

2m11.2509.9

Université de Montréal

**Approches synthétiques d'analogues des 4-arylkainoïdes.**

**Synthèse des acides (2S)- $\Delta^3$ -Arylkainoïdes**

par

Patrice Gill

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M. Sc) en chimie

Mai 1996

©Patrice Gill, 1996



QD

3

U54

1997

V.010

Université de Montréal

Synthèse des radicaux 1,2-dicyano-1,2-diphényl-éthane  
Approches synthétiques et enzymatiques de la synthèse des radicaux

par

Patrice Gill

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de

Maîtrise en chimie

à l'Université de Montréal



1997

1997

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:  
**Approches synthétiques d'analogues des 4-arylkaïnoïdes.**  
**Synthèse des acides (2S)- $\Delta^3$ -Arylkaïnoïdes**

Présenté par:  
Patrice Gill

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:  
Professeur Richard Giasson..... Président  
Professeur William Lubell..... Directeur  
Professeur James Wuest..... Jury

Mémoire accepté le:..... 04.04.97 .....

## Sommaire

Les récepteurs du glutamate sont impliqués dans les maladies de neurodégénérescence tel que le dommage cérébral caractéristique des maladies de Huntington, Alzheimer et Parkinson, en plus d'être associés à l'ischémie, les traumatismes crâniens, l'encéphalopathie liée au SIDA et à l'épilepsie. Ils sont donc importants dans les mécanismes du système nerveux central et à son bon fonctionnement. Parmi les récepteurs du glutamate on retrouve le récepteur kaïnate.

Ce mémoire présente une nouvelle approche synthétique des kaïnoïdes et la synthèse de trois nouveaux analogues des kaïnoïdes à partir de la *trans*-4-hydroxyproline. Les étapes comprennent la protection du carbonyle et de l'amine, l'oxydation de l'alcool, l'alkylation régiospécifique de la cétone en position 3, la formation d'un énol triflique, le couplage à un acide arylboronique et enfin la déprotection pour obtenir les acides (2*S*)- $\Delta^3$ -arylkaïniques. Les trois kaïnoïdes générés varient par le groupement aryle qui est soit le phényle, le 2-méthoxyphényle ou le 2-naphtyle.

*à Nathalie, Stéphanie, Virginie, Cynthia  
et à la mémoire de Jean-Luc Ferland.*

*"Felix qui potuit rerum cognoscere causas" Virgile*

## Table des matières

Liste des abréviations.....	p ix
Liste des figures .....	p xii
Liste des tableaux.....	p xiii
Liste des schémas .....	p xiv
1. Introduction.....	p 1
1.1. Récepteurs du glutamate .....	p 1
1.2. Le récepteur KA .....	p 9
1.2.1. Découverte et identification des kaïnoïdes .....	p 9
1.2.2. Activités biologiques .....	p 13
1.2.2.1. Puissance des kaïnoïdes naturels et synthétiques.....	p 13
1.2.2.2. Fonctionnalité versus activité des kaïnoïdes.....	p 15
1.2.2.3. Stéréochimie versus activité des kaïnoïdes.....	p 16
1.3. Synthèse des kaïnoïdes .....	p 19
1.3.1. Synthèse générale des kaïnoïdes.....	p 19
1.3.2. Synthèse des arylkaïnoïdes.....	p 21
1.4. Étude synthétique.....	p 24
2. Préparation des acides (2S)- $\Delta^3$ -4-arylkaïniques .....	p 27
2.1. Introduction .....	p 27
2.2. Synthèse des (2S,4R)-4-hydroxy-N-(PhF)prolinate de benzyle et (2S,4R)-4-hydroxy-N-(PhF)prolinate d'allyle ( <b>38</b> ).....	p 28
2.3. Synthèse des (2S)-4-oxo-N-(PhF)prolinates <b>39</b> par l'oxydation des alcools <b>38</b> . .....	p 29
2.4. Préparation des 4-arylprolines.....	p 31
2.4.1. Synthèse et tentative de substitution du (2S, 4R)-4-tosyl-N- (PhF)prolinate de benzyle ( <b>43</b> ) par le phényle cuprate .....	p 31

2.4.2. Synthèse du (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-hydroxy-4-phényle- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>45</b> ) par addition du chlorure de phénylcérium (III).....	p 32
2.4.3. Synthèse du (2 <i>S</i> )-4-phényl- $\Delta^3$ - <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>47</b> ) par couplage à l'acide phénylboronique. ....	p 33
2.5. Préparation des acides (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-arylkaïniques ( <b>50</b> ).....	p 35
2.5.1. Préparation du (2 <i>S</i> , 3 <i>RS</i> )-3-méthoxycarbonyl-4-oxo- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>40</b> ).....	p 35
2.5.2. Tentative de synthèse du (2 <i>S</i> ,3 <i>RS</i> ,4 <i>RS</i> )-3-méthoxycarbonyl-4-hydroxy-4-phényl- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>48</b> ) par l'addition du chlorure de phénylcérium (III).....	p 36
2.5.3. Synthèse des (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -3-méthoxycarbonyl-4-aryl- <i>N</i> -(PhF)prolinates de benzyle ( <b>50</b> ) par le couplage des acides arylboroniques et le triflate vinylique <b>49</b> .....	p 37
2.5.4. Synthèse des acides (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-arylkaïniques ( <b>51</b> ) par la déprotection des (2 <i>S</i> )-3-méthoxycarbonyl-4-aryl- $\Delta^3$ - <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle <b>45</b> .....	p 38
2.6. Détermination de la pureté énantiomérique de l'acide (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-phénylkaïnique ( <b>41a</b> ).....	p 40
3. Conclusion.....	p 41
4. Section expérimentale.....	p 43
4.1. Notes générales.....	p 43
4.2. <i>p</i> -Toluène sulfonate de (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-hydroxyprolinate de benzyle ( <b>42a</b> ).....	p 44
4.3. <i>p</i> -Toluène sulfonate de (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-hydroxy-prolinate d'allyle ( <b>42b</b> ).....	p 45
4.4. (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-Hydroxy- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>38a</b> ).....	p 46

4.5. (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-Hydroxy- <i>N</i> -(PhF)prolinate d'allyle ( <b>38b</b> ).....	p 48
4.6 (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-Tosyl- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>43</b> ).....	p 49
4.7. (2 <i>S</i> )-4-Oxo- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>39a</b> ).....	p 50
4.8. (2 <i>S</i> )-4-Oxo- <i>N</i> -(PhF)prolinate d'allyle ( <b>39b</b> ).....	p 52
4.9. (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-hydroxy-4-phényl- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>45</b> ).....	p 53
4.10. (2 <i>S</i> , 3 <i>RS</i> )-4-oxo-3-méthoxycarbonylméthyl- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>40</b> ).....	p 55
4.11. Procédure générale pour la préparation des triflates.....	p 56
4.11.1. (2 <i>S</i> )-4-triflyloxy- $\Delta^3$ - <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>46</b> ).....	p 57
4.11.2. (2 <i>S</i> )-3-méthoxycarbonylméthyl-4-triflyloxy- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)prolinate de benzyle ( <b>49</b> ).....	p 58
4.12. Procédure générale du couplage des acides boroniques au triflates vinyliques.....	p 59
4.12.1. . (2 <i>S</i> )-4-Phényl- $\Delta^3$ - <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>47</b> ).....	p 60
4.12.2. (2 <i>S</i> )-3-Méthoxycarbonylméthyl-4-phényl- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)prolinate de benzyle ( <b>50a</b> ).....	p 61
4.12.3. (2 <i>S</i> )-3-Méthoxycarbonylméthyl-4-(2-méthoxyphényl)- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)-prolinate de benzyle ( <b>50b</b> ).....	p 62
4.12.4. (2 <i>S</i> )-Benzyl 3-méthoxycarbonylméthyl-4-(2-naphtyl)- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)-prolinate ( <b>50c</b> ).....	p 63
4.13. Procédure générale d'hydrolyse des diesters des (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-aryl- <i>N</i> -(PhF)kaïnoïdes ( <b>51</b> ).....	p 64
4.13.1. Acide (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-phényl- <i>N</i> -(PhF)kaïnique ( <b>51a</b> ).....	p 65
4.13.2. Acide (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)- <i>N</i> -(PhF)kaïnique ( <b>51b</b> ).....	p 66
4.13.3. Acide (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)- <i>N</i> -(PhF)kaïnique ( <b>51c</b> ).....	p 67
4.14. Procédure générale de solvolysse du PhF des acides (2 <i>S</i> )- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)-Arylkaïniques ( <b>41</b> ).....	p 68

4.14.2. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)kainique ( <b>41b</b> ).....	p 70
4.14.3. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)kainique ( <b>41c</b> ).....	p 71
4.15. Hydrochlorure de (2S)- $\Delta^3$ -4-phénylkainate de méthyle ( <b>52</b> ) .....	p 72
4.16. (2S)-N-( $\alpha$ -Méthylbenzylurée)- $\Delta^3$ -4-(phényl)kainate de méthyle ((2S,1'S)- <b>53</b> et (2S,1'R)- <b>53</b> ).....	p 73
5. Bibliographie .....	p 74
Annexe A: Spectres RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ .....	p xv
Annexe B: Études biologiques .....	p lxi

## Liste des abréviations:

Ac.....	Acétyle
AMPA.....	acide (S)- $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyle-4-isoxazolepropionique
Ar .....	Aryle
Bn .....	Benzyle
Bz.....	Benzoyle
CBz.....	Carbobenzyloxy
CNOPA .....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-carboxypyridine-N-oxyde)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
CPPA .....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-carboxypyridine)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
d.....	Doublet
DIEA .....	Diisopropyléthylamine
DME .....	Diméthoxyéthane
DMPU .....	Diméthylpropyle urée
DMSO .....	Diméthyle sulfoxyde
Et .....	Éthyle
FAB.....	"Fast atom bombardment"
FPA.....	Acide (2S,3S,4S)-4-phényl-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
h.....	Heure
HFPA .....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-hydroxyphényl)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
HMDS .....	Bis(triméthylsilyl)amidure
HMPPA .....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-hydroxyméthylpyridine)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
HOMO.....	"Highest Occupied Molecular Orbital"

Hz	.....	Hertz
I.E.	.....	Impact électronique
iGluR	.....	Récepteurs ionotropiques du glutamate
KA	.....	Acide kaïnique
mGluR	.....	Récepteurs métabotropiques du glutamate
m	.....	Multiplet
Me	.....	Méthyle
MFPA	.....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-méthoxyphényl)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
min	.....	minute
MKPA	.....	Acide (2S,3S,4R)-4-méthylcétone-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
ml	.....	Millilitre
mol	.....	Mole
MOM	.....	Éther méthoxyméthylque
MPPA	.....	Acide (2S,3S,4S)-4-(2-méthylpyridine)-2-carboxy-3-pyrrolidineacétique
NMDA	.....	(R)-N-(méthyl)aspartate
NS-102	.....	5-Nitro-6,7,8-tetrahydrobenzo-[G]indole-2,3-dione-3-oxime
P.F.	.....	Point de fusion
PhF	.....	9-(9-Phénylfluorényl)
Ph	.....	Phényle
PMP	.....	<i>para</i> -Nitrophényle
Pyr	.....	Pyridine
RMN	.....	Résonance magnétique nucléaire
s	.....	Singulet
SM	.....	Spectrométrie de masse
SMHR	.....	Spectrométrie de masse à haute résolution

t.....Triplet  
*t*-Bu .....*tert*-butyl  
Tf.....trifluorométhanesulfonyle  
TFA.....Acide trifluoroacétique  
THF.....Tétrahydrofuran  
TMS .....Triméthylsilyle  
Ts.....Tosyle

## Liste des Figures:

Figure 1:acide glutamique .....	p 1
Figure 2: Agonistes des récepteurs ionotropiques du glutamate .....	p 4
Figure 3: Agonistes et antagonistes représentatifs du récepteur NMDA.....	p 5
Figure 4: Agonistes représentatifs du récepteur AMPA.....	p 6
Figure 5: Antagonistes représentatifs du récepteur AMPA.....	p 7
Figure 6: Modulateurs représentatifs du récepteur AMPA.....	p 7
Figure 7: Exemples représentatifs de kaïnoïdes naturels.....	p 10
Figure 8: Biosynthèse proposée des acides acroméliques A et B.....	p 12
Figure 9: Analogues synthétiques des kaïnoïdes.....	p 14
Figure 10: Structure de l'acide kaïnique ( <b>4</b> ) et de l'acide glutamique ( <b>1</b> ). .....	p 15
Figure 11: Pont hydrogène du composé <b>45</b> .....	p 32

## Liste des Tableaux:

Tableau I: Relation de l'activité et de la stéréochimie du kaïnoïde **19d**. ..... p 17

Tableau II: Synthèse des kaïnoïdes. .... p 20

## Liste des Schémas:

Schéma 1: Utilisation d'arylcuprates.....	p 22
Schéma 2: Addition d'organométalliques.....	p 23
Schéma 3: Analyse synthétique.....	p 24
Schéma 4: Protection de la (2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> )-4-hydroxyproline ( <b>29</b> ).....	p 28
Schéma 5: Oxydation du (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-hydroxy- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle et du (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-hydroxy- <i>N</i> -(PhF)prolinate d'allyle ( <b>38</b> ).....	p 29
Schéma 6: Tosylation du (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-hydroxy- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>38a</b> ).....	p 31
Schéma 7: Addition du chlorure de phénylcérium (III) sur (2 <i>S</i> )-4-oxo- <i>N</i> - (PhF)prolinate de benzyle ( <b>39a</b> ).....	p 32
Schéma 8: Formation et couplage du (2 <i>S</i> )-4-triflyloxy- $\Delta^3$ - <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle <b>46</b> .....	p 33
Schéma 9: Alkylation du (2 <i>S</i> )-4-oxo- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>39a</b> ).....	p 35
Schéma 10: Addition du chlorure de phénylcérium (III) sur le (2 <i>S</i> , 3 <i>RS</i> )-4- oxo-3-méthoxycarbonyl- <i>N</i> -(PhF)prolinate de benzyle ( <b>40</b> ).....	p 36
Schéma 11: Formation et couplage du triflate vinylique <b>49</b> trisubstitué.....	p 37
Schéma 12: Déprotection des (2 <i>S</i> )-3-méthoxycarbonyl-4-aryl- $\Delta^3$ - <i>N</i> - (PhF)prolinate de benzyle <b>50</b> .....	p 38
Schéma 13: Couplage au l'isocyanate de ( <i>R</i> )- ou ( <i>S</i> )- $\alpha$ -méthylbenzyle.....	p 40

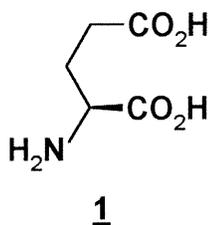
## 1. Introduction

La recherche biomédicale tente d'élucider les mécanismes du corps humain. Lorsque ces mécanismes sont perturbés, il en résulte des problèmes physiologiques. La meilleure compréhension des faits est la clé de nouvelles thérapies.

Un des plus grands défis relevés par la science est la compréhension du fonctionnement du système nerveux central de l'être humain. Depuis plusieurs années les chercheurs se sont penchés sur le système nerveux central de l'être humain et des mammifères. Ceci a mené à la découverte des récepteurs du glutamate<sup>1</sup>. Ces récepteurs sont responsables de nos capacités de mouvement, d'apprentissage, de mémorisation et de perception<sup>2</sup>.

### 1.1. Récepteurs du glutamate:

Figure 1:acide glutamique



Le (S)-glutamate (**1**) est le principal neurotransmetteur du cerveau<sup>1</sup>. Cet acide aminé influence toutes les fonctions du système nerveux central pré- et post-synaptique. Un contrôle biologique du glutamate et de ses récepteurs assure le bon fonctionnement du système nerveux. Cependant, quand un

facteur influence le système, une surexcitation des récepteurs du glutamate peut causer des blessures neurologiques ou la mort des neurones affectés<sup>3</sup>. Ce phénomène est nommé l'excitotoxicité. L'excitotoxicité est vue comme le dernier chaînon commun de la série d'événements menant aux maladies de neurodégénérescence tel que le dommage cérébral caractéristique des maladies de Huntington, Alzheimer et Parkinson, en plus d'être associée à l'ischémie, les traumatismes crâniens, l'encéphalopathie liée au SIDA et à l'épilepsie<sup>2,4,5,6,7</sup>. Ces conditions semblent être causées par un influx de calcium dans les neurones par l'activation des récepteurs du glutamate. Cet influx cause une dégradation ou la mort des cellules nerveuses. Il est donc important de mieux comprendre les récepteurs du glutamate et les canaux de transport d'ions qu'ils influencent directement ou indirectement.

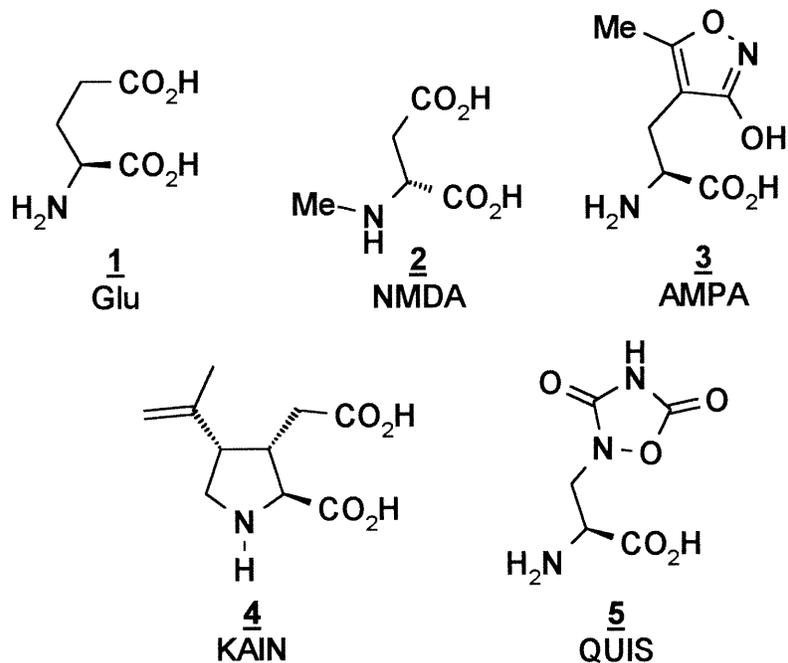
Ces récepteurs sont membranaires et, par ce fait, leur caractérisation par des méthodes spectroscopiques est difficile. Les récepteurs du glutamate se divisent en deux classes soit ionotropiques (iGluR) et métabotrope (mGluR)<sup>8</sup>. Cette première division entre iGluR et mGluR a été effectuée par clonage et analyse de leurs propriétés électrophysiologiques.

Les mGluR sont reliés à une protéine G qui inhibe ou facilite l'action d'un agent métabolique. Deux agents métaboliques ont été identifiés. Le premier agent est la phospholipase C. Elle est activée par l'action de la protéine G et dégrade les phospholipides membranaires en inositol triphosphate messenger et diacylglycérol. L'inositol triphosphate libère des cations  $Ca^{2+}$  des réserves internes de la cellule<sup>8</sup>. Le deuxième agent est l'adénylate cyclase qui est inhibé par l'action de la protéine G qui, à son tour, produit une baisse de production de l'adénosine cyclique monophosphate<sup>8</sup>.

Les iGluR sont directement reliés à des canaux ioniques modulés par les ligands qui contrôlent le signal électrique des cellules nerveuses<sup>9</sup>. Une fois activés, ils sont perméables aux cations sodium, potassium et/ou calcium. Leurs effets sont donc rapides et importants.

La division subséquente des iGluR a été déterminée par leur affinité envers des molécules qui ne sont pas présentes naturellement dans le corps humain (figure 2). Les iGluR sont divisés en trois catégories majeures, soit d'après leur activation sélective par le (*R*)-*N*-(méthyl)aspartate (NMDA, 2), l'acide (*S*)- $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA, 3) et l'acide kaïnique (KA, 4). Le récepteur AMPA est quelquefois désigné comme étant le récepteur quisqualate (QUIS, (*S*)- $\beta$ -(3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidin-2-yl)alanine, 5) bien que l'affinité du récepteur est moindre pour le quisqualate que pour l'AMPA<sup>10</sup>.

Figure 2: Agonistes des récepteurs ionotropiques du glutamate.

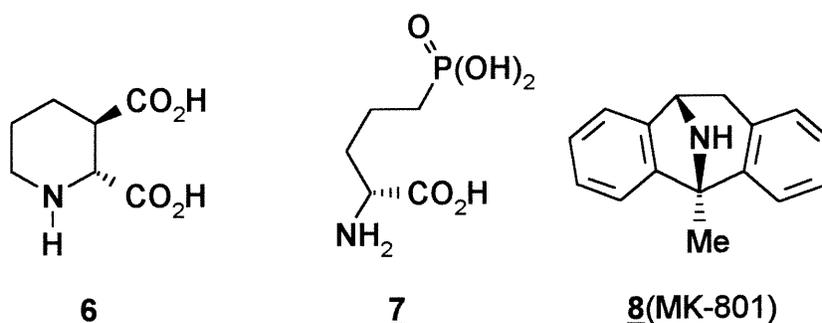


L'excitotoxicité du récepteur NMDA est bien connue et documentée, mais celle des récepteurs AMPA et KA est encore mal comprise. Les récepteurs KA sont resubdivisés en récepteurs de haute et de basse affinités<sup>11</sup>. Le récepteur de basse affinité, en plus d'avoir une affinité moindre pour l'acide kainique, est sensible au AMPA. Il est connu que le canal ionique du récepteur NMDA transporte le calcium et que les canaux des récepteurs AMPA et KA transportent le sodium et le potassium et sont peu perméables au calcium<sup>12</sup>.

Le récepteur NMDA est un des récepteurs du glutamate le mieux caractérisé. En plus du site compétitif du récepteur, trois sites allostériques ont été découverts qui répondent à la glycine, au zinc et aux polyamines. Plusieurs études de la relation structure/activité des agonistes et antagonistes du site compétitif du récepteur ont été accomplies<sup>1,13</sup>. Plusieurs agonistes du récepteur

NMDA sont connus tel que l'acide (2*R*,3*R*)-2,3-pipéridinedicarboxylique<sup>14</sup> (**6**) et plusieurs antagonistes tel l'acide (*R*)-2-amino-5-phosphonopentanoïque<sup>15</sup> (**7**) (figure 3).

Figure 3: Agonistes et antagonistes représentatifs du récepteur NMDA.



Un point commun entre les agonistes et les antagonistes du récepteur NMDA est la variation de l'efficacité selon la nature de la fonction acide sur la chaîne latérale<sup>1</sup>. L'activité des agonistes varie en ordre croissant d'affinité d'après la fonctionnalité de la chaîne latérale comme suit:  $\text{CO}_2\text{H} > \text{SO}_3\text{H} > \text{PO}_3\text{H}_2$  et les antagonistes dans l'ordre suivant:  $\text{PO}_3\text{H}_2 > \text{CO}_2\text{H} > \text{SO}_3\text{H}$ .

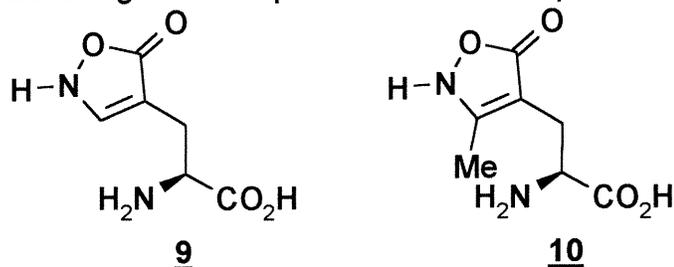
Un autre mode d'action des antagonistes du récepteur NMDA est présenté par des composés tel le (+)-5-méthyl-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,b*]cycloheptèn-5,10-imine<sup>16</sup> (MK-801, **8**, figure 3). L'activité provient d'interactions avec la forme activée du canal d'ions. Elle est dépendante de la concentration d'agoniste mais est non compétitive avec ceux-ci. Ce sont des genres de bouchons du canal d'ions qui empêchent le passage du calcium.

Le récepteur AMPA ainsi que le récepteur KA semblent être impliqués dans les transmissions synaptiques rapides. Le récepteur AMPA est moins bien

identifié que le récepteur NMDA mais cependant plusieurs agonistes, antagonistes et modulateurs positifs et négatifs sont connus.

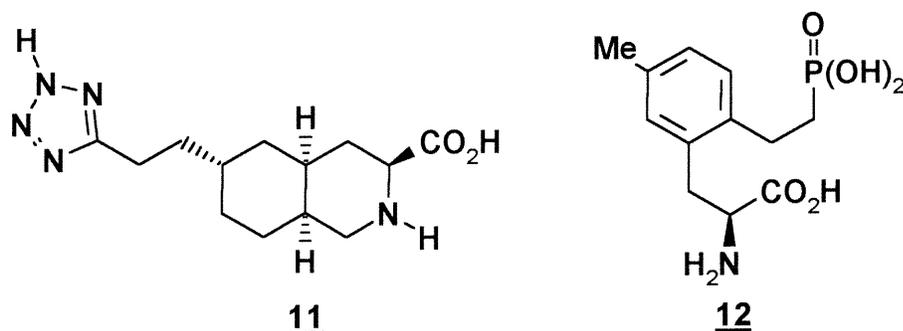
Parmi les agonistes connus les plus puissants, on trouve un certain nombre d'isoxazolones. À notre connaissance, la meilleure affinité se retrouve chez le TAN-950A 9 mais le plus puissant agoniste est l'oxazolone 10<sup>17</sup> (figure 4).

Figure 4: Agonistes représentatifs du récepteur AMPA.



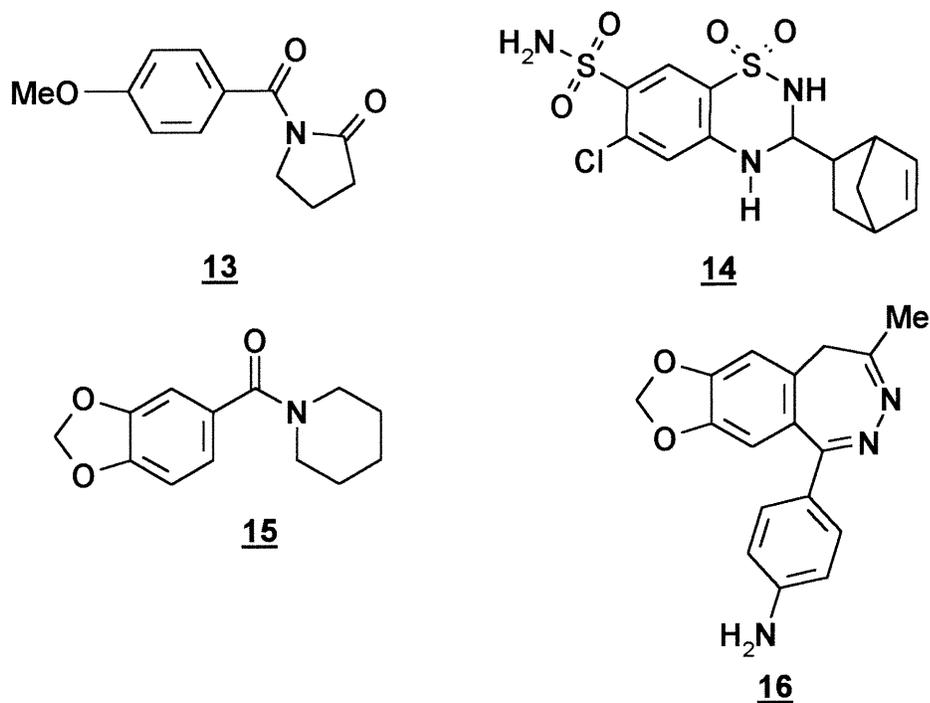
Chez les antagonistes compétitifs on identifie un dérivé de la décahydroisoquinoline 11<sup>18</sup> et le (S)-5-méthyl-2-phosphonoéthylphénylalanine 12 (figure 5)<sup>19</sup>.

Figure 5: Antagonistes représentatifs du récepteur AMPA.



Les modulateurs allostériques positifs connus jusqu'à présent sont l'Aniracétam (13)<sup>20</sup>, la Cyclothiazide (14)<sup>21</sup> et les AMPAkines (e.g. 15)<sup>22</sup>. Ces modulateurs augmentent la susceptibilité du récepteur à l'agoniste (figure 6). Les modulateurs allostériques négatifs de récepteur AMPA comprennent la 2,3-benzodiazépine 16<sup>23</sup> qui est un antagoniste non-compétitif.

Figure 6: Modulateurs représentatifs du récepteur AMPA.



Le défi majeur dans la caractérisation de ces récepteurs est de trouver les agonistes et les antagonistes sélectifs, surtout dans le cas du récepteur KA. La grande variété des effets biologiques du AMPA et de KA indique que le développement de ligands sélectifs est important à l'avancement de la compréhension des rôles joués par ces récepteurs dans la transmission nerveuse.

Ce mémoire présente nos travaux visant la préparation de nouveaux ligands spécifiques au récepteur KAIN.

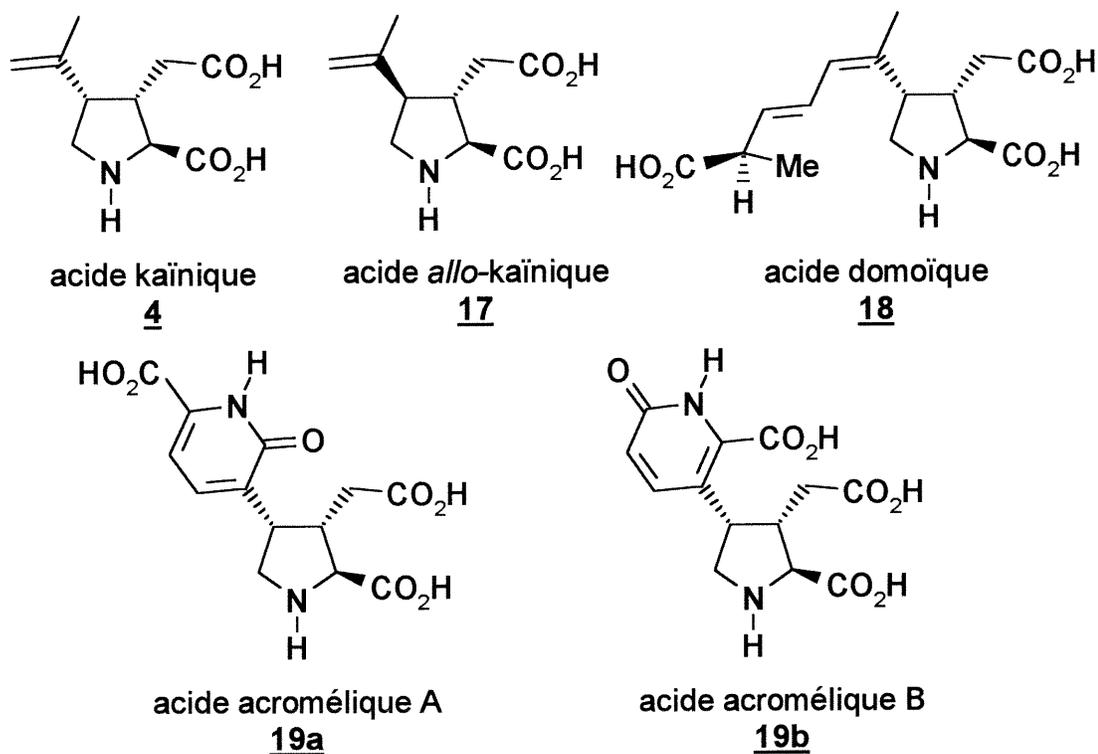
## 1.2. Le récepteur KA

Le récepteur KA est relié à un canal ionique qui, lorsque activé, est perméable aux cations monovalents (*i.e.*:  $K^+$  et  $Na^+$ ) et peu perméable aux cations bivalents (*i.e.*:  $Ca^{2+}$ )<sup>12</sup>. Par ces faits, l'excitotoxicité du récepteur KA est largement inconnue. L'excitotoxicité étant causée par un influx de  $Ca^{2+}$  et non de  $Na^+$  ni de  $K^+$ , il doit exister des mécanismes secondaires qui font varier la concentration de  $Ca^{2+}$ .

### 1.2.1. Découverte et identification des kainoïdes:

L'acide kainique (**4**, figure 7) fut isolé en 1953 et identifié comme étant l'ingrédient actif de l'algue *Digenea simplex* qui est utilisée comme vermifuge depuis plus d'un millénaire<sup>24</sup>. Ce composé tire son nom de "Kaininso", soit le nom japonais de l'algue qui signifie le monstre ou fantôme de la mer. La détermination de la structure de l'acide kainique a été effectuée par diffraction de rayons X en 1958<sup>25</sup>. Depuis, plusieurs kainoïdes ont été isolés de sources naturelles<sup>26</sup>. La figure 6 présente une partie des kainoïdes naturels découverts jusqu'à présent.

Figure 7: Exemples représentatifs de kaïnoïdes naturels



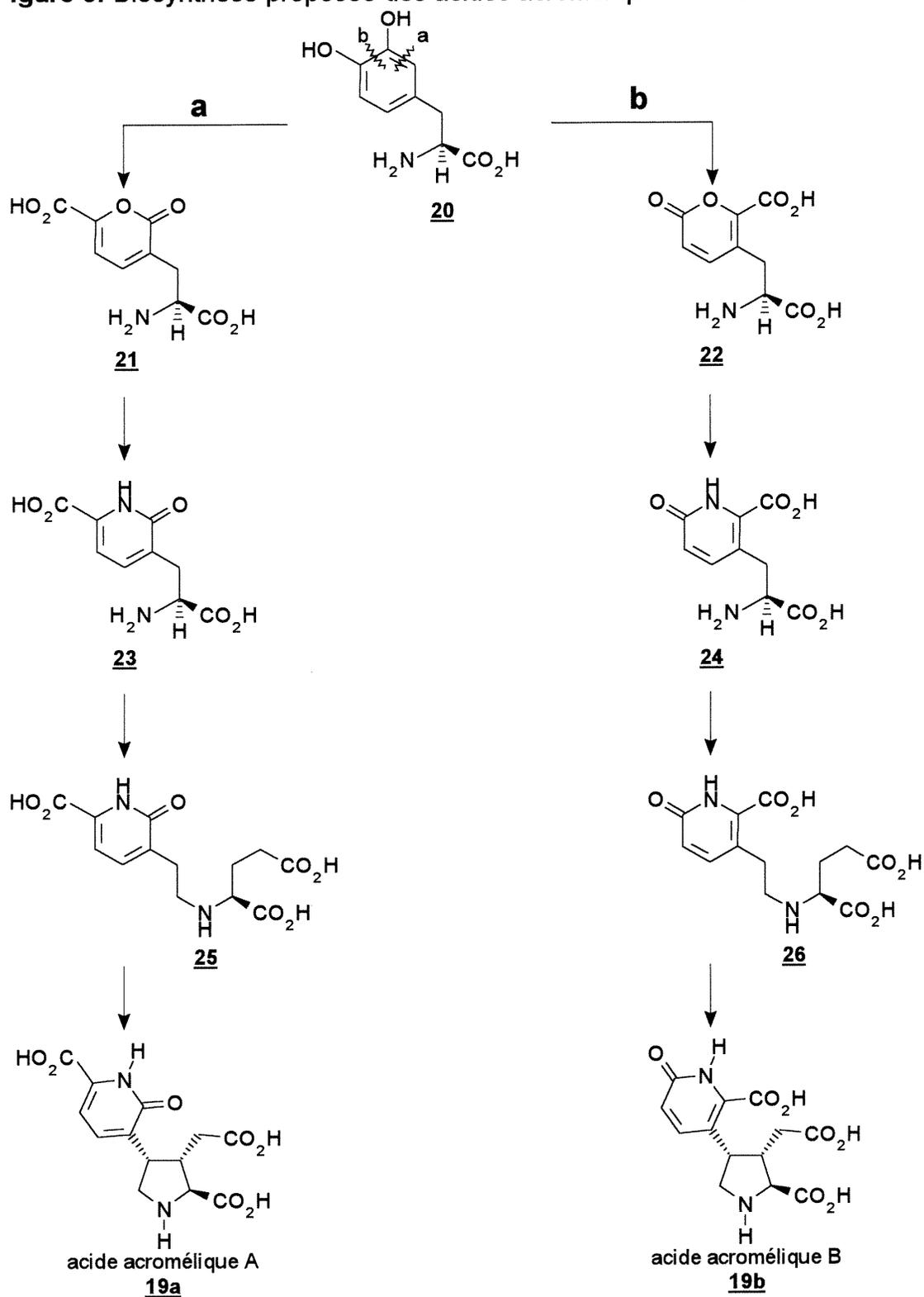
Ces produits ont, pour la plupart, des propriétés neuroexcitatrices puissantes sur les systèmes nerveux des vertébrés et invertébrés<sup>26</sup>. L'acide domoïque (18), produit par une algue présente dans des moules de l'Atlantique, a été relié à certains cas d'empoisonnement alimentaire au Canada en 1987<sup>27</sup>. Leur excitotoxicité chez les insectes a soulevé l'intérêt pour leur utilisation comme insecticide<sup>28</sup>.

Parmi les analogues naturels de l'acide kaïnique les acides acroméliques sont intéressants puisque leur fonctionnalité comporte un groupement aromatique. Ce groupement joue un rôle important sur la puissance et la sélectivité de l'effet biologique des kaïnoïdes. Par exemple, les acides

acroméliques A (**19a**) et B (**19b**) sont parmi les plus puissants agonistes du récepteur kaïnate et leur excitotoxicité est aussi remarquable<sup>2</sup>.

La biosynthèse<sup>29</sup> (figure 8) des acides acroméliques A (**19a**) et B (**19b**) a été proposée comme provenant de la (S)-DOPA (**20**). Récemment, les composés **23** et **24** ont été isolés de *C. acromelaga*. Des études à partir de produits marqués (**20**, **23** ou **24**), placés dans un milieu biologique, permettraient de confirmer la biosynthèse proposée. Il est intéressant de noter la ressemblance de la biosynthèse à plusieurs approches utilisées pour obtenir les kaïnoïdes, soit via la formation du lien C3-C4. Ces approches seront présentées plus loin.

Figure 8: Biosynthèse proposée des acides acroméliques A et B.

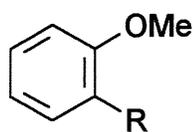
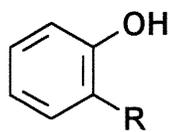
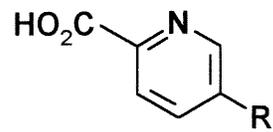
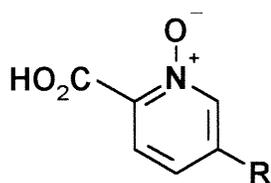
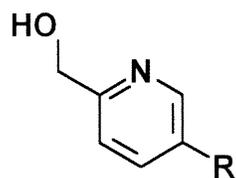
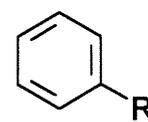
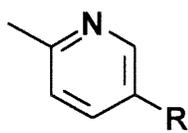
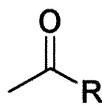
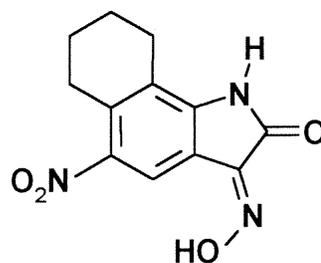
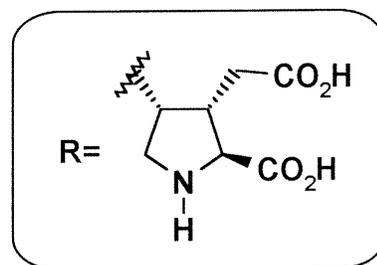


## 1.2.2. Activités biologiques:

### 1.2.2.1. Puissance des kaïnoïdes naturels et synthétiques:

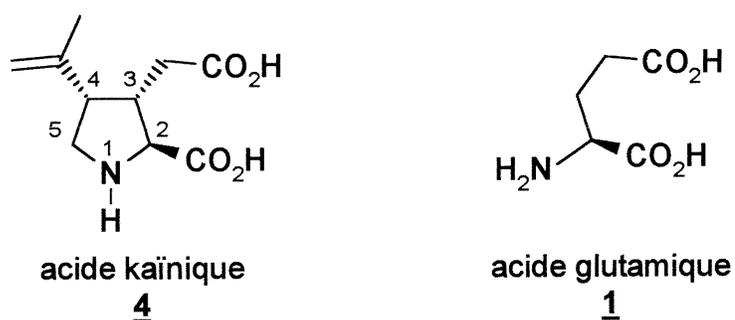
Les kaïnoïdes naturels et synthétiques<sup>2,30</sup> sont des agonistes des récepteurs KA (kainate). Une gamme importante de kaïnoïdes synthétiques ont été produits par plusieurs équipes de recherche<sup>31</sup> (figure 9). Le classement des activités biologiques des kaïnoïdes naturels et synthétiques a été exécuté par deux méthodes *in vitro*. Premièrement, en ordre décroissant d'affinité sur le récepteur kainate, les analogues se classent comme suit: acide domoïque (**18**) > HFPA (**19d**) > acide kaïnique (**4**) = MFPA (**19c**) > acide acromélique B (**19b**) > L-glutamate (**1**) > acide acromélique A (**19a**) >> NMDA (**2**) = AMPA (**3**)<sup>2</sup>. Deuxièmement, en mesurant la dépolarisation<sup>2</sup> de neurones isolés, les composés se classent par effets décroissants comme suit: MFPA (**19c**) > acide acromélique A (**19a**) > acide domoïque (**18**) > HFPA (**19d**) > acide acromélique B (**19b**) > HMPPA (**19g**) = CPPA (**19e**) = acide kaïnique (**4**) > MPPA (**19i**) = FPA (**19h**) > CNOA (**19f**) > MKPA (**27**).

Des antagonistes et agonistes spécifiques amèneraient une meilleure compréhension du récepteur KA et ils pourraient mener à des drogues neuroprotectrices ou à une thérapie pour les maladies de neurodégénérescence<sup>2,3</sup>. Il n'existe qu'un seul antagoniste spécifique du récepteur KA à notre connaissance<sup>32</sup>. L'antagoniste NS-102 (**28**) présente une bonne affinité pour le récepteur KA de basse affinité et inhibe l'action de l'acide kaïnique. La découverte d'antagonistes sur les sites de haute et basse affinité serait importante pour le domaine de neurobiologie.

**Figure 9: Analogues synthétiques des kaïnoïdes.****(MFPA) 19c****(HFPA) 19d****(CPPA) 19e****(CNOPA) 19f****(HMPPA) 19g****(FPA) 19h****(MPPA) 19i****(MKPA) 27****(NS-102) 28**

### 1.2.2.2. Fonctionnalité versus activité des kaïnoïdes

Figure 10: Structure de l'acide kaïnique (4) et de l'acide glutamique (1).

