reins de singes verts africains), et ce, en traitant ces dernières avec une solution de diéthylaminoéthyl-dextran/chloroquine sulfate pour ainsi rendre les membranes des plasmides perméables.

La réplication des cellules alors s'effectuera puisque maintenant les mécanismes cellulaires sont aptes à effectuer la synthèse de la sélectine voulue. Une fois les structures moléculaires protéiniques terminées, elles sont excrétées dans le milieu extracellulaire et leur récupération, à partir du surnageant, est alors réalisable.

En ce qui concerne le test lui-même, on doit tout d'abord fixer les anticorps de chèvres anti IgG humain sur une plaque de microtitration mentionnée plus haut. Ensuite, avec de l'albumine provenant de sérums bovins, on bloque les sites résiduels libres de ces plaques. On fixe les sélectines-hIgG, et ce, grâce aux interactions rendues possibles entre ce dernier complexe et les anticorps de chèvre anti IgG humain précédemment cités. À ce point, il ne reste qu'à ajouter les cellules HL-60 (*Human Leucocytes*) marquées au tritium (^3H), ces dernières étant naturellement aptes à exprimer les récepteurs PSGL-1 et ESL-1, ces derniers étant à leur tour, aptes à exprimer à leur surface les molécules de sLe^x.

Pour terminer, on ajoute les antagonistes à tester. Si ces molécules ont plus d'affinité que les cellules HL-60 pour les récepteurs précédemment cités, les antagonistes déplaceront les HL-60.

C'est donc ainsi que la mesure de l'activité s'effectue. On mesure en fait le nombre de cellules HL-60 qui sont retournées en solution.

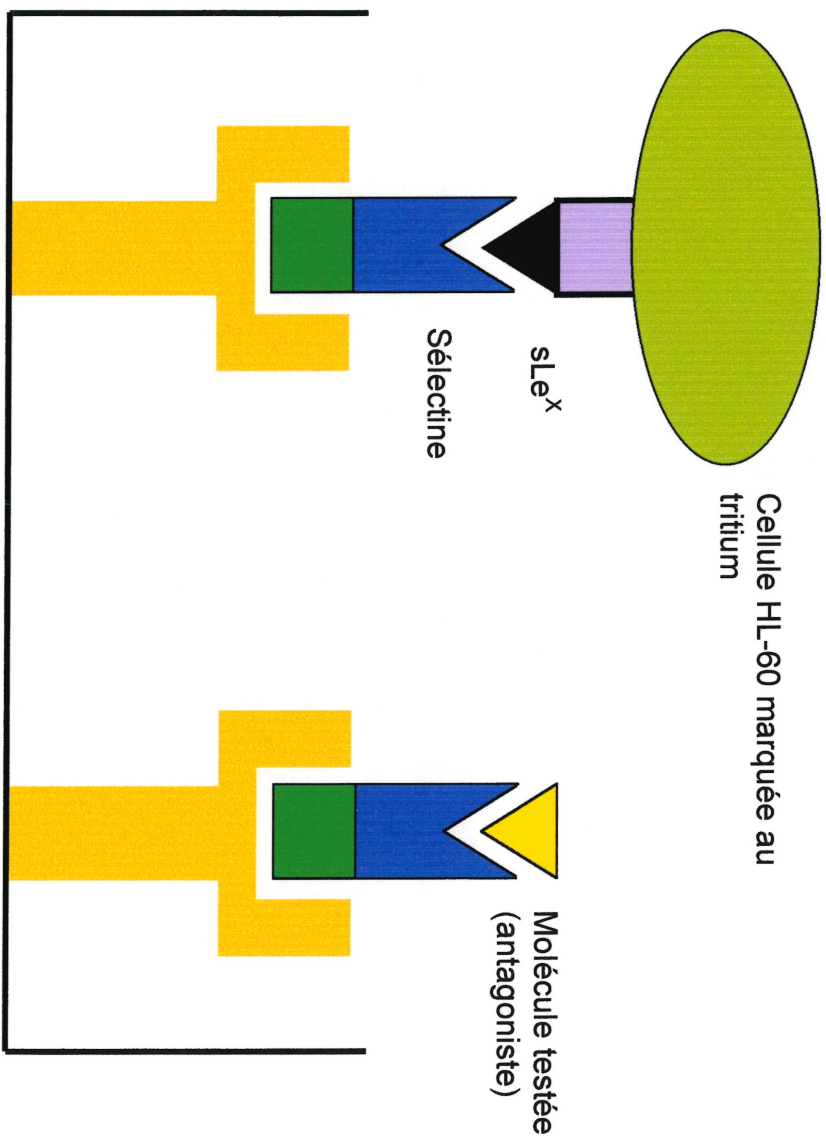


Figure A.2. Illustration des types d'interactions possibles lors des tests d'adhésion