

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

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

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

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

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

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

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

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

Université de Montréal

Synthèse de mimes peptidiques pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazépin-2-one

Par

Philippe Deaudelin

Département de chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maîtrise ès Science (M.Sc.)

en Chimie

Août, 2008

© Philippe Deaudelin, 2008



Université de Montréal
Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire intitulé :

Synthèse de mimes peptidiques pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazépin-2-one

présenté par :

Philippe Deaudelin

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Présidente Rapporteur : Professeure Andreea R. Schmitzer, *Ph.D.*

Membre du Jury : Professeur James D. Wuest, *Ph.D.*

Directeur de recherche : Professeur William D. Lubell, *Ph.D.*

Accepté le :

À ma famille et ma copine; Lysanne, Claude, Olivier et Sabrina.

Remerciements

Dans un premier temps, j'aimerais remercier le Professeur William D. Lubell pour ces années passées au sein de son groupe de recherche. Après un stage de recherche à l'été 2005, il m'accepta l'année suivante en tant qu'étudiant gradué pour effectuer mes études de maîtrise sous sa direction. Durant cette période, il apporta une contribution importante à mon développement scientifique par le biais de conseils et de discussions que nous avons eus.

J'aimerais remercier tous les membres du groupe Lubell qui ont su créer une atmosphère de travail des plus agréables par l'entraide et le respect qui régnaient au sein de notre équipe. Plus particulièrement, je remercie le Dr. Gil Fridkin, mon collègue de laboratoire, pour avoir toujours été ouvert aux discussions scientifiques lorsque j'en avais besoin.

Je remercie les membres du personnel du Département de Chimie soit : Sylvie Bilodeau du laboratoire de résonance magnétique nucléaire, Francine Bélanger-Gariépy du laboratoire de diffraction des rayons-X, Mildred Bien-Aimé assistante du Prof. Lubell, Dalbir Sekhon pour des analyses chromatographiques ainsi que tous ceux que j'ai côtoyé au cours des dernières années.

Je remercie aussi le Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT), *The Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada* (NSERC) et le *Canadian Institutes of Health Research* (CIHR) pour leur support financier.

Finalement, un merci des plus particuliers à ma famille et à mes parents pour leurs encouragements et leur support au cours des dernières années. Ils ont su croire en mes capacités en m'appuyant à poursuivre jusqu'aux études supérieures. C'est dans ces quelques lignes que je leur exprime ma plus grande reconnaissance, merci !

Résumé

Les 1,4-aryldiazépin-2-ones sont considérées comme des structures privilégiées pour leur habileté à se lier à plusieurs types de récepteurs avec une haute affinité. Parmi les 1,4-aryldiazépin-2-ones biologiquement actives, il y a des antagonistes de récepteurs couplés à la protéine-G, des inhibiteurs d'enzymes et des antibiotiques. De plus, le cycle diazépnone à sept membres a la capacité de mimer la conformation d'un tour- γ inverse. Considérant le potentiel de tels composés, une méthode synthétique en solution permettant d'accéder à un nouveau type de diazépnone, les pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazépin-2-ones, a été développée. La synthèse utilise le méthyle ester de la 4-hydroxyproline comme point de départ. Le groupement amine de la proline est protégé avec le groupement 9-phénylfluorényle (PhF) et l'alcool est oxydé pour donner la *N*-(PhF)-4-oxoproline correspondante. Cette cétone est ensuite condensée avec une amine primaire en présence d'acide pour permettre le départ du groupement PhF et l'aromatization du pyrrole. L'acylation de l'amine secondaire est effectuée avec différents chlorures d'acides, générés à partir d'acides aminés protégés au Fmoc et de triphosgène. Après clivage du groupement Fmoc, les amines primaires peuvent être transformées en amines secondaires soit par amination réductrice ou par alkylation d'intermédiaires silylamine. La cyclisation de *Pictet-Spengler* des *N*-(aminoacyl)aminopyrroles primaires et secondaires avec différents aldéhydes donne respectivement les pyrrolodiazépnone 1,3,5-tri- et 1,3,4,5-tétrasubstituées désirées. La même synthèse sur support solide consiste à fixer la *N*-(PhF)-4-hydroxyproline-2-carboxylate sur la résine de bromure de Wang. Les mêmes étapes synthétiques peuvent être effectuées jusqu'à l'obtention du *N*-(aminoacyl)aminopyrrole primaire. À cette étape, la cyclisation de *Pictet-Spengler*, le clivage des groupes protecteurs des chaînes latérales ainsi que le clivage de la résine sont effectués en une seule étape. La cristallisation et l'analyse par rayons-X d'un dérivé pyrrolodiazépnone ont montré que les angles dièdres de la portion acide aminé sont comparables à ceux d'un tour- γ inverse.