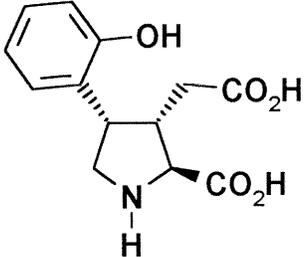
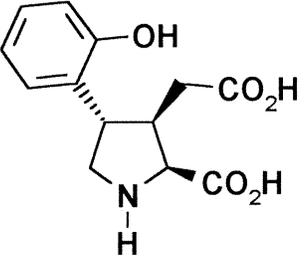
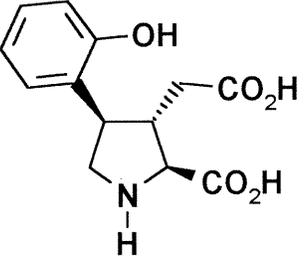
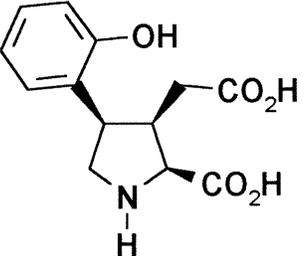


La structure des kaïnoïdes a en commun la présence d'un analogue rigide de l'acide glutamique incorporé dans un cycle pyrrolidine, un groupement insaturé en position 4 et une stéréochimie 2S, 3S et 4S. La présence d'un groupement carboxyle sur la chaîne latérale est essentielle à l'activité des kaïnoïdes. Par exemple, la substitution du carboxyle de la chaîne latérale en position 3 par un phosphonate<sup>33</sup> produit une baisse d'affinité et d'activité sur le récepteur kaïnate. La fonction présente en position 4 entraîne des variations d'une à trois unités logarithmique de puissance agonistique sur les récepteurs<sup>2</sup> par rapport à l'acide glutamique. La synthèse d'analogues a permis, comme dans le cas du HFPA (19d), la découverte d'agonistes plus puissants que les composés naturels. L'importance de la présence et de la nature du système  $\pi$  conjugué à la position 4 de la pyrrolidine est évidente dans les tests biologiques. Il a été suggéré que l'activité varie en fonction de l'énergie de la HOMO<sup>34</sup>. Le récepteur aurait un site qui accommode et interagit avec le système  $\pi$ .

### 1.2.2.3. Stéréochimie versus activité des kaïnoïdes

L'étude de l'activité en fonction de la stéréochimie<sup>34</sup> a démontré la relation entre les centres 3 et 4 et l'activité (Tableau 1). L'inversion de la stéréochimie du centre 3 résulte en une chute d'activité importante, mais moins importante que l'inversion du centre 4. Le kaïnoïde (2S,3R,4S)-**19d** étant toujours deux fois plus puissant que l'acide glutamique tandis que le composé (2S,3S,4R)-**19d**, lui, possède la moitié de l'activité de l'acide glutamique, nous pouvons en déduire que la stéréochimie relative entre les centres 2 et 4 est plus importante que la stéréochimie relative entre les centres 3 et 4 pour le récepteur KA. Le même phénomène est observé entre l'acide kaïnique (**4**) et l'acide allokainique (**17**), où l'acide allokainique est 50 fois moins puissant sur le récepteur KA<sup>3</sup> que l'acide kaïnique.

Tableau I: Relation de l'activité et de la stéréochimie du kaïnoïde **19d**.

composé	activité (activité / activité Glutamate)
acide glutamique	1
 <b>(2S,3S,4S)-19d</b>	300
 <b>(2S,3R,4S)-19d</b>	2
 <b>(2S,3S,4R)-19d</b>	0,5
 <b>(2S,3R,4R)-19d</b>	0,5

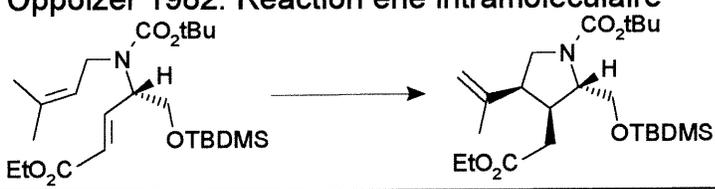
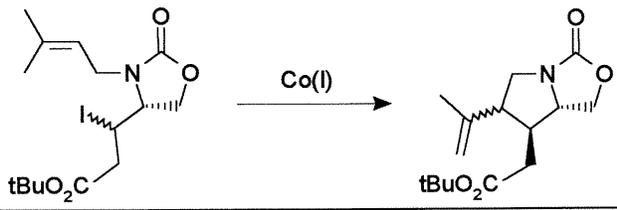
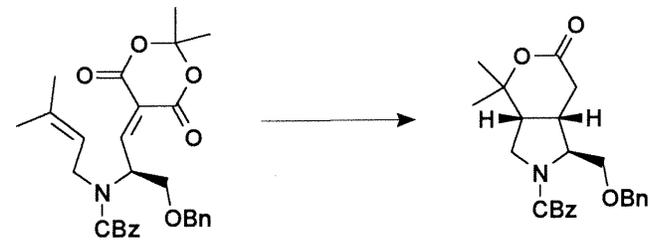
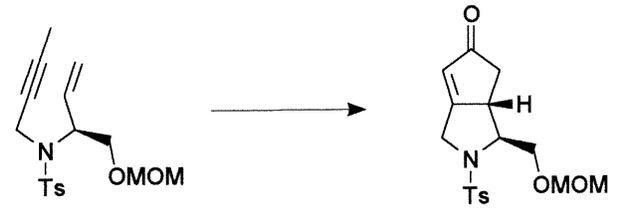
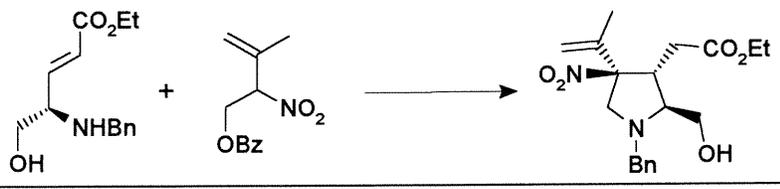
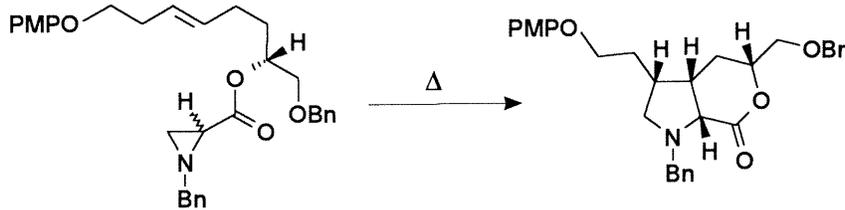
À la lumière de ces faits, un intérêt important est prêté au développement d'une synthèse flexible et concise des kaïnoïdes permettant d'obtenir de nouveaux analogues de manière rapide. Ces analogues comprennent plusieurs variations possibles. Premièrement, la variation fonctionnelle permettrait d'étudier l'effet sur l'activité biologique de la fonctionnalité des positions 2,3 et 4. Deuxièmement, la variation géométrique, soit en générant les divers stéréoisomères possibles ou en éliminant certains centres chiraux, donnerait de nouvelles informations sur les caractéristiques spaciales du récepteur.

### 1.3. Synthèse des kaïnoïdes

#### 1.3.1. Synthèse générale des kaïnoïdes

La synthèse des kaïnoïdes a été effectuée par diverses voies (tableau 2). L'élaboration du cycle pyrrolidine 2,3,4-trisubstitué peut se faire selon deux types d'approches. Premièrement, le lien C3-C4 peut être formé par une réaction ène intramoléculaire<sup>35</sup>, par cyclisation radicalaire intramoléculaire<sup>36</sup>, par réaction Diels-Alder hétéroatomique intramoléculaire<sup>37</sup>, par réaction Pauson-Khand intramoléculaire<sup>38</sup> ou par réaction de Michael<sup>39</sup>. Deuxièmement, les kaïnoïdes sont atteints par la formation simultanée des liens C2-C3 et C4-C5 par cycloaddition intramoléculaire d'un ylure d'azométhine<sup>40</sup>.

Tableau II: Synthèse des kainoïdes.

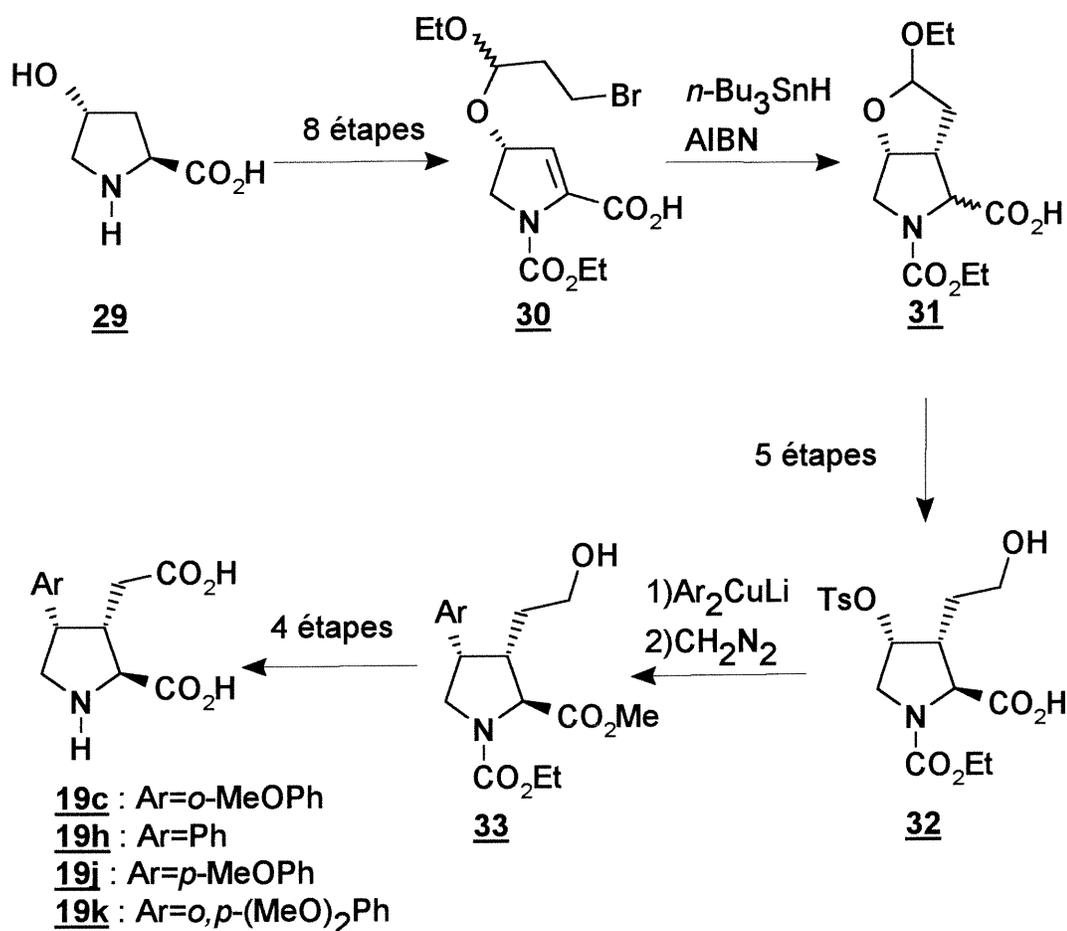
Méthode	Réf.
<b>Oppolzer 1982: Réaction ène intramoléculaire</b> 	35
<b>Baldwin 1990: Cyclisation radicalaire intramoléculaire</b> 	36
<b>Takano 1988: Diels-Alder hétéroatomique intramoléculaire</b> 	37
<b>Yoo 1983: Réaction de Pauson-Khand intramoléculaire</b> 	38
<b>Benetti 1992: Réaction de Michael en tandem</b> 	39
<b>Takano 1988: Cycloaddition d'ylure d'azométhine</b> 	40

### 1.3.2. Synthèse des arylkaïnoïdes

Les arylkaïnoïdes ont été préparés de trois façons, soit la modification d'un kaïnoïde existant (synthétique ou naturel), la formation du cycle pyrrolidine, à l'aide des méthodes énoncées plus tôt, utilisant des réactifs aromatiques désirés et enfin la fonctionnalisation directe du cycle pyrrolidine<sup>31,34,39,41,42,43</sup>.

Deux synthèses retiennent particulièrement notre attention parce qu'elles utilisent la (2*S*,4*R*)-4-hydroxyproline (**29**) comme produit de départ. Cet acide aminé naturel est peu coûteux sous forme énantiomériquement pure. De ce composé, les synthèses procèdent à la fonctionnalisation du cycle pyrrolidine.

## Schéma 1: Utilisation d'arylcuprates

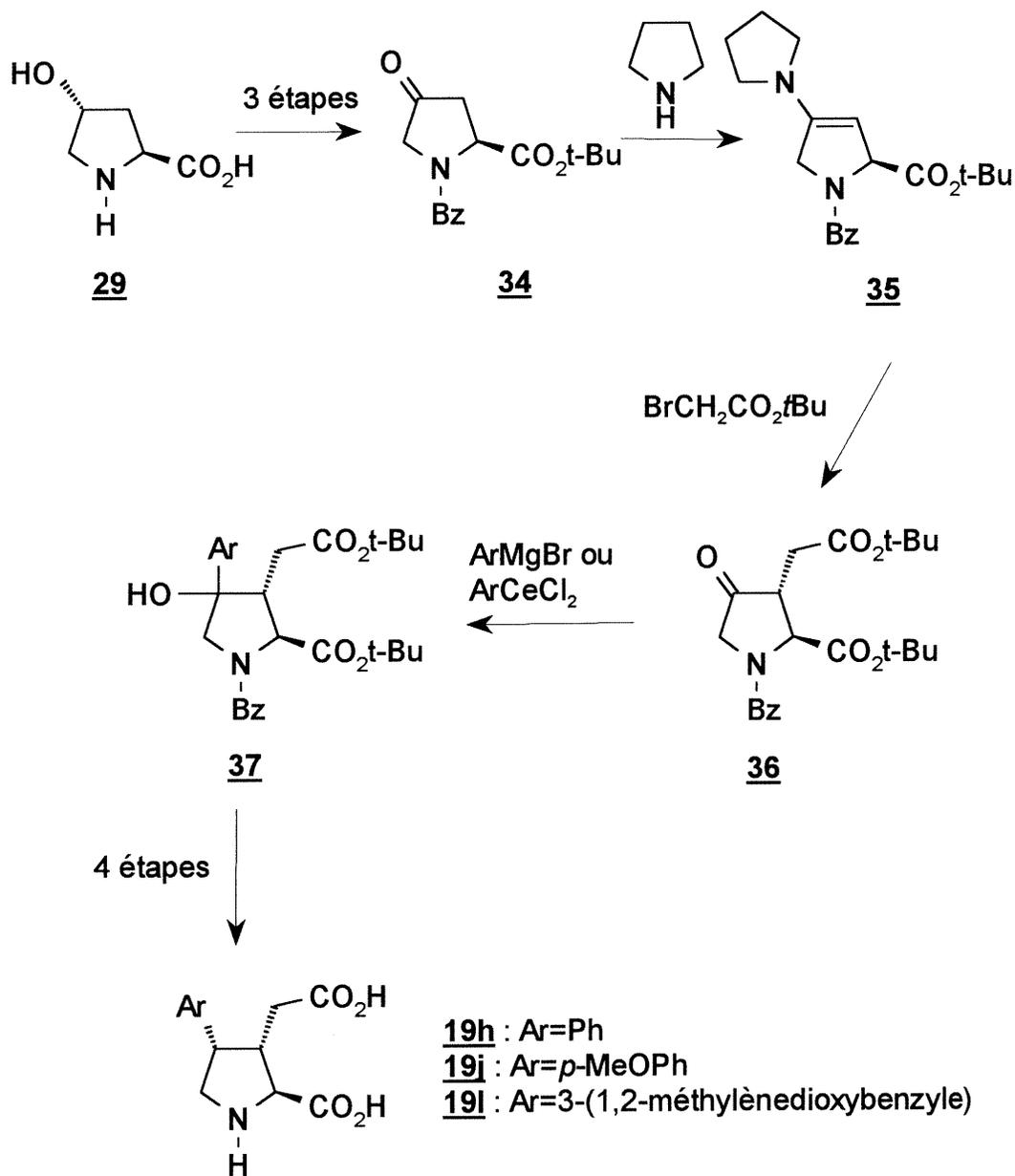


Premièrement, la synthèse de Hashimoto<sup>42</sup> implique la cyclisation radicalaire intramoléculaire de l'énamine **30** et la substitution du tosylate **32** avec rétention de configuration par un arylcuprate pour la fonctionnalisation de la position 4 (schéma 1). Cette méthode comporte 22 étapes et a été utilisée dans la préparation de quatre kaïnoïdes. La construction des stéréocentres en position 2 et 3 est dirigée par la position 4 du produit de départ.

Deuxièmement, la synthèse de Baldwin<sup>44</sup> procède par l'alkylation de l'énamine **35** et par l'addition d'organométallique sur la cétone **36** (schéma 2).

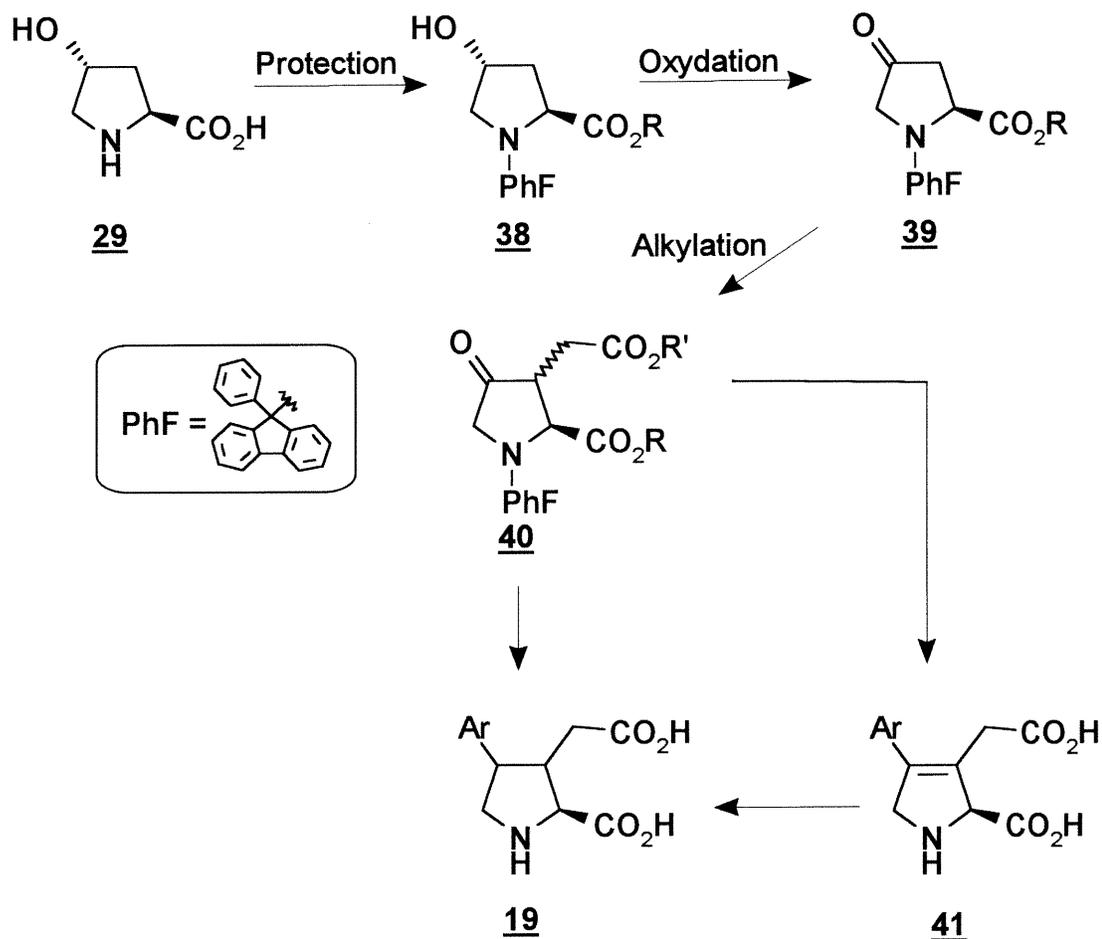
La stéréochimie en position 3 et 4 est contrôlée par induction du centre en position 2.

**Schéma 2: Addition d'organométalliques**



## 1.4. Étude synthétique

Schéma 3: Analyse synthétique



Les routes envisagées pour obtenir les 4-arylkaïnoides **41** ou **19** procèdent par l'énolisation régiosélective du 4-oxoproline, l'alkylation directe du carbone 3 suivi de la fonctionnalisation de la position 4. Comme nous avons énoncé précédemment, l'utilisation de la (2S,4R)-4-hydroxyproline **29** permet d'avoir une source de chiralité aisément disponible et peu coûteuse. De plus, la fonctionnalité présente sur le composé permet l'accès aux positions 3 et 4 du cycle pyrrolidine. L'énolisation régiosélective et alkylation de l'oxoproline **39**

permettrait d'incorporer directement la fonctionnalité nécessaire en position 3. La possibilité de racémisation du produit de départ lors de l'alkylation directe de la position 3 nous incite à envisager la protection de l'amine sous forme de PhF (9-(9-phénylfluorényle)). Il a été démontré que ce groupement protecteur inhibe la déprotonation du centre alpha des  $\alpha$ -amino cétones, aldéhydes ou esters<sup>45</sup> par l'encombrement stérique et par la réorientation du carboxyle en position  $\alpha$ . Cette réorientation du groupement carboxyle défavorise la déprotonation en empêchant la géométrie coplanaire entre le proton alpha et le système  $\pi$  du carboxyle<sup>46</sup>. De plus, l'encombrement stérique du PhF se ferait sentir sur la position 5 du cycle pyrrolidine, permettant ainsi un accès direct à la position 3 par énolisation de la cétone (schéma 3) sans risque de déprotonation de la position 5 ou 2. De cette façon il est possible d'obtenir l'intermédiaire **40** par l'alkylation directe et régiospécifique de la cétone **39**, sans passer par une énamine. Ceci a pour effet de réduire le nombre d'étapes et d'éviter le faible rendement rencontré lors de l'alkylation de l'énamine.

L'arylation en position 4 de l'intermédiaire **40** est proposée de trois façons. La première option procède par la transformation de la cétone **40** au 4 tosylate et l'obtention du kaïnoïde **19** par déplacement du tosylate par un arylcuprate<sup>42</sup>. La seconde option procède par l'addition d'organométallique sur la cétone **40**. La déshydratation de l'alcool tertiaire formé générerait de nouveaux isomères géométriques rigides **41** des kaïnoïdes naturels, ceux-ci possédant la structure d'un résidu vinylglycine. De ce point, les méthodes de réduction énantiosélectives d'oléfine connues permettraient d'obtenir des kaïnoïdes **19** avec contrôle de la configuration aux positions 3 et 4<sup>47</sup>. La troisième voie utilise le couplage d'un acide arylboronique et d'un triflate vinylique en présence de palladium pour générer des analogues des kaïnoïdes **41**. Cette réaction a été

démontrée comme étant une voie viable en présence d'amines tertiaires et pour générer une oléfine tétrasubstituée<sup>48-53</sup>. Le triflate vinylique est généré à partir de l'énolate du composé **40** par acylation de l'oxygène. De ce dernier composé, les kaïnoïdes de configuration naturelle seraient accessibles de la même façon qu'énoncée pour l'addition d'organométalliques.

Ces stratégies permettraient donc d'obtenir une variété d'analogues de l'acide acromélique en peu d'étapes. L'assemblage rapide du cycle pyrrolidine permettrait une méthodologie générale des kaïnoïdes de la famille des acides acroméliques **19**. La possibilité d'obtenir des composés de conformation rigide **41** donnerait de nouveaux outils pour l'étude des récepteurs du glutamate.

Dans ce mémoire, nous présentons la synthèse du kaïnoïde **41** (où Ar est un phényle, 2-méthoxyphényle ou 2-naphtyle) par voie du couplage d'acide arylboronique et du triflate vinylique de la cétone **40**. En plus de celle-ci, nous présentons les résultats des deux autres voies.

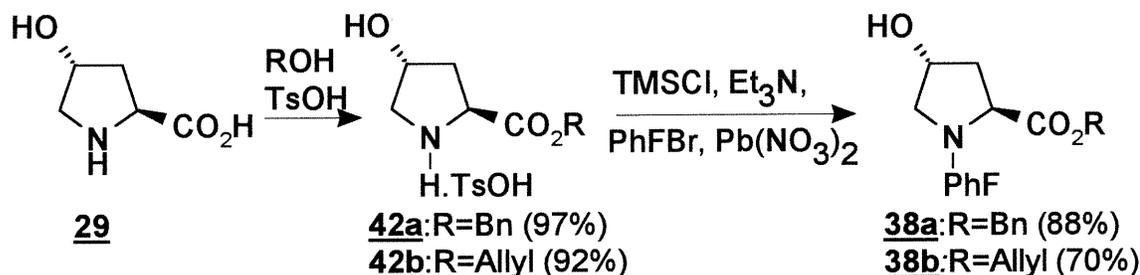
## 2. Préparation des acides (2S)- $\Delta^3$ -4-arylkaïniques.

### 2.1. Introduction

Comme énoncé précédemment, la route choisie pour obtenir les 4-arylkaïnoides procède par l'énolisation régiosélective de la 4-oxoproline, l'alkylation du carbone 3 suivi de la fonctionnalisation de la position 4. Trois voies ont été étudiées pour l'incorporation du groupement aryle, soit l'utilisation du tosylate et d'un cuprate, l'addition d'un organométallique sur la cétone et enfin le couplage du triflate vinylique avec un acide arylboronique<sup>54</sup>.

## 2.2. Synthèse des (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate de benzyle et (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate d'allyle (**38**).

Schéma 4: Protection de la (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyproline (**29**).

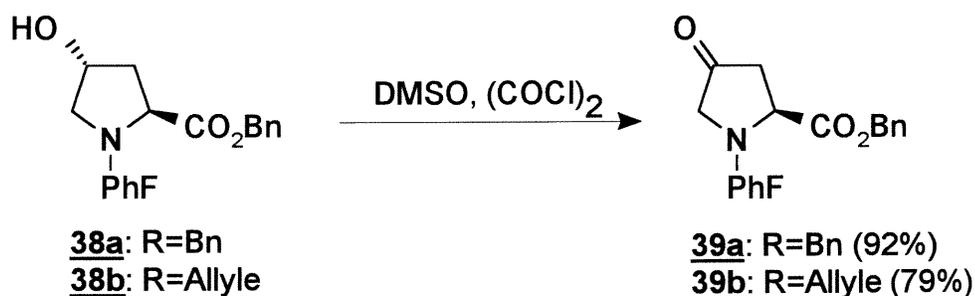


L'estérification<sup>55</sup> de (2*S*,4*R*)-4-hydroxyproline (**29**) a été effectuée dans le benzène en présence d'acide *p*-toluènesulfonique et de l'alcool correspondant avec élimination azéotropique de l'eau générée. Après l'addition d'éther diéthylique au mélange réactionnel les produits sont isolés par filtration ou par décantation avec des rendements du *p*-toluènesulfonate de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyprolinate de benzyle (**42a**) de 97% et du *p*-toluènesulfonate de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyprolinate d'allyle (**42b**) de 92%.

La protection de l'amine des alcools **42** par le groupe PhF est effectuée selon une modification de la protection de l'hydrochlorure de la sérine méthyle ester<sup>56</sup>. Cette méthode procède par la silylation de l'alcool et de l'amine, la déprotection sélective de l'amine par le méthanol, et le traitement par le bromure de PhF en présence de base. Cette réaction donne, après recristallisation, des rendements de 88% du (2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate de benzyle **38a** et de 70% du (2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate d'allyle **38b** (schéma 4).

### 2.3. Synthèse des (2*S*)-4-oxo-*N*-(PhF)prolinates **39** par l'oxydation des alcools **38**.

Schéma 5: Oxydation du (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate de benzyle et du (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate d'allyle (**38**).



Les alcools **38a** et **38b** ont été oxydés<sup>57</sup>, par un système de DMSO activé par le chlorure d'oxalyle, aux cétones **39a** et **39b**. Le 4-oxo-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**39a**) a été isolé après recristallisation avec un rendement de 92%, et le 4-oxo-*N*-(PhF)prolinate d'allyle (**39b**) avec un rendement de 79% après recristallisation (schéma 5). L'apparition d'un signal à 213 ppm pour la cétone **39a** et à 212,8 ppm pour la cétone **39b** en RMN <sup>13</sup>C a confirmé la formation des cétones.

L'oxydation a été premièrement réalisée à l'aide du système sulfure de méthyle / *N*-chlorosuccinimide<sup>58</sup> avec un rendement de 87% de la cétone **39a**; cependant, la faible solubilité des alcools **38a** et **38b** dans le toluène rend cette voie inefficace à grande échelle.

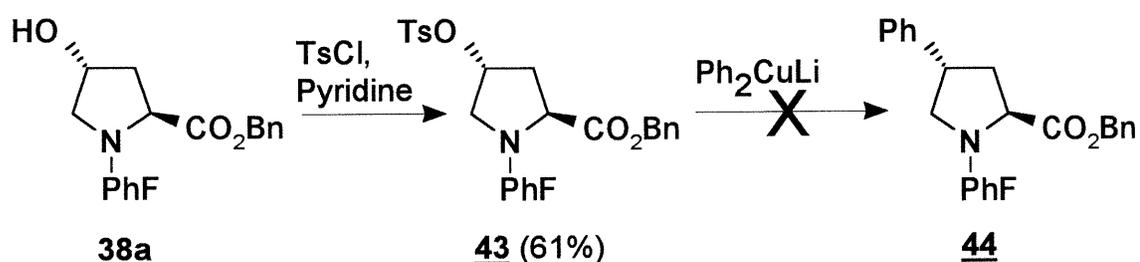
L'utilisation de l'ester benzylique a été choisie pour continuer les travaux à partir de ce point, puisqu'il est cristallin et plus facile à purifier. Toutefois, le

retour à l'ester allylique est envisageable si, pour les besoins de réduction stéréosélective, il est nécessaire d'employer une déprotection sélective du carboxyle  $\alpha$ .

## 2.4. Préparation des 4-arylprolines

### 2.4.1. Synthèse et tentative de substitution du (2*S*, 4*R*)-4-tosyl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**43**) par le phényle cuprate.

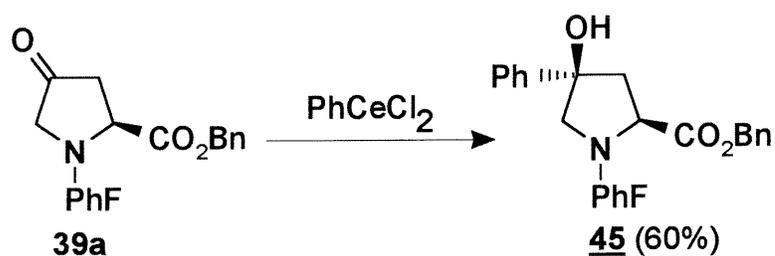
Schéma 6: Tosylation du (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**38a**).



L'alcool **38a** a été converti au (2*S*, 4*R*)-4-tosyl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle **43** à l'aide du chlorure de tosyloxy et de pyridine avec un rendement de 61% (schéma 6). Bien que les additions d'arylcuprates sur les 4-tosyloxy-*N*-(acyl)prolines sont connues pour donner les 4-arylprolines avec rétention de configuration<sup>59</sup>, nous n'avons pu obtenir le (2*S*)-4-phényl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle dans les mêmes conditions.

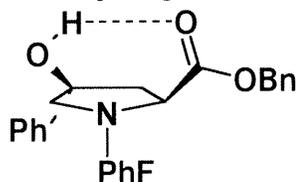
2.4.2. Synthèse du (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-4-phényle-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**45**) par addition du chlorure de phénylcérium (III).

Schéma 7: Addition du chlorure de phénylcérium (III) sur (2*S*)-4-oxo-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**39a**).



Nous avons tourné notre attention vers les additions d'organocériens sur la cétone **39a** (schéma 7). Les arylcériens donnent les produits d'addition sur les 4-oxo-*N*-(acyl)prolines avec de meilleurs rendements et avec moins de produits secondaires que les aryllithiens et arylmagnésiens<sup>44,60,61,62</sup>. Entre nos mains, le chlorure de phénylcérium(III) a réagi de façon diastéréosélective pour donner le (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-4-phényle-*N*-(PhF)prolinate de benzyle **45** avec un rendement de 60%.

Figure 11: Pont hydrogène du composé **45**.

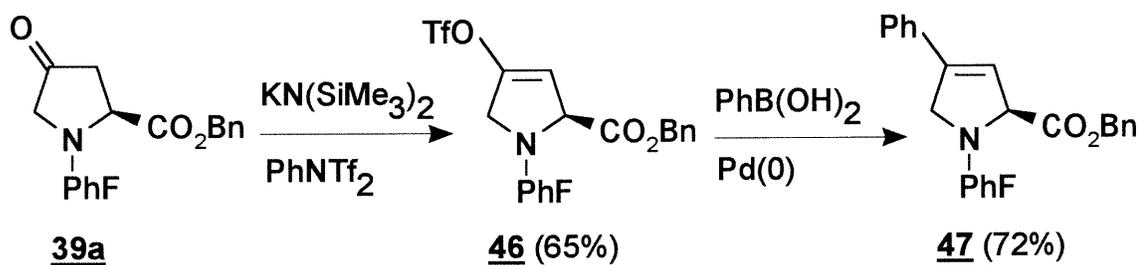


La disparition du signal RMN <sup>13</sup>C ( 213 ppm ) correspondant à la cétone a suggéré la formation de l'alcool tertiaire **45**. La stéréochimie 4*R* a été assignée initialement par l'observation du déplacement chimique de 5,34 ppm du signal RMN <sup>1</sup>H du proton alcoolique, probablement causé par un pont hydrogène

formé avec le carbonyle (figure 11). Un support additionnel à la relation *cis* entre le noyau aromatique et le proton alpha réside dans le fait que le proton alpha partage un couplage vicinal et un couplage W avec respectivement les protons  $\beta$  et  $\delta$  déplacés à plus bas champ par l'anisotropie du noyau aromatique.

### 2.4.3. Synthèse du (2S)-4-phényl- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (**47**) par couplage à l'acide phénylboronique.

**Schéma 8:** Formation et couplage du (2S)-4-triflyloxy- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle **46**.



Vu que les couplages, catalysés au palladium, d'acides arylboroniques avec les triflate vinylique sont connus pour fournir des styrènes tétrasubstitués et pour être applicables en présence de la fonction amine, nous avons exploré cette troisième voie<sup>48-53</sup>. La cétone **39a** a été transformée en triflate<sup>48</sup> **46** par l'énolisation à l'aide de KHMDS et traitement avec *N*-phényltrifluorométhanesulfonimide. Ces conditions donnent le triflate vinylique **46** avec un rendement de 65% (schéma 8). L'apparition d'un proton vinylique à 5,52 ppm sur le spectre RMN <sup>1</sup>H a montré la formation du triflate vinylique **46**. La régiosélectivité de cette réaction a été démontrée dans nos laboratoires par incorporation de deutérium<sup>66</sup>.

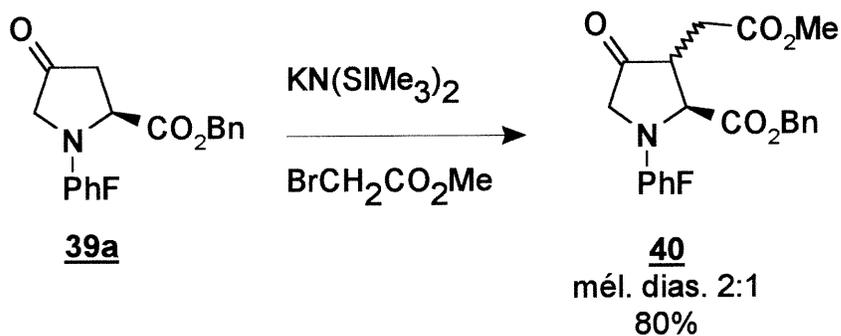
Le triflate vinylique **46** a ensuite été couplé à l'acide phénylboronique<sup>50</sup> dans le DME à 70°C en présence de palladium pendant une heure pour obtenir le styrène **47** avec un rendement de 72%. Le déplacement à plus bas champ de 0,3 ppm du proton vinylique a suggéré la formation de **47** et la spectroscopie de masse à haute résolution l'a confirmé.

## 2.5. Préparation des acides (2S)- $\Delta^3$ -4-arylkainiques (50).

Après avoir étudié la fonctionnalisation de la position 4 de la proline sur le (2S)-4-oxo-N-(PhF)prolinate de benzyle (39a), nous avons constaté que l'addition du chlorure de phénylcérium (III) et le couplage des acides boroniques étaient les méthodes de choix pour l'obtention des kainoïdes 19 ou 41.

### 2.5.1. Préparation du (2S, 3RS)-3-méthoxycarbonyl-4-oxo-N-(PhF)prolinate de benzyle (40).

Schéma 9: Alkylation du (2S)-4-oxo-N-(PhF)prolinate de benzyle (39a).

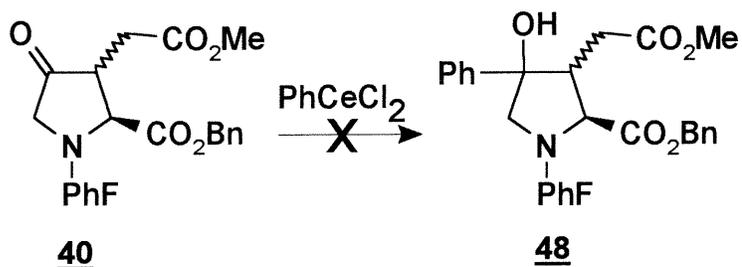


L'alkylation avec le bromoacétate de méthyle de l'énolate de la cétone 39a, généré avec KHMDS à  $-78^\circ\text{C}$ , nous a permis d'obtenir un mélange diastéréomérique 2:1 du (2S, 3RS)-3-méthoxycarbonyl-4-oxo-N-(PhF)prolinate de benzyle (40) avec un rendement de 80% (schéma 9). Le ratio diastéréomérique a été déterminé par l'intensité des singulets des méthyle esters à 3,50 et 3,49 ppm dans la RMN du proton.

Le système de solvant utilisé pour l'alkylation est un mélange 9:1 de THF:DMPU. Le DMPU est essentiel à la réactivité de l'énolate<sup>63</sup>. Sans celui-ci, la cétone de départ est récupérée majoritairement. Les agrégats réduisent la réactivité de l'énolate.

### 2.5.2. Tentative de synthèse du (2*S*,3*RS*,4*RS*)-3-méthoxycarbonyl-4-hydroxy-4-phényl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**48**) par l'addition du chlorure de phénylcérium (III)

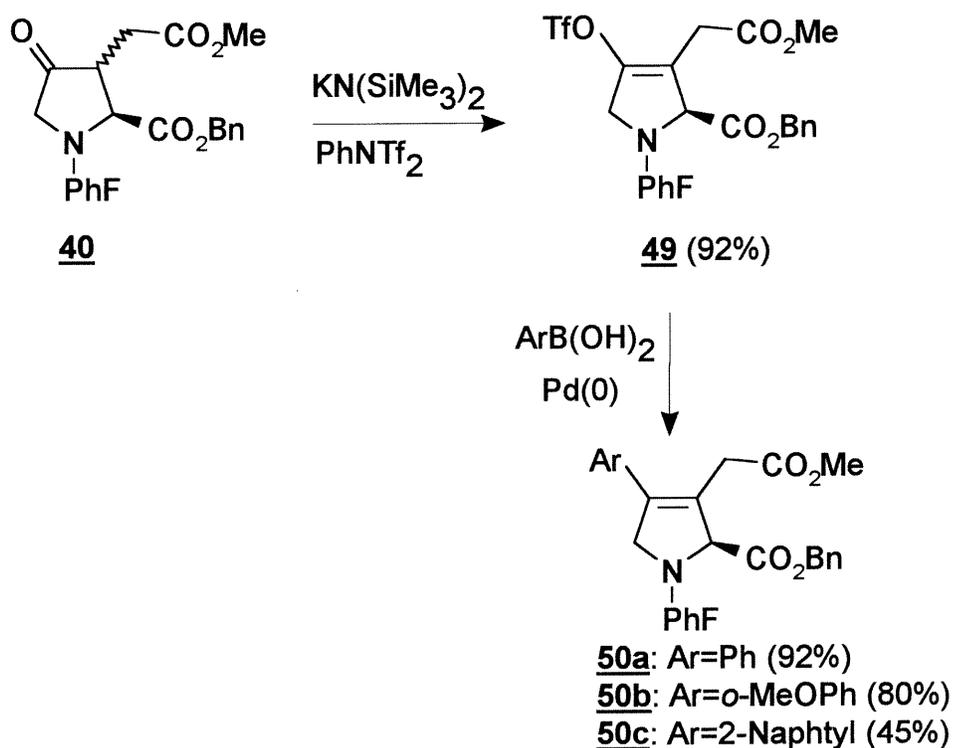
**Schéma 10:** Addition du chlorure de phénylcérium (III) sur le (2*S*, 3*RS*)-4-oxo-3-méthoxycarbonyl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**40**).



La présence de la fonctionnalité en position 3 a eu un effet négatif sur la réaction de la cétone **40** avec le chlorure de phénylcérium(III) à -60°C (schéma 10). Aucun alcool benzylique **48** désiré n'a été observé et aucune quantité de la cétone **40** de départ n'a été observée ou récupérée. L'échec de cette méthode est probablement dû à la labilité du méthyle ester en présence de l'organocérien.

2.5.3. Synthèse des (2S)- $\Delta^3$ -3-méthoxycarbonyl-4-aryl-N-(PhF)prolinates de benzyle (**50**) par le couplage des acides arylboroniques et le triflate vinylique **49**

Schéma 11: Formation et couplage du triflate vinylique **49** trisubstitué.

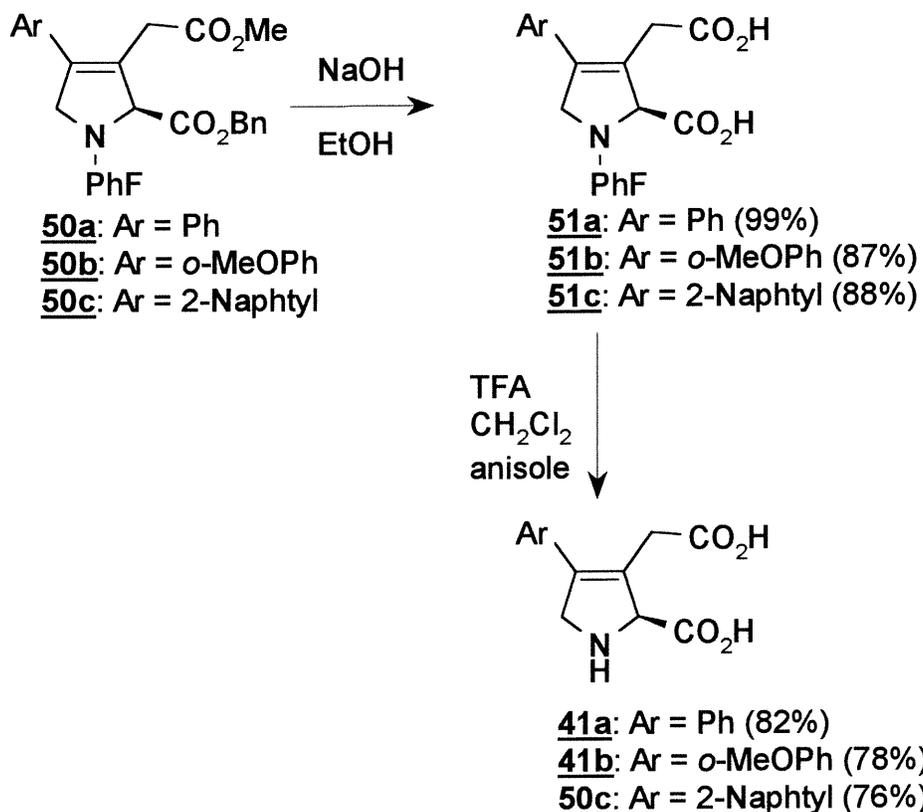


Suite à cet échec, nous nous sommes tournés vers la troisième méthode envisagée pour la fonctionnalisation de la position 4, soit le couplage d'un acide arylboronique au triflate. Nous avons obtenu un rendement de 92% pour la conversion de la cétone **40** au (2S)-3-méthoxycarbonyl-4-trifloxy- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (**49**, schéma 11) de la même façon que la cétone **39a**. La disparition du mélange diastéréomérique par RMN montre la formation du triflate vinylique et la régiospécificité de l'énolisation. La réaction de couplage avec le triflate vinylique **49** sous les mêmes conditions que **46** n'a créé aucun

nouveau produit. Cependant en changeant le solvant du DME au toluène<sup>53</sup>, en élevant la température à 95°C et en augmentant la quantité relative de l'acide boronique à trois équivalents, nous avons obtenu le (2*S*)-3-méthoxycarbonyl-4-phényl- $\Delta^3$ -*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**50a**) avec un rendement de 92%. Sous les mêmes conditions, des rendements de 80% ont été obtenus pour le (2*S*)-3-méthoxycarbonyl-4-(2-méthoxyphényl)- $\Delta^3$ -*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**50b**) et de 45% pour le (2*S*)-3-méthoxycarbonyl-4-(2-naphtyl)- $\Delta^3$ -*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**50c**).

#### 2.5.4. Synthèse des acides (2*S*)- $\Delta^3$ -4-arylkaïniques (**51**) par la déprotection des (2*S*)-3-méthoxycarbonyl-4-aryl- $\Delta^3$ -*N*-(PhF)prolinate de benzyle **45**.

Schéma 12: Déprotection des (2*S*)-3-méthoxycarbonyl-4-aryl- $\Delta^3$ -*N*-(PhF)prolinate de benzyle **50**.

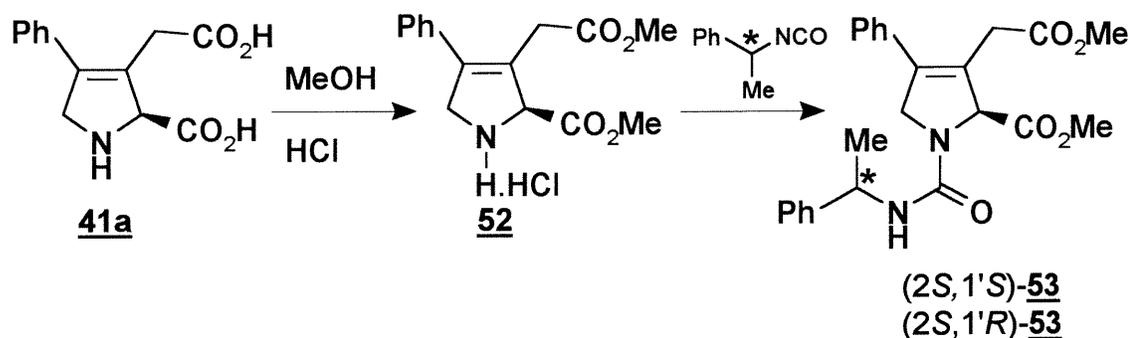


La première tentative de déprotection a été effectuée avec HCl 6N pour donner un mélange inséparable. Ceci semble être causé par la susceptibilité à la migration du lien double. Nous nous sommes donc tourné vers une déprotection en deux étapes dont les conditions sont moins extrêmes.

Les kaïnoïdes **50a** et **50b** ont tous deux été déprotégés de la même façon. Premièrement, l'hydrolyse des esters par l'hydroxyde de sodium dans un mélange 1:1 eau:éthanol a généré l'acide (2S)- $\Delta^3$ -4-phényl-N-(PhF)kaïnique (**51a**) avec un rendement de 99%, l'acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)-N-(PhF)kaïnique (**51b**) avec un rendement de 87% et l'acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)-N-(PhF)kaïnique (**51c**) avec un rendement de 88%. Deuxièmement, la solvolysse, à l'aide de TFA et d'anisole dans le dichlorométhane, du phénylfluorényle a mené au kaïnoïde **41a**, **41b** et **41c** avec des rendements de 82, 78 et 76%, respectivement (schéma 12). Nous avons démontré, par RMN du fluor et d'additions incrementées de TFA, que **41a** a été isolé sous forme d'amine libre et non de sel de TFA.

## 2.6. Détermination de la pureté énantiomérique de l'acide (2S)- $\Delta^3$ -4-phénylkainique (**41a**)

Schéma 13: Couplage au l'isocyanate de (*R*)- ou (*S*)- $\alpha$ -méthylbenzyle.



Vu l'utilisation de bases fortes lors de la synthèse et la possibilité de racémisation du centre alpha, la détermination de la pureté énantiomérique de l'acide (2S)- $\Delta^3$ -4-phénylkainique (**41a**) nous est semblée nécessaire. Le kaïnoïde **41a** a été converti au diester **52** par MeOH·HCl, puis acylé à l'aide de l'isocyanate de (*R*)- ou (*S*)- $\alpha$ -méthylbenzyle<sup>64</sup> pour donner l'urée diastéréomérique **53** quantitativement (schéma 13).

L'observation des singulets des groupements méthyles des esters de l'urée (2S,1'R)-**53** diastéréomériques par <sup>1</sup>H RMN dans le benzène deutéré pendant l'addition de l'isomère opposé (2S,1'S)-**53**, nous a permis de déterminer une pureté diastéréomérique de plus de 99% pour l'urée diastéréomérique (2S,1'R)-**53** (annexe A). De ceci nous pouvons déduire que le kaïnoïde **41a** possède une pureté énantiomérique de plus de 99%. De ces résultats, nous déduisons que la pureté énantiomérique des deux autres kaïnoïdes **41b** et **41c** est similaire.

### 3. Conclusion

Nous avons préparé trois nouveaux analogues des kaïnoïdes énantiomériquement purs à partir de la (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyproline en huit étapes, soit l'acide (2*S*)- $\Delta^3$ -4-phénylkaïnique (**41a**), l'acide (2*S*)- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)kaïnique (**41b**) et l'acide (2*S*)- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)kaïnique (**41c**) avec des rendements globaux respectifs de 39%, 31% et 17%. À notre connaissance, nous sommes les premiers à générer ce type d'analogue. Une voie récemment publiée<sup>65</sup> montre une approche vers les (2*S*,3*S*)- $\Delta^3$ -4-arylkaïnoïdes par un couplage d'un triflate vinylique et un acide arylboronique et démontre la possibilité de réduction du composé.

L'acide (2*S*)- $\Delta^3$ -4-phénylkaïnique (**41a**) a été testé sur le récepteur du glutamate (Annexe B). Les résultats de ces analyses montrent que le composé **41a** n'a que peu d'activité sur le récepteur KA, mais est un agoniste du récepteur NMDA environ 8 fois moins puissant que le NMDA lui-même. Ce résultat démontre une nouvelle caractéristique du récepteur KA, soit que l'élimination de la stéréochimie en position 3 et 4 n'a pas seulement un effet sur l'efficacité mais aussi sur la sélectivité. Ceci n'avait pas été observé lors des études sur l'effet de la stéréochimie qui ont été présentées dans l'introduction (Tableau I). Il sera intéressant de tester les deux autres composés pour voir quel sera l'effet de la variation du groupement aromatique sur l'activité observée pour les (2*S*)- $\Delta^3$ -4-arylkaïnoïdes.

Ces travaux sont poursuivis par l'étude de la réduction des (2*S*)- $\Delta^3$ -4-arylkaïnoïdes vers les quatre diastéréoisomères possibles par les voies énoncées précédemment. De plus, l'introduction d'hétérocycles de cinq ou six chaînons est en cours.

La flexibilité de notre méthode ouvre la porte sur une nouvelle gamme d'analogues d'une façon convergente. L'alkylation de la position 3 par une variété d'électrophiles a déjà été démontrée dans nos laboratoires<sup>66</sup>, donc la variété de la fonctionnalité sur la chaînelatérale n'est limitée que par notre imagination et la réactivité de l'électrophile. L'accessibilité des acides boroniques permet aussi avec notre approche l'incorporation d'un bon nombre de groupements aromatiques ou autres en position 4. La réduction des (2S)- $\Delta^3$ -arylkainoïdes permettrait d'atteindre les différents stéréoisomères. Enfin, les (2S)- $\Delta^3$ -arylkainoïdes sont, à notre connaissance, les premiers kainoïdes de ce type à être préparés et testés biologiquement. Leur activité biologique montre une nouvelle facette des récepteurs du glutamate qui était inconnue. Ils sont un autre pas vers la compréhension du système nerveux central.

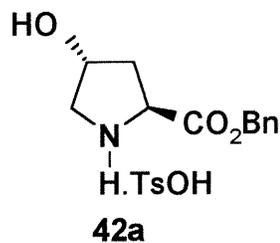
Chacun des nouveaux ligands des récepteurs du glutamate est un outil important pour la meilleure compréhension de nos capacités de mouvement, d'apprentissage, de mémorisation et de perception. De plus, ils pourraient apporter des thérapies pour beaucoup de maladies de neurodégénérescence qui affligent plusieurs milliers de canadiens.

## 4. Section expérimentale

### 4.1. Notes générales:

À moins d'indications contraires, toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère d'azote et les solvant distillés ont été transférés par seringue ou canule. Le tetrahydrofuran (THF) a été distillé sur sodium/benzophénone immédiatement avant usage; 1,3-diméthyl-3,4,5,6-tétrahydro-2(1*H*)-pyrimidinone (DMPU), 1,2-diméthoxyéthane (DME) and  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ont été distillés sur  $\text{CaH}_2$  et le toluène a été distillé sur sodium. Les mélanges réactionnels ont été séchés sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La chromatographie a été effectuée sur gel de silice de 40-64  $\mu\text{m}$  (maille de 230-400 mesh); les chromatographies sur couche mince (ccm) sur des plaques avec support d'aluminium. Les points de fusion sont non-corrigés. Les spectres de masse (EI et FAB) ont été obtenus du centre régional de spectre de masse de l'Université de Montréal. Les spectres RMN  $^1\text{H}$  (300/400 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75/100 MHz) ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré ( $\text{CDCl}_3$ ) ou un autre solvant indiqué avant chaque analyse. Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) selon l'échelle  $\delta$  par rapport à la référence interne de tétraméthylsilane ou le solvant lui-même et les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les déplacements chimiques des carbones aromatiques des composés *N*-(PhF) ne sont pas énumérés.

#### 4.2. *p*-Toluène sulfonate de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyproline de benzyle (42a).



Une suspension de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyproline 29 (40.0 g, 305 mmol) et d'acide *p*-toluènesulfonique monohydrate (69,6 g, 366 mmol) dans du benzène (240 ml) et de l'alcool benzylique (240 ml) est portée à reflux pendant 20 heures. Durant cette période, l'eau est azéotropiquement retirée à l'aide d'une trappe de Dean-Stark. La solution résultante est ensuite refroidie et 500 ml d'éther diéthylique sont ajoutés. Après avoir refroidi le mélange à 0°C sur une période de 2 heures, le solide est filtré et recueilli avec un rendement de 94% (104 g) de 42a après recristallisation dans l'éthanol et d'éther diéthylique.

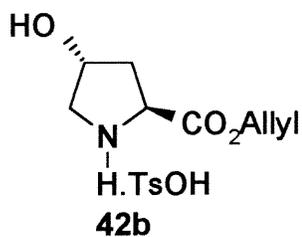
P.F. 127-129°C

$[\alpha]^{22D} -19,4^\circ$  (c 1,18, H<sub>2</sub>O)

RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, ref. HOD à δ = 4.8) δ : 2,2 (ddd, 1H, *J* = 4 ; 10 ; 14); 2,3 (s, 3H); 2,3 (ddt, 1H, *J* = 2 ; 8 ; 14); 3,3 (dt, 1H, *J* = 2 ; 13); 3,4 (dd, 1H, *J* = 4 ; 13); 4,6 (m, 1H); 4,7 (dd, 1H, *J* = 8 ; 11); 5,2 (d, 1H, *J* = 12); 5,3 (d, 1H, *J* = 12); 7,3 (d, 2H, *J* = 8); 7,4 (m, 5H); 7,6 (d, 2H, *J* = 8).

RMN <sup>13</sup>C (D<sub>2</sub>O, ref. MeOH à δ = 49) δ : 16,0; 32,2; 44,4; 53,6; 64,2; 64,9; 120,9; 124,0; 124,3; 124,4; 124,9; 130,0; 135,3; 137,6; 164,9.

#### 4.3. *p*-Toluène sulfonate de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-prolinate d'allyle (**42b**).



L'ester allylique est formé de la même façon que l'ester benzylique en utilisant la (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyproline **29** (5,0 g, 38 mmol), l'acide *p*-toluènesulfonique monohydrate (7,4 g, 39 mmol), le benzène (30 ml) et l'alcool allylique (30 ml). Le produit **42b** est recueilli par décantation sous forme d'une huile visqueuse avec un rendement de 92% (11 g).

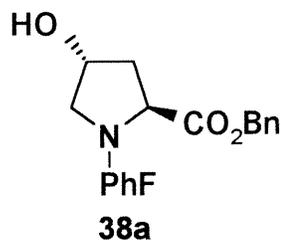
$[\alpha]_D^{22} -13,5^\circ$  (c 0.86, H<sub>2</sub>O)

RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, ref. HOD à  $\delta = 4.8$ )  $\delta$  : 2,21 (m, 1H) ; 2,3 (s, 3H) ; 2,4 (m, 1H) ; 3,4 (m, 3H) ; 4,6 (m, 3H) ; 5,3 (m, 2H) ; 5,9 (m, 1H) ; 7,4 (m, 2H) ; 7,7 (m, 2H).

RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  : 21,3; 38,5; 54,8; 59,3; 67,7; 70,6; 119,6; 126,8; 129,4; 130,9; 141,8; 143,0; 171,3.

SMHR calc. pour C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>N [MH]<sup>+</sup> 412,191, observé 412,193.

#### 4.4. (2S, 4R)-4-Hydroxy-N-(PhF)prolinate de benzyle (**38a**).



Une solution du *p*-toluènesulfonate de (2S, 4R)-4-hydroxyprolinate de benzyle (**42a**, 43,6 g, 120 mmol) dans 350 ml de dichlorométhane est refroidie à 0°C dans un ballon de Morton de 1000 ml muni d'un agitateur mécanique. Du TMSCl (38,1 ml, 300 mmol) et du Et<sub>3</sub>N (58,3 ml, 420 mmol) y sont ajoutés. Le mélange est chauffé à reflux sur une période de 1 heure. Après avoir refroidi le mélange à 0°C, on le traite avec une solution de méthanol (7,32 ml, 180 mmol) dans 30 ml de dichlorométhane et le mélange réchauffé à la température de la pièce sur une période de 1 heure. À ce mélange réactionnel est ensuite ajouté PhFBr (38,5 g, 120 mmol) dans 200 ml de dichlorométhane, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (40 g, 120 mmol) et Et<sub>3</sub>N (16,7 ml, 120 mmol). Le mélange est agité 48 heures puis évaporé. Le résidu est traité avec une solution d'acide citrique (40 g) dissout dans 500 ml de méthanol pendant une heure. Le mélange est évaporé et redissout dans 500 ml d'acétate d'éthyle puis lavé avec 700 ml d'eau. La phase aqueuse est extraite avec 200 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées avec 500 ml de HCl 10%, 500 ml de NaCl aqueux saturé, séchées puis évaporées. Après recristallisation de l'acétate d'éthyle/hexanes le composé **38a** est obtenu avec un rendement de 88% (42,2 g).

P.F. 151-152°C

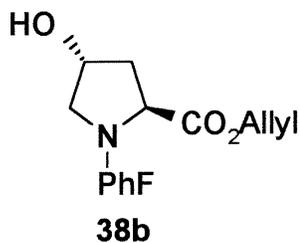
[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> 54,8° (c 1,16, CHCl<sub>3</sub>)

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  : 1,5 (br s, 1H); 1,78 (ddd, 1H,  $J = 6 ; 9 ; 13$ ); 1,97 (dt, 1H,  $J = 5.5; 13$ );  
2,93 (dd, 1H,  $J = 5; 10$ ); 3,38 (dd, 1H,  $J = 5; 10$ ); 3,6 (dd, 1H,  $J = 5.5;$   
10); 4,5 (m, 1H); 4,54 (d, 1H,  $J = 12.4$ ); 4,8 (d, 1H,  $J = 12.4$ ); 7,1-7,8 (m,  
18H).

RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  : 39,8; 56,6; 59,4; 66,0; 70,1; 76,2; 175,4.

SMHR calc. pour  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{NO}_3$   $[\text{MH}]^+$  462,2069 observé 462.2093.

#### 4.5. (2*S*, 4*R*)-4-Hydroxy-*N*-(PhF)prolinate d'allyle (**38b**).



Ce composé a été obtenu par la même procédure que pour le (2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**38a**) avec les quantités suivantes: *p*-toluène sulfonate de (2*S*, 4*R*)-4-hydroxyprolinate d'allyle (**42b**, 10,0 g, 31,9 mmol), TMSCl (8,5 ml, 67 mmol), Et<sub>3</sub>N (13,4 ml, 96,0 mmol), méthanol (1,4 ml, 34 mmol), PhFBr (10,3 g 32,0 mmol), Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (10,6 g, 31,9 mmol), Et<sub>3</sub>N (4,7 ml, 34 mmol), acide citrique (10 g). Après recristallisation dans l'acétate d'éthyle/hexanes le composé **38b** est obtenu avec un rendement de 62% (8 g).

P.F. 143-144°C

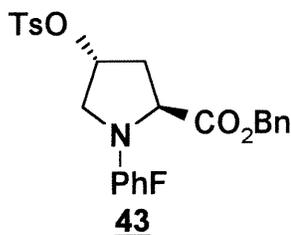
[α]<sup>22D</sup> 88,1° (c 1,08 ; CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 1,5 (bs, 1H) ; 1,8 (m, 1H) ; 2,0 (m, 1H) ; 2,9 (dd, 1H, J = 5 ; 10) ; 3,3 (dd, 1H, J = 5 ; 9) ; 3,6 (dd, 1H, J = 5 ; 10) ; 4,0 (dd, 1H, J = 6 ; 13) ; 4,2 (dd, 1H, J = 6 ; 13) ; 4,5 (m, 1H) ; 5,1 (t, 1H, J = 1,5) ; 5,1 (d, 1H, J = 3,5) ; 5,65 (m, 1H) ; 7,1-7,7 (m, 13H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 40,4 ; 62,9 ; 64,2 ; 67,8 ; 68,4 ; 82,0 ; 169,0.

SMHR calc. pour C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>3</sub>[MH]<sup>+</sup> 412.1913, observé 412.1935.

#### 4.6. (2S, 4R)-4-Tosyl-N-(PhF)prolinate de benzyle (**43**).



Dans un ballon de 10 ml est dissout le (2S, 4R)-benzyl 4-hydroxy-N-(PhF)prolinate (**38a**, 0,25 g, 0,60 mmol) dans 5 ml de chloroforme. De la pyridine (0,10 ml, 1,2 mmol) et du chlorure de *p*-toluènesulfonyle (0,22 g, 1,1 mmol) y sont ajoutés. Après 24 heures à la température de la pièce, le mélange est partagé entre 20 ml d'acétate d'éthyle et 20 ml de HCl 10%. La phase aqueuse est extraite deux fois avec 10 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies et lavées avec 20 ml HCl 10% et NaCl aqueux saturé, séchées puis évaporées. Le produit est ensuite purifié par chromatographie avec comme éluant un mélange 1:5 acétate d'éthyle:hexanes pour obtenir 0,216 g du produit **43** pur sous forme de graisse avec un rendement de 61%.

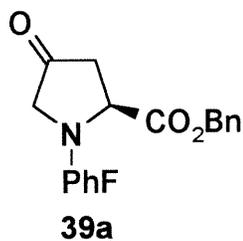
$[\alpha]^{22D} 11,3^\circ$  (c 0,94 ; CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 2,05 (m, 2H); 2,43 (s, 3H); 3,19 (dd, 1H, J = 4 ; 9); 3,43 (dd, 1H, J = 8 ; 5); 3,66 (dd, 1H, J = 5 ; 10); 4,47 (d, 1H, J = 12.5); 4,69 (d, 1H, J = 12.5); 5,11 (m, 1H); 7,13-7.73 (m, 22H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 21,6; 37,0; 53,9; 59,1; 66,2; 75,8; 78,9; 173,8.

SMHR calc. pour C<sub>38</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>5</sub>S [MH]<sup>+</sup> 616.2158 , observé 616.2138.

4.7. (2S)-4-Oxo-N-(PhF)prolinate de benzyle (**39a**):



À  $-60^{\circ}\text{C}$  une solution de DMSO (10,2 ml, 144 mmol) dans 30 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  est ajoutée à une solution de  $(\text{COCl})_2$  (6,0 ml, 69 mmol) dans 150 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et le mélange est agité 30 minutes. Une solution de l'alcool **38a** (27,5 g, 60,0 mmol) dans 60 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y est ensuite ajoutée puis le tout est agité 3 heures à  $-60^{\circ}\text{C}$  et est traité avec DIEA (52,2 ml, 372 mmol). Après avoir agité 60 minutes, 50 ml de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  2M est ajouté et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite avec EtOAc (2 x 50 ml). Les phases organiques réunies sont lavées avec 400 ml de NaCl aqueux saturé, séchées puis évaporées. La recristallisation de l'acétate d'éthyle et hexane donne le produit **39a** avec un rendement de 83% (22,6 g).

PF: 106-108 $^{\circ}\text{C}$

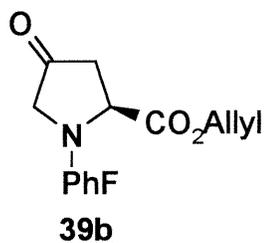
$[\alpha]^{22\text{D}} -32,6^{\circ}$  (c 1,16,  $\text{CHCl}_3$ )

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  : 2,3 (dd, 1H,  $J = 3.2 ; 18.2$ ); 2,4 (dd, 1H,  $J = 8.4 ; 18.2$ ); 3,81 (d, 1H,  $J = 18$ ); 3,82 (dd, 1H,  $J = 3.2 ; 8.4$ ); 4,67 (d, 1H,  $J = 12.4$ ); 4,74 (d, 1H,  $J = 12,4$ ); 7,1-7,7 (m, 18H).

RMN  $^{13}\text{C}$   $\delta$  : 41,4; 55,6; 58,3; 66,3; 76,7; 172,5; 213,0.

SMHR calc. pour  $C_{31}H_{26}NO_3$   $[MH]^+$  460.1913 , observé 460.1926.

#### 4.8. (2S)-4-Oxo-N-(PhF)prolinate d'allyle (**39b**):



Le composé **39b** a été obtenu de la même façon que le composé **39a**, avec le (2S, 4R)-allyl-4-hydroxy-N-(PhF)prolinate (**38b**) (1,8g, 4,4mmol), avec un rendement de 79% (1,38g) du produit **39b** après recristallisation de l'acétate d'éthyle.

PF:145-146°C

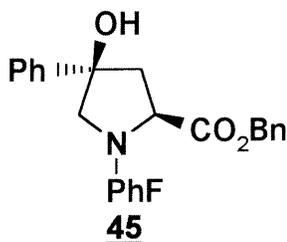
$[\alpha]_D^{22}$  -36,8° (c 1,12 ; CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 2,28 (dd, 1H, J = 3 ; 18); 2,42 (dd, 1H, J = 8 ; 18); 3,49 (d, 1H, J = 18); 3,78 (m, 2H); 4,06 (m, 2H); 5,12 (dq, 1H, J = 1.5 ; 8); 5,17 (t, 1H, J = 1.5); 5,67 (m, 1H); 7,17-7,71 (m, 13H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 41,4; 55,2; 58,1; 65,1; 76,0 ;172.2 ; 212,8.

SMHR calc. pour C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>3</sub> [MH]<sup>+</sup> 410.1756 , observé 410.1778 .

4.9. (2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-4-phényl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (**45**):



Le  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,75 g, 3,0 mmol) est séché à 140°C sous vide pendant 6 h, refroidi à la température de la pièce et suspendu dans du THF (10 ml) et agité pendant 18 h. La solution résultante est refroidie à 0°C, traitée avec du phényllithium (1,7 ml, 3,0 mmol, 1,8 M in 7:3 cyclohexane:Et<sub>2</sub>O), agitée pendant 1 h, refroidie à -60°C, traitée avec une solution de 4-oxoproline **39a** (0,91 g, 2,0 mmol) dans du THF (4 ml), et agitée pendant 6 h à -60°C. Du  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturé (15 ml) est ajouté et le mélange est laissé réchauffer à la température de la pièce. Le précipité est filtré et lavé avec 20 ml de EtOAc. Les solutions organiques combinées sont lavées avec  $\text{NaCl}$  aqueux saturé (2 × 20 ml), séchées et évaporées pour donner un résidu qui est purifié par chromatographie en éluant avec un mélange de 1:20 EtOAc:hexanes. L'évaporation des fractions recueillies donne **45** sous forme d'huile (710 mg, 60%).

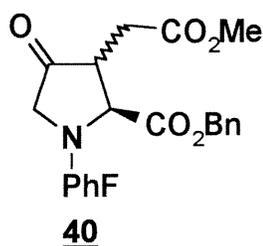
$[\alpha]_D^{20}$  168,9° (c 1,06,  $\text{CHCl}_3$ )

RMN <sup>1</sup>H δ : 1,9 (d, 1H, J = 14); 2,24 (dd, 1H, J = 11 ; 14); 3,23 (dd, 1H, J = 2 ; 11); 3,31 (d, 1H, J = 9); 3,59 (dd, 1H, J = 2 ; 9); 4,53 (d, 1H, J = 12); 4,95 (d, 1H, J = 12); 5,34 (s, 1H); 7-7,9 (m, 23H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 44,1; 58,3; 61,7; 66,8; 75,3; 78,8; 177,3.

SMHR calc. pour  $C_{37}H_{32}NO_3$   $[MH]^+$  538.2382, observé 538.2341.

4.10. (2*S*, 3*RS*)-4-oxo-3-méthoxycarbonylméthyl-*N*-(PhF)prolinate de benzyle (40)

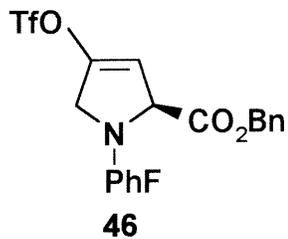


Le produit 40 est préparé à partir de 39a (5,0 g, 11 mmol) selon la procédure générale pour l'alkylation d'aminocétone décrite dans la référence 24 en utilisant  $\text{KN}(\text{SiMe}_3)_2$  (200 mol %) et  $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$  (220 mol %) dans une solution de 0.06 M de THF:DMPU (9:1). La chromatographie avec 1:10 EtOAc:hexanes comme éluant donne un mélange diastéréomérique 2:1 (RMN  $^1\text{H}$  intégration des singulets des esters méthyliques) des cétones 40 (4.64 g, 80%) sous forme de graisse. La cétone 39a a aussi été récupérée (0.6 g, 12%).

SMHR calc. pour  $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{NO}_5$   $[\text{MH}]^+$  532.2124, observé 532.2098.

#### 4.11. Procédure générale pour la préparation des triflates:

Une solution de 4-oxoproline 39a (0,46 g, 1,0 mmol) dans du THF (2 mL) est ajoutée à  $-78^{\circ}\text{C}$  à une solution de  $\text{KN}(\text{SiMe}_3)_2$  (4 ml, 2 mmol, 0.5 M dans le toluène) dans du THF (2 ml) et le tout est agité 30 min. Le *N*-phényltrifluorométhanesulfonimide (0.38 g, 1.1 mmol) dans 2 ml de THF est ajouté à la solution d'énolate et l'agitation est poursuivie pendant 3 h à  $-78^{\circ}\text{C}$ . La solution est ensuite traitée avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$  (20 ml), réchauffée à la température de la pièce et extraite avec EtOAc ( $2 \times 20$  ml). Les phases organiques réunies sont lavées avec HCl 1 N (20 ml), NaOH 1 N (20 ml) et NaCl aqueux saturé (20 ml), séchées, et évaporées pour donner un résidu qui est chromatographié avec 1:10 EtOAc:hexanes comme éluant.

**4.11.1. (2S)-4-triflyloxy- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (**46**):**

Le produit **46** est préparé à partir de **39a** (1 mmol) et est obtenu sous forme de graisse avec un rendement de 65 %.

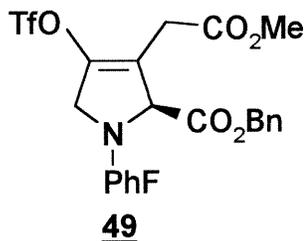
$[\alpha]_D^{20}$  22.6° (c 2.6, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 4 (m, 2 H); 4,26 (m, 1 H); 4,92 (d, 1 H, J = 12); 4,99 (d, 1 H, J = 12);  
5,52 (s, 1 H); 7,1-7,8 (m, 18 H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 54,3 ; 65,9 ; 66,6 ; 77,2 ; 171,4.

SMHR calc. pour C<sub>32</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>SF<sub>3</sub> [MH]<sup>+</sup> 592.1406, observé 592.1389.

4.11.2. (2S)-3-méthoxycarbonylméthyl-4-triflyloxy- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (**49**)



Le produit **49** est préparé à partir de **40** (0.5 mmol) et est obtenu sous forme de graisse avec un rendement de 92 %.

$[\alpha]^{20}_D$  3.0° (c 2.4, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 2,73 (d, 1H, J = 17); 3,0 (d, 1H, J = 17); 3,33 (s, 3H); 3,91 (d, 1H, J = 15); 4,02 (dd, 1H, J = 2 ; 6); 4,14 (ddd, 1H, J = 2 ; 6 ; 15); 4,78 (d, 1H, J = 12); 4,88 (d, 1H, J = 12); 6,9-7,7 (m, 18H).

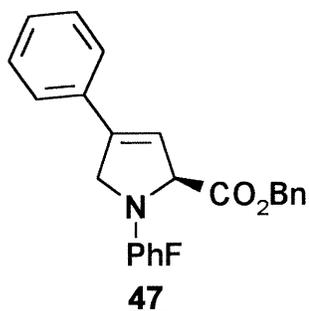
RMN <sup>13</sup>C δ : 29,3; 52,1; 53,6; 66,9; 67,7; 77,3; 168,2; 171,8.

SMHR calc. pour C<sub>35</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>7</sub>SF<sub>3</sub> [MH]<sup>+</sup> 664.1617, observé 664.1634.

#### 4.12. Procédure générale du couplage des acides boroniques au triflates vinyliques:

Une solution du triflate 46 (0,24 g, 0.42 mmol), de l'acide phénylboronique (71 mg, 0.58 mmol), LiCl (53 mg, 1,3 mmol), de tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (20 mg, 0.02 mmol) dans Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2N (0.5 ml) et 5 ml de diméthoxyéthane est chauffée à 70°C pendant 1 h, refroidie à la température de la pièce et partagée entre EtOAc (20 ml) et NaHCO<sub>3</sub> saturé (20 ml). La phase aqueuse est extraite avec EtOAc (20 ml) et les phases organiques combinées ont été lavées avec NaOH 1 N (20 ml), HCl 1 N (20 ml) et NaCl aqueux saturé (20 ml), séchées, et évaporées pour donner un résidu qui a été chromatographié avec 1:10 EtOAc:hexanes comme éluant.

4.12.1. (2S)-4-Phényl- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (47):



Le styrène 47 a été préparé à partir du triflate 46 (244 mg, 0.420 mmol) et est obtenu sous forme de graisse avec un rendement de 72 % (155 mg) du styrène 47.

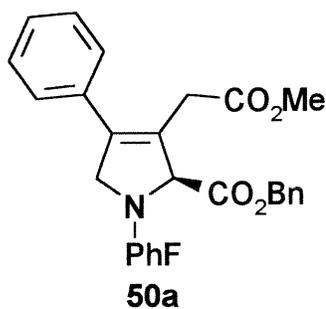
$[\alpha]_D^{20}$  54.4° (c 0.86, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  : 4,18 (dd, 1H,  $J = 3 ; 6$ ); 4,33 (ddd, 1H,  $J = 2 ; 3 ; 15$ ); 4,62 (ddd, 1H,  $J = 2 ; 6 ; 15$ ); 4,91 (d, 1H,  $J = 12$ ); 4,98 (d, 1H,  $J = 12.5$ ); 5,87 (dd, 1H,  $J = 12.5$ ); 7-7,8 (m, 23H).

RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  : 58,2; 65,6; 66,2; 70,2; 173,2.

SMHR calc. pour C<sub>37</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>2</sub> [MH]<sup>+</sup> 520.2277, observé 520.2291.

**4.12.2. (2S)-3-Méthoxycarbonylméthyl-4-phényl- $\Delta^3$ -N-(PhF)prolinate de benzyle (50a):**



Le  $\Delta^3$ -phénylkainoïde protégé 50a est préparé à partir du triflate vinylique 49 (560 mg, 0.860 mmol) selon la méthode établie pour la synthèse du styrène 47 utilisant 300 mol % de l'acide phénylboronique dans le toluène (5 ml) au lieu du DME en chauffant à 95°C pendant 6 h: 50a (graisse, 92 %).

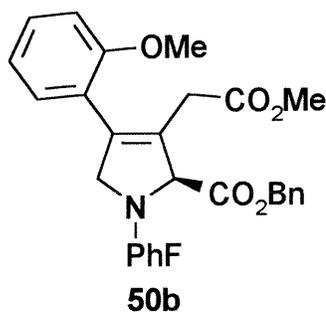
$[\alpha]^{20}_D -5^\circ$  (c 0.5; CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  : 2,74 (d, 1H,  $J = 16.3$ ); 3 (d, 1H,  $J = 16.3$ ); 3,3 (s, 3H); 4 (d, 1H,  $J = 15.3$ ); 4,19 (dd, 1H,  $J = 2 ; 5.5$ ); 4,43 (ddd, 1H,  $J = 2 ; 5.5 ; 15.3$ ); 4,85 (d, 1H,  $J = 12.3$ ); 4,89 (d, 1H,  $J = 12.3$ ); 7-7,7 (m, 23H).

RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  : 32,1; 51,8; 61,2; 66,2; 73; 77,5; 170,3; 172,9.

SMHR calc. pour C<sub>40</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>4</sub> [MH]<sup>+</sup> 592.2489, observé 592.2498.

4.12.3. (2S)-3-Méthoxycarbonylméthyl-4-(2-méthoxyphényl)- $\Delta^3$ -N-(PhF)-prolinate de benzyle (**50b**):



Le  $\Delta^3$ -(2-méthoxyphényl)kaïnoïde protégé **50b** est préparé à partir du vinyle triflate **49** (0,23 g, 0.35 mmol) selon la méthode établie pour la synthèse du styrène **47** utilisant 400 mol % de l'acide 2-méthoxyphénylboronique dans le toluène (3 ml) au lieu du DME en chauffant à 95°C pendant 6 h: **50b** (graisse, 80%).

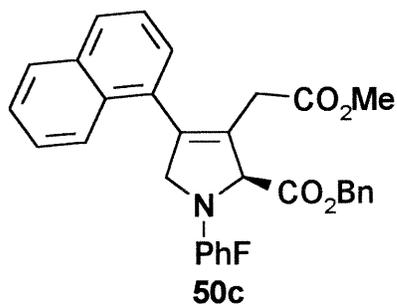
$[\alpha]_D^{20}$  -26.22° (c 0.58, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  : 2,65 (d, 1H,  $J$  = 17); 2,80 (d, 1H,  $J$  = 17); 3,27 (s, 3H); 3,57 (s, 3H);  
4,01 (m, 1H); 4,20 (d, 1H,  $J$  = 3,3); 4,35 (ddd, 1H,  $J$  = 2,4 ; 3,3 ; 7,3);  
4,9 (s, 2H); 6.6-7,7 (m, 22H).

RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  : 32,0; 51,4; 55,1; 60,9; 65,9; 72,2; 77,6; 110,7; 156,8; 170,4; 173,0.

FAB MS m/e 622 [MH]<sup>+</sup>, 486 [M-CO<sub>2</sub>Bn], 241 [PhF] (100%)

4.12.4. (2S)-Benzyl 3-méthoxycarbonylméthyl-4-(2-naphtyl)- $\Delta^3$ -N-(PhF)-prolinate (**50c**):



Le  $\Delta^3$ -(2-naphtyl)kaïnoïde protégé **50c** est préparé à partir du triflate vinylique **49** (0,23 g, 0.34 mmol) selon la méthode établie pour la synthèse du styrène **47** utilisant 400 mol % de l'acide 2-méthoxyphénylboronique dans le toluène (3 ml) au lieu du DME en chauffant à 95°C pendant 6 h: **50c** (graisse, 45%).

$[\alpha]^{20}_D -10,7^\circ$  (c 1,0 ; CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H  $\delta$  : 2,87 (d , 1H , J = 16); 3,15 (d , 1H , J = 16); 3,41 (s , 3H); 4,15 (d , 1H , J = 15.2); 4,31 (d , 1H , J = 5.5); 4,61 (ddd , 1H , J = 3,7 ; 5.5 ; 15.2); 4,93 (d , 1H , J = 12,3); 4,99 (d , 1H , J = 12,3); 7,06-7,77 (m , 25H).

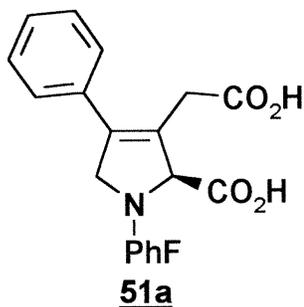
RMN <sup>13</sup>C  $\delta$  : 32,2 ; 51,8 ; 61,2 ; 66,2 ; 73,0 ; 77,5 ; 170,3 ; 172,9.

SMHR calc. pour C<sub>44</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>4</sub> [MH]<sup>+</sup> 642.264, observé 642.266.

**4.13. Procédure générale d'hydrolyse des diesters des (2S)- $\Delta^3$ -4-aryl-N-(PhF)kaïnoïdes (51):**

Une solution du diester 50a (1,5 g; 2,8 mmol) dans NaOH 2 M (50 ml) / EtOH (50 ml) est chauffée à 60°C, agitée 24 h, refroidie à la température de la pièce et extraite avec de l'éther (2  $\times$  25 ml). La phase aqueuse est acidifiée avec HCl 1 N à pH 2 et extraite avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4  $\times$  25 ml). Les phases organiques réunies sont lavées avec NaCl saturé, séchées et évaporées pour donner un résidu qui est chromatographié en utilisant un gradient de 2 à 5% de MeOH dans le CHCl<sub>3</sub> contenant 1% AcOH. L'évaporation des fractions recueillies donne 51a.

4.13.1. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-phényl-N-(PhF)kaïnique (**51a**):



Le produit **51a** a été préparé à partir de **50a** (1,5 g; 2,8 mmol) et est obtenu avec un rendement de 99 % (1,18 g).

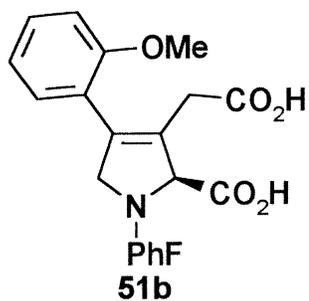
P.F. 142°C

$[\alpha]_D^{20}$  74.5° (c 0.7, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 3,15 (d, 1H, J = 17); 3,36 (d, 1H, J = 17); 4,22 (m, 2H); 4,54 (m, 1H);  
7,0-7,8 (m, 18H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 32,1; 60,8; 72,7; 77,9; 171,7; 174,8.

SMHR calc. pour C<sub>32</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>4</sub> [MH]<sup>+</sup> 488.1862, observé 488.1854.

**4.13.2. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)-N-(PhF)kainique (51b):**

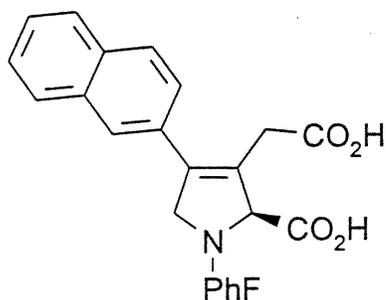
Le produit 51b a été préparé à partir de 50b (0,14 g ; 0,23 mmol) et est obtenu sous forme de graisse avec un rendement de 87 % (103 mg).

$[\alpha]_D^{20}$  52,4° (c 0.76, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 2,93 (d, 1H, J = 16,3); 3,21 (d, 1H, J = 15,4); 3,63 (s, 3H); 4,05 (d, 1H, J = 16) ; 4,31 (s, 1H); 4,54 (d, 1H, J = 16,3); 6,7-7,8 (m, 17H).

RMN <sup>13</sup>C δ : 32,7; 55,1; 60,2; 78,2; 110,7; 156,9; 170,6; 173,7.

4.13.3. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)-N-(PhF)kaïnique (**51c**):



**51c**

Le produit **51c** a été préparé à partir de **50c** (70 mg ; 0,11 mmol) et est obtenu avec un rendement de 88 % (52 mg).

$[\alpha]_D^{20}$  37,42° (c 0.66, CHCl<sub>3</sub>)

RMN <sup>1</sup>H δ : 3,20 (d, 1H, J = 16,6); 3,41 (d, 1H, J = 16,6); 4,27 (d, 1H, J = 16,0) ;  
4.30 (s, 1H); 4,62 (d, 1H, J = 16,0); 7,17-7,83 (m, 20H).

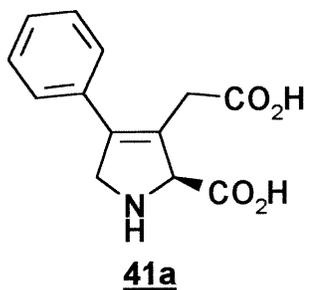
RMN <sup>13</sup>C δ : 32,3; 61,0; 72,7; 77,9; 172,0; 174,9.