Mots clefs : Mimes peptidiques, structures secondaires, tours- γ , structures privilégiées, 1,4-benzodiazépin-2-ones, pyrrolodiazépnone, *Pictet-Spengler*.

Abstract

The 1,4-aryldiazepin-2-ones have been called “privileged structures”, because of their ability to bind at multiple receptor types with high affinity. Their biological activities include antagonists of G-protein coupled receptors, enzyme inhibitors and antibiotics. Moreover, their seven-membered ring may mimic an inverse γ -turn peptide conformation. Their potential in medicinal chemistry has led us to pursue a synthetic method for accessing a novel type of diazepinone, the pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-ones. Our synthesis used 4-hydroxyproline methyl esters as starting material. The amine of the proline ring was protected with the 9-phenylfluorenyl group (PhF) and the alcohol was oxidized to give the corresponding *N*-(PhF)-4-oxoproline. The newly formed ketone was then condensed with a primary amine in the presence of acid to initiate the PhF group departure and aromatisation to form a 4-aminopyrrole-2-carboxylate. Acylation of the secondary amine was achieved with different acid chlorides generated from Fmoc α -amino acids and triphosgene. After Fmoc group removal, the primary amine could be transformed to a secondary amine by reductive amination or by way of a silylamine intermediate. The *Pictet-Spengler* cyclization of the primary and secondary *N*-(aminoacyl)aminopyrroles with different aldehydes then furnished the desired 1,3,5-tri- and 1,3,4,5-tetrasubstituted pyrrolodiazepinones. Furthermore, the synthesis method was adapted onto solid support using the *N*-(PhF)-4-hydroxyproline-2-carboxylate linked to Wang resin. Following similar steps a primary *N*-(aminoacyl)aminopyrrole was synthesized on resin. At this stage, *Pictet-Spengler* cyclization, removal of the side chains protecting groups and cleavage of the resin, all were accomplished in a one-step process that provided the pyrrolodiazepinone in good yield and purity. In addition, the X-ray crystal structure of a pyrrolodiazepinone derivative showed that the dihedral angles around the amino acid portion compared favourably to those of an ideal reverse γ -turn.

Key words: Peptidomimetics, secondary structures, γ -turns, privileged structures, 1,4-benzodiazepin-2-ones, pyrrolodiazepinones, *Pictet-Spengler*.

Table des matières

Remerciements.....	iv
Résumé.....	v
Abstract.....	vi
Table des matières.....	vii
Liste des figures.....	x
Liste des schémas.....	xi
Liste des abréviations.....	xiii

Chapitre 1 : Introduction

1.1 Peptides et développement d'agents thérapeutiques.....	2
1.2 Mimes peptidiques.....	3
1.3 Les structures des protéines	5
1.4 Les structures secondaires.....	6
1.4.1 Les tours.....	7
1.4.1.1 Les tours- γ	8
1.5 Les structures privilégiées.....	11
1.5.1 Les 1,4-benzodiazépin-2-ones.....	13
1.6 Synthèse de librairies.....	15
1.6.1 Benzodiazépinones par condensation.....	15
1.6.2 Benzodiazépinones par formation d'amide.....	16
1.6.3 Benzodiazépinones par cyclisation <i>7-exo-trig</i>	17
1.6.4 Benzodiazépinones par réduction de nitro et formation d'amide.....	17
1.7 Autres types de benzodiazépinones.....	18