FAB MS m/e.: 538 [MH]<sup>+</sup>, 492 [M-CO<sub>2</sub>H], 297 [M-PhF], 241 [PhF] (100%).

#### 4.14. Procédure générale de solvolysse du PhF des acides (2S)- $\Delta^3$ -N-(PhF)-Arylkainiques (41):

Une solution du diacide 51a (88 mg, 0.21 mmol), d'anisole (0.2 ml) et de F<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>H (0.25 ml) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) est agitée à la température de la pièce pendant 24 h et évaporée pour donner un résidu foncé. Le résidu est suspendu dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 ml) chaud et précipité à l'aide d'hexanes (5 ml). Le solvant est décanté et le résidu résultant est traité deux autres fois de la même façon donnant un solide blanc (41a) qui est séché sous vide. Les acides (2S)- $\Delta^3$ -N-(PhF)-arylkainiques (41) ont montré moins de 1% de trifluoroacétate par RMN <sup>19</sup>F.

#### 4.14.1. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-phénylkainique (**41a**):



Le produit **41a** a été préparé à partir de **51a** (88 mg, 0.21 mmol) avec un rendement de 82 % (32 mg).

P.F. >210°C

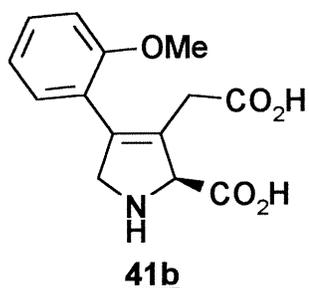
$[\alpha]_D^{20} -8.4^\circ$  (c 1, 1N HCl)

RMN  $^1\text{H}$  (CD<sub>3</sub>OD avec CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H et MeOH comme référence à 4,9 ppm)  $\delta$ : 3,41 (d, 1H,  $J = 17$ ); 3,51 (d, 1H,  $J = 17$ ); 4,32 (d, 1H,  $J = 14.5$ ); 4,54 (dt, 1H,  $J = 3 ; 14.5$ ); 4,99 (d, 1H,  $J = 1.3$ ); 7,36 (m, 5H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (D<sub>2</sub>O avec HCl et MeOH comme référence à 49,1 ppm)  $\delta$  : 31,7; 54,3; 68,4; 123,3; 127,7; 129,1; 129,5; 130,9; 136,9; 169,2; 174.

SMHR calc. pour C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub> [MH]<sup>+</sup> 248.0923, observé 248.0937.

4.14.2. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-méthoxyphényl)kaïnique (**41b**):



Le produit **41b** a été préparé à partir de **51b** (0,10 g, 0.20 mmol) avec un rendement de 78 % (43 mg).

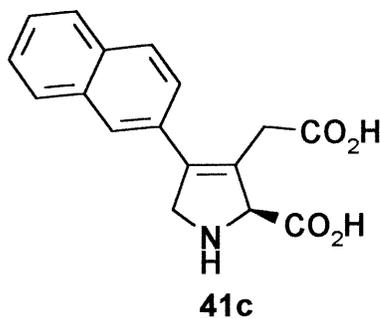
P.F. >210°C

$[\alpha]^{20}_D$  -35,19° (c 0,52, MeOH / 5% TFA)

RMN  $^1H$  (D<sub>2</sub>O avec CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H, référence HOD  $\delta$  = 4,8)  $\delta$ : 3,09 (d, 2H,  $J$  = 5,3); 3,56 (s, 3H); 4,25 (d, 2H,  $J$  = 5,3); 5,12 (s, 1H); 6,82 (m, 2H); 6,95 (ddd, 1H,  $J$  = 1,7 ; 5,6 ; 7,5); 7,19 (ddd, 1H,  $J$  = 1,7 ; 7,5 ; 8,4).

RMN  $^{13}C$  (D<sub>2</sub>O avec CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H référence à 164,2 ppm)  $\delta$  : 34,0; 55,1; 58,0; 70,3; 113,7; 121,2; 122,3; 126,7; 131,4; 132,9; 136,5; 158,4; 170,8; 175,9.

#### 4.14.3. Acide (2S)- $\Delta^3$ -4-(2-naphtyl)kainique (**41c**):



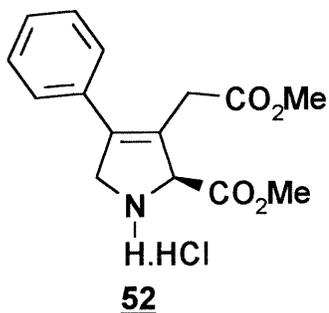
Le produit **41c** a été préparé à partir de **51c** (33 mg, 0.06 mmol) avec un rendement de 76 % (13 mg).

P.F. >210°C

$[\alpha]_D^{20}$  -19,2° (c 0,24, MeOH / 1% TFA)

RMN  $^1\text{H}$  (  $\text{CDCl}_3$  / 1% TFA)  $\delta$ : 3,66 (d, 1H,  $J = 18,5$ ) ; 3,76 (d, 1H,  $J = 18,5$ ) ; 4,81 (s, 2H) ; 5,74 (s, 1H) ; 7,28 (m, 1H) ; 7,60 (m, 2H) ; 7,74 (s, 1H) ; 7,88 (m, 2H) ; 7,96 (m, 1H).

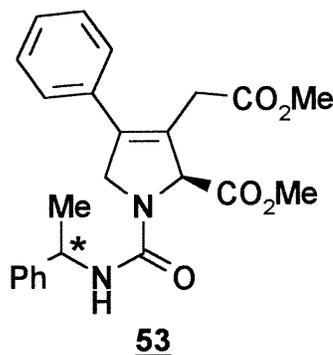
RMN  $^{13}\text{C}$  (  $\text{CD}_3\text{OD}$  / 1% TFA référence à 49,2 ppm)  $\delta$  : 32,3; 53,4; 67,8; 125,2; 126,9; 127,0; 127,1; 127,2; 127,3; 127,8; 128,3; 128,5; 129,1; 132,8; 135,0; 168,2; 171,1.

**4.15. Hydrochlorure de (2S)- $\Delta^3$ -4-phénylkainate de méthyle (52):**

À une solution de 5 ml MeOH et de chlorure d'acétyle (51 g, 0,40 mmol) est ajouté le kainoïde 41a (10 mg, 0,04 mmol) solide. Après 24 h le mélange est évaporé et utilisé sans purification pour donner 52 (12.5 mg ; 0,04 mmol ; 100%).

RMN  $^1\text{H}$   $\delta$  : 3,38 (s, 2H) ; 3,73 (s, 3H) ; 3,86 (s, 3H) ; 4,7 (m, 2H) ; 5,44 (s, 1H)  
7,26-7,38 (m, 5H).

4.16. (2S)-N-( $\alpha$ -Méthylbenzylurée)- $\Delta^3$ -4-(phényl)kainate de méthyle ((2S,1'S)-53 et (2S,1'R)-53):



À une solution de 52 (6,0 mg ; 0,02 mmol) dans 1 ml de THF est ajouté l'isocyanate de  $\alpha$ -méthylbenzyle (7,0  $\mu$ l ; 0,05 mmol) et la triéthylamine (4,0  $\mu$ l ; 0,02 mmol). Après 24 h à la température de la pièce, le mélange est lavé avec 1N HCl, séché et évaporé pour donner 53 (11 mg). Les composés sont utilisés pour l'étude RMN sans autres purifications.

(2S,1'S)-53:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta$  : 1,40 (d, 3H,  $J = 7$ ) ; 3,12 (m, 2H) ; 3,24 (s, 3H) ; 3,37 (s, 3H) ; 3,84 (m, 1H) ; 4,09 (m, 1H) ; 4,35 (m, 1H) ; 5,32 (m, 1H) ; 5,52 (m, 1H).

(2S,1'R)-53:

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta$  : 1,35 (d, 3H,  $J = 7$ ) ; 3,14 (m, 2H) ; 3,23 (s, 3H) ; 3,39 (s, 3H) ; 3,86 (m, 1H) ; 4,23 (dd, 1H,  $J = 6$  ; 13) ; 4,42 (m, 1H) ; 5,30 (m, 1H) ; 5,46 (m, 1H).

## 5. Bibliographie:

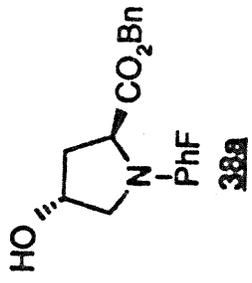
1. Watkins, J.C.; Olverman, H.J. *Trends Neurosci.* **1987**, *10*, 265.
2. "Fidia Research Foundation Symposium Series: Excitatory Amino Acids"; Volume 9; Simond, R. P. éditeur; Thieme Medical Publishers inc.; New York; 1992.
3. "CIBA Foundation Symposium 126: SELECTIVE NEURONAL DEATH"; John Wiley & Sons, New York, 1987, pp 204-213.
4. Lipton, S.A.; Sucher, N.J.; Kaiser, P.K.; Dreyer, E.B. *Neuron* **1990**, *7*, 111.
5. Faden, A.I.; DeMediuk, P.; Panter, S.S.; Vink, R. *Science* **1989**, *244*, 798.
6. Coyle, J. T.; Shwarcz, R. *Nature* **1976**, *263*, 244.
7. McGeer, E. G.; McGeer, P. L. *Nature* **1976**, *263*, 517.
8. Knöpfel, T.; Kuhn, R.; Allgeier, H. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1417.
9. Monn, J.A.; Schoepp, D.D. *Annu. Rep. Med. Chem.* **1994**, *29*, 53.
10. Watkins, J.C.; Evans, R.H. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1981**, *21*, 165.
11. Cummingham, M.D.; Ferkany, J.W.; Enna, S.J. *Life Sciences* **1994**, *54*, 135.
12. Mc Dermott, A.B.; Dale, N. *Trends Neurosci.* **1987**, *10*, 280.
13. Evans, R.H.; Francis, A.A.; Hunt, K.; Oakes, D.J.; Watkins, J.C. *Br. J. Pharmacol.* **1979**, *67*, 591.
14. Davies, J.; Evans, R.H.; Francis, A.A.; Jones, A.W.; Smith, D.A.S.; Watkins, J.C. *Neurochem. Res.* **1982**, *9*, 1119.
15. Perkins, M.N.; Stone, T.W.; Collins, J.F.; Curry, K. *Neurosci. Lett.* **1981**, *23*, 333.
16. Woodruff, G.N.; Foster, A.C.; Gill, R.; Kemp, J.A.; Wong, E.H.F.; Iversen, L.L. *Neuropharmacology* **1987**, *26*, 903.
17. Tamura, N.; Iwama, T.; Itoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 381.

18. Omstein, P.L.; Arnold, M.B.; Augenstein, N.K.; Lodge, D.; Leander, J.D.; Schoepp, D.D. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2046.
19. Hamilton, G.S.; Huang, Z.; Patch, M.E.; Guzewska, M.E.; Borosky, S.A.; Bednar, D.L.; Ferkany, J.W.; Karbon, E.W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 1269.
20. Vyklicky, L. Jr.; Patneau, D.K.; Mayer, M.L. *Neuron* **1991**, *7*, 971.
21. Patneau, D.K.; Vyklicky, L. Jr.; Mayer, M.L. *J. Neurosci.* **1993**, *13*, 3496.
22. Staubli, U.; Rogers, G.; Lynch, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 777.
23. Donevan, S.D.; Rogawski, M.A. *Neuron* **1993**, *10*, 51.
24. Murakani, S.; Takemoto, T.; Shimizu, Z. *J. Pharm. Soc. Jpn* **1953**, *73*, 1026.
25. Nitta, I.; Watase, H.; Tomiie, Y. *Nature* **1958**, *181*, 761.
26. "Kainic Acid as a Tool in Neurobiology" E. G. McGeer, J. W. Olney et P. L. McGeer éditeurs; Raven Press; New York; 1978; pp 17-35.
27. Wright, J. L. C.; Boyd, R. K.; De Freitas, A. S. W.; Falk, M.; Foxall, R. A.; Jamieson, W. D.; Laycock, M. V.; McCulloch, A. W.; McInnes, A. G.; Odense, P.; Pathak, V. P.; Quilliam, M. A.; Ragan, M. A.; Sim, P. G.; Thibault, P.; Walter, J. A.; Gilgan, M.; Richard, D. J. A.; Dewar, D. *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 481.
28. Maeda, M.; Kodama, T.; Saito, M.; Tanaka, T.; Yoshizumi, H.; Nomoto, K.; Fujita, T. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1987**, *28*, 85.
29. Yamano, K.; Shirahama, H.; *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2427.
30. Hansen, J. J.; Krogsgaard-Larsen, P. *Med. Res. Rev.* **1990**, *10*, 55.
31. Hasimoto, K.; Shirahama, H. *Trends in Org. Chem.* **1991**, *2*, 1.
32. Johansen, T.H.; Drejer, J.; Wätjen, F.; Neilsen, Ø.N. *Eur. J. Pharmacol.* **1993**, *246*, 195.

33. Jeffries, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 1519.
34. Hasimoto, K.; Horikawa, M.; Ishida, M.; Shinozaki, H.; Shirahama, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 743.
35. Oppolzer, W.; Thirring, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4978.
36. Baldwin, J. E.; Moloney, M. G.; Parsons, A. F. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7263.
37. Takano, S.; Sugihara, T.; Satoh, S.; Ogasawara, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6467.
38. Yoo, S.; Lee, S.-H.; Jeong, N.; Cho, I. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3435.
39. Barco, A.; Benetti, S.; Spatullo, G. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6279.
40. Takano, S.; Iwabuchi, Y.; Ogasawara, J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1204.
41. Horikawa, M.; Hashimoto, K.; Shirahama, H. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 331.
42. Hashimoto, K.; Shirahama, H. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2625.
43. Konno, K.; Hashimoto, K.; Shirahama, H. *Heterocycles* **1992**, *33*, 303.
44. Baldwin, J. E.; Rudolph, M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6163.
45. Lubell, W. D.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7447.
46. Humphrey, J.M.; Bridges, R.J.; Hart, J.A.; Chamberlin, A.R. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2467.
47. Pour une revue de ces méthodes voir: Noyori, R. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4259.
48. Ritter, K. *Synthesis* **1993**, 735.
49. Zheng, Q.; Yang, Y.; Martin, A. R. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2235.
50. Fu, J.-m.; Snieckus, V. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1665.
51. Wustrow, D. J.; Wise, L. D. *Synthesis* **1991**, 993.
52. Oh-e, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2201.

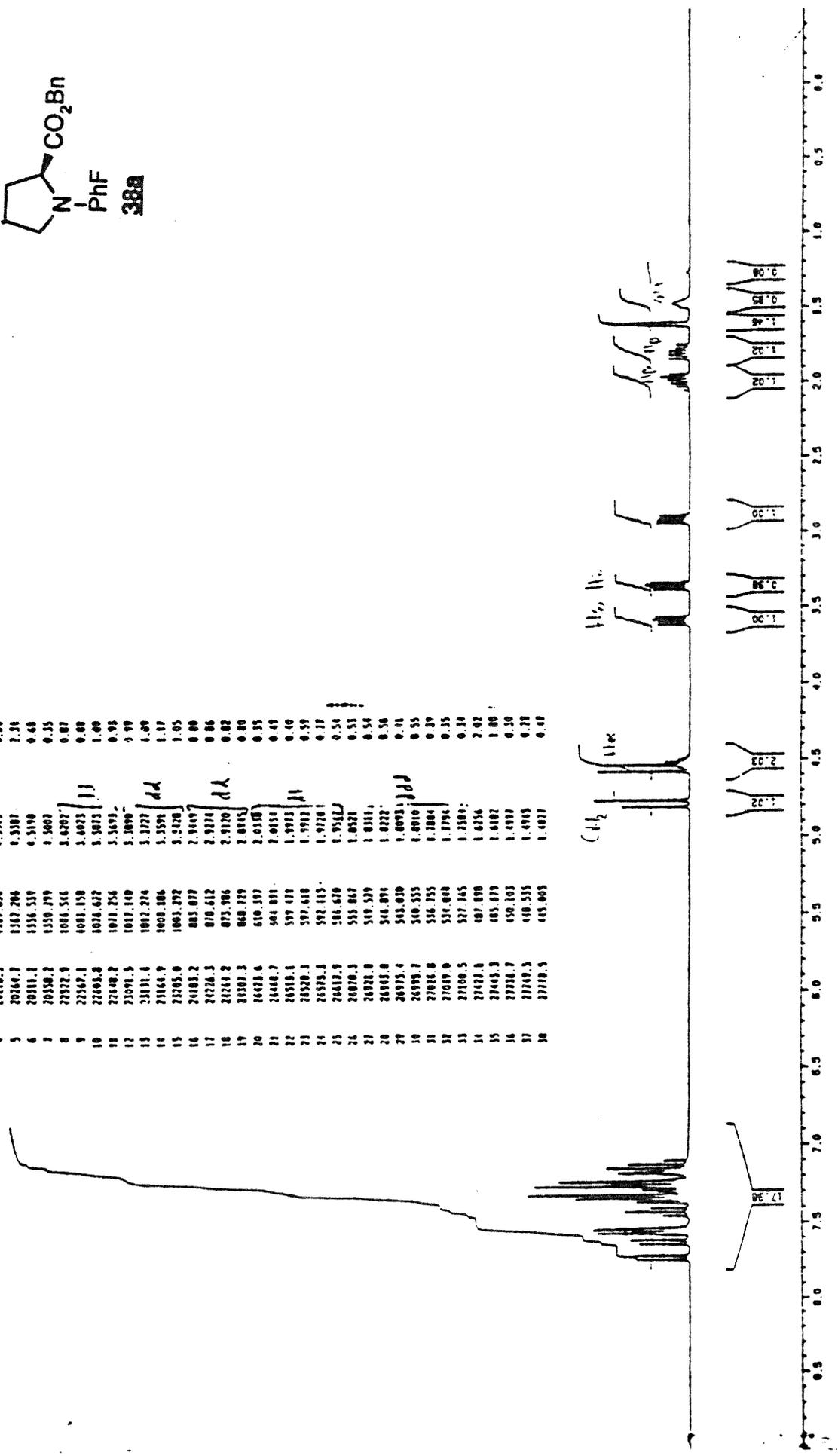
53. Huth, A.; Beetz, I.; Schumann, I. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 6679.
54. La synthèse de l'acide (2S)- $\Delta^3$ -phénylkainique est publiée dans: Gill, P; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2658.
55. Zervas, L.; Winitz, M.; Greenstein, J.P. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 1515.
56. Lubell, W.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3824.
57. Mancuso, A.J.; Huang, S.L.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480.
58. Corey, E.J.; Kim, C.U. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 7586.
59. Thottathil, J.K.; Moniot, J.L. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 151.
60. Thottathil, J.K. U.S. US 4,734,508 Chem. Abstr. 109: 55239j.
61. Thottathil, J.K. Ger. Offen. DE 3,814,663, Chem. Abstr. 110: 193398g.
62. Krapcho, J.; Turk, C.; Cushman, D.W.; Powel, J.R.; DeForrest, J.M.; Spitzmiller, E.R.; Karanewsky, D.S.; Duggan, M.; Rovnyak, G.; Schwartz, J.; Natarajan, S.; Godfrey, J.D.; Ryono, D.E.; Neubeck, R.; Atwal, K.S.; Petrillo Jr., E.W. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1148.
63. Mukhopadhyay, T.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 385.
64. Ibrahim, H.H.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6438.
65. Baldwin, J.E.; Bamford, S.J.; Fryer, A.M.; Wood, M.E. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4869.
66. Sharma, R.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 202.

## Annexe A: Spectres RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$

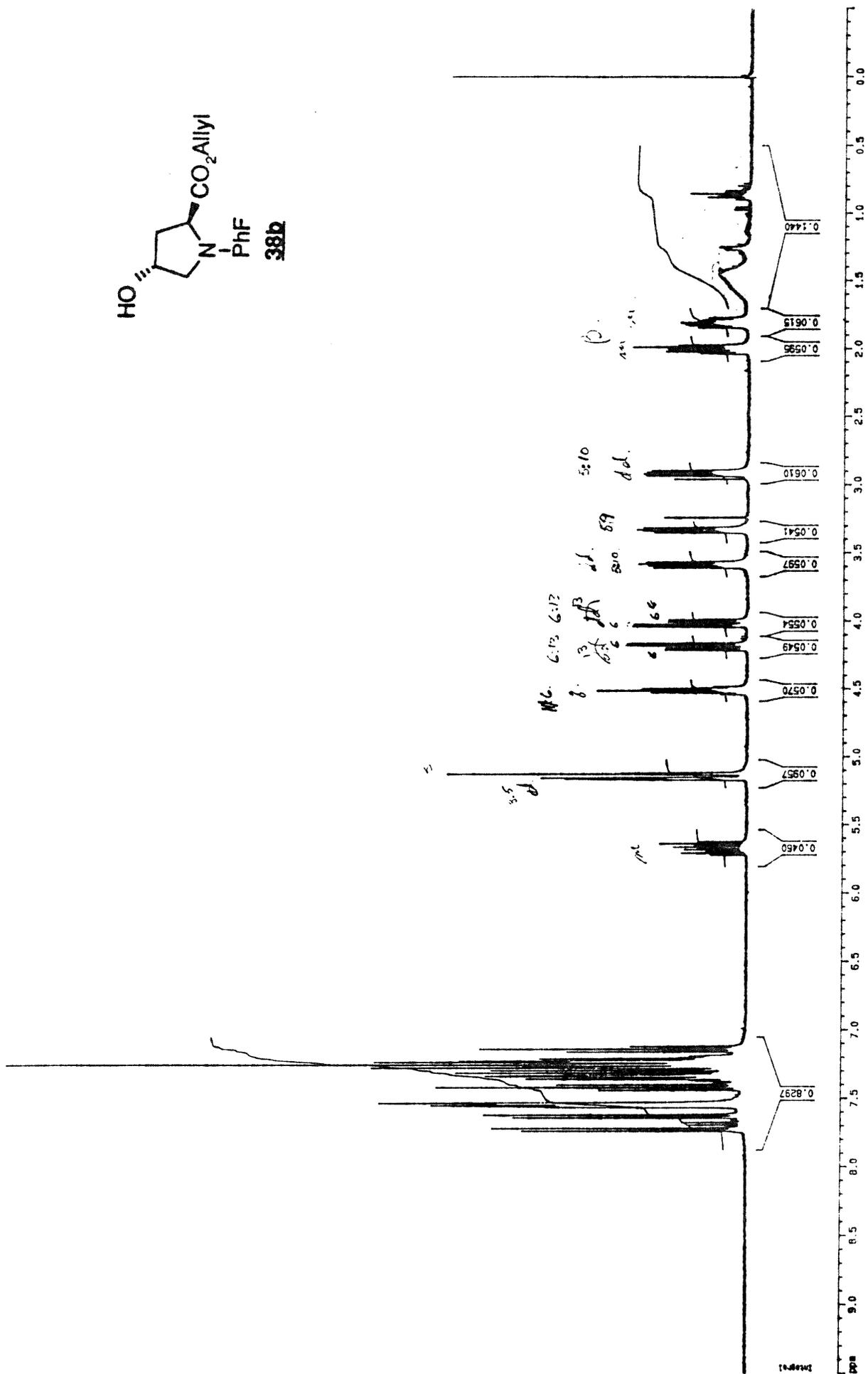
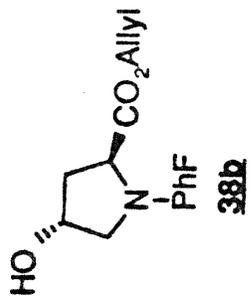


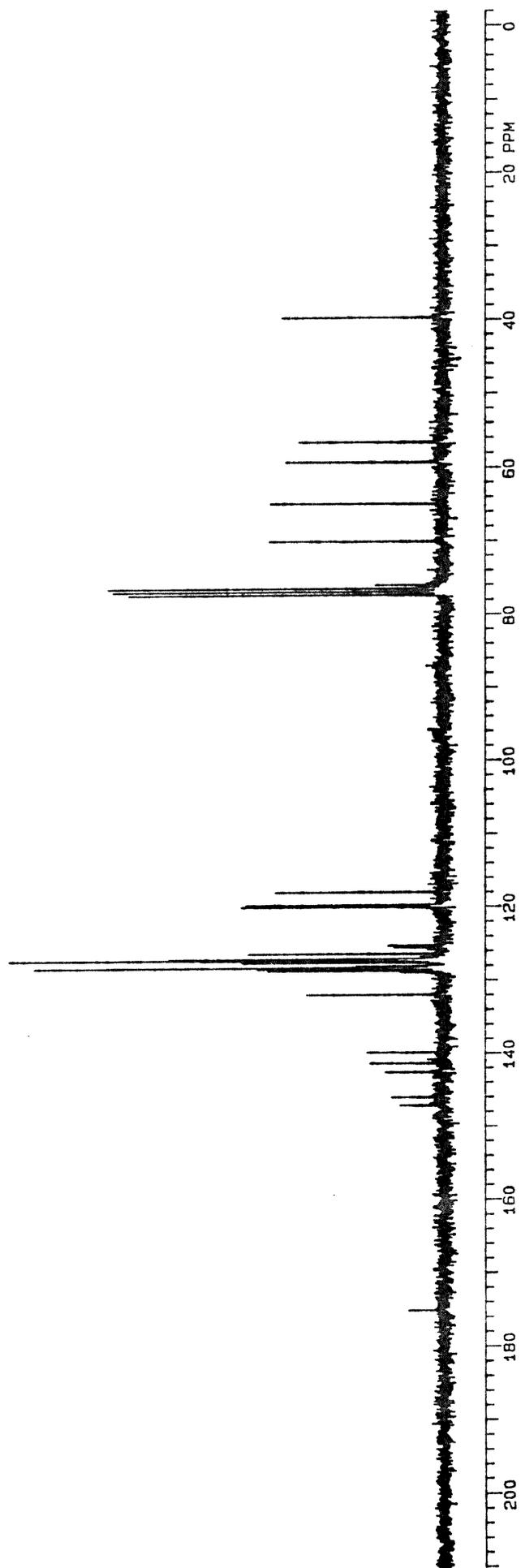
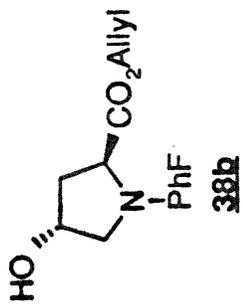
20% w/v in CDCl<sub>3</sub>, 40°C, 100 MHz, 10000 scans, PC-0.500  
 17.36 ppm, 100 MHz, 10000 scans, PC-0.500

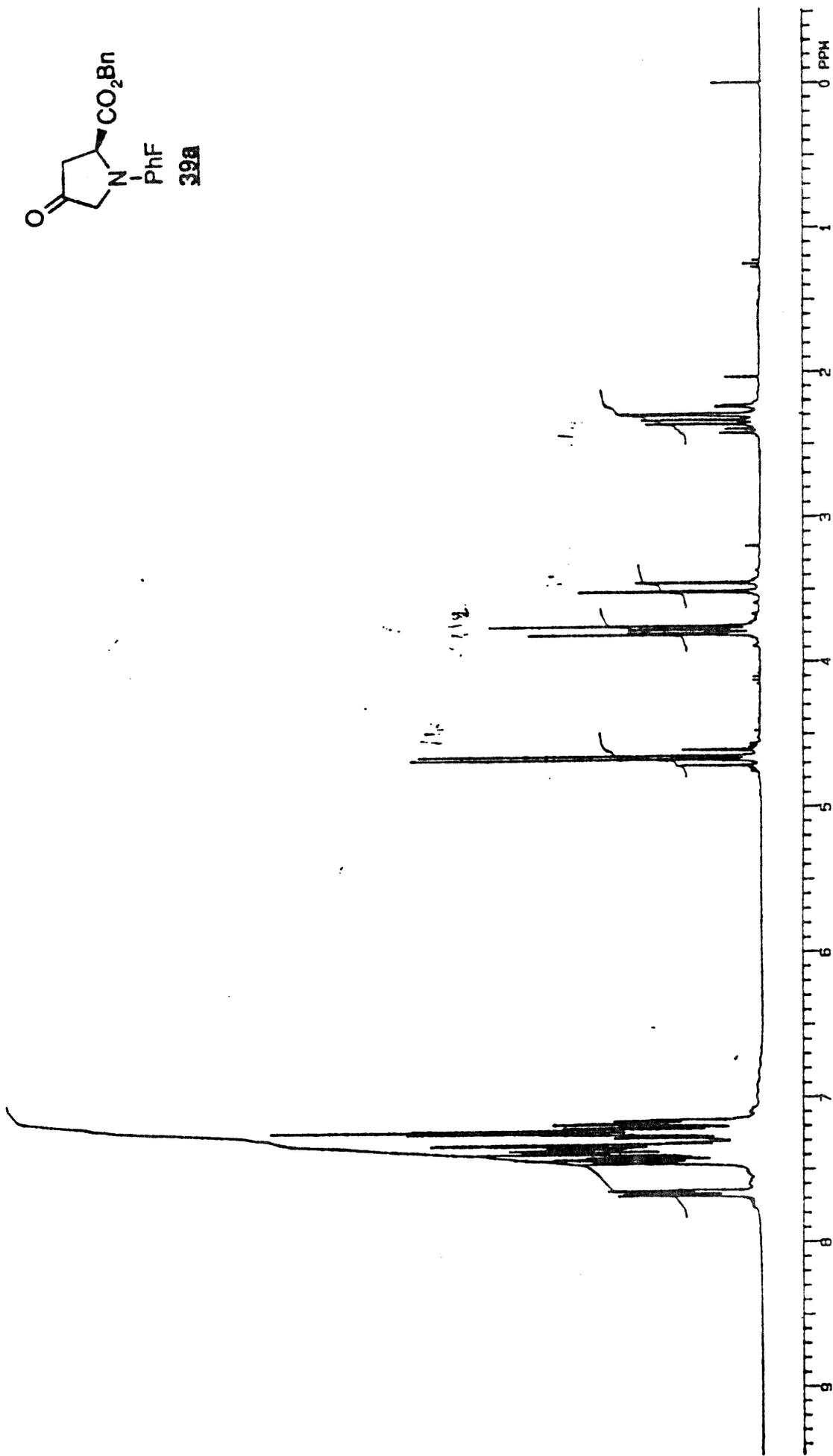
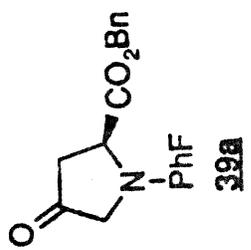
ADDRESS	FREQUENCY (MHz)	INTENSITY
1	19597.2	0.0102
2	19699.2	0.7007
3	20042.0	1.5001
4	20210.5	0.5575
5	20240.7	0.3307
6	20311.2	0.5190
7	20350.2	0.5003
8	22572.9	1.0202
9	22567.1	1.0150
10	22605.8	1.5073
11	22640.2	1.01256
12	23091.5	1.01210
13	23191.4	1.02226
14	23164.9	1.008106
15	23205.0	1.001292
16	24103.2	0.01077
17	24226.3	0.01612
18	24264.2	0.023906
19	24307.3	0.04729
20	24428.6	0.10397
21	24440.7	0.01011
22	24530.4	0.09071
23	24520.3	0.092410
24	24593.3	0.02015
25	24632.9	0.04070
26	24670.3	0.055067
27	24721.0	0.01011
28	24743.0	0.04001
29	24755.4	0.01010
30	24795.7	0.01055
31	27026.0	0.2004
32	27049.0	0.27000
33	27100.5	0.2500
34	27122.1	0.07000
35	27145.3	0.05079
36	27216.7	0.01003
37	27249.5	0.04055
38	27270.5	0.05005

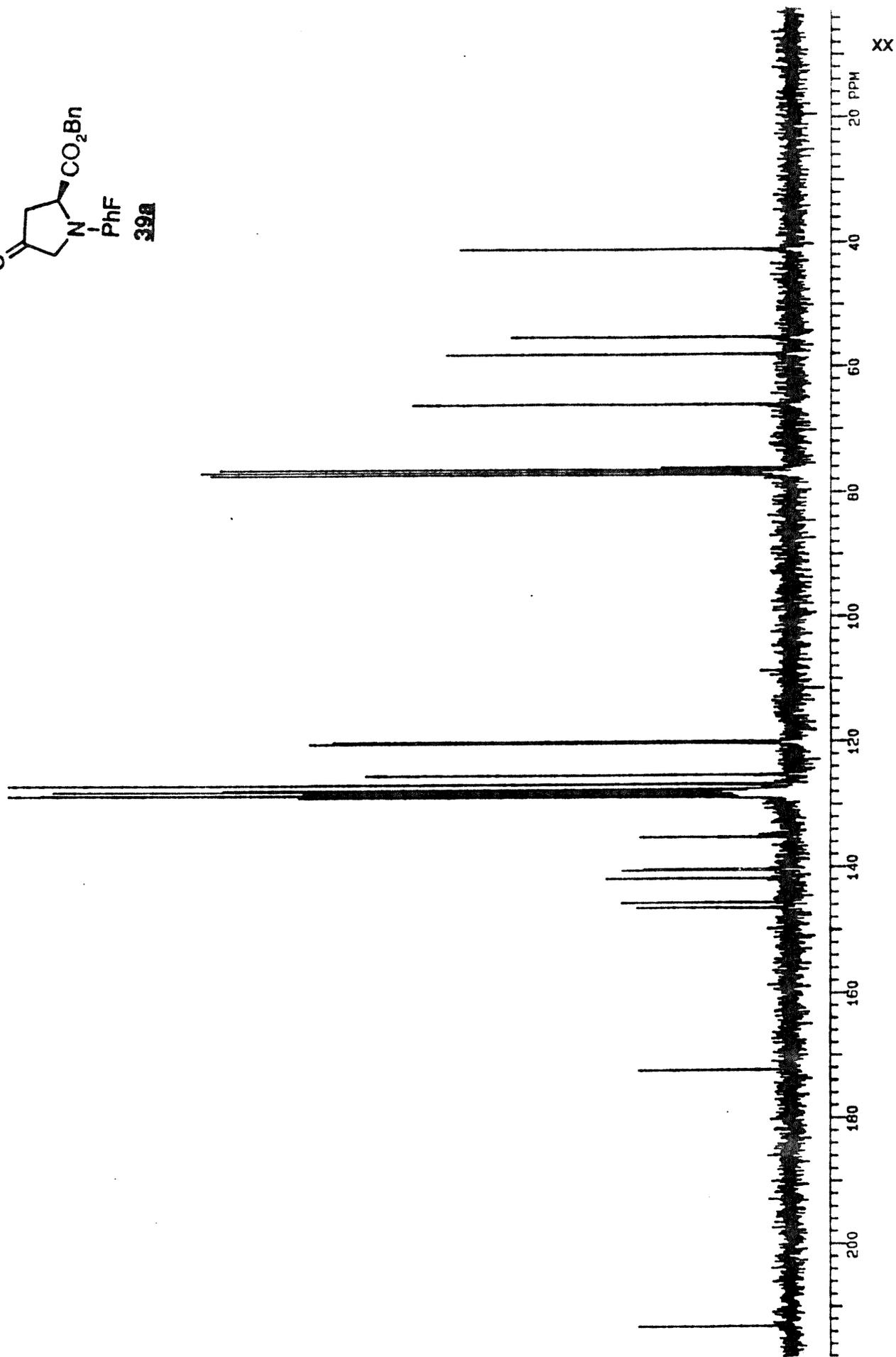
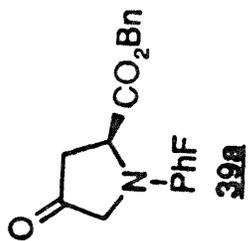


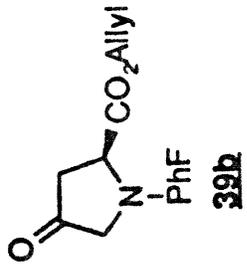




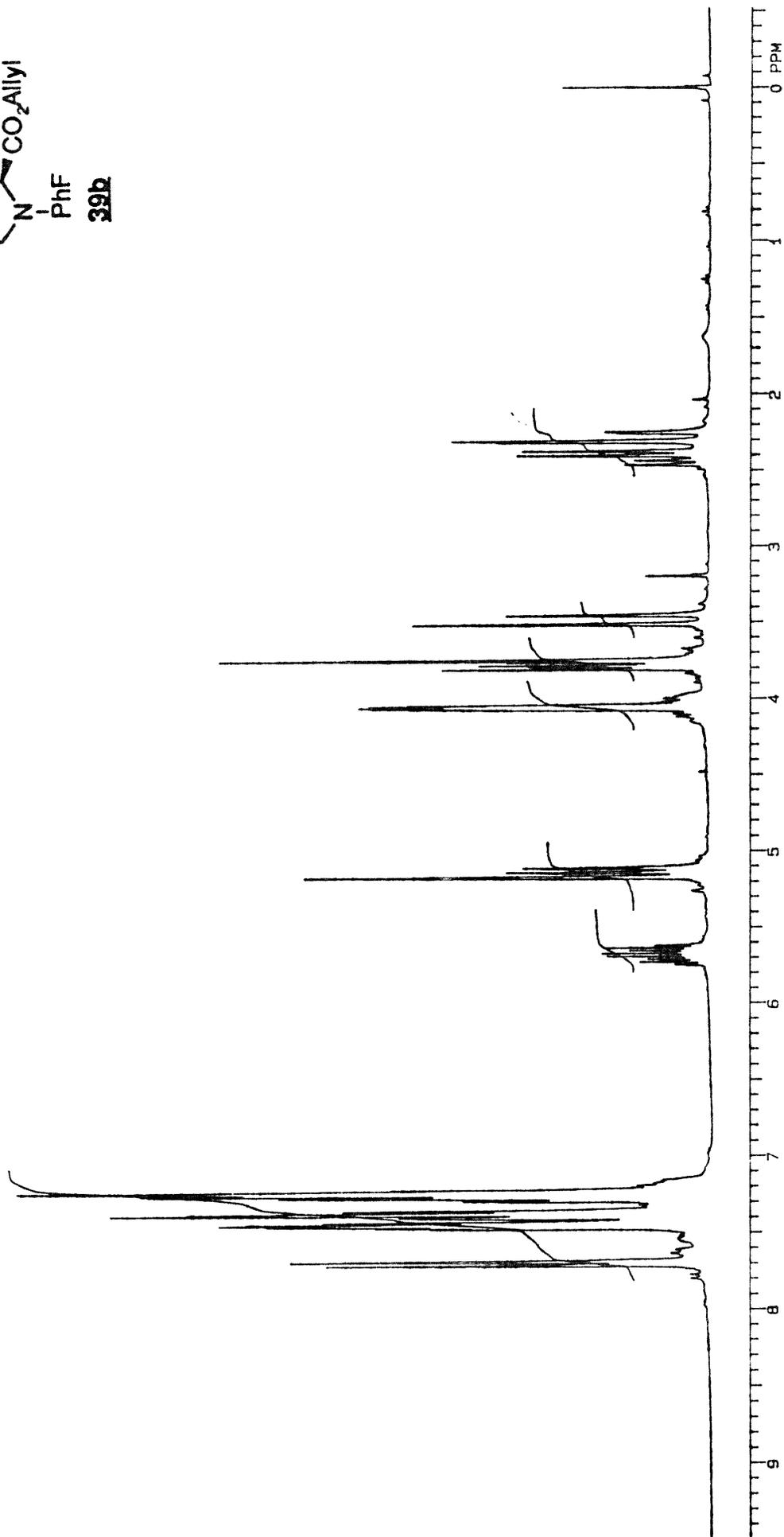


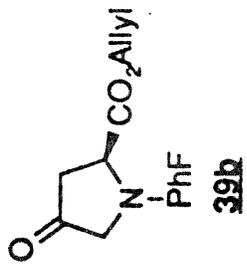




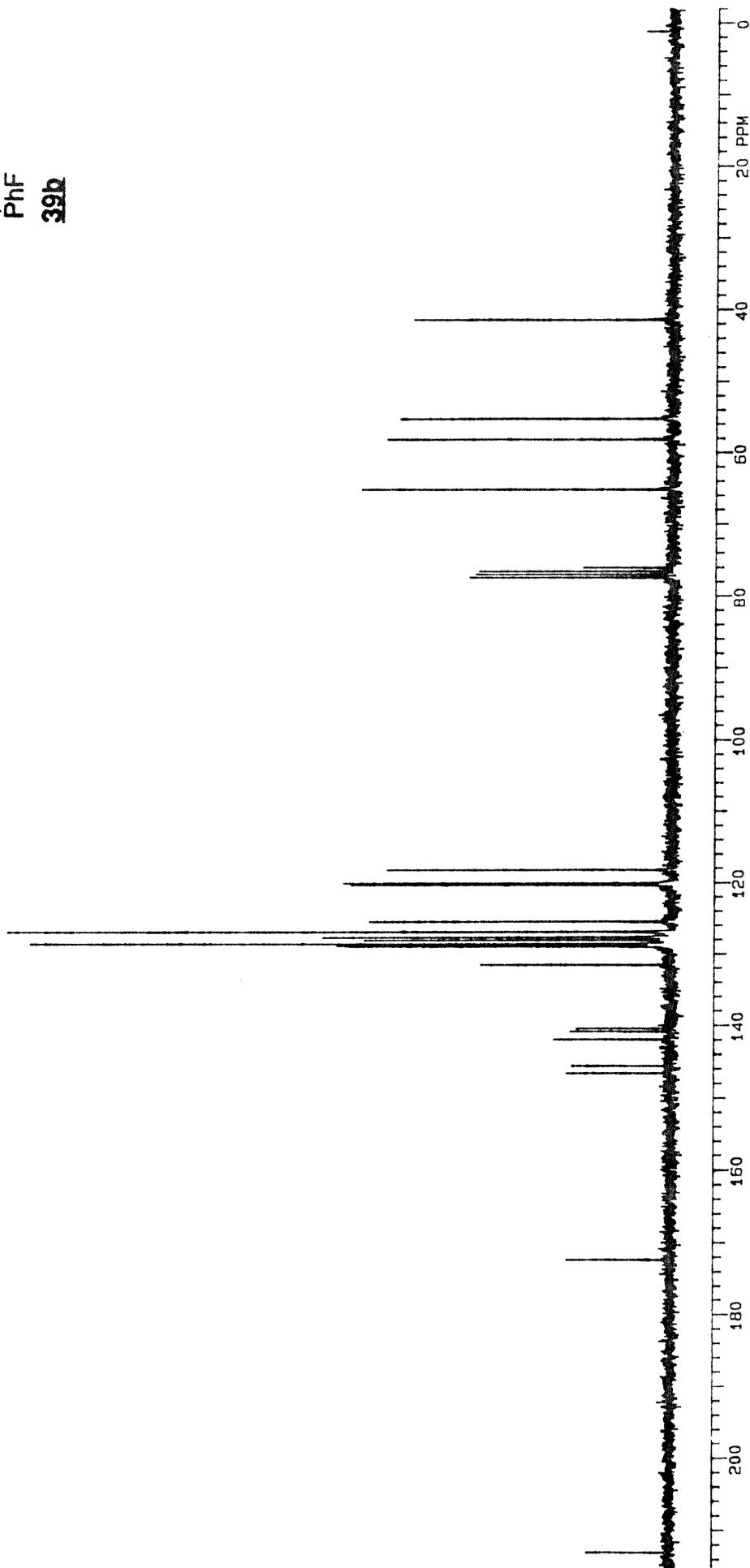


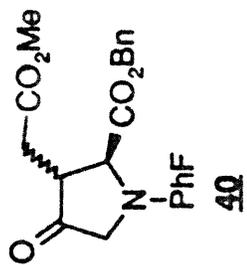
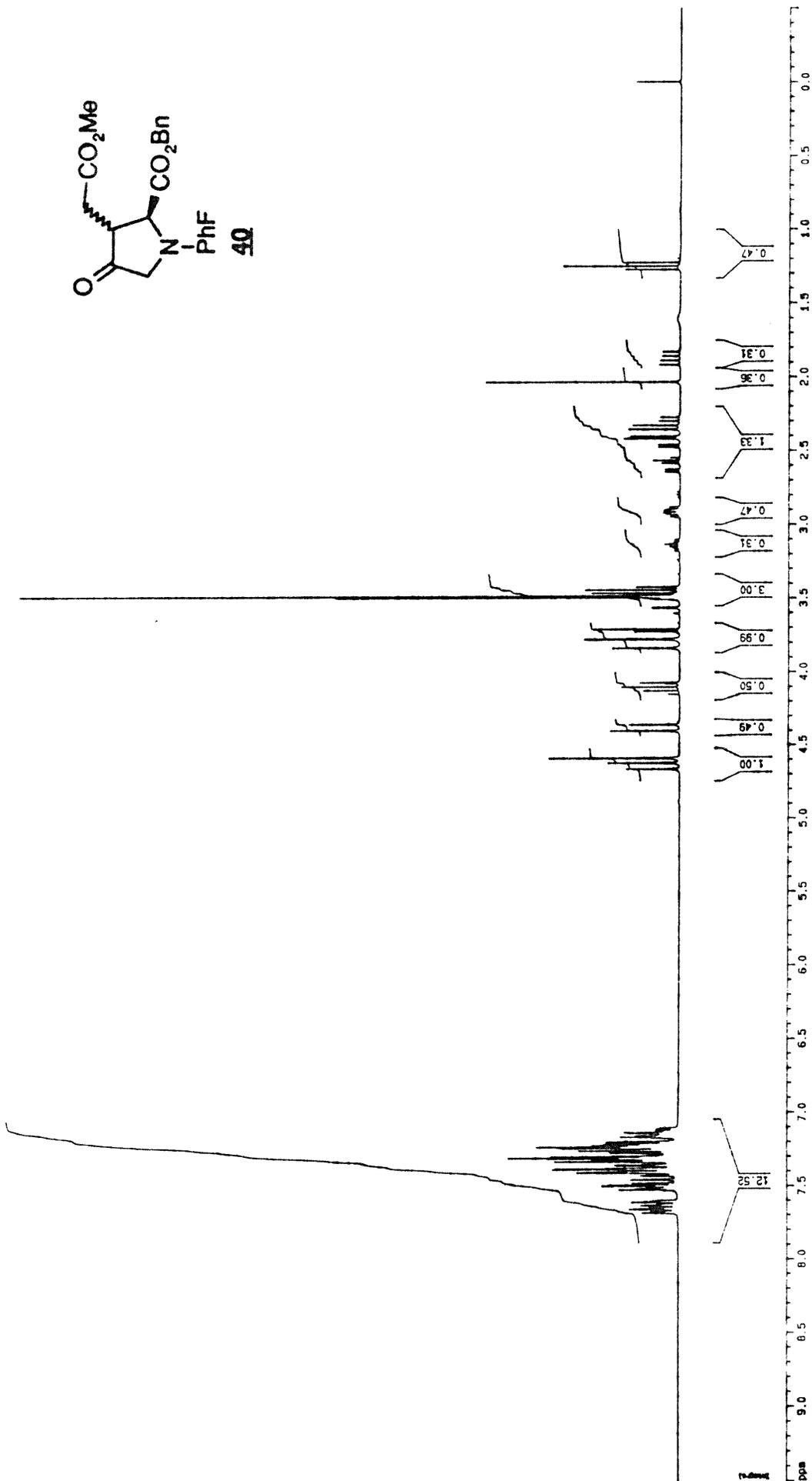
39b

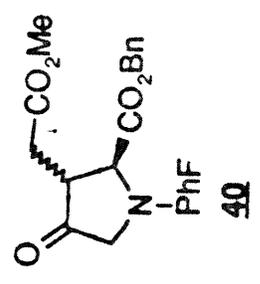




39b

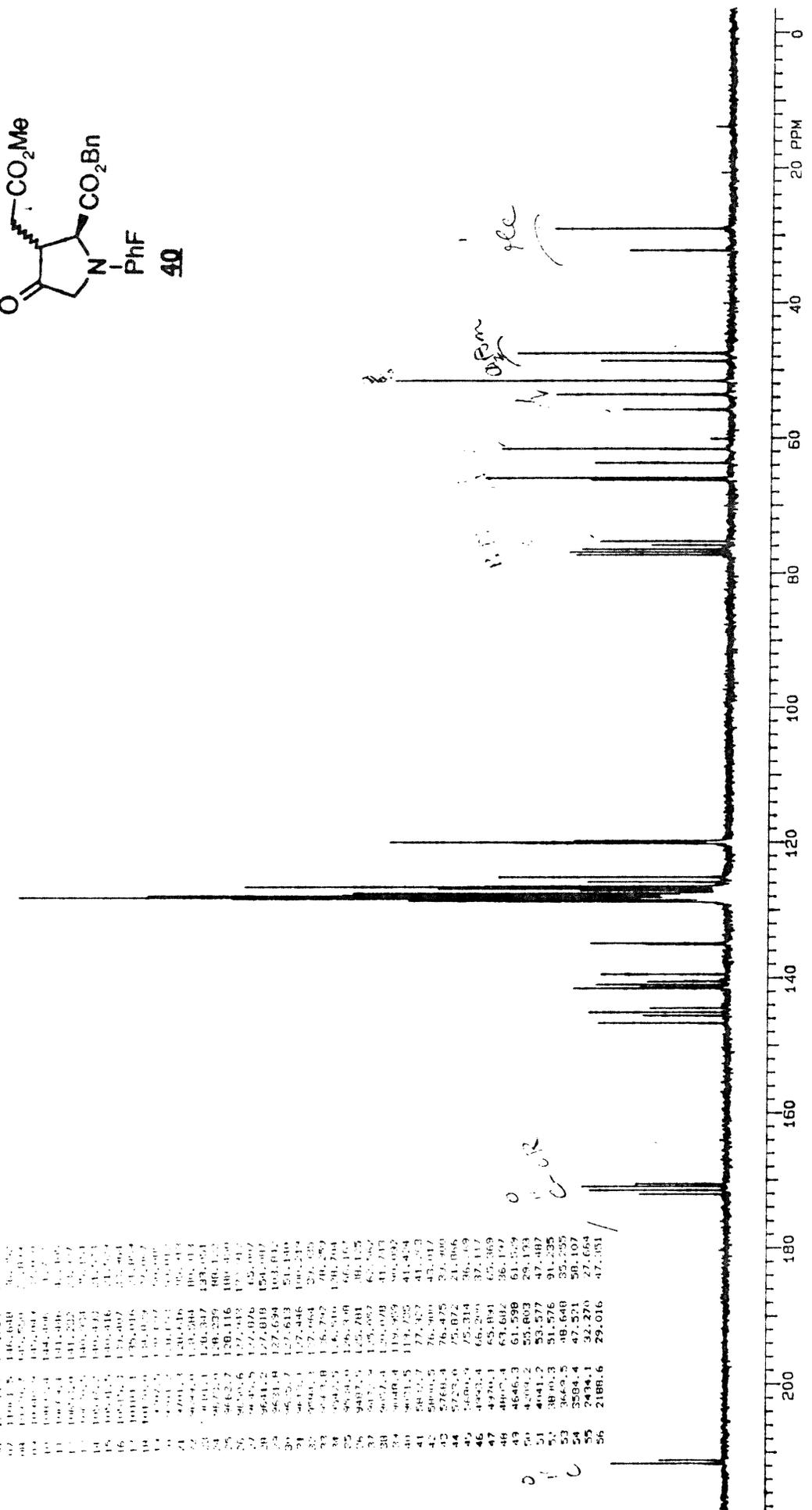






13C NMR (CDCl3) δ (ppm):

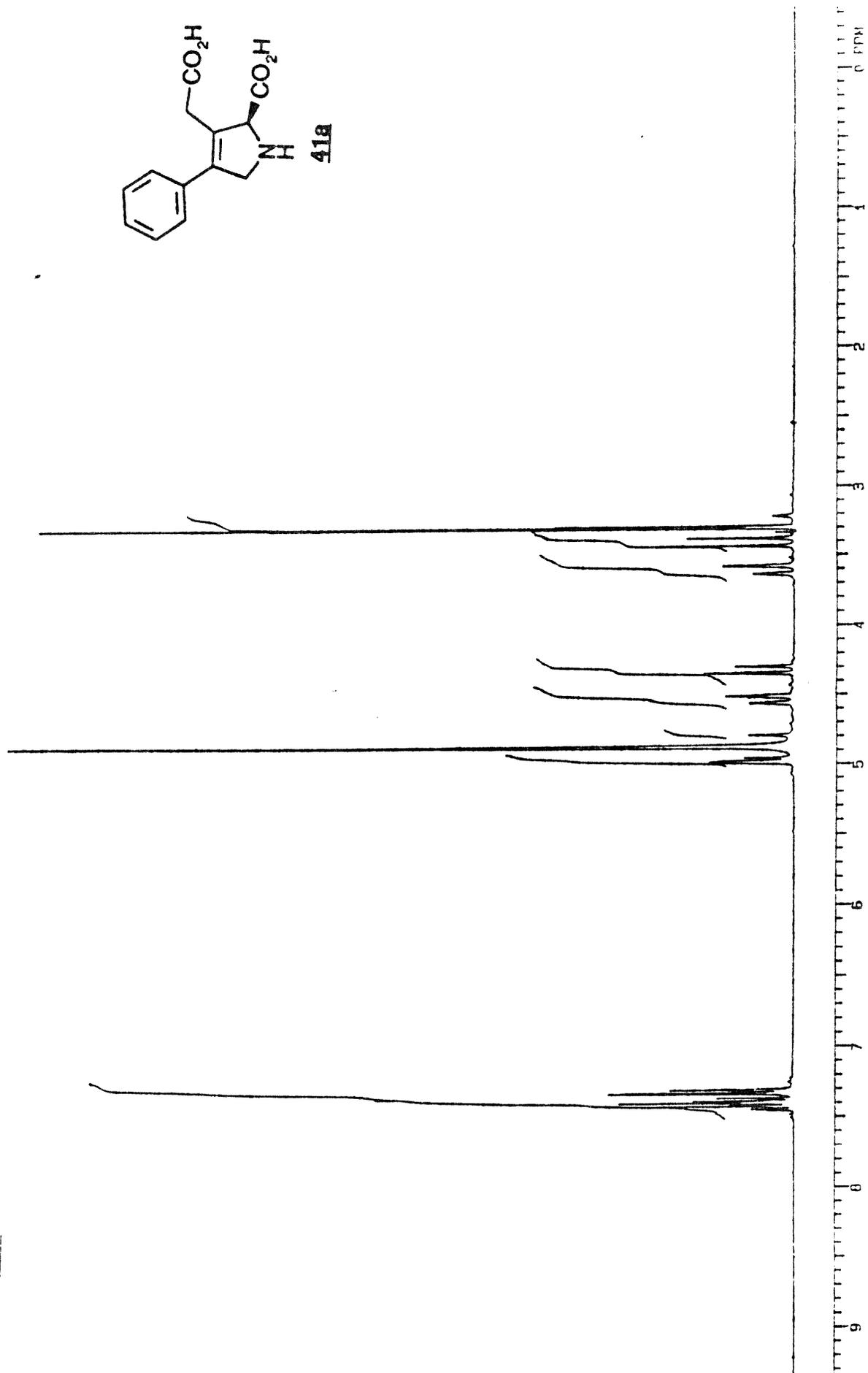
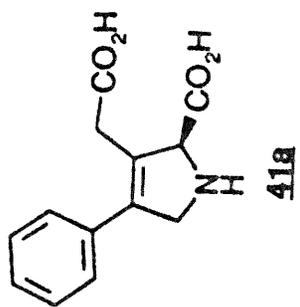
Number	Chemical Shift (ppm)	Intensity
1	154.3	41.607
2	153.3	41.130
3	152.5	47.657
4	152.1	47.015
5	151.9	46.574
6	150.8	47.436
7	149.6	46.554
8	148.2	46.553
9	148.1	46.648
10	147.5	46.552
11	147.5	46.550
12	147.5	46.614
13	146.5	46.614
14	146.4	46.606
15	146.4	46.606
16	146.3	46.606
17	146.3	46.606
18	146.3	46.606
19	146.3	46.606
20	146.3	46.606
21	146.3	46.606
22	146.3	46.606
23	146.3	46.606
24	146.3	46.606
25	146.3	46.606
26	146.3	46.606
27	146.3	46.606
28	146.3	46.606
29	146.3	46.606
30	146.3	46.606
31	146.3	46.606
32	146.3	46.606
33	146.3	46.606
34	146.3	46.606
35	146.3	46.606
36	146.3	46.606
37	146.3	46.606
38	146.3	46.606
39	146.3	46.606
40	146.3	46.606
41	146.3	46.606
42	146.3	46.606
43	146.3	46.606
44	146.3	46.606
45	146.3	46.606
46	146.3	46.606
47	146.3	46.606
48	146.3	46.606
49	146.3	46.606
50	146.3	46.606
51	146.3	46.606
52	146.3	46.606
53	146.3	46.606
54	146.3	46.606
55	146.3	46.606
56	146.3	46.606

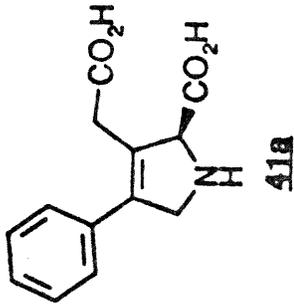


PhF

CO2Bn

CO2Me



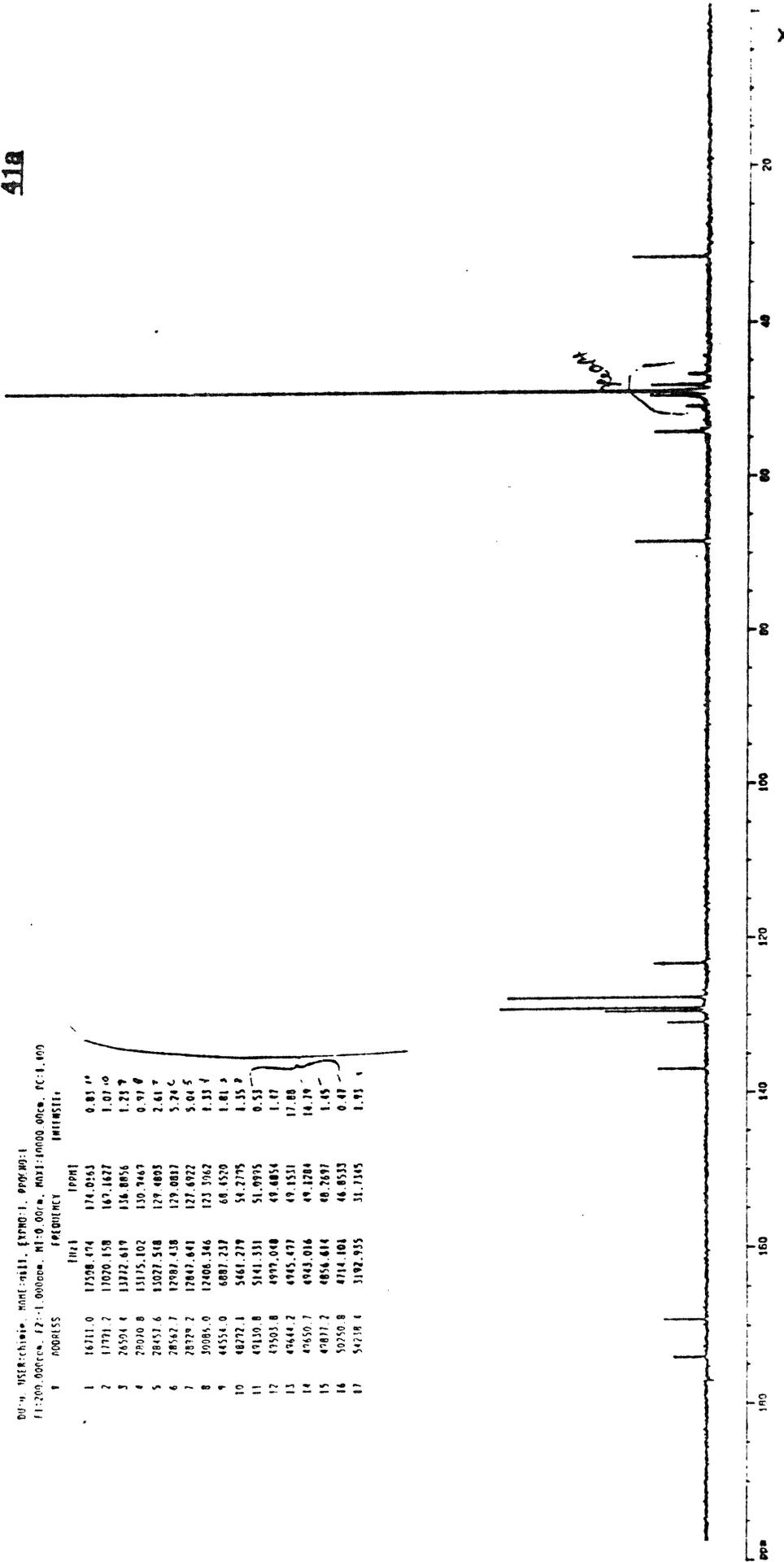


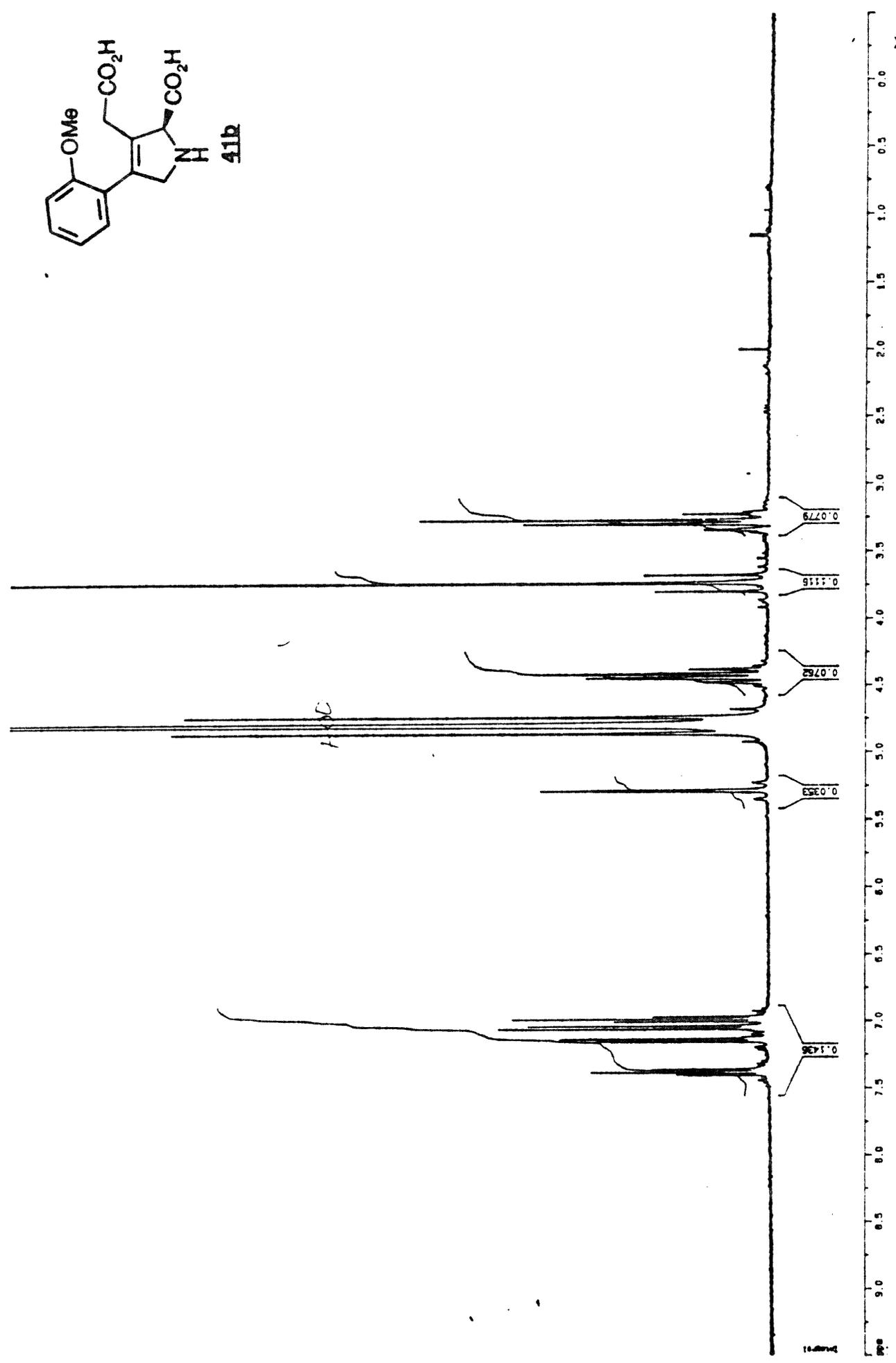
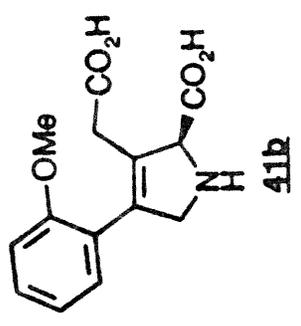
Tue Feb 21 11:11:25 1995

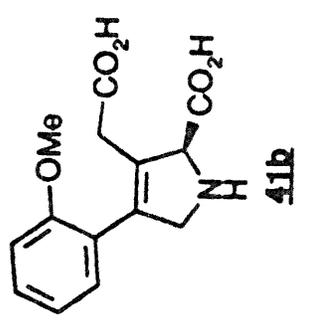
~/data/chem/mr/411/odata/1/Screen

DU: g, USER: chioe, NAME: 411, EXPNO: 1, PROCNO: 1  
 F1: 200.000cc, F2: 1.00000cc, M1: 0.00cc, M2: 1.00000cc, PC: 1.00

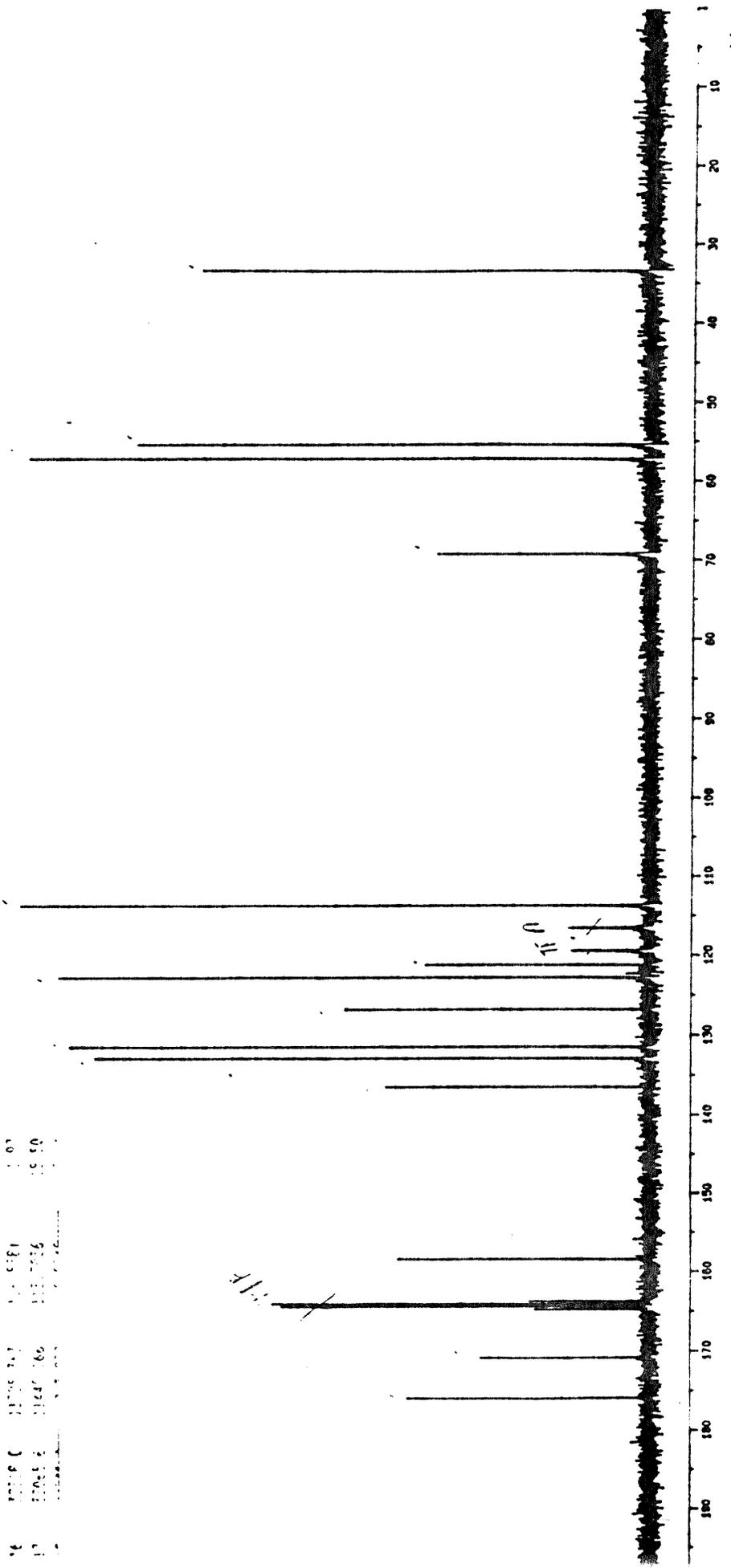
V	ADDRESS	FREQUENCY	INHz	PPPM	INTENSITY
1	16211.0	17598.074	174.0163	0.83	14
2	17771.2	17070.158	167.1627	1.07	10
3	26591.4	13272.619	136.8856	1.23	9
4	29010.8	13175.102	130.7462	0.97	8
5	28451.6	13027.518	129.4803	2.61	7
6	28562.7	12987.438	129.0817	5.24	6
7	28329.2	12847.641	127.6922	5.04	5
8	30086.0	12406.346	123.3062	1.33	4
9	44554.0	6887.237	68.6520	1.81	3
10	48272.1	5461.279	54.2795	1.35	2
11	49130.8	5141.331	51.9935	0.53	1
12	49503.8	4997.000	49.4856	1.47	1
13	49644.2	4945.477	49.1531	17.88	1
14	49650.7	4943.016	49.1284	14.39	1
15	49871.2	4856.814	48.2697	1.45	1
16	50750.8	4714.303	46.8533	0.47	1
17	54738.4	3192.955	31.7345	1.93	1

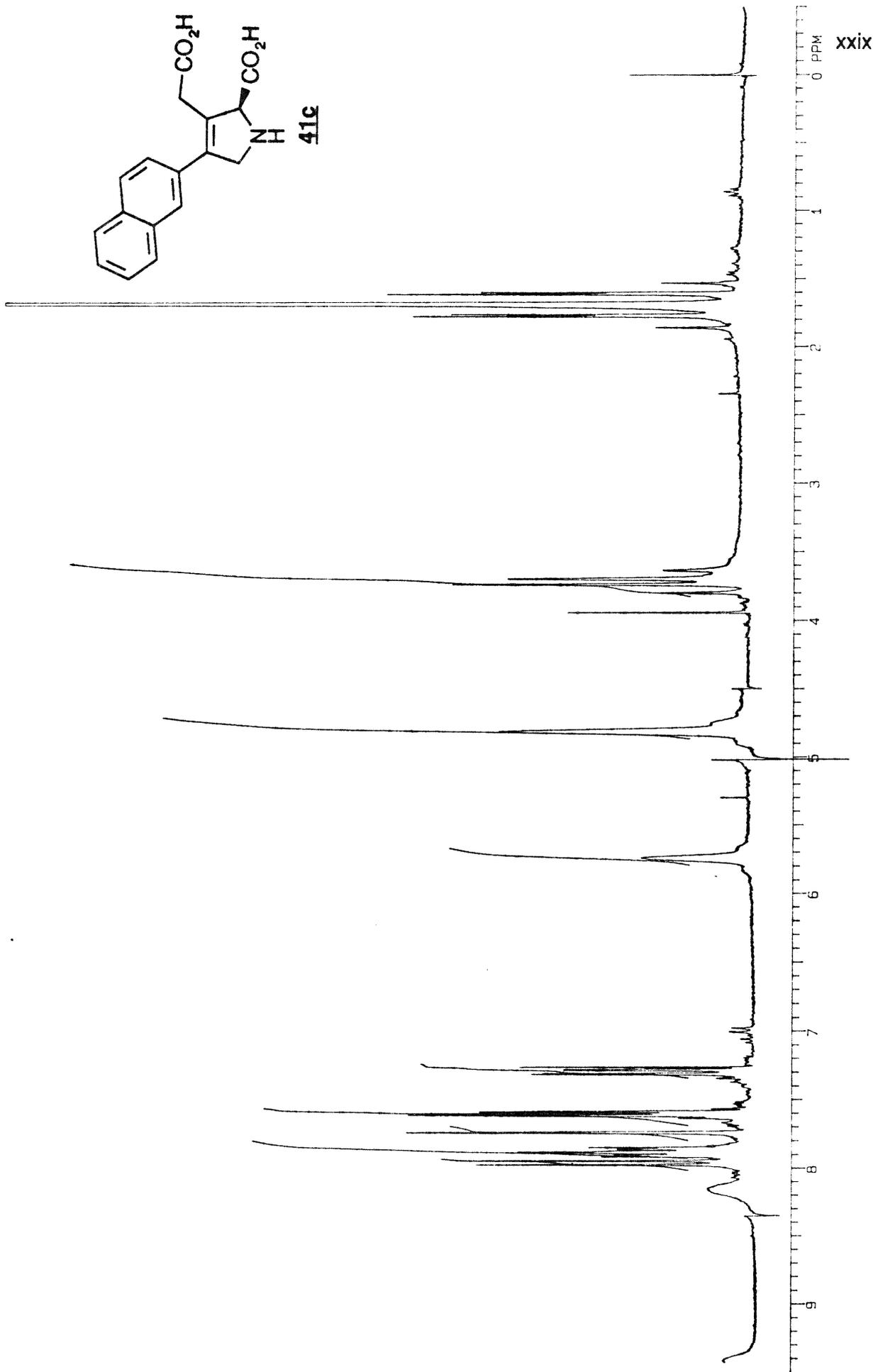
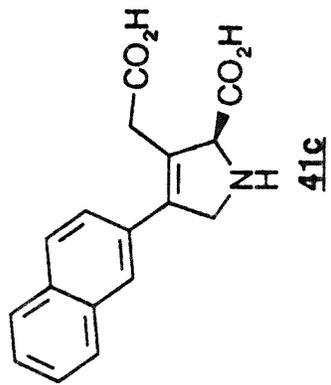


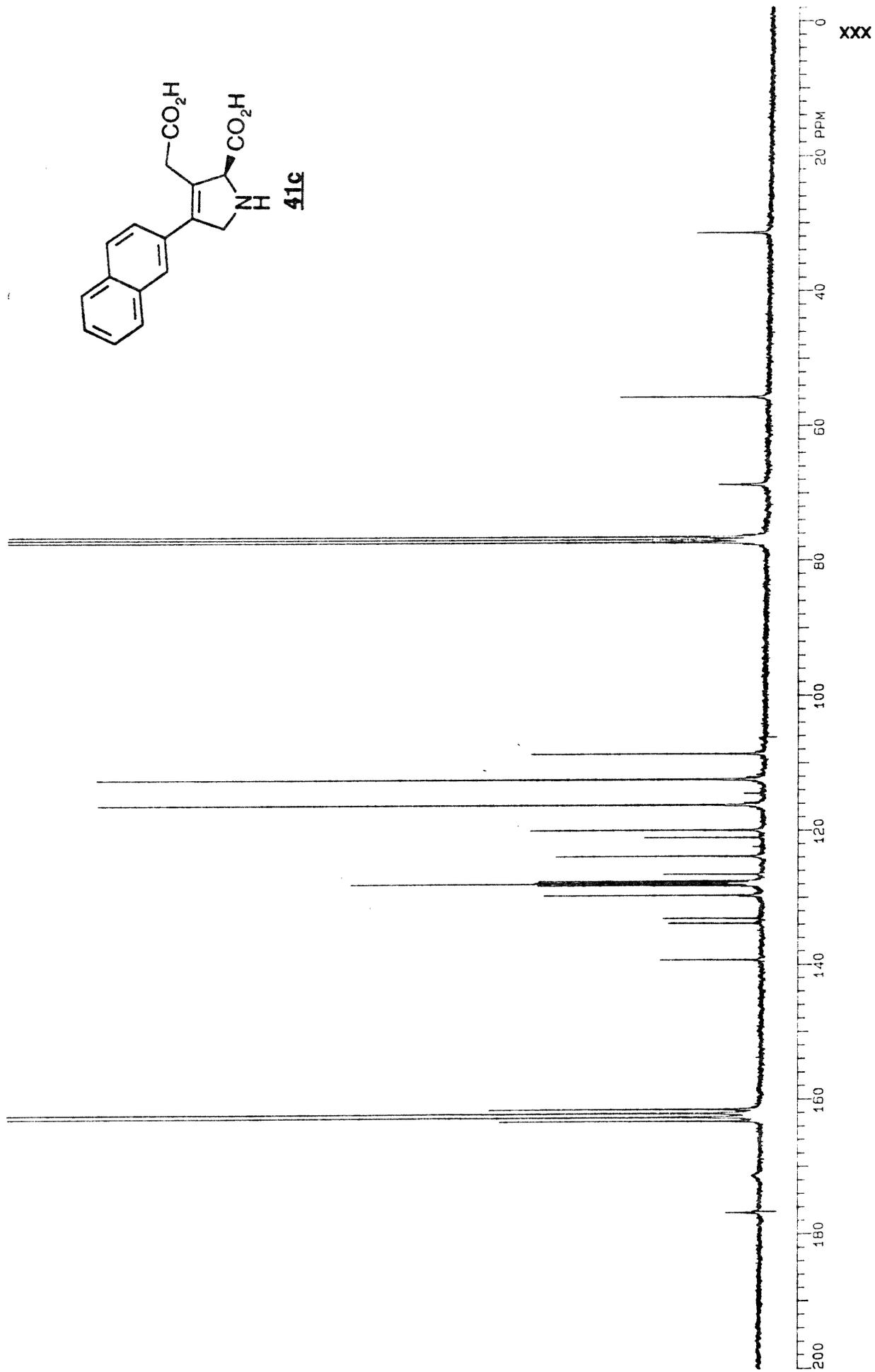
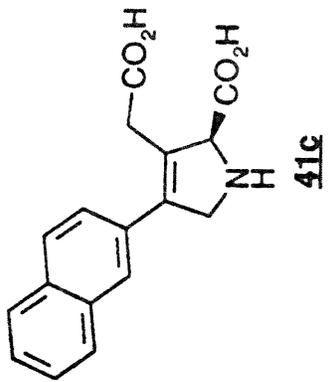




Assignment	Frequency (cm <sup>-1</sup> )	Intensity	
1	3445.7	175.8072	5.55
2	3070.3	170.7069	2.11
3	3036.2	166.7021	2.82
4	2970.7	164.3715	8.01
5	1670.0	164.1180	0.05
6	1602.4	162.4902	1.02
7	1570.0	155.3804	6.68
8	1562.6	154.6574	2.52
9	1520.5	151.6580	13.74
10	1515.3	151.4470	14.11
11	1510.7	150.7902	7.49
12	1472.4	146.8142	2.12
13	1462.7	146.3587	1.50
14	1422.0	141.2104	5.41
15	1355.0	136.3328	1.91
16	1310.6	132.5381	1.01
17	1265.2	127.7036	15.50



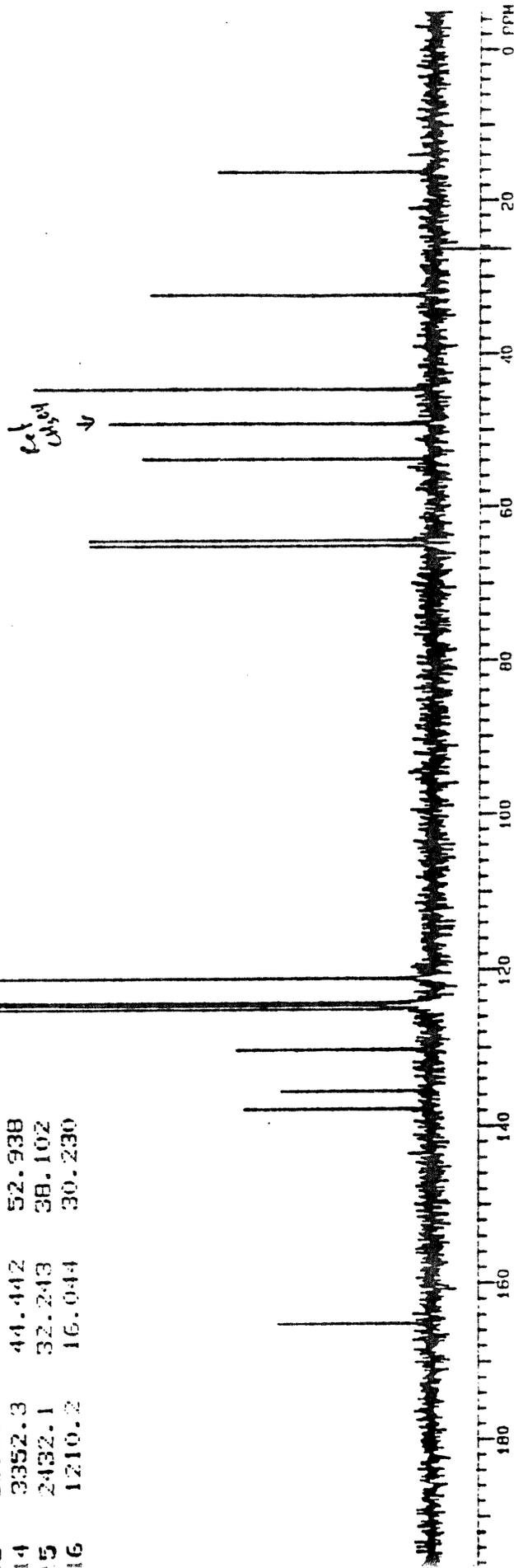
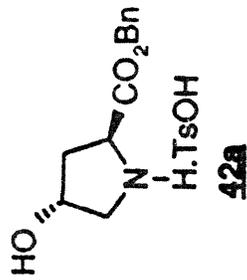


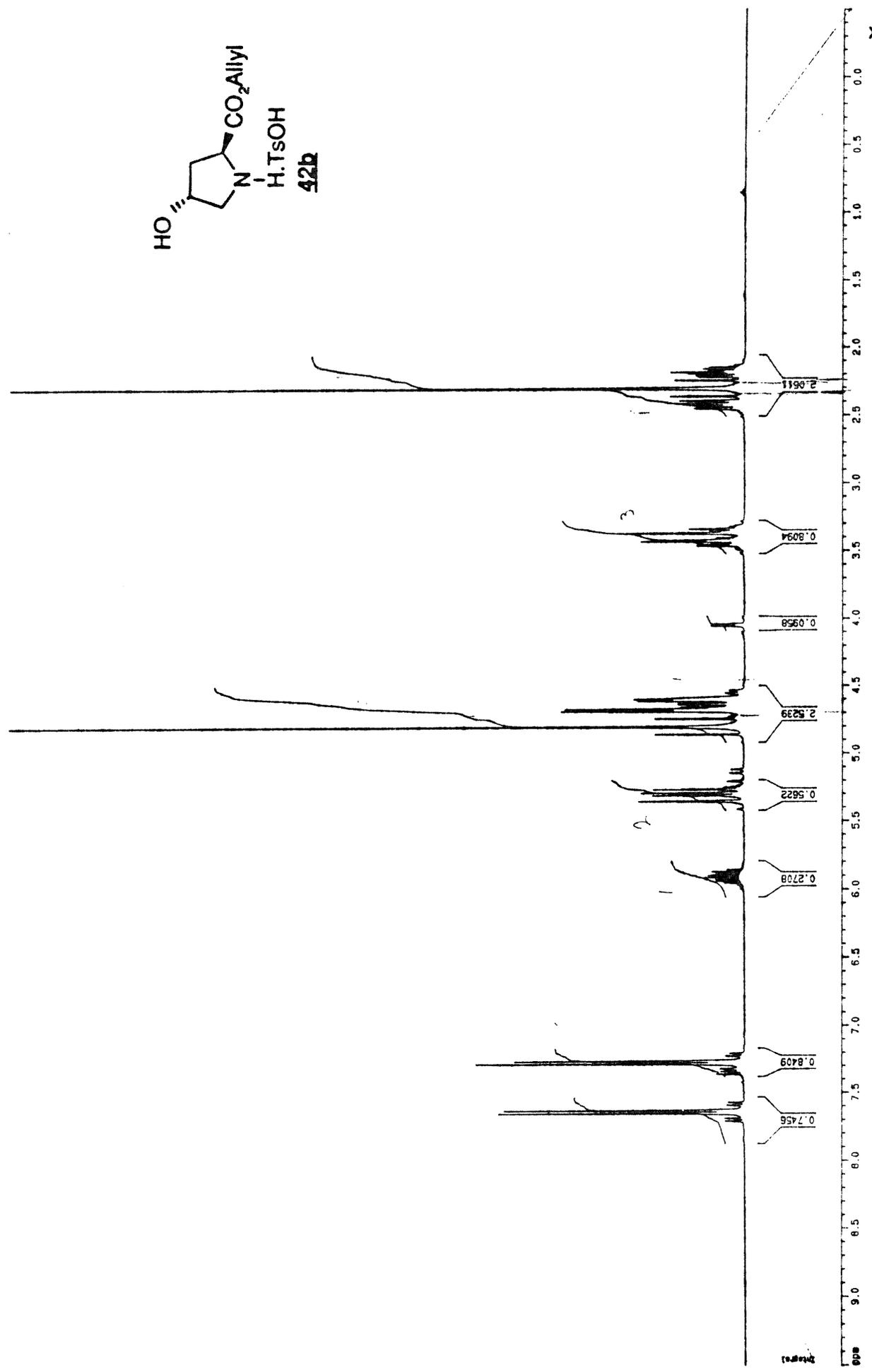
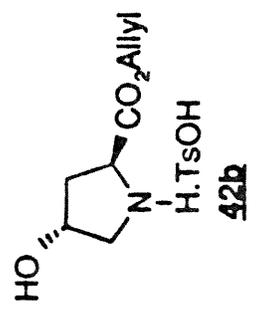


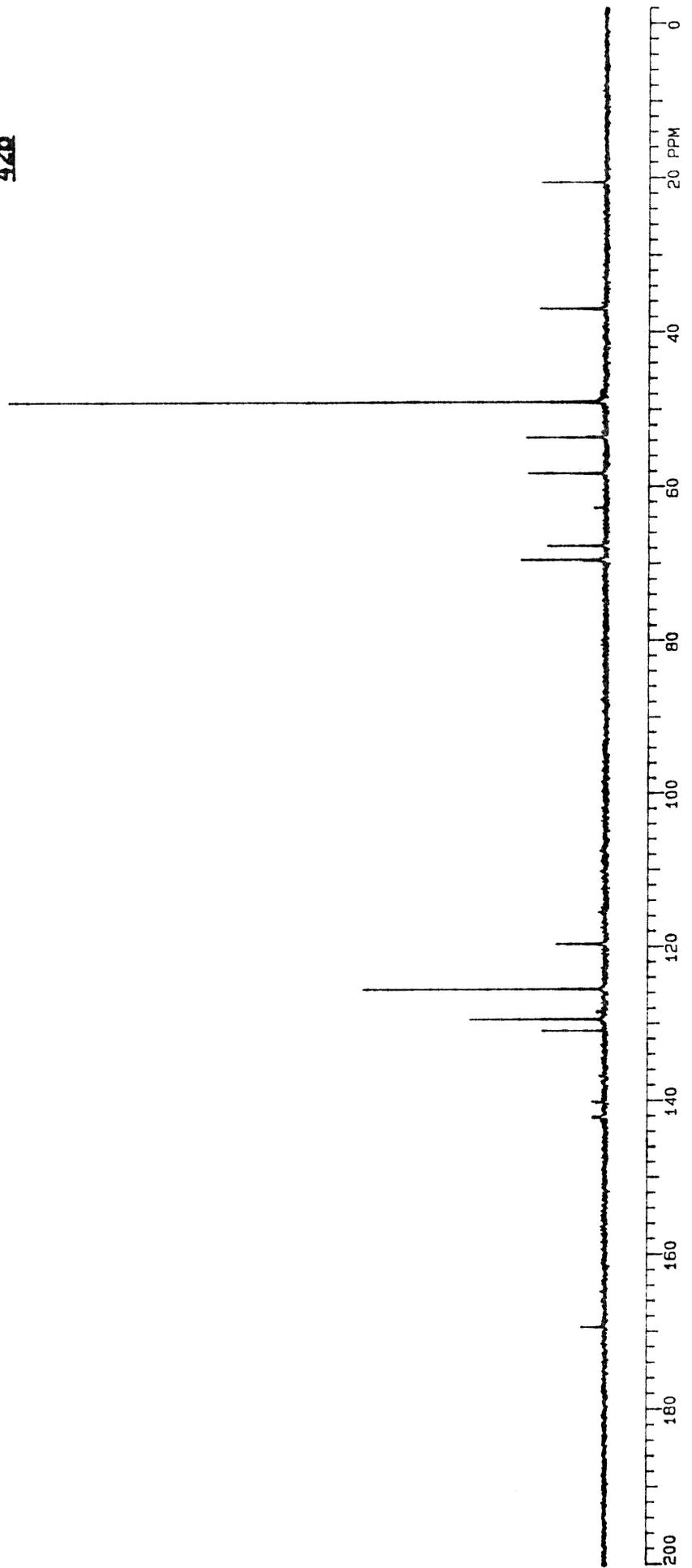
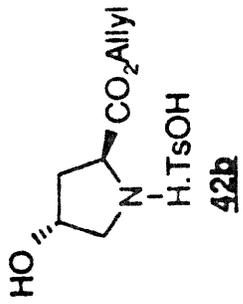


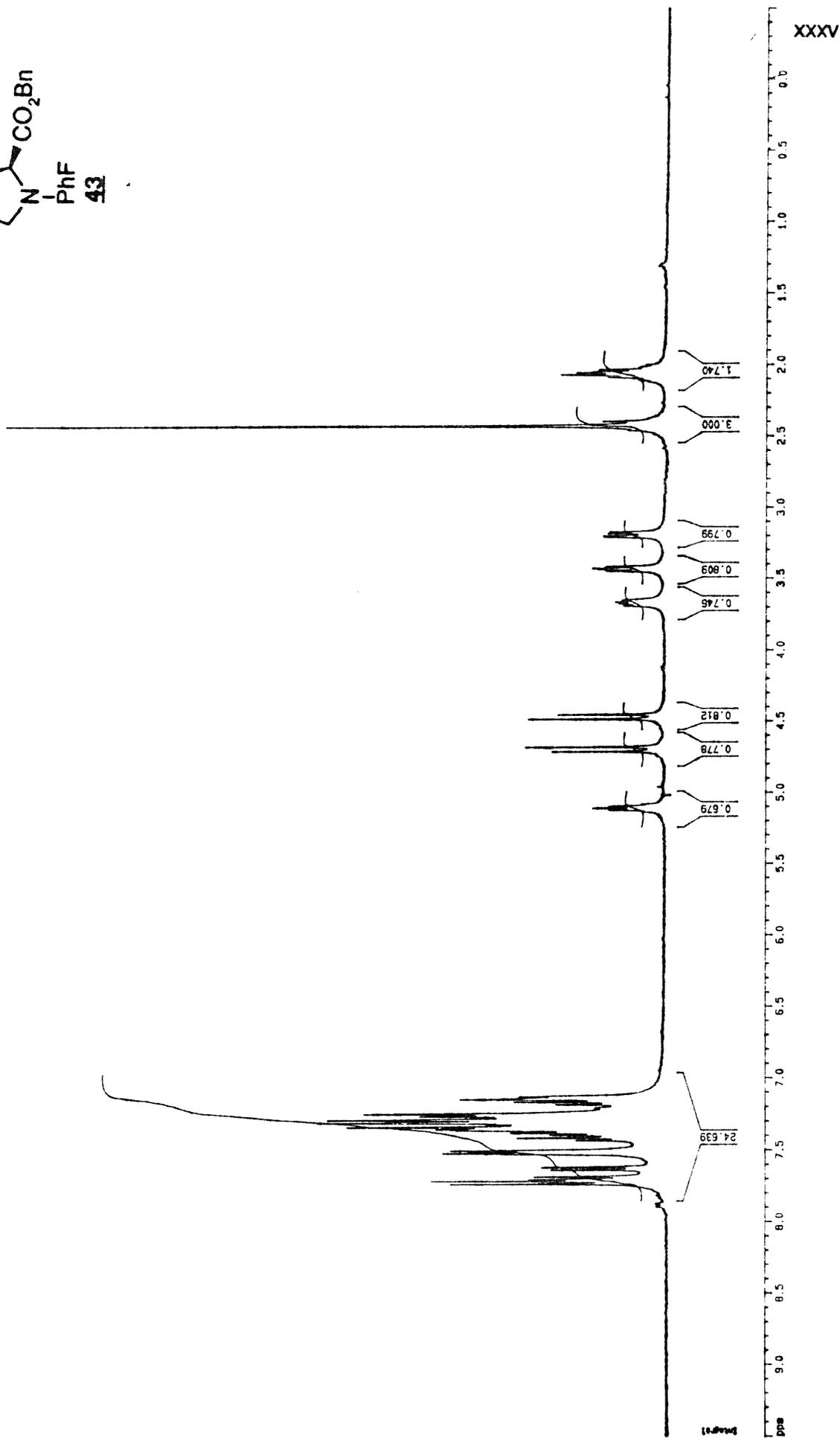
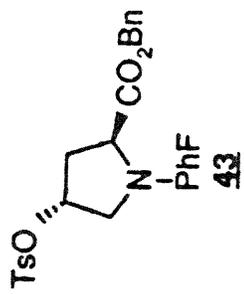
SPECTRE DE C-13 DE ROUTINE  
 CENTRAL LINES FOR TH= 15.42  
 RFL= 4614.5 RFF= 3696.0

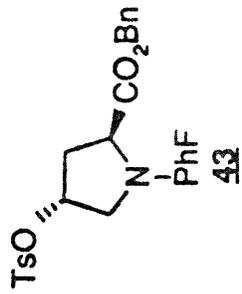
INDEX	FREQ	PPM	INTENSITY
1	12439.1	164.511	20.886
2	10378.8	137.597	25.523
3	10206.2	135.308	19.979
4	9808.6	130.037	26.131
5	9418.9	124.871	98.514
6	9386.3	124.438	51.346
7	9379.8	124.352	98.784
8	9352.6	123.992	94.006
9	9120.4	120.913	97.808
10	4893.6	64.877	45.423
11	4839.7	64.162	45.385
12	4044.6	53.621	38.850
13	3696.0	49.000	42.787
14	3352.3	44.442	52.938
15	2432.1	32.243	38.102
16	1210.2	16.044	30.230

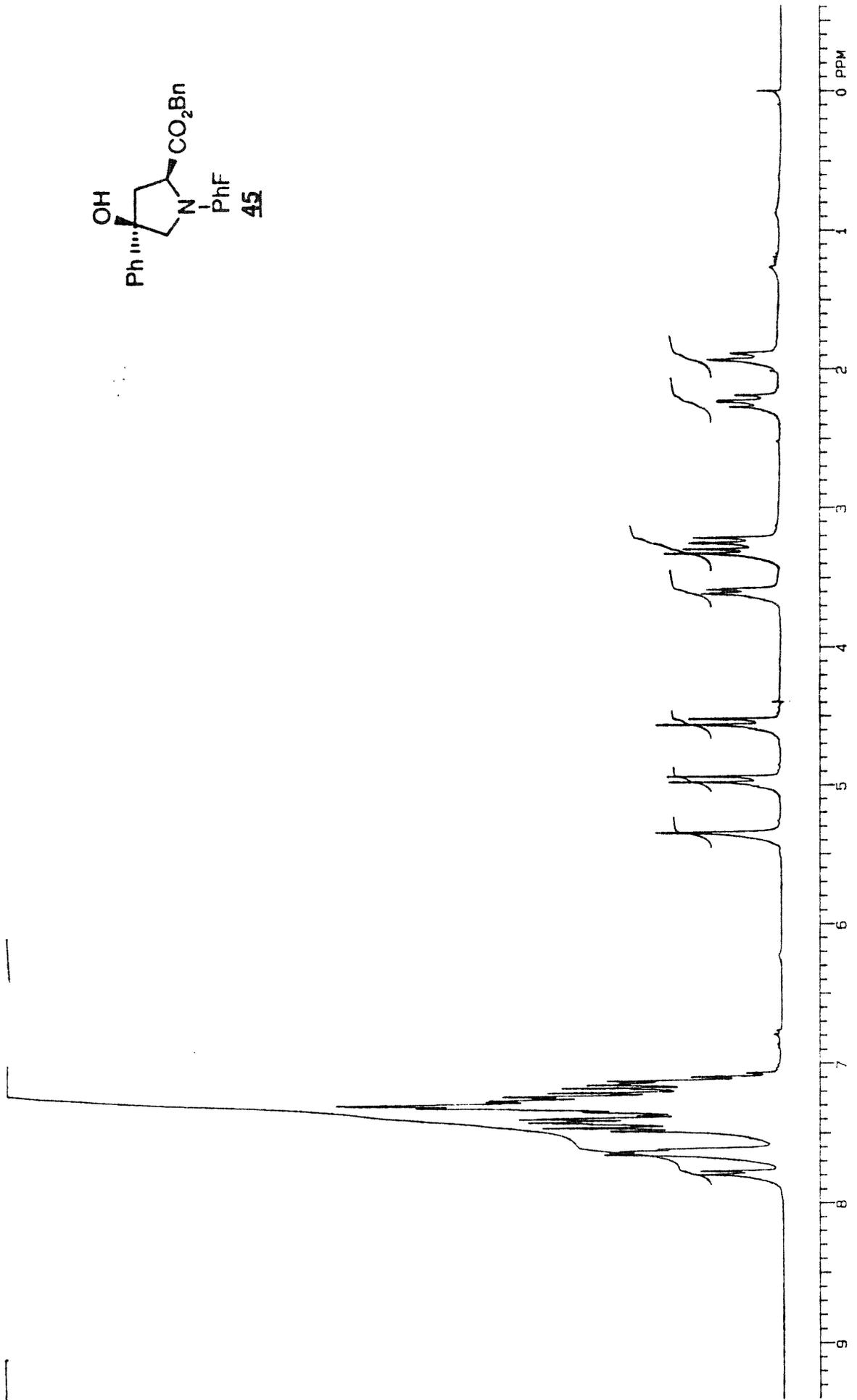
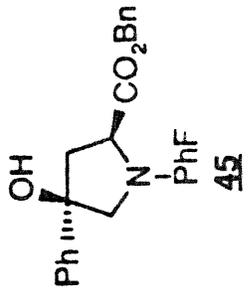


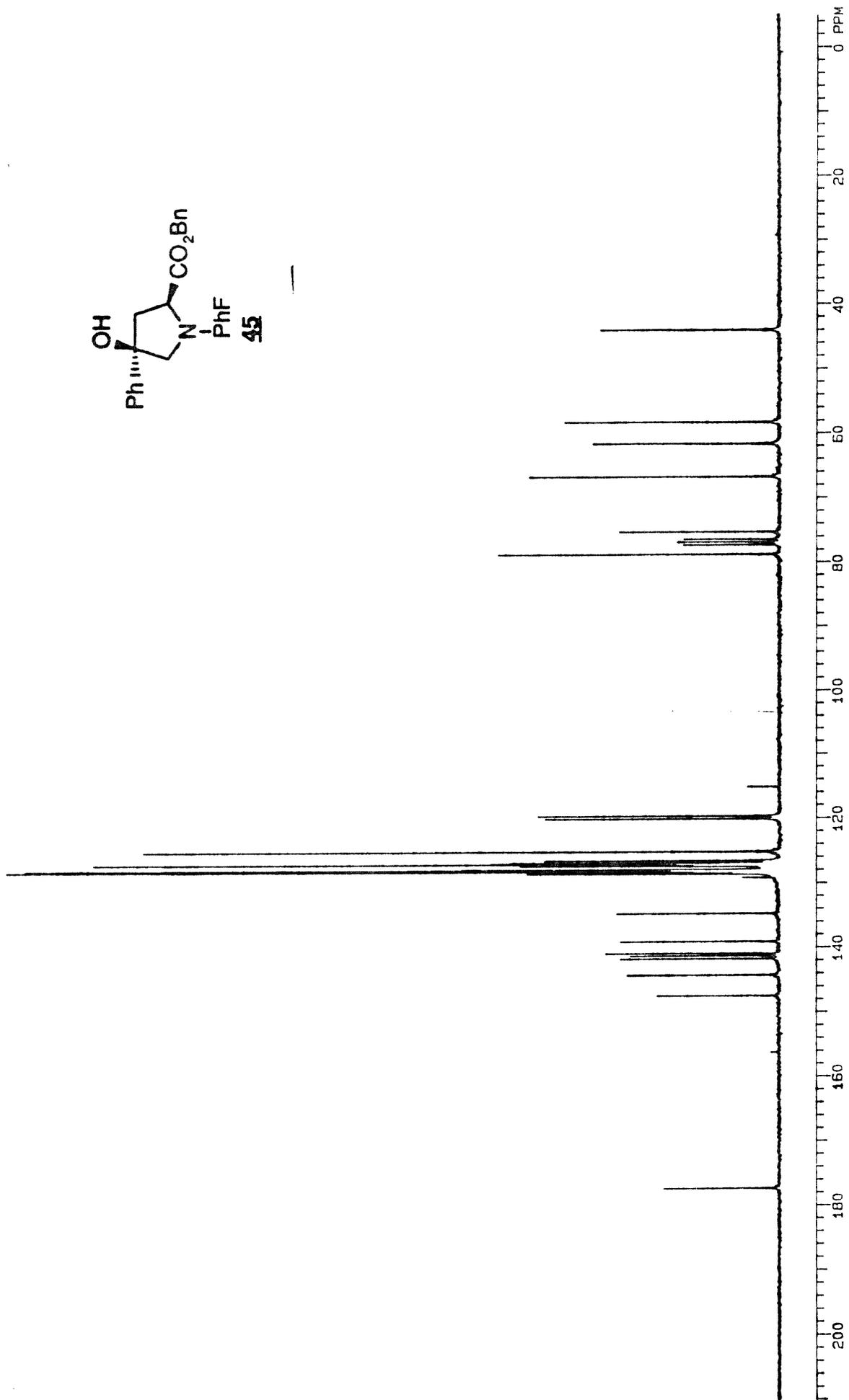
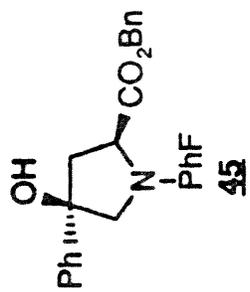




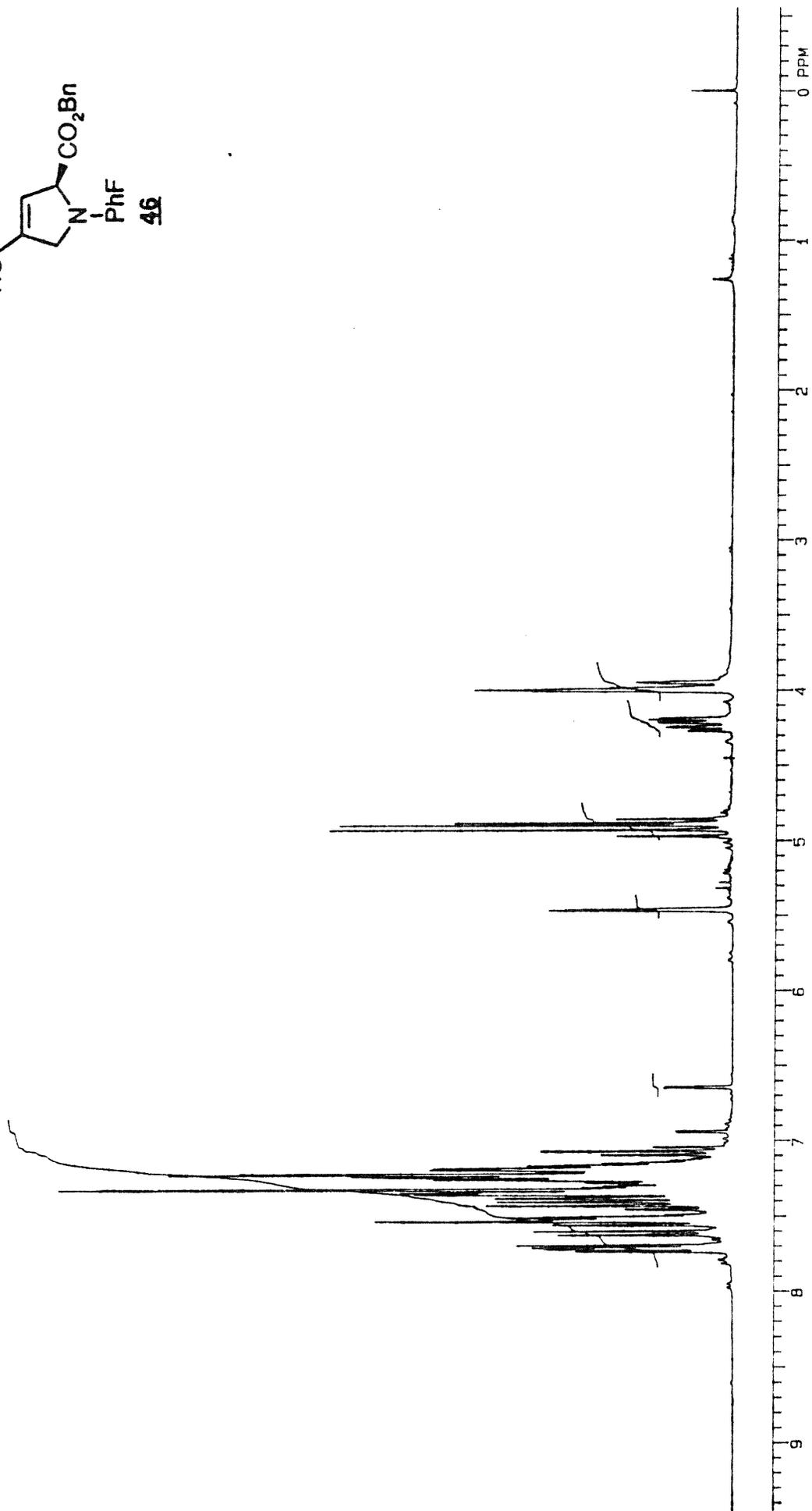
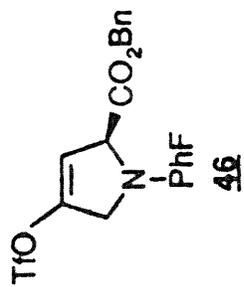






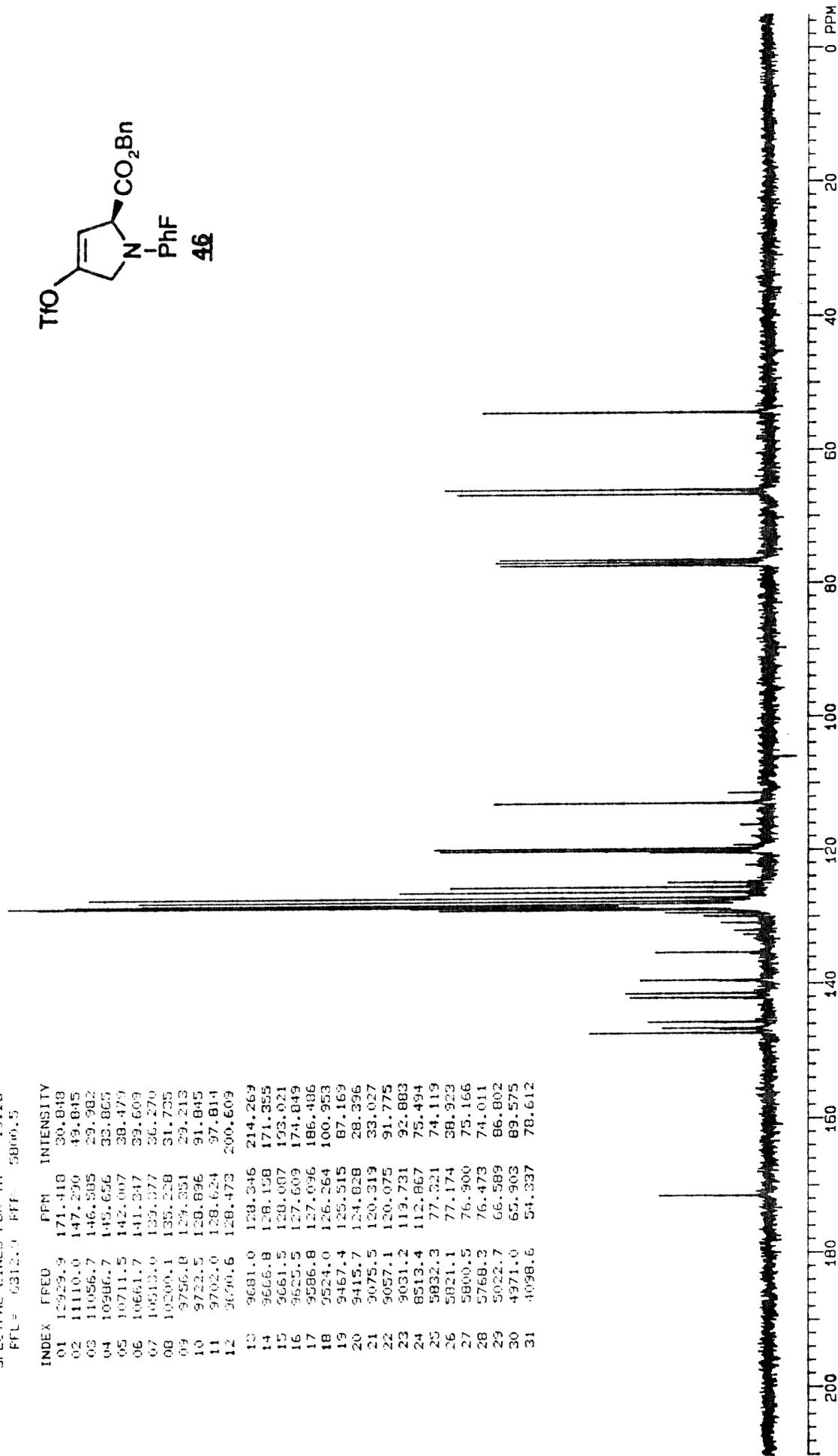
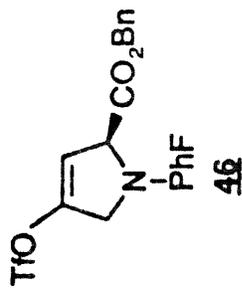


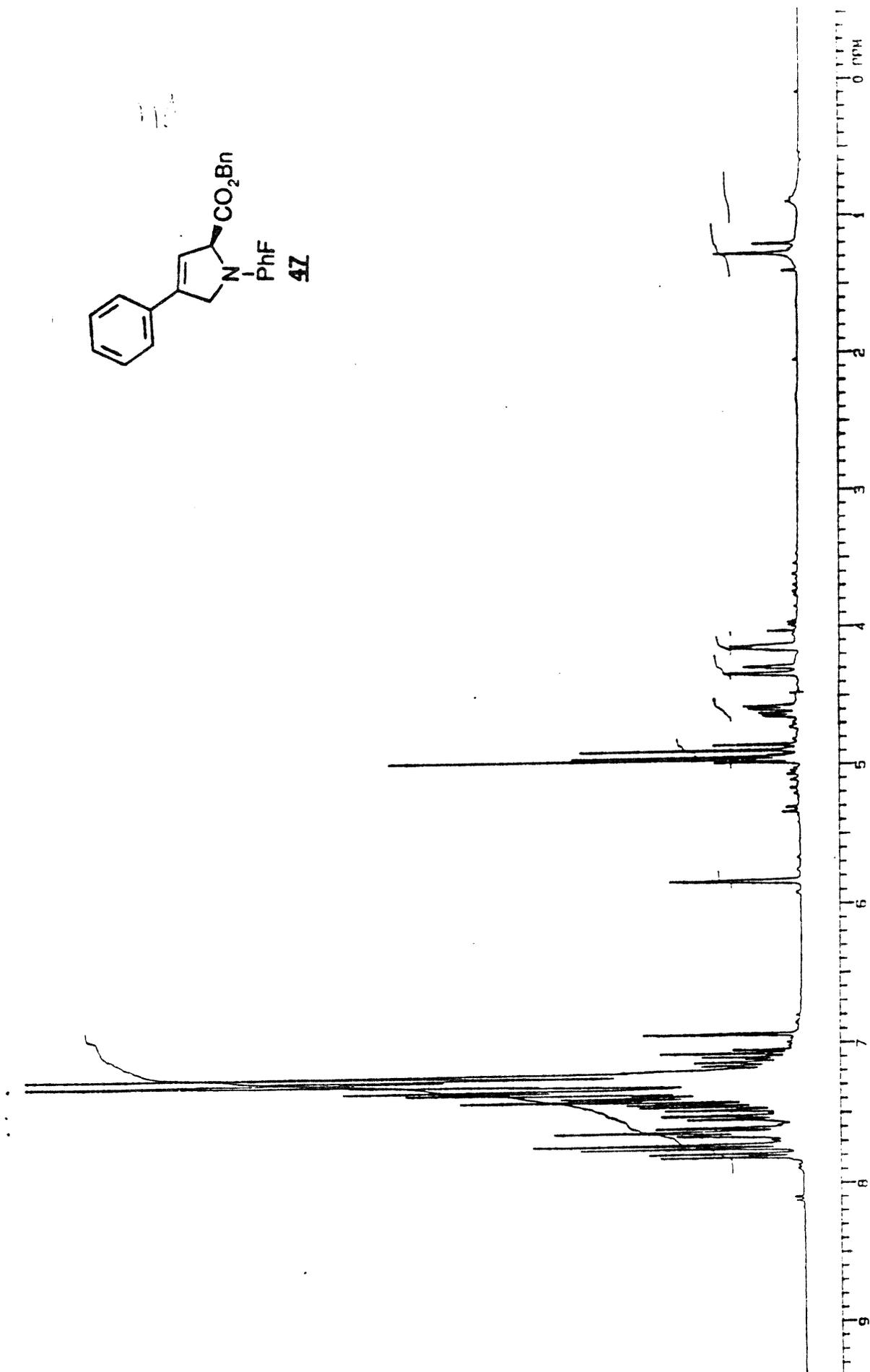
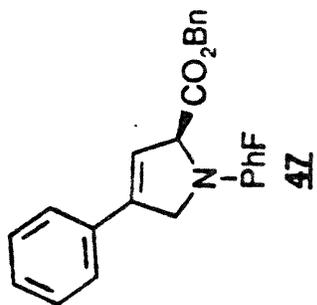
XXXVIII



SPECTRE DE C-13 DE ROUTINE  
 SPECTRAL LINES FOR THE 19.28  
 PFL = 0312.0 PFF = 5800.5

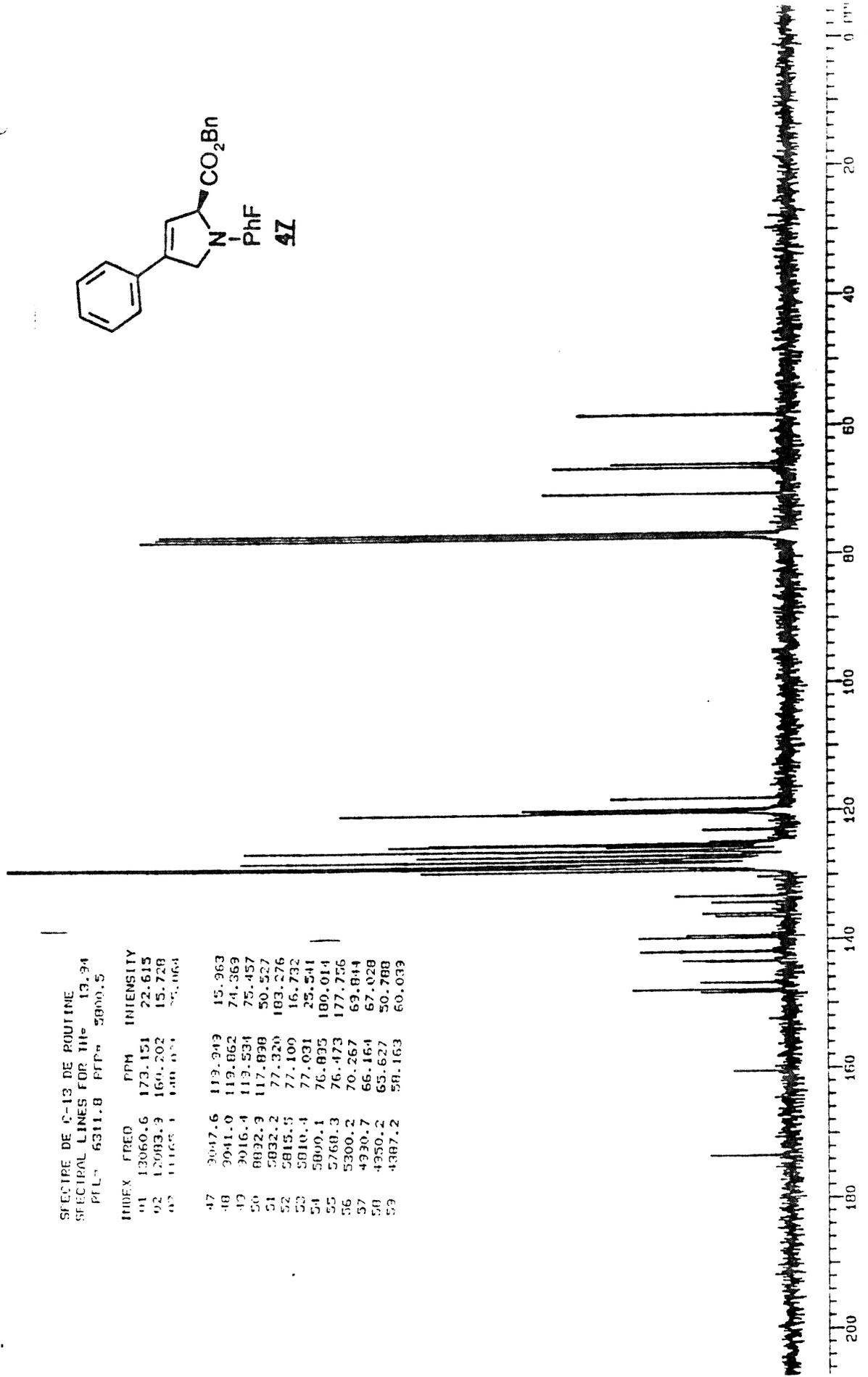
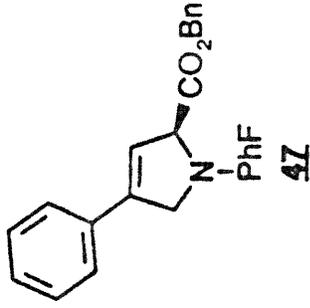
INDEX	PPM	INTENSITY
01	12929.9	171.410
02	11110.0	147.290
03	11056.7	146.585
04	10296.7	145.656
05	10711.5	142.007
06	10661.7	141.347
07	10513.0	139.377
08	10200.1	135.238
09	9756.0	129.351
10	9722.5	128.896
11	9702.0	128.624
12	9690.6	128.473
13	9681.0	128.346
14	9666.8	128.158
15	9661.5	128.007
16	9625.5	127.609
17	9586.8	127.096
18	9524.0	126.264
19	9467.4	125.515
20	9415.7	124.628
21	9075.5	120.319
22	9057.1	120.075
23	9031.2	119.731
24	8513.4	112.867
25	5832.3	77.321
26	5821.1	77.174
27	5800.5	76.900
28	5768.3	76.473
29	5022.7	66.589
30	4371.0	65.903
31	4098.6	54.337

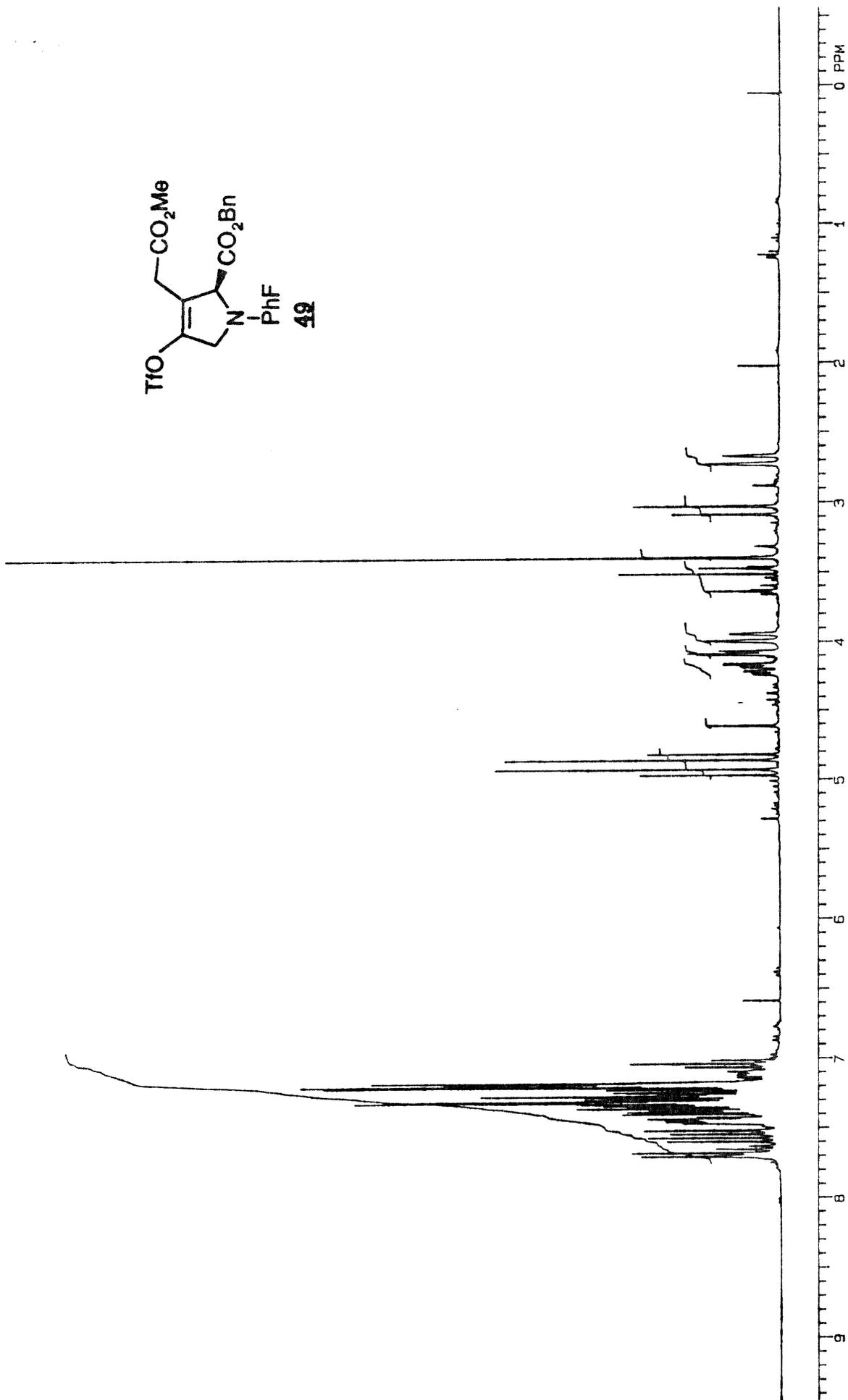
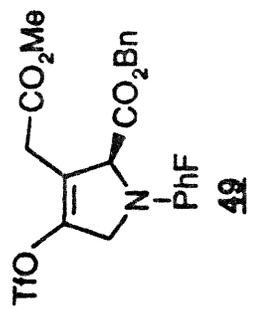




SPECTRE DE C-13 DE ROUTINE  
SPECTRAL LINES FOR IIIe 13.34  
PFL 6311.8 PFP 5800.5

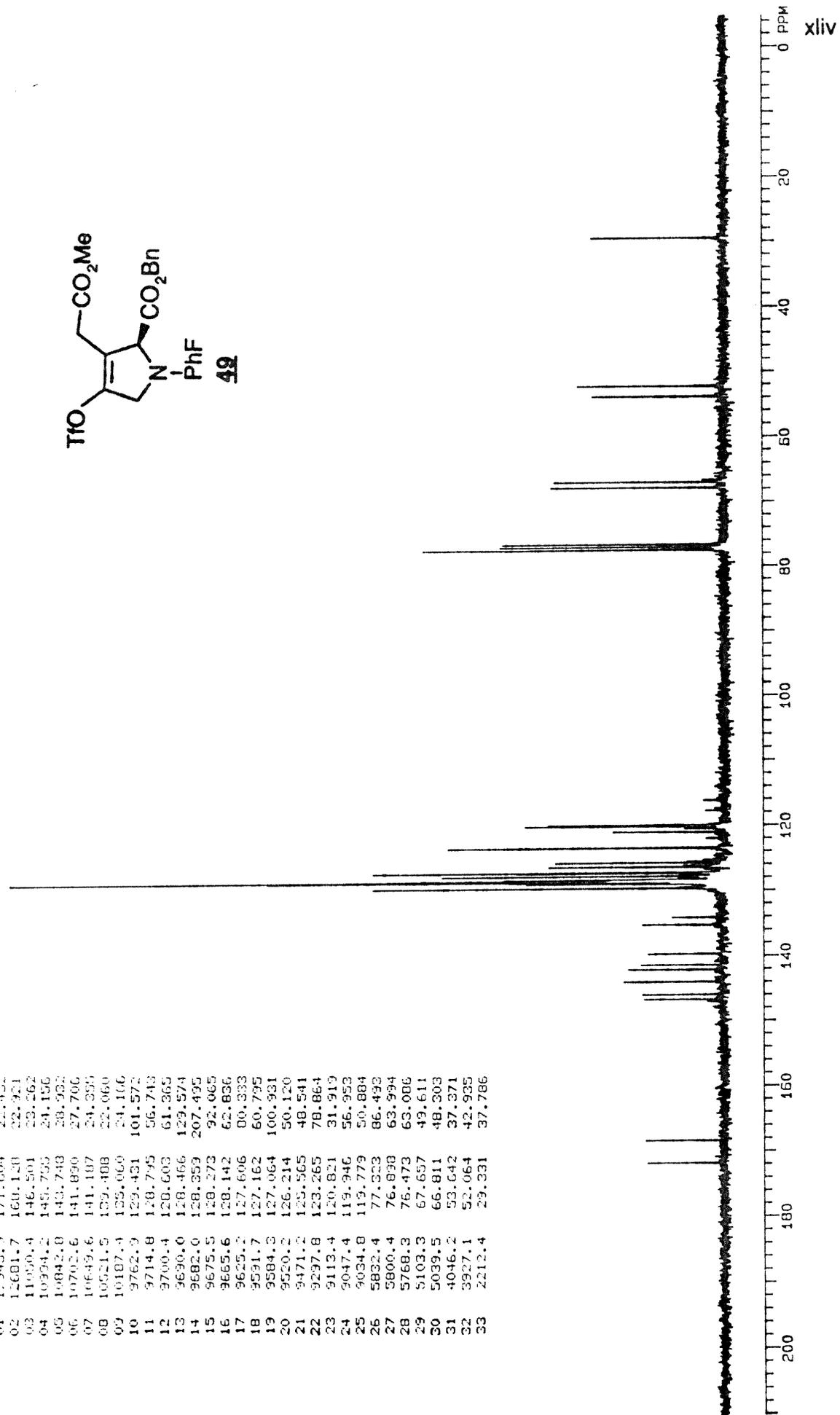
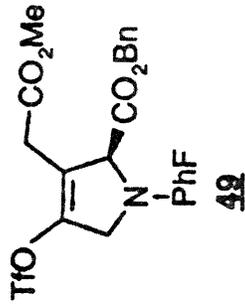
INDEX	FREQ	PPM	INTENSITY
01	13060.6	173.151	22.615
02	12983.9	169.202	15.728
03	11165.1	140.051	51.064
47	3047.6	113.349	15.963
48	3041.0	113.862	74.369
49	3016.4	113.534	75.457
50	8832.9	117.898	50.527
51	5832.2	77.320	183.576
52	5815.5	77.100	16.732
53	5810.4	77.031	25.541
54	5800.1	76.895	180.014
55	5768.3	76.473	177.756
56	5300.2	70.267	63.844
57	4930.7	66.164	67.028
58	4950.2	65.627	50.788
59	4387.2	58.163	60.039

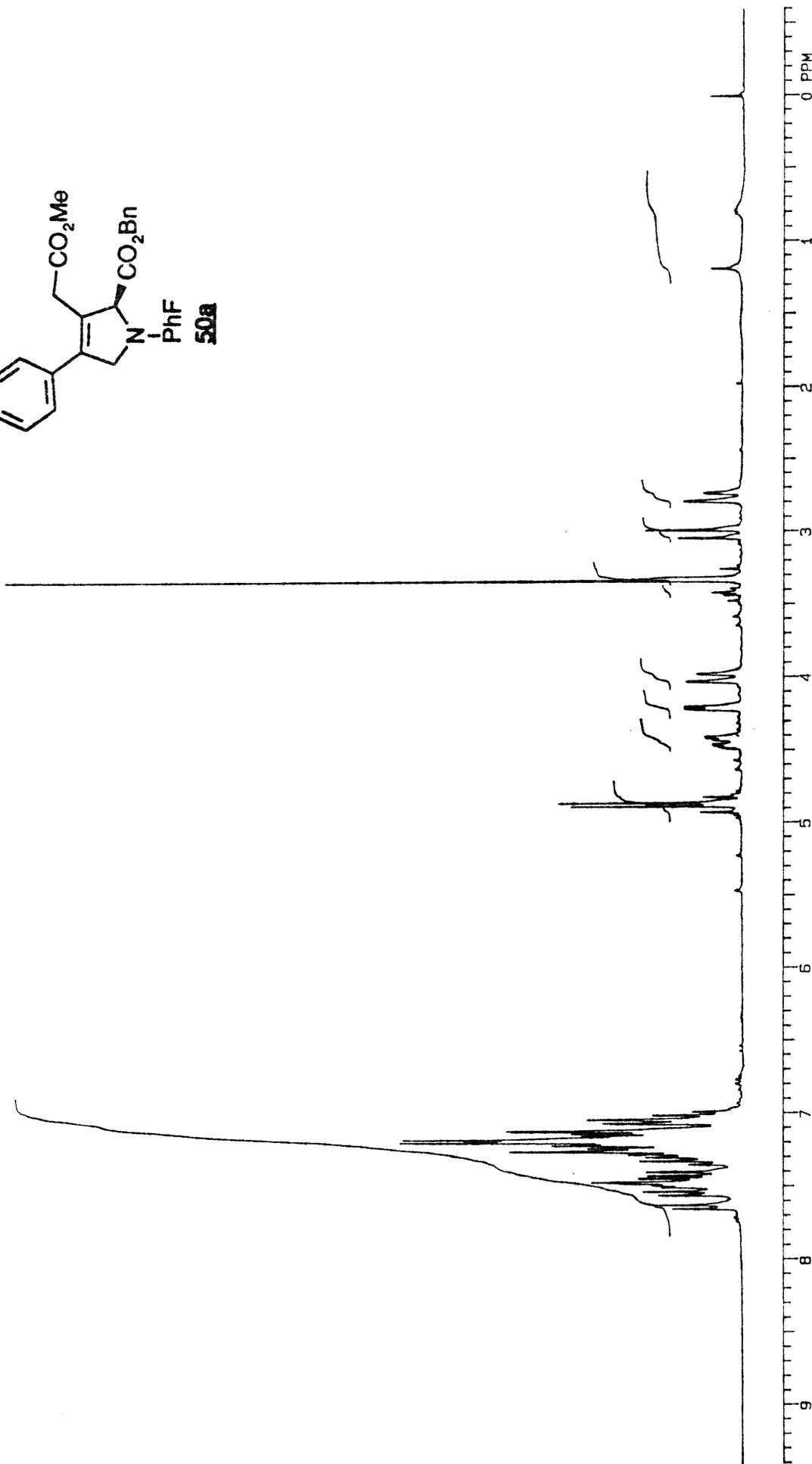
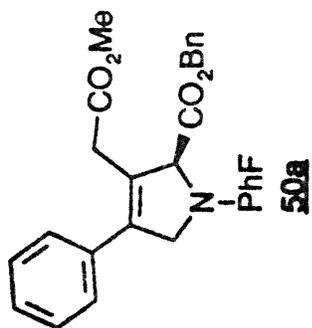




SPECTRAL LINES FOR 1H- 14.81  
 PFL: 6311.0 RFP: 5800.5

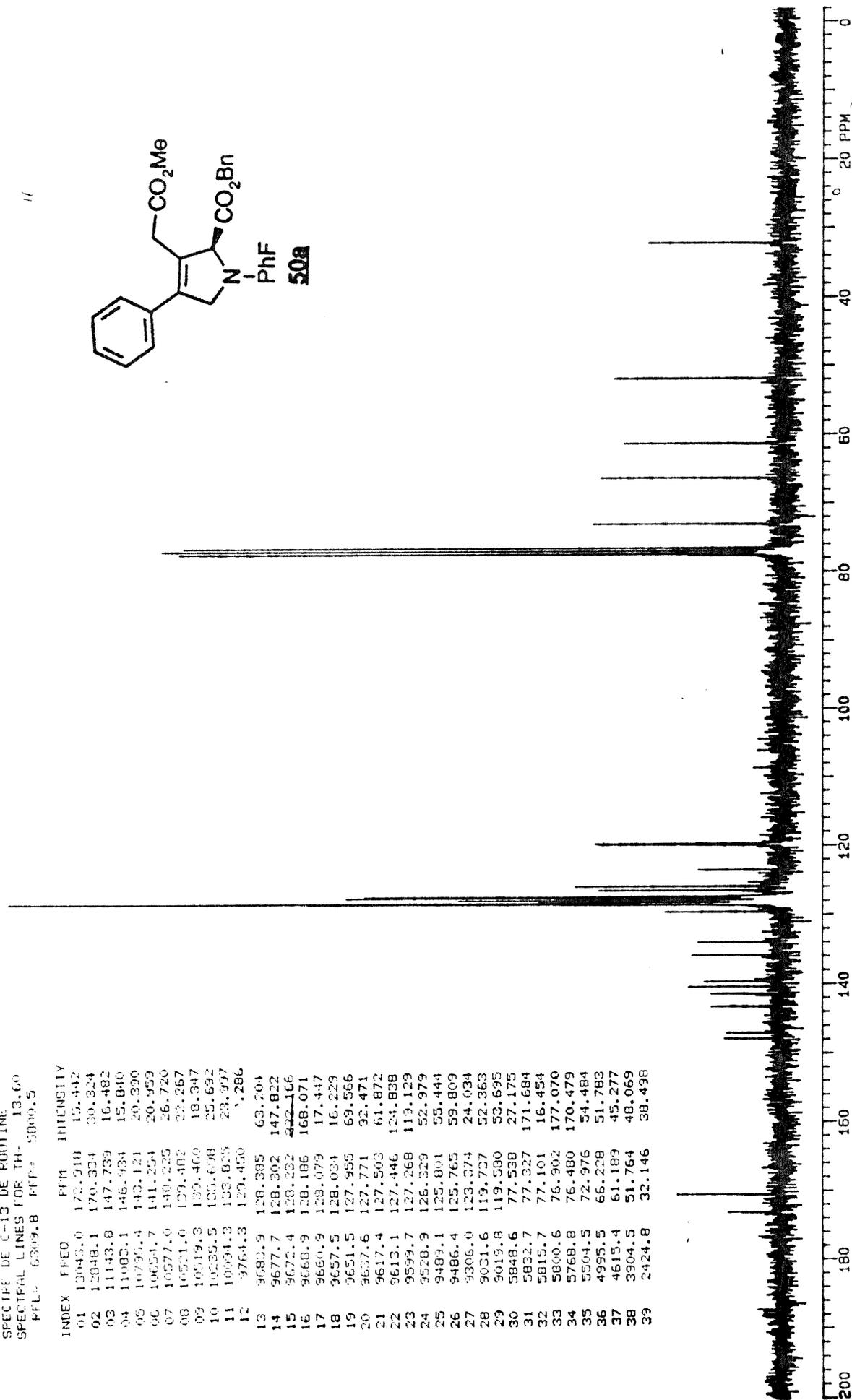
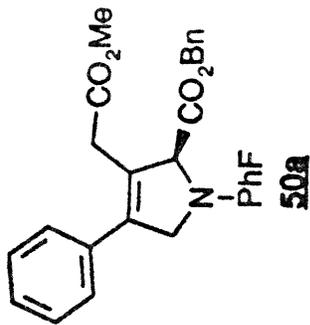
INDEX	FREQ	PPM	INTENSITY
01	17943.9	171.604	22.432
02	15681.7	160.130	22.321
03	11090.4	146.501	23.262
04	10994.2	145.755	24.156
05	10842.0	143.743	28.322
06	10702.6	141.820	27.706
07	10649.6	141.187	24.335
08	10521.5	139.488	22.060
09	10187.4	135.969	24.166
10	9762.9	129.431	101.572
11	9714.8	128.745	56.743
12	9700.4	128.603	61.365
13	9690.0	128.466	129.574
14	9682.0	128.359	207.495
15	9675.5	128.273	92.065
16	9655.6	128.142	62.836
17	9625.2	127.606	00.333
18	9591.7	127.162	60.795
19	9584.3	127.064	100.331
20	9520.2	126.214	50.120
21	9471.2	125.565	48.541
22	9297.8	123.265	78.864
23	9113.4	120.821	31.919
24	9047.4	119.346	56.353
25	9034.8	119.279	50.884
26	5832.4	77.323	86.493
27	5800.4	76.838	63.394
28	5768.3	76.473	63.006
29	5103.3	67.657	49.611
30	5039.5	66.811	48.503
31	4046.2	53.642	37.371
32	3927.1	52.064	42.935
33	2212.4	29.331	37.786

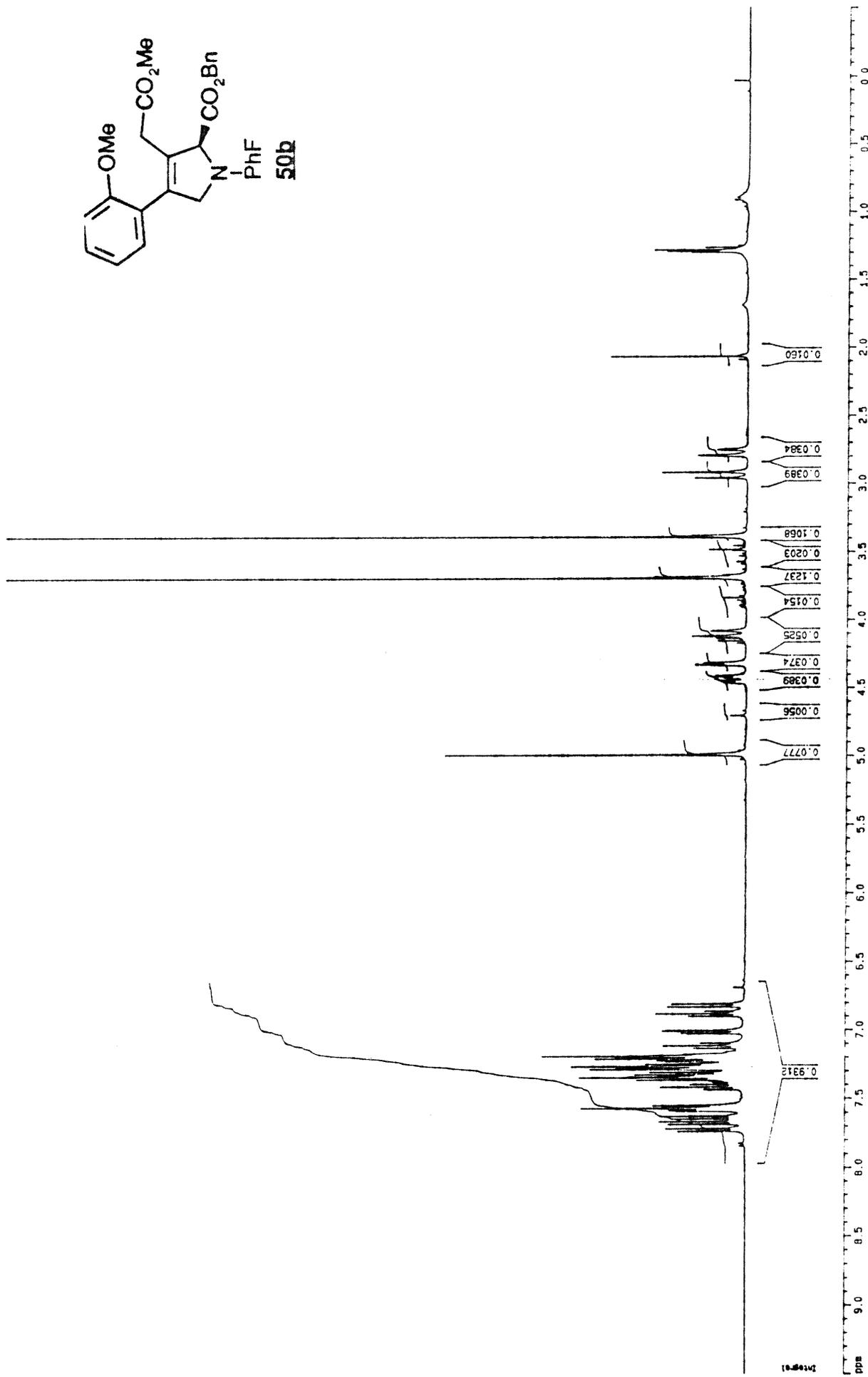
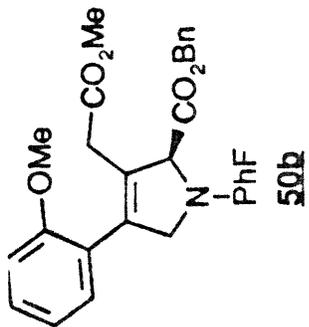




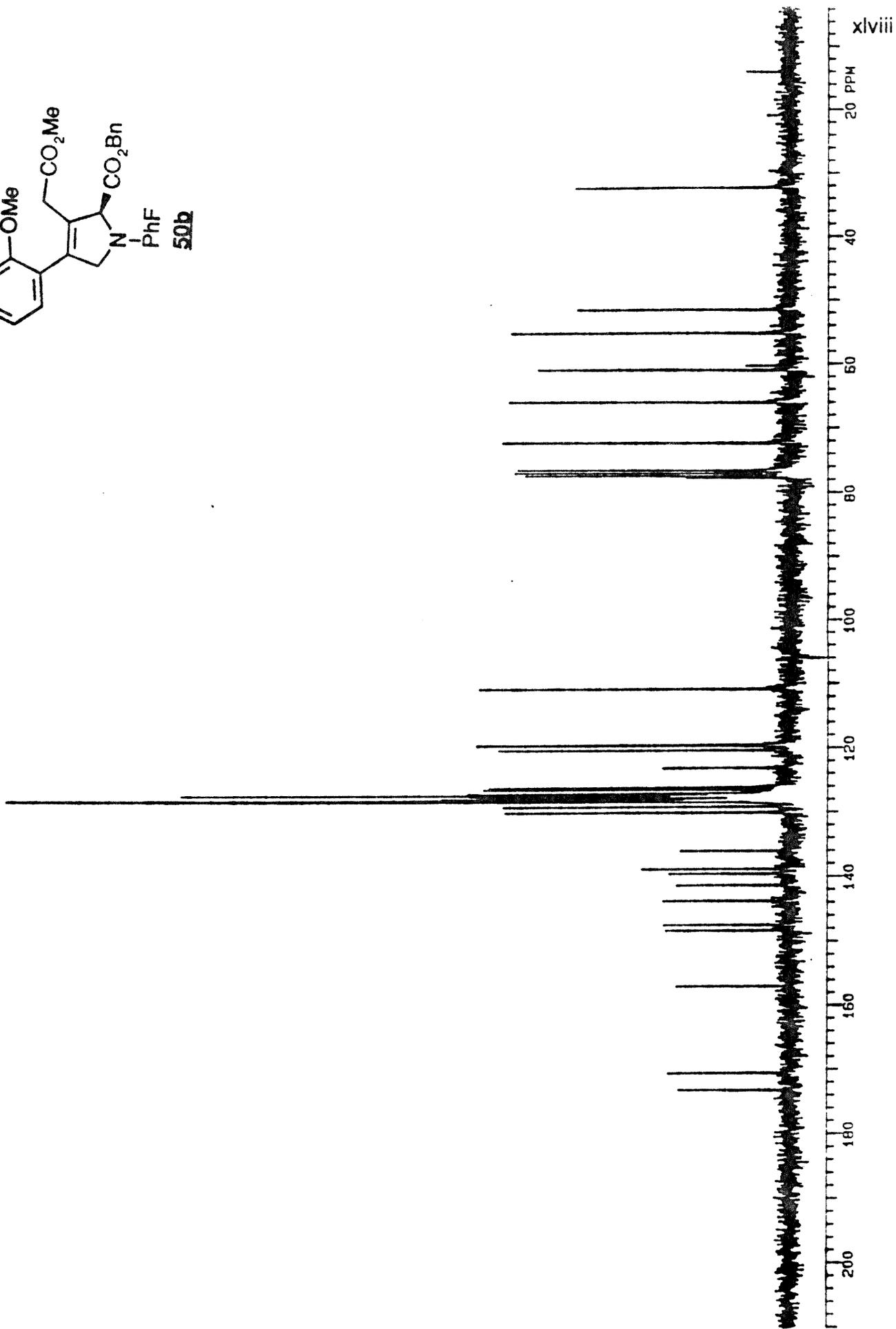
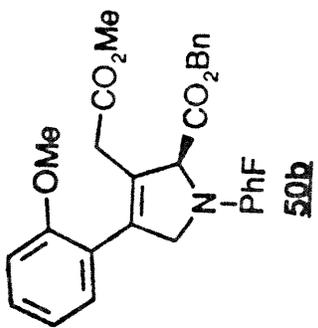
SPECTRE DE C-13 DE ROUTINE  
 SPECTRAL LINES FOR TH- 13.60  
 FFL- 6309.8 PPF- 5000.5

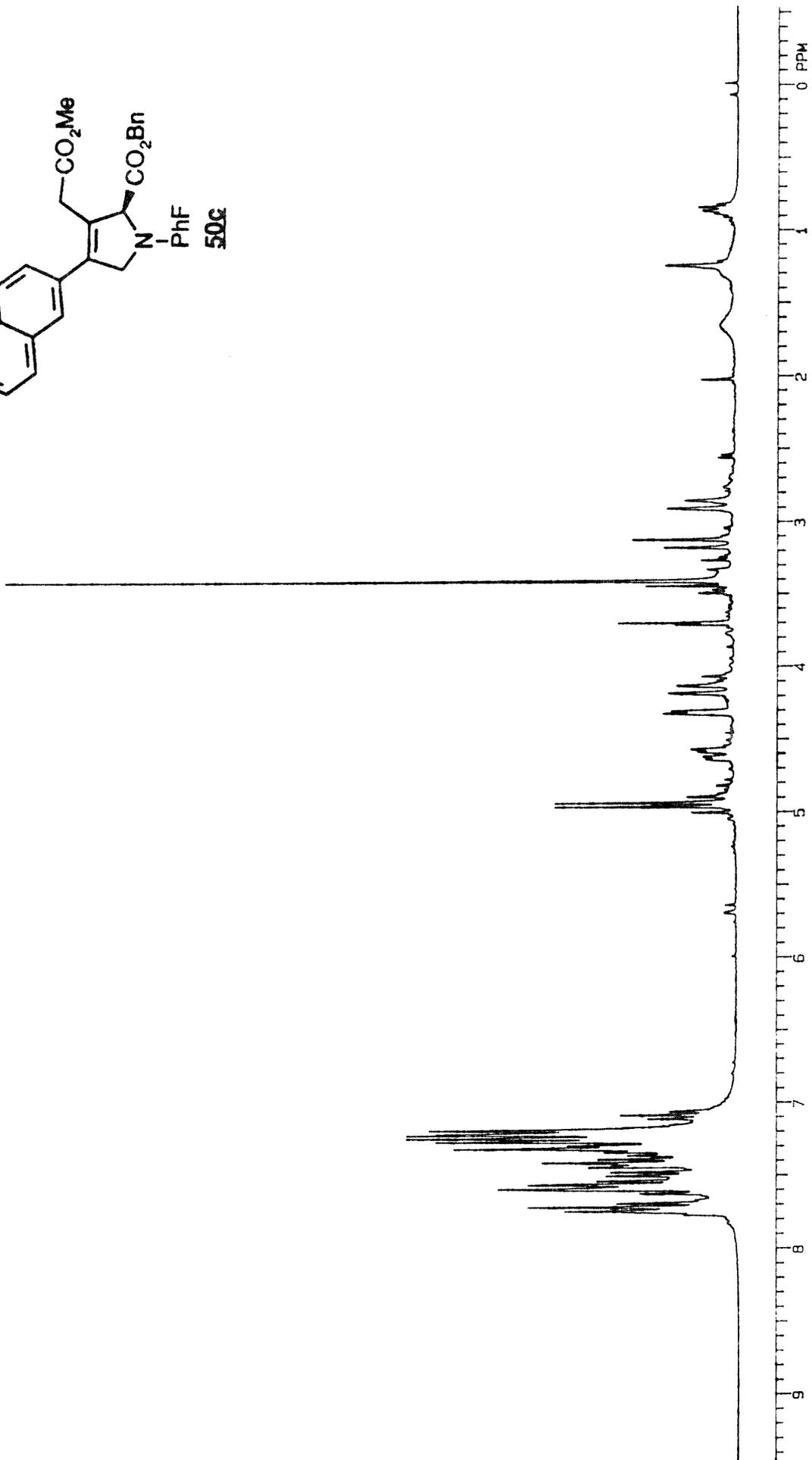
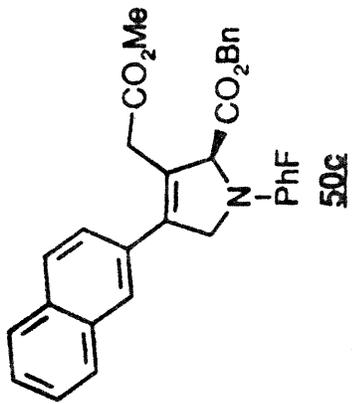
INDEX	FFQ	FFM	INTENSITY
01	13043.0	172.910	15.442
02	13048.1	170.324	30.324
03	11143.8	147.739	16.482
04	11083.1	146.434	15.840
05	10795.4	143.121	20.390
06	10651.7	141.254	20.959
07	10577.0	140.325	26.720
08	10531.0	139.402	22.267
09	10519.3	139.400	19.347
10	10235.5	135.658	25.632
11	10094.3	133.825	23.967
12	9764.3	129.450	1.286
13	9682.9	128.385	63.204
14	9677.7	128.302	147.822
15	9672.4	128.232	222.166
16	9668.9	128.186	168.071
17	9660.9	128.079	17.447
18	9657.5	128.031	16.229
19	9651.5	127.955	69.566
20	9637.6	127.771	32.471
21	9617.4	127.503	61.872
22	9613.1	127.446	124.838
23	9599.7	127.268	119.129
24	9528.9	126.329	52.979
25	9489.1	125.801	55.444
26	9486.4	125.765	59.809
27	9306.0	123.374	24.034
28	9031.6	119.727	52.363
29	9019.8	119.580	53.695
30	5848.6	77.538	27.175
31	5832.7	77.327	171.684
32	5815.7	77.101	16.454
33	5800.6	76.902	177.070
34	5768.8	76.480	170.479
35	5504.5	72.976	54.484
36	4995.5	66.228	51.783
37	4615.4	61.189	45.277
38	3304.5	51.764	48.069
39	2424.8	32.146	38.498

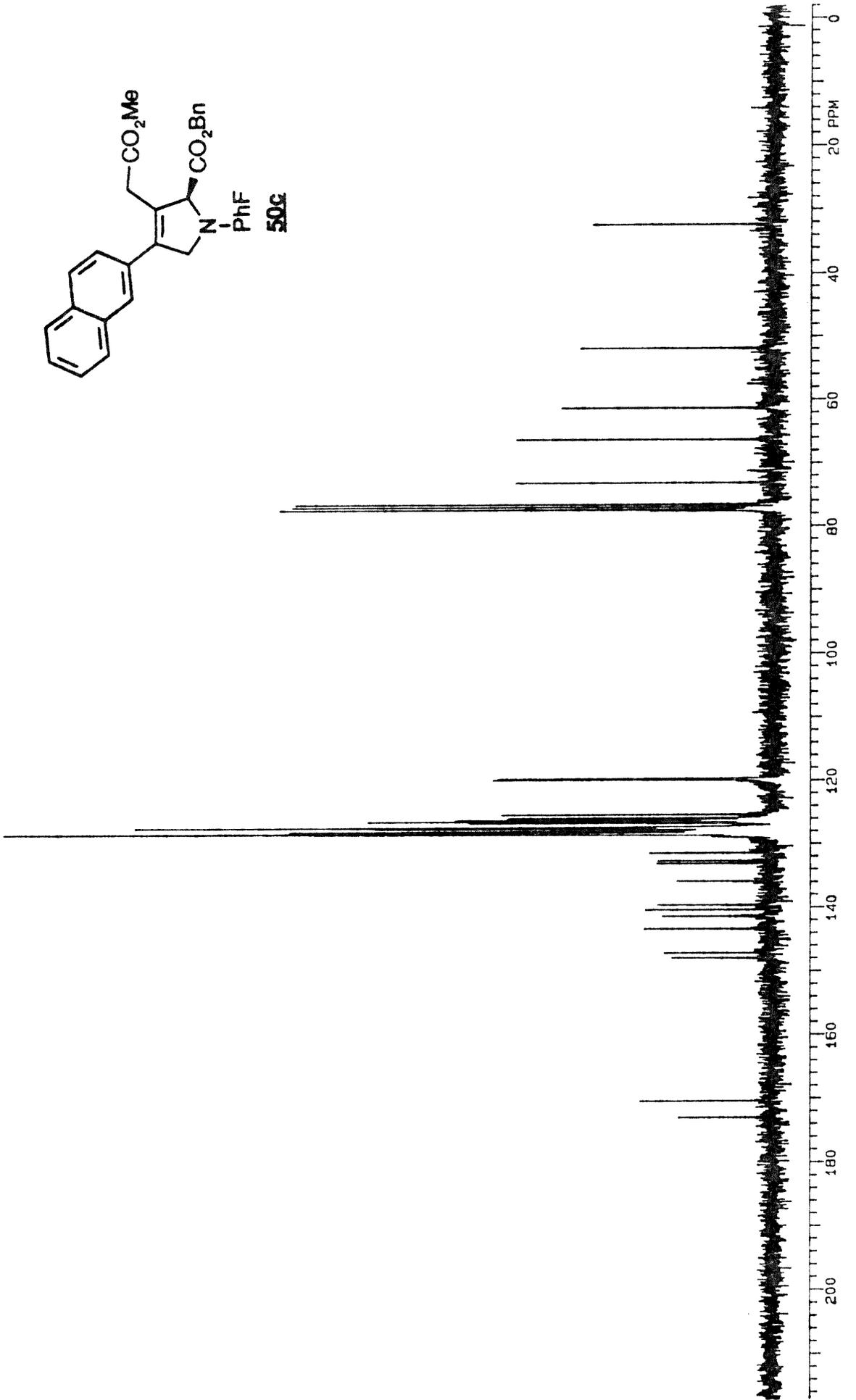
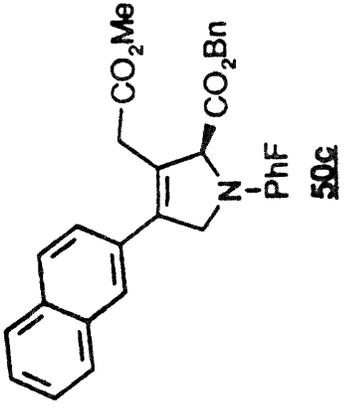


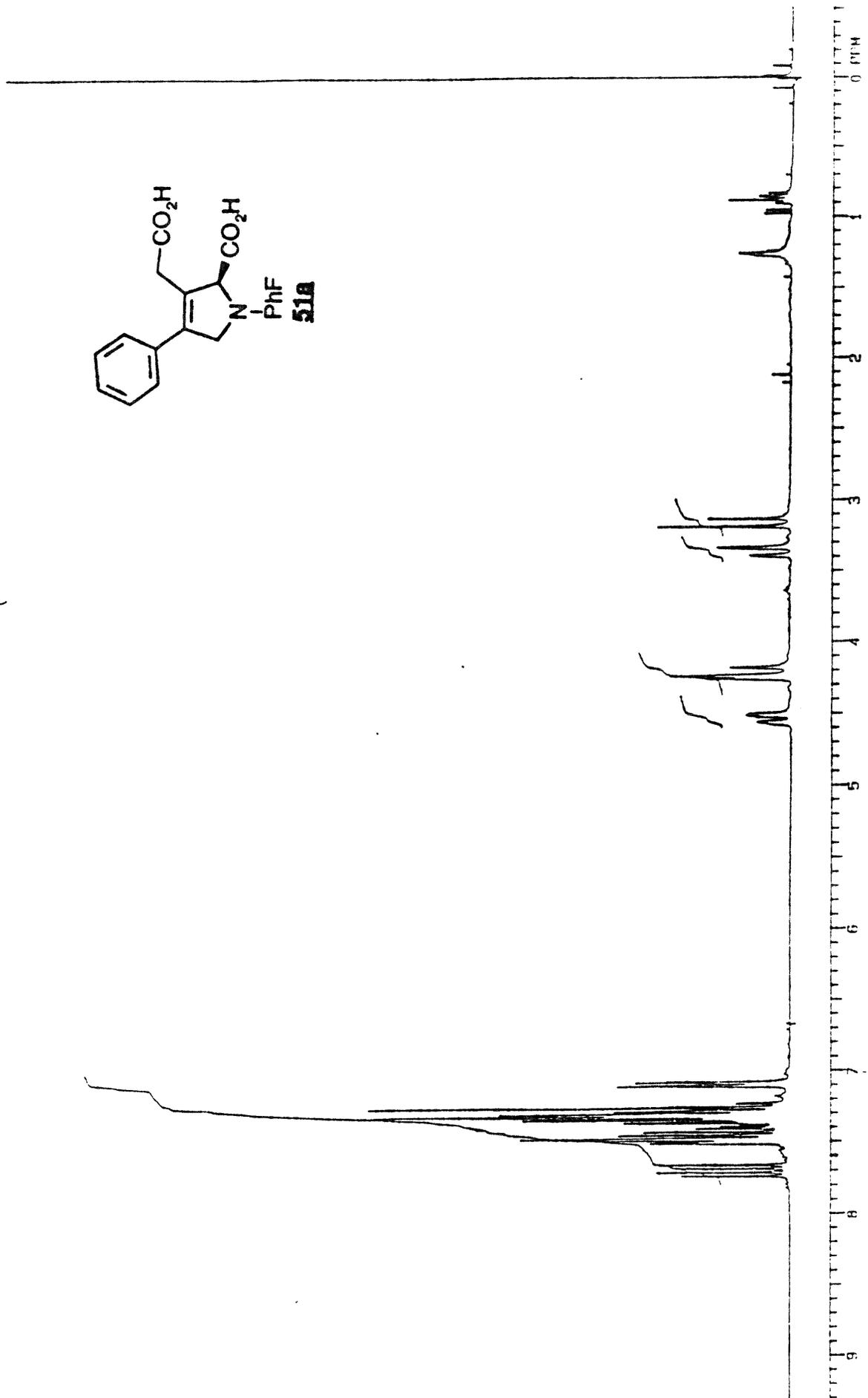
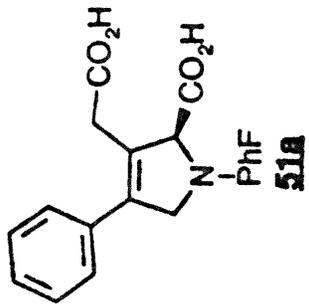


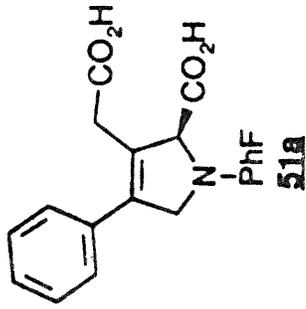
210991









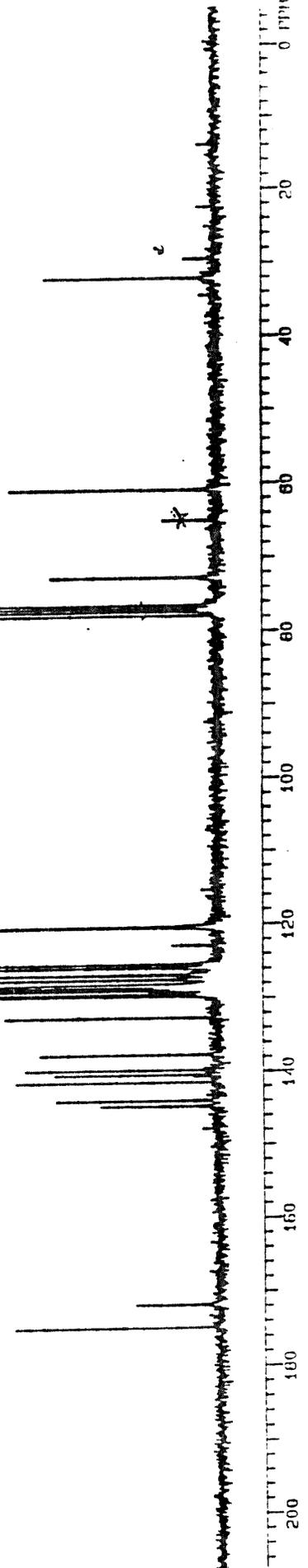


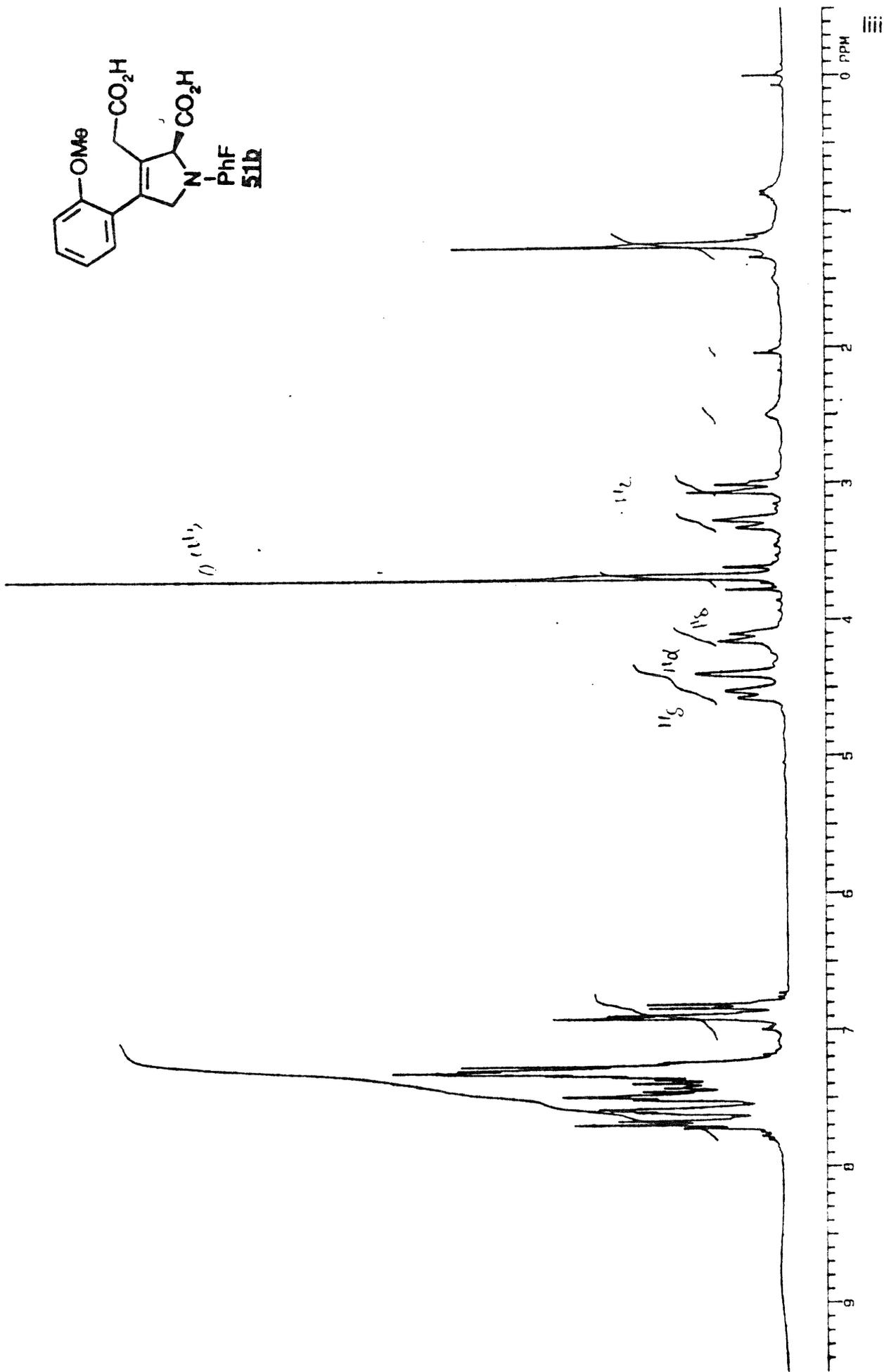
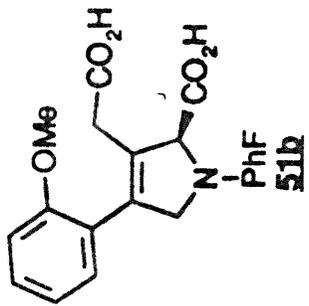
SPECTRE DE C-13 DE FOUTINE  
 UNIVERSITE DE MONTREAL  
 EXP2 PULSE SEQUENCE: S2FUL  
 DATE 95-02-18  
 SOLVENT CDCL3  
 FILE DEFC

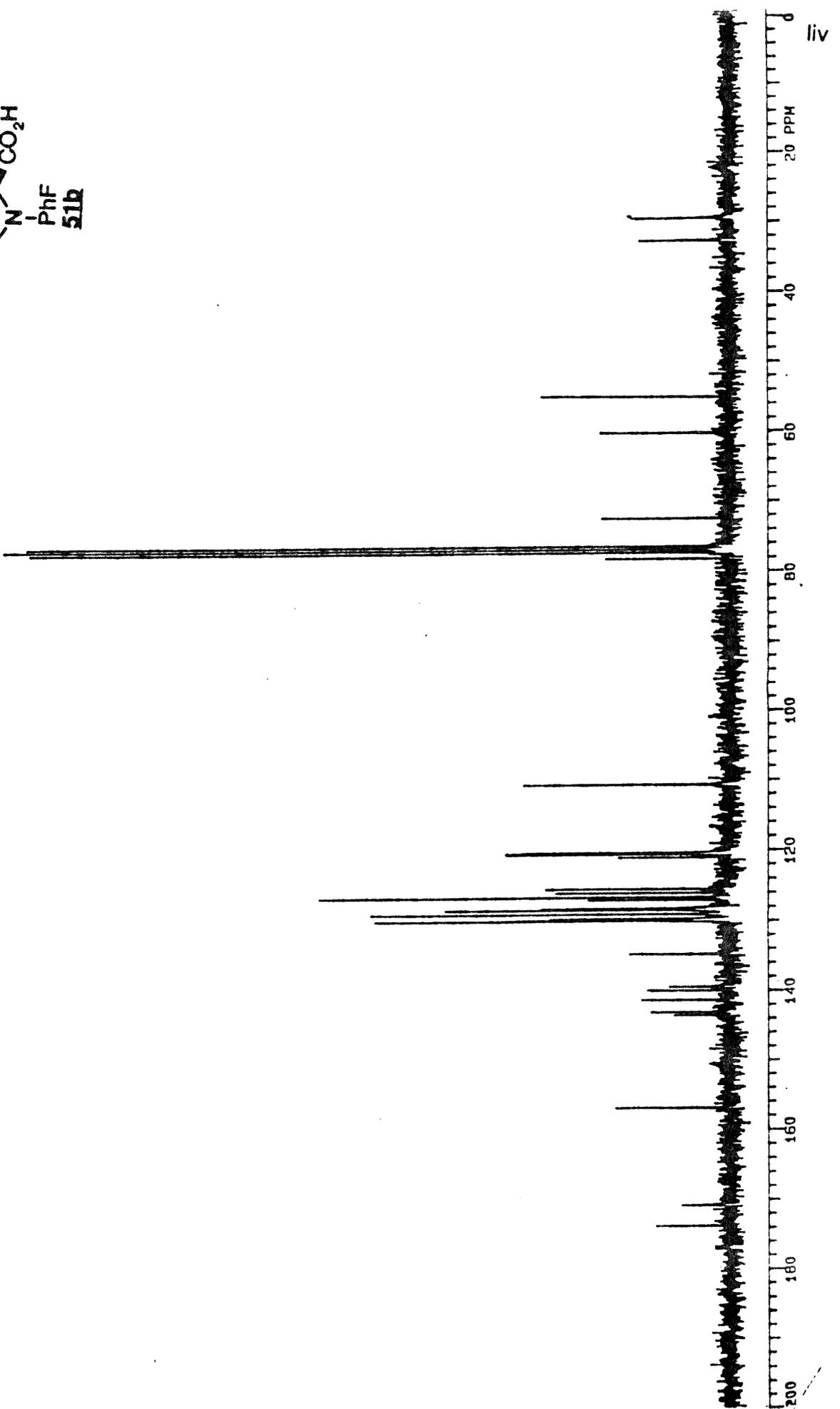
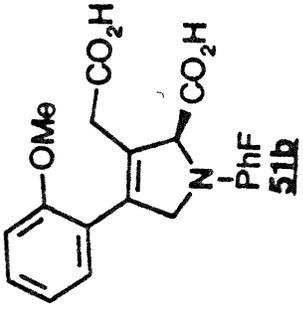
OBSERVE CARBON  
 FREQUENCY 75.429 MHZ  
 SPECTRAL WIDTH 17007 HZ  
 ACQ. TIME 0.882 SEC  
 RELAXATION DELAY 0.5 SFC  
 PULSE WIDTH 33 DEGRES  
 AMBIENT TEMPERATURE  
 NO. REPETITIONS 945  
 GATED DECOUPLING  
 SPIN RATE 26 HZ  
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION  
 DATA PROCESSING  
 LINE BROADENING 1.5 HZ  
 DISPLAY

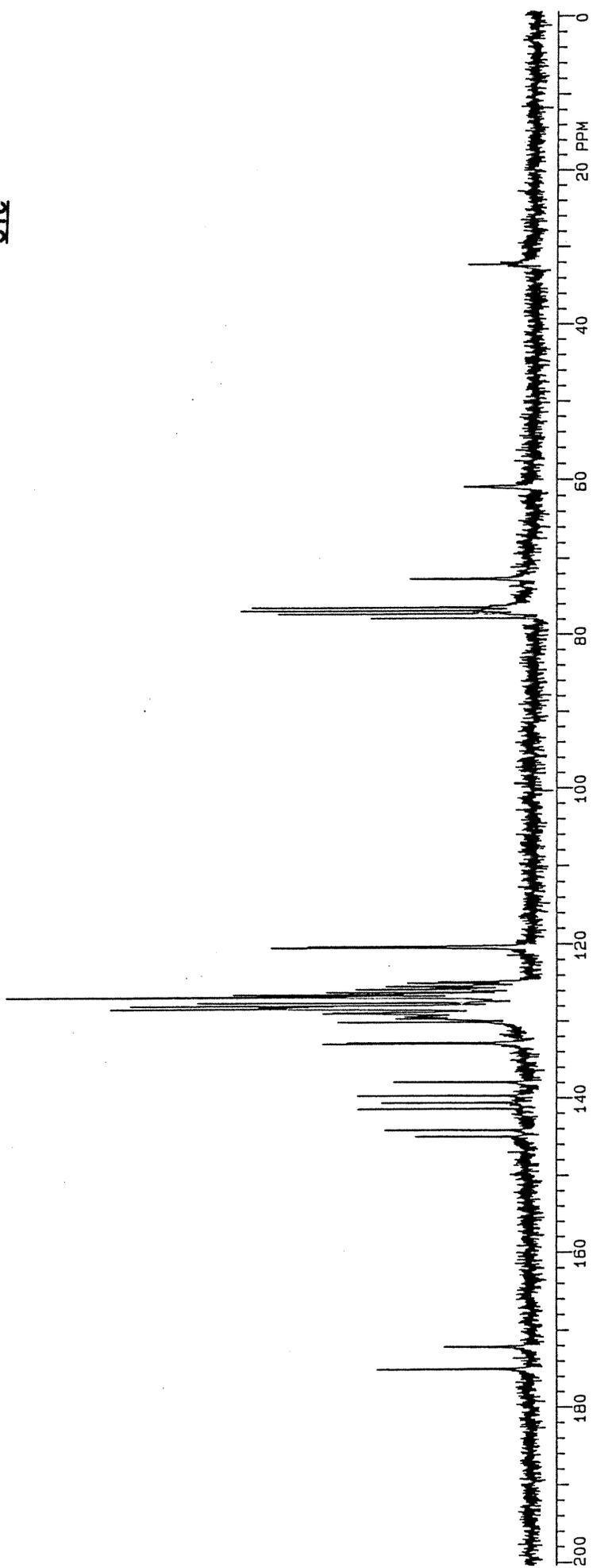
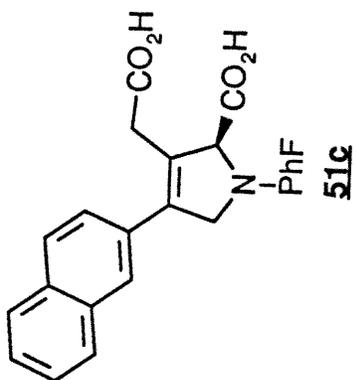
WIDTH OF PLOT 215.01 FPM  
 START OF PLOT -5.0 PPM  
 TOTAL TIME 21.8 MINUTES

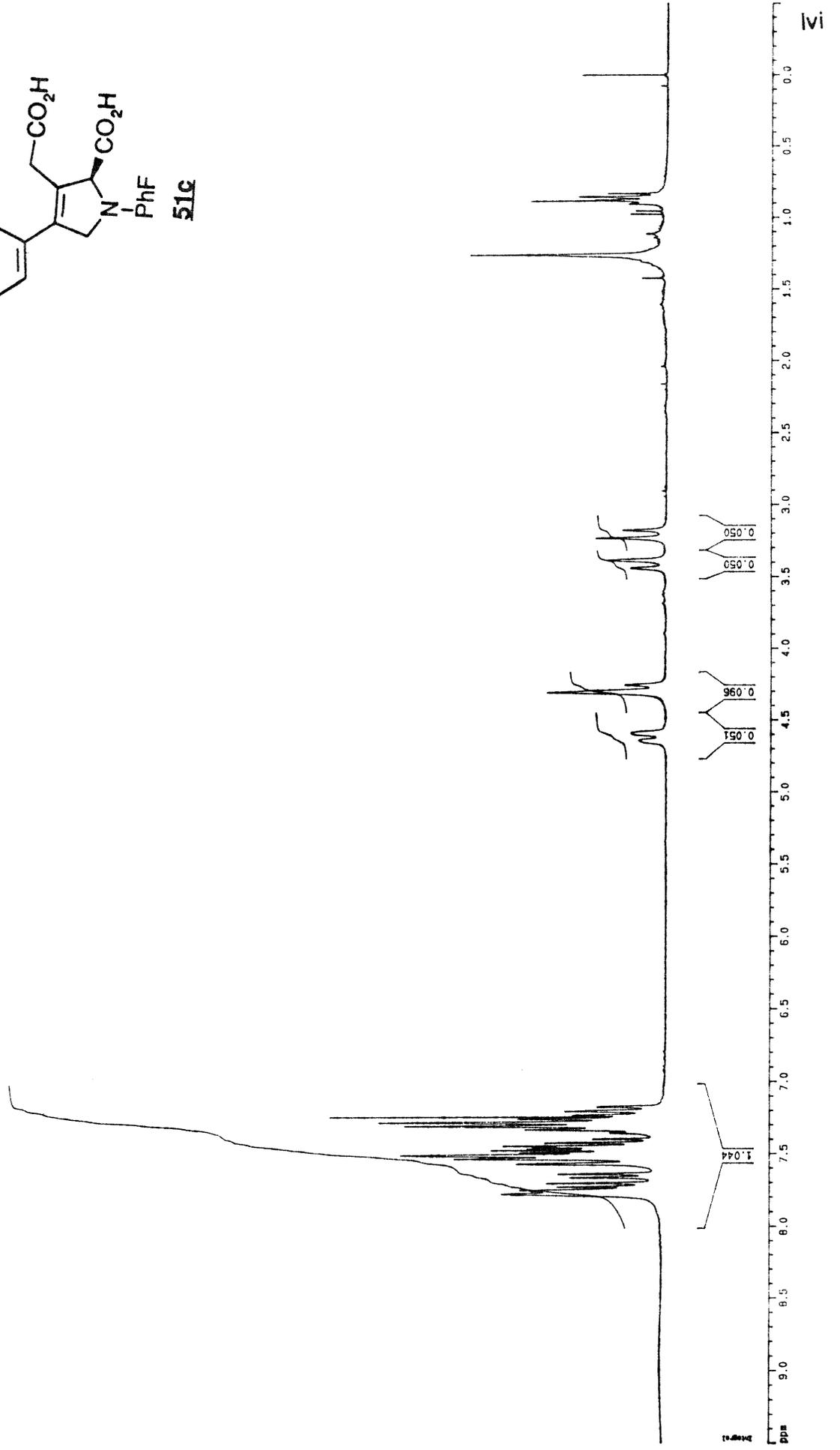
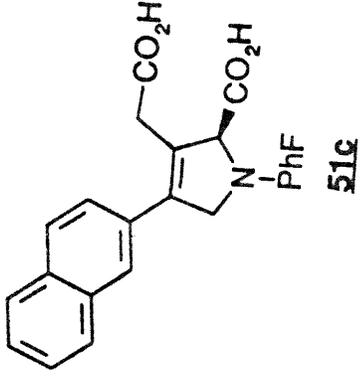
INDEX	FREQ	CFM	INTENSITY
01	13183.6	174.701	50.655
02	12952.7	171.721	21.073
03	10411.2	144.655	22.673
04	10052.7	143.079	40.192
05	10660.7	141.235	50.412
06	10283.3	140.303	40.746
07	10536.5	139.600	47.875
08	10376.7	137.564	44.209
09	10000.0	132.574	52.303
10	3780.3	128.670	66.204
11	9757.0	129.353	74.558
12	9742.1	129.155	17.384
13	9721.1	128.877	142.747
14	9639.3	128.500	204.264
15	9632.1	128.493	20.317
16	9677.9	128.304	103.111
17	9671.2	128.216	97.867
18	9663.6	128.115	135.123
19	9606.4	127.357	200.053
20	9567.2	126.837	45.241
21	9557.7	126.711	144.266
22	9489.8	125.811	70.139
23	9483.5	125.727	66.473
24	9451.4	125.302	73.784
25	9482.7	120.413	74.911
26	9469.4	120.238	74.033
27	5875.4	77.893	53.345
28	5832.6	77.325	102.282
29	5815.8	77.103	27.404
30	5800.5	76.300	105.730
31	5768.4	76.475	102.740
32	5482.3	72.682	41.132
33	4589.7	60.848	51.341
34	2422.3	32.114	42.457

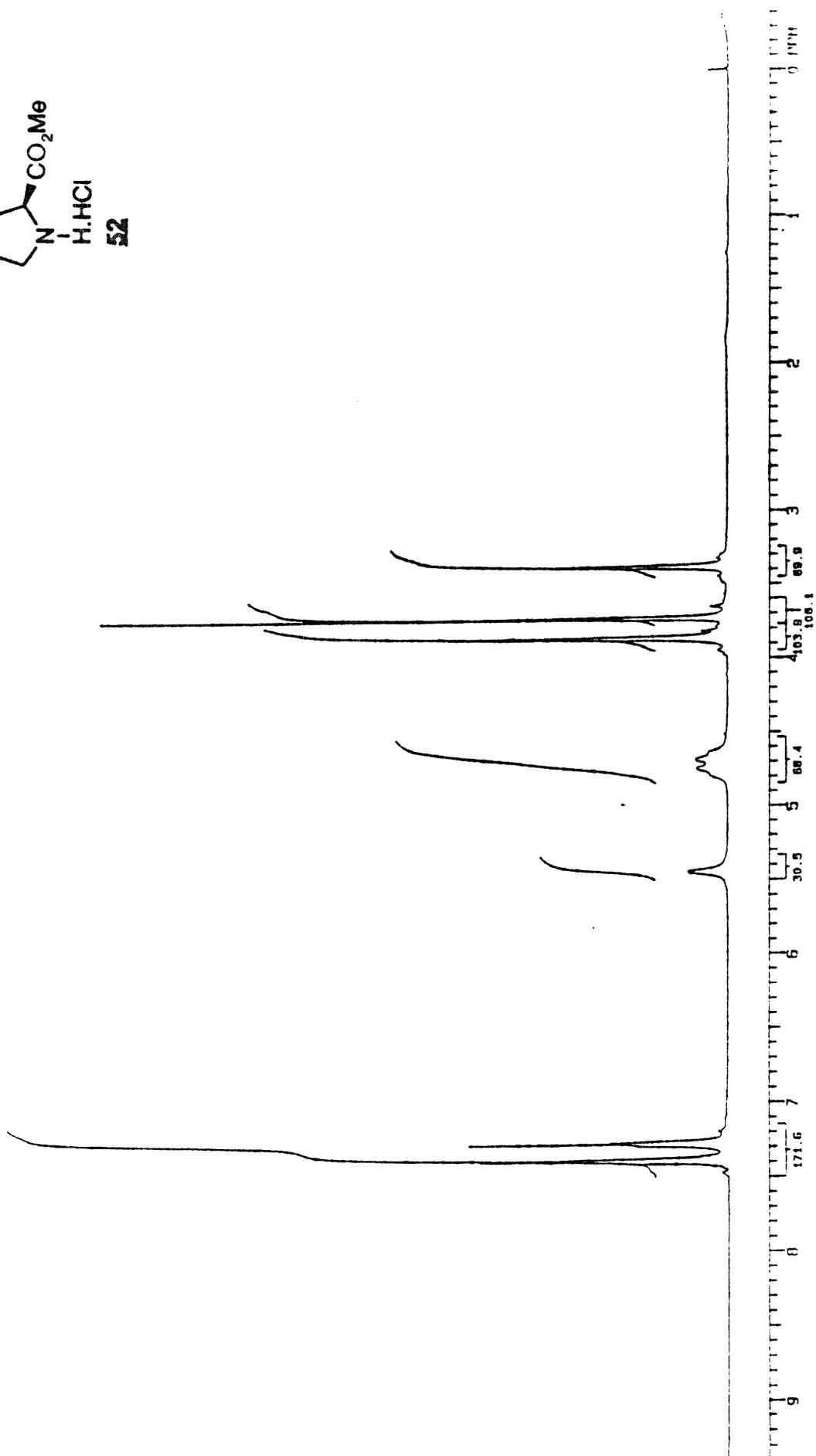
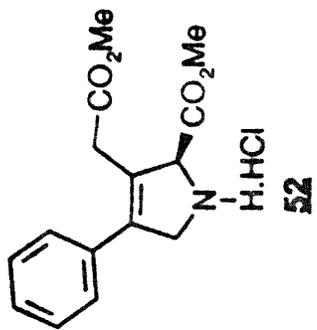


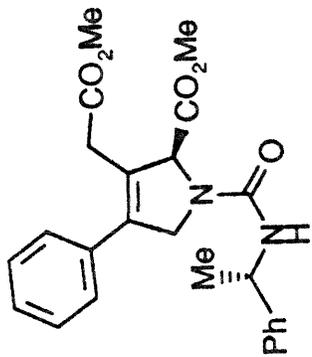




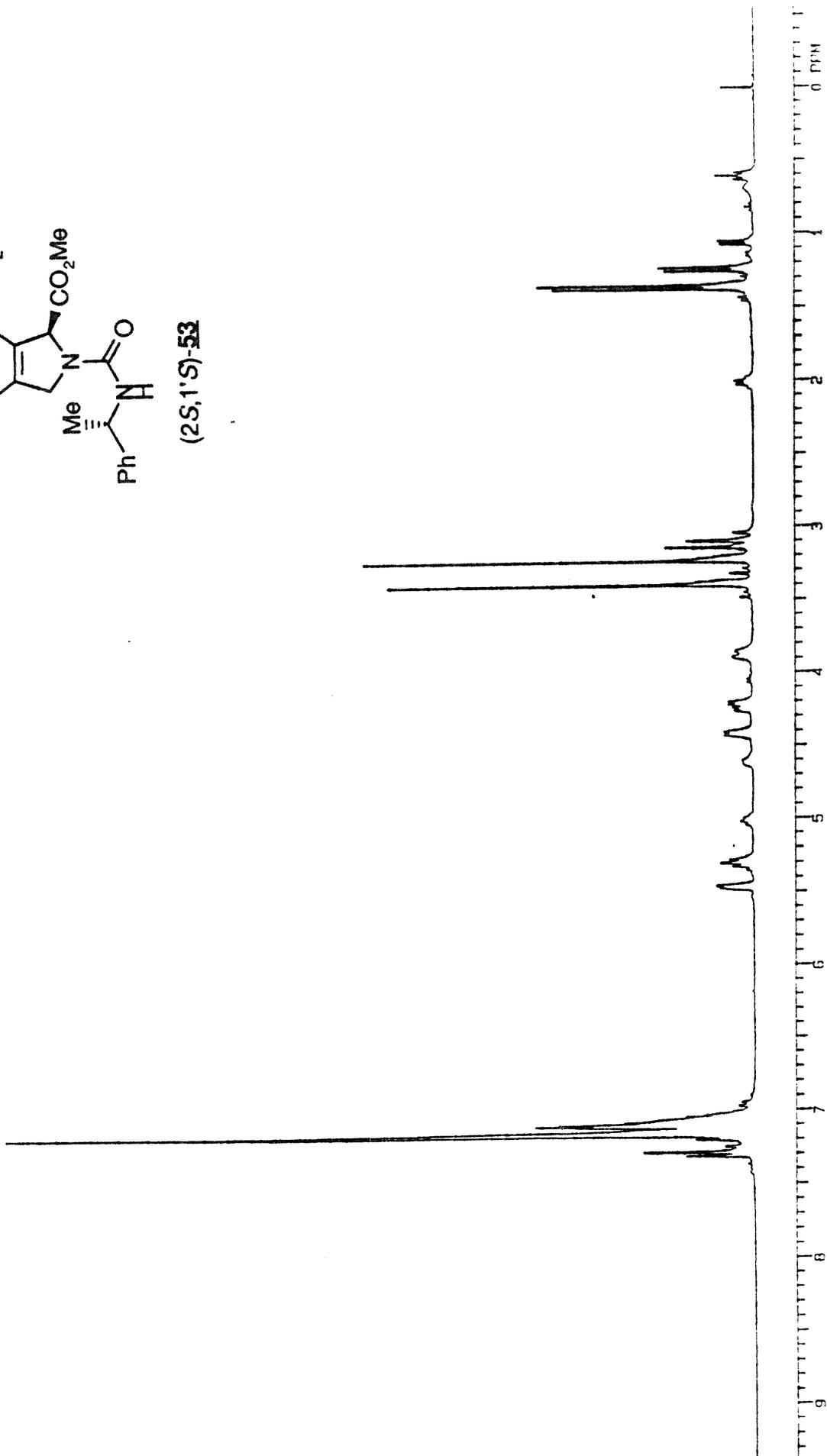


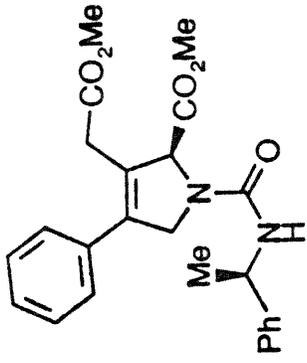




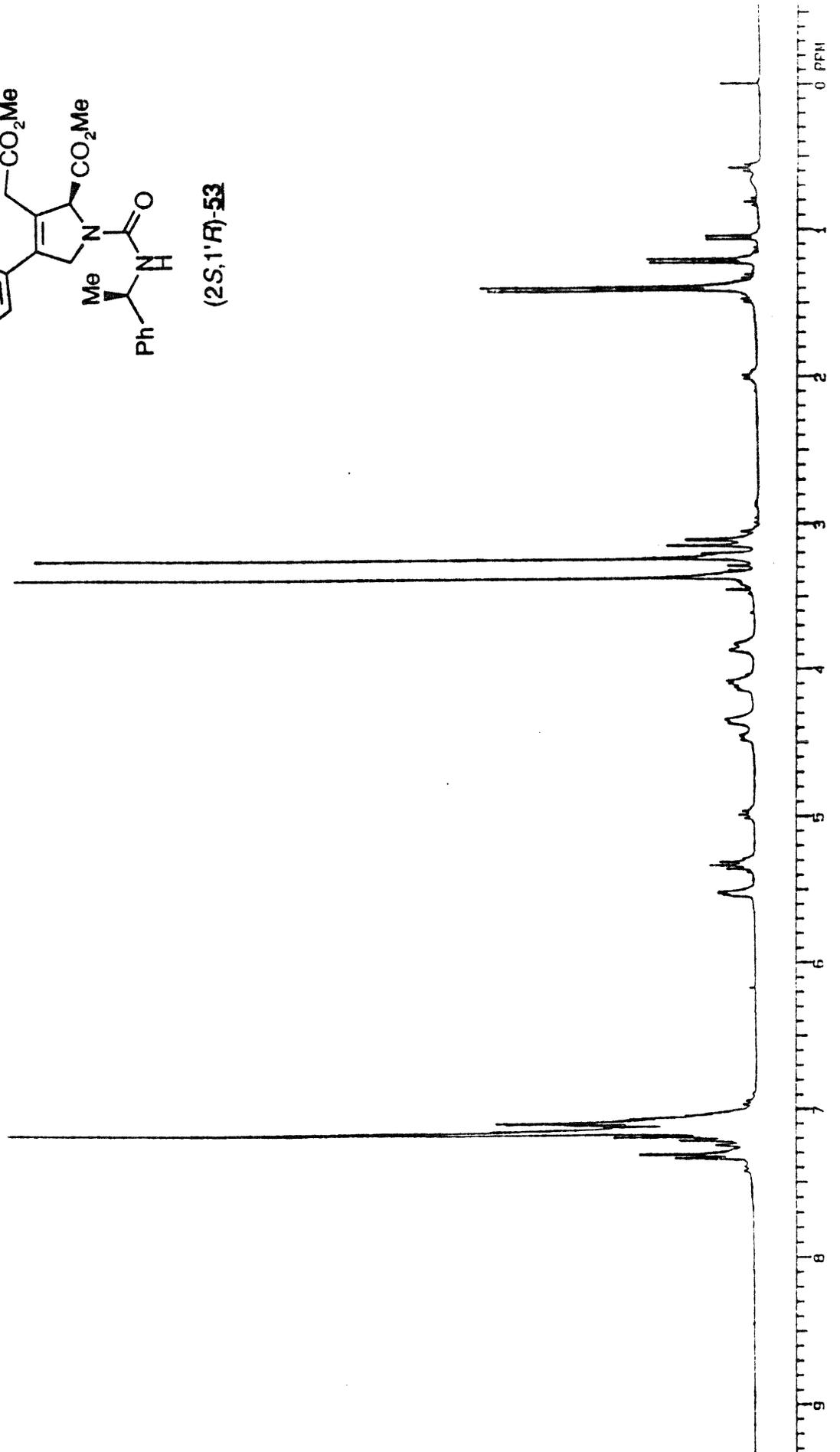


(2*S*,1'*S*)-53

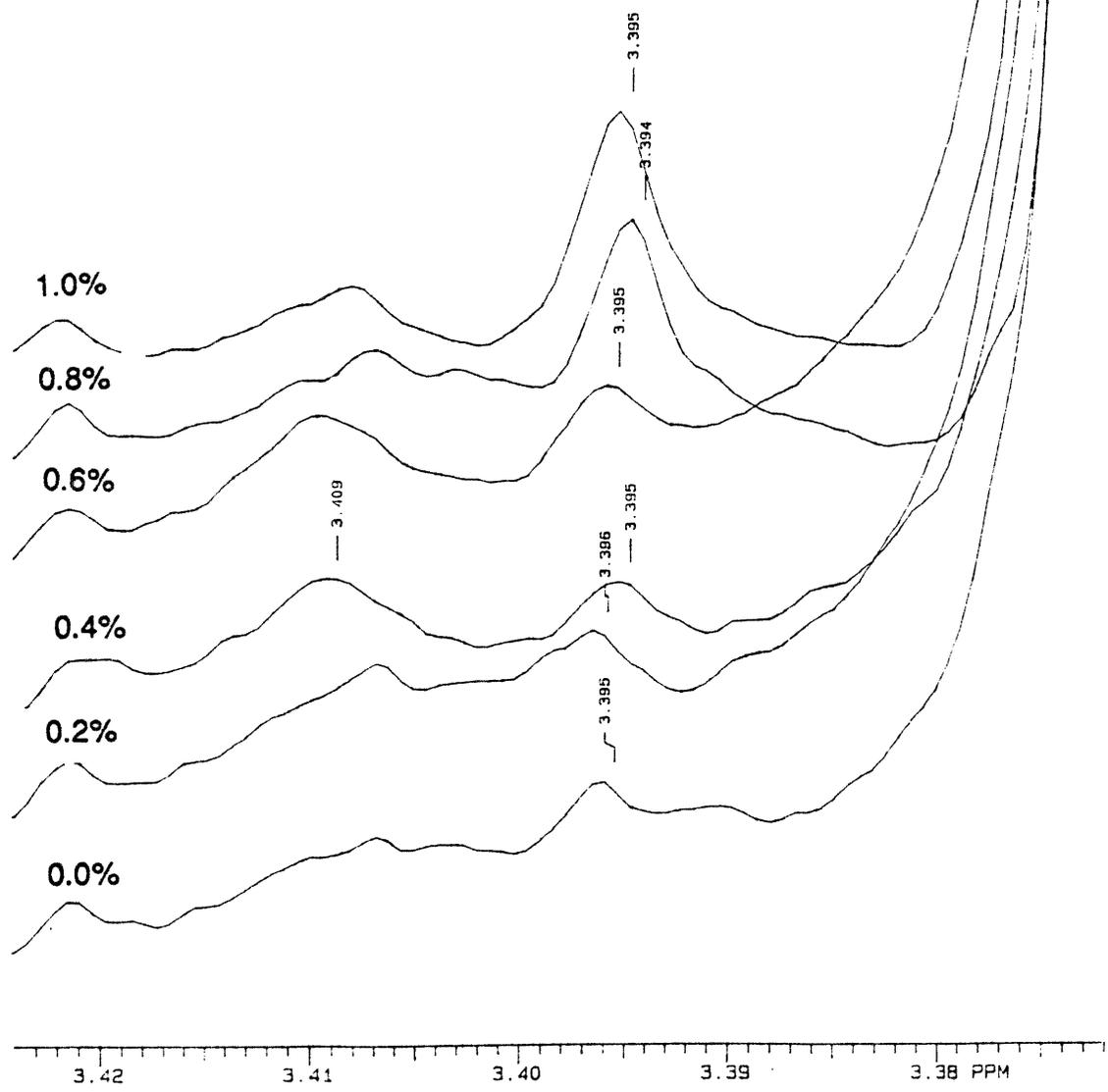




(2*S*,1'*R*)-53



(2S,1'S)-53 + X%(2S,1'R)-53



## Annexe B: Études biologiques

## Glutamate receptor selectivity of $\Delta^3$ -4-phenylkainate

### METHODS

Receptor binding experiments using [ $^3$ H] $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole-4-propionate (AMPA) (47 Ci/mmol), [ $^3$ H]kainate (47 Ci/mmol) and [ $^3$ H]3-(2-carboxypiperazine-4-yl)propyl-1-phosphonic acid (CPP) (58 Ci/mmol) (all from New England Nuclear, USA) was performed as previously described to rat cerebral cortical membranes (Sheardown et al., 1990). Receptor binding experiments using [ $^3$ H]glutamate (50 Ci/mmol, Amersham) to membranes prepared from baby hamster kidney cells (BHK) cells expressing mGluR1a were conducted as reported (Thomsen et al., 1993). [ $^3$ H]L-2-amino-4-phosphonobutyrate ([ $^3$ H]L-AP4, the specific activity of [ $^3$ H]L-AP4 was 50 Ci/mmol, Tocris Cookson, U.K.) was used to label mGluR4a expressed in BHK cells. In brief, membranes from mGluR4a transfected cells were incubated with 30 nM [ $^3$ H]L-AP4 and test compounds in a buffer (30 mM HEPES-Na, pH 8.0, 110 mM NaCl, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub> and 0.1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride) for 30 min at 0 °C. Bound and free radioactivity was separated by centrifugation (40000 x g, 3 min, 0 °C). The pellets were quickly rinsed with 2 x 2 ml ice cold buffer, solubilized in 0.5 ml NaOH (2 M) and transferred to scintillation vials. Non-specific binding was defined as the binding in the presence of 0.1 mM L-serine-O-phosphate.

### RESULTS

The *in vitro* selectivity of  $\Delta^3$ -4-phenylkainate for glutamatergic receptors is shown in Table 1. Of the ionotropic glutamate receptors, AMPA-, NMDA- and kainate-receptors  $\Delta^3$ -4-phenylkainate showed the highest affinity for NMDA receptors (Table 1). For subtypes mGluR1a and mGluR4a of metabotropic glutamate receptors,  $\Delta^3$ -4-phenylkainate showed no affinity at the highest concentration tested (Table 1).

TABLE 1: Glutamate receptor selectivity of  $\Delta^3$ -4-phenylkainate

Receptor	IC <sub>50</sub> [ $\mu$ M]
<b>Ionotropic Glutamate Receptors</b>	
AMPA ([ <sup>3</sup> H]AMPA)	> 1000
NMDA ([ <sup>3</sup> H]CPP)	23
Kainate ([ <sup>3</sup> H]kainate)	350
<b>Metabotropic Glutamate Receptors</b>	
mGluR1a ([ <sup>3</sup> H]glutamate)	> 1000
mGluR4a ([ <sup>3</sup> H]L-AP4)	> 1000

The values (IC<sub>50</sub>'s) are mean of 1-2 experiments which were performed in triplicate as described in Methods.

## REFERENCES

- Sheardown, M.J., Nielsen, E.Ø., Hansen, A.J., Jacobsen, P. and Honoré, T., 1990, 2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)quinoxaline: A neuroprotectant for cerebral ischemia, *Science* 247, 571-574.
- Thomsen, C., Mulvihill, E. R. Haldeman, B., Pickering, D.S., Hampson, D.R. and Suzdak, P.D., 1993, A pharmacological characterization of the mGluR1 $\alpha$  subtype of the metabotropic glutamate receptor expressed in a cloned baby hamster kidney cell line. *Brain Res.* 619, 22-28.



**HEALTH CARE DISCOVERY**  
**Endocrinology**

**To:** Dr. William Lubell  
**From:** Malcolm Sheardown  
**Date:** 26.07.1995, MJS/SBon

**Agonist Activity of  $\Delta^3$ -4-Phenylkainate  
in Slices of Rat Cingulate Cortex**

**METHODS**

Slices of rat neo-cortex 1.0 mm wide and 500  $\mu$ M thick, consisting of cingulate cortex and corpus callosum, were taken and prepared as described by Harrison and Simmonds (1985). Briefly, the slices were placed in a two-compartment grease-sealed perfusion chamber in such a way that the cortical tissue was almost entirely contained in one compartment, and the corpus callosum entirely contained in the other. Both compartments were perfused (2 ml/min) at 21–24°C with mock-CSF (Sheardown, 1988). Thirty minutes after the wedge was placed in the chamber,  $Mg^{2+}$ -free medium was perfused in place of normal medium, in the compartment containing the cortical tissue. The DC potential was recorded between the two compartments using Ag/AgCl electrodes, amplified and displayed continuously on a chart recorder. Agonists were administered to the cortical tissue, contained in 4 ml aliquots of  $Mg^{2+}$ -free medium. Antagonists were allowed to equilibrate with the tissue for 30 min before agonist responses were re-tested.

**RESULTS**

$\Delta^3$ -4-phenylkainate evoked concentration dependent depolarizations of the rat cingulate cortex in a concentration range of 1–300  $\mu$ M (see fig. 1 and table 1). The response obtained with a concentration of 300  $\mu$ M  $\Delta^3$ -4-phenylkainate was equal ( $P = 0.6$ , t-test) to the maximum response obtained with NMDA (80  $\mu$ M). For the antagonist studies, therefore, the response to

phenylkainate were almost completely inhibited by 1  $\mu$ M CPP, but were unaffected by 1  $\mu$ M NBQX (see figs 2 and 3). If the response curves were normalized with respect to the maximal NMDA response the  $EC_{50}$  values were; NMDA 16  $\mu$ M  $\Delta^3$ -4-phenylkainate 125  $\mu$ M.

### CONCLUSION

$\Delta^3$ -4-phenylkainate is a full agonist at the NMDA subtype of glutamate receptors. The compound is 7.8 times less potent than NMDA.

### REFERENCES

- Harrison N.L. and Simmonds M.A. (1985) Br. J. Pharmacol. 84, 381-391.
- Sheardown M.J. (1988). Eur. J. Pharmacol. 148, 471-474.

Table 1.

Conc. of $\Delta^3$ -4-phenylkainate/ $\mu$ M	Response ( $\bar{x} \pm$ SEM)		
	mV	% of NMDA maximum	n
1	$0.6 \pm 0.2$	$3.24 \pm 1$	4
3	$0.4 \pm 0.12$	$2.16 \pm 0.7$	4
10	$0.6 \pm 0.2$	$3.24 \pm 1$	4
30	$1.84 \pm 0.27$	$9.95 \pm 1.5$	9
100	$7.24 \pm 0.76$	$39.14 \pm 4$	9
300	$17 \pm 2.1$	$91.9 \pm 2.3$	9

In the same studies:

Maximum response to NMDA ( $80 \mu$ M) =  $18.5 \pm 2.5$  mV (n = 9).

FIGURE 1

RAT CINGULATE CORTEX SLICE (WEDGE)

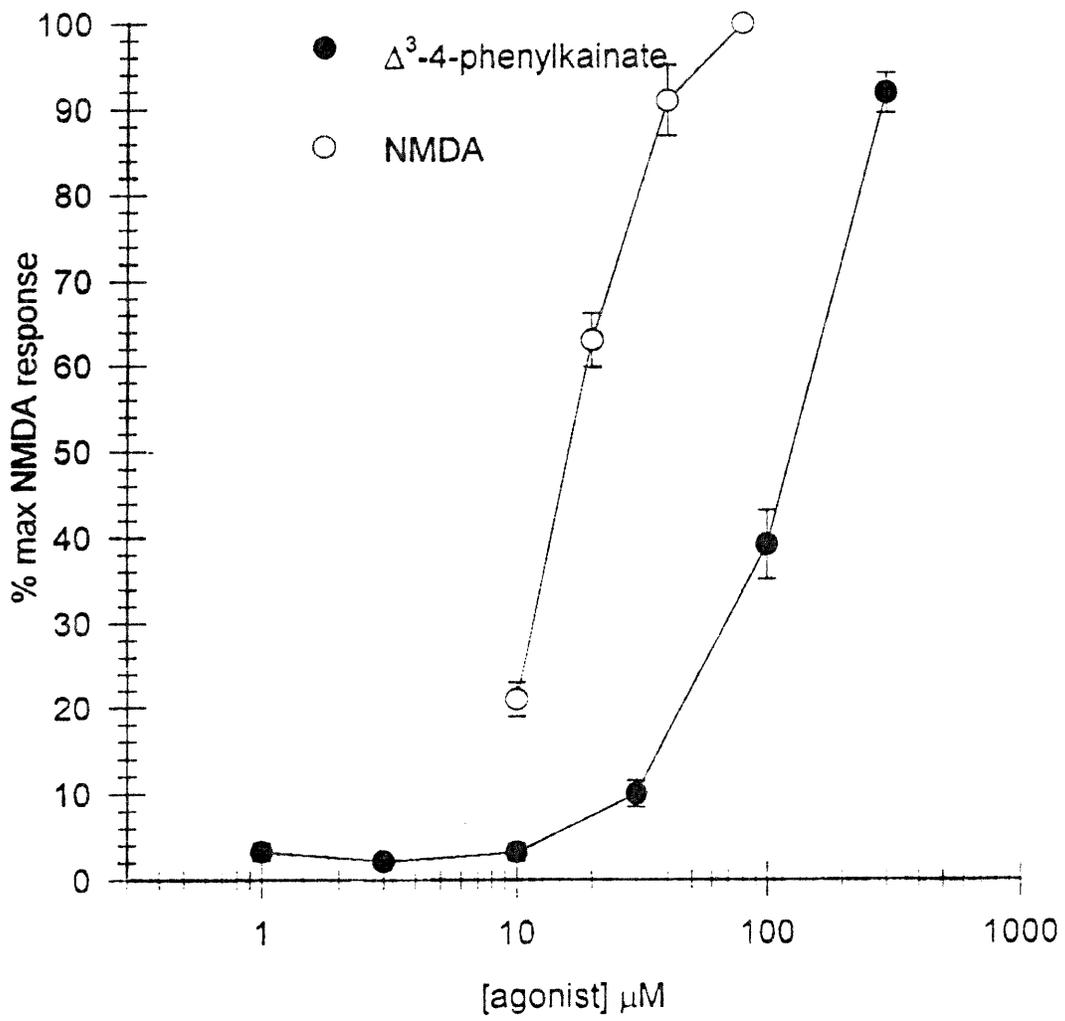


FIGURE 2

### RAT CINGULATE CORTEX SLICE (WEDGE)

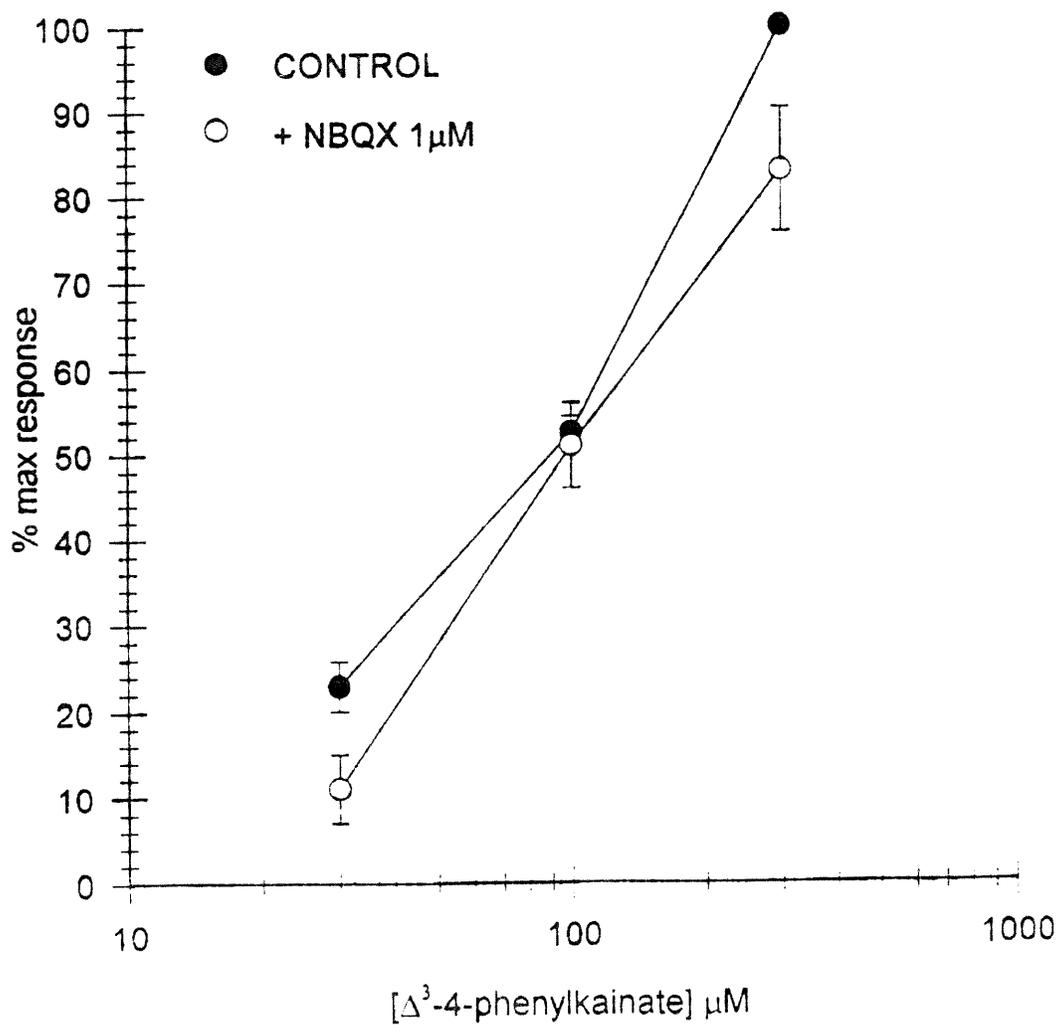
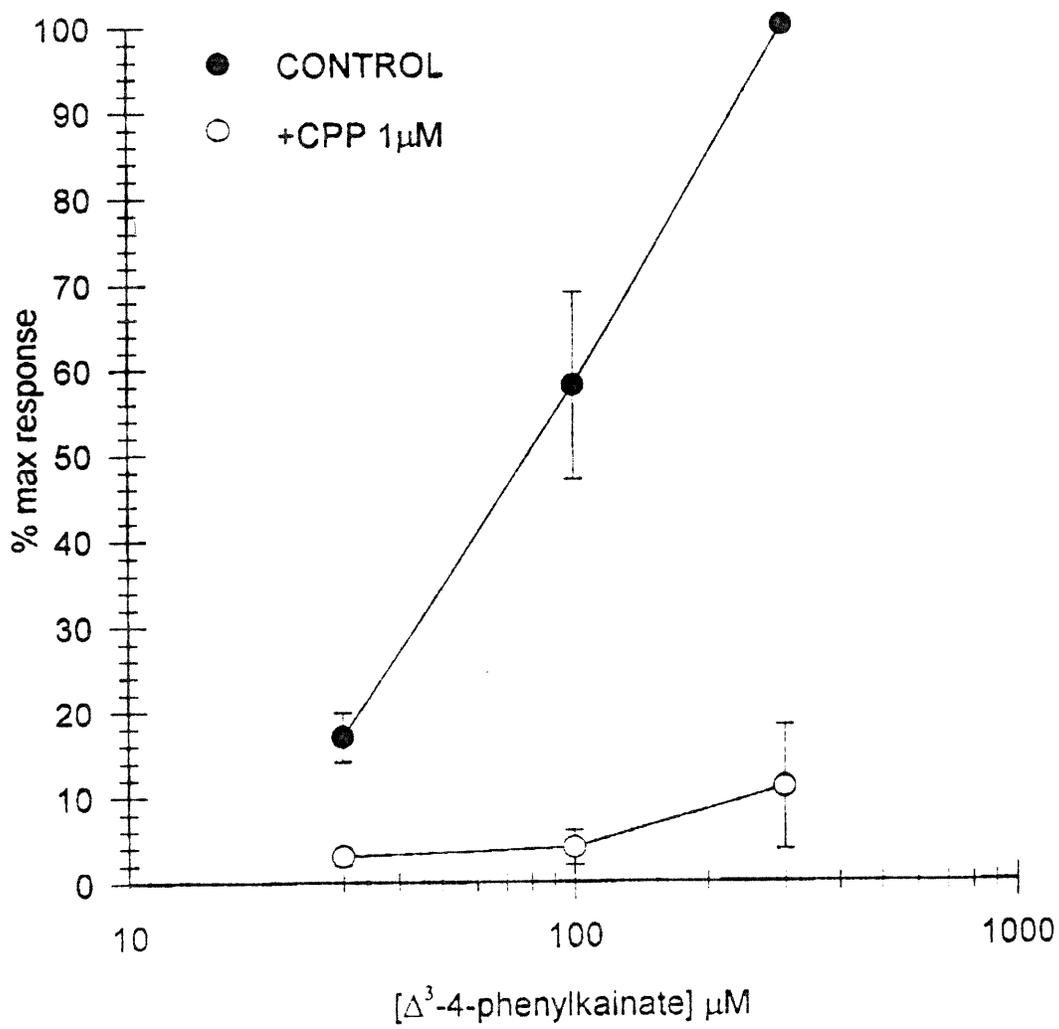


FIGURE 3

### RAT CINGULATE CORTEX SLICE (WEDGE)



## Remerciements:

J'aimerais remercier mon directeur de recherche le professeur William D. Lubell pour son support dans ma formation et dans le développement de mon sens critique. Je conserverai toujours un respect profond et une grande gratitude pour tout ce qu'il m'a apporté ou montré que je possédais.

À mes collègues du groupe Lubell, je laisse mes remerciements pour leur aide et leur amitié. J'aimerais remercier spécialement Monique Chan Sine Mie qui, pendant son projet d'été, a été la première à préparer l'acide  $\Delta^3$ -(2-méthoxyphényl)kaïnique.

Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont participé à l'enregistrement des spectres de masse ainsi qu'au Professeur Than Phan Viet Minh et Robert Mayer pour leur support technique et leurs conseils.

Finalement, je remercie les personnes qui sont les plus responsables de la réussite de mes études, ma conjointe Nathalie, mes enfants Stéphanie, Virginie et Cynthia. Elles ont subi, au même titre que moi, mes examens, mes travaux et mes longues soirées devant l'ordinateur.