1.8	Les pyrrolodiazépinones.....	19
1.8.1	Synthèses.....	20
1.8.1.1	Synthèse de pyrrolodiazépinones par amination réductrice.....	20
1.8.1.2	Synthèse de pyrrolodiazépinones par réaction de <i>Ugi</i>	21
1.8.1.3	Synthèse de pyrrolodiazépinones par réarrangement de cyclopropylkétimines.....	22
1.8.1.4	Synthèse de dérivés Anthramycine.....	23
1.9	Perspectives du projet.....	24
1.10	Références.....	26

Chapitre 2 : Article (Deaudelin, P.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2008, *10*, 2841.)**

2.1	Résumé.....	35
2.2	Introduction.....	36
2.3	Discussion.....	37
2.4	Conclusion.....	44
2.5	Remerciements.....	44
2.6	Informations complémentaires.....	45
2.7	Références.....	75

Chapitre 3 : Support solide et Perspectives

3.1	La synthèse peptidique sur support solide.....	79
3.2	Les stratégies Fmoc/ <i>t</i> -Bu et Boc/Cbz.....	80
3.3	Les résines à base de polystyrène (PS).....	81
3.3.1	La résine de Wang.....	82
3.4	Synthèse de d'aminopyrroles sur support solide.....	83
3.5	Synthèse de pyrrolodiazépinones sur support solide (preuve du concept).....	85

3.6	Conclusion : travaux futurs et perspectives.....	87
3.7	Partie expérimentale.....	89
3.8	Références.....	93
	Annexes 1 (Spectres RMN du chapitre 2).....	I à XXXII
	Annexes 2 (Spectres RMN et IR du chapitre 3).....	XXXIII à XLII

Liste des figures

Figure 1 : Isostères peptidiques communs.....	3
Figure 2 : Inhibiteurs de la protéase du VIH avec isostère hydroxyéthylène.....	4
Figure 3 : Angles dièdres et liens amide.....	5
Figure 4 : Représentation d'éléments structuraux de la flavodoxine.....	7
Figure 5 : Les différents types de tours.....	7
Figure 6 : Tour- γ	8
Figure 7 : Mimes de tours- γ	10
Figure 8 : Incorporation de mimes rigides dans des peptides	11
Figure 9 : Structures privilégiées représentatives.....	12
Figure 10 : Benzodiazépines se liant aux récepteurs du GABA _A	13
Figure 11 : 1,4-Benzodiazépin-2-ones biologiquement actives.....	14
Figure 12 : Autres types de benzodiazépinones.....	19
Figure 13 : Pyrrolodiazépinones biologiquement actives.....	20
Figure 14 : Pyrrolodiazépinones représentatives.....	36
Figure 15 : Structure cristalline de la diazépinone 1b par rayons-X.....	44
Figure 16 : Conditions de clivage des groupements Fmoc/ <i>t</i> -Bu et Boc/Cbz.....	81

Liste des schémas

Schéma 1 : Synthèse de diazépines par Ellman.....	16
Schéma 2 : Synthèse de diazépines par DeWitt.....	16
Schéma 3 : Synthèse de diazépines par Bhalay.....	17
Schéma 4 : Synthèse de diazépines par Ede.....	18
Schéma 5 : Synthèse de pyrrolodiazépines par cyclisation de dipeptides.....	21
Schéma 6 : Synthèse de pyrrolodiazépines par réaction de <i>Ugi</i>	22
Schéma 7 : Synthèse de pyrrolodiazépines par réarrangement de cyclopropylkétimines.....	23
Schéma 8 : Synthèse de dérivés Anthramycine par formation d'hydroxyamides.....	24
Schéma 9 : Synthèse orientée sur la diversité.....	25
Schéma 10 : Résumé.....	35
Schéma 11 : Synthèse des aminoamidopyrroles 10-12	38
Schéma 12 : Synthèse des aminoamidopyrroles 13-16	38
Schéma 13 : Diazépines 1a-j (rendements produits isolés).....	41
Schéma 14 : Diazépines 1k-p (rendements produits isolés) et 17	42
Schéma 15 : Synthèse Peptidique sur Phase Solide (SPPS).....	80
Schéma 16 : Synthèse d'une résine de polystyrène.....	82
Schéma 17 : Synthèse de la résine de Wang.....	83
Schéma 18 : Synthèse de la résine de bromure de Wang.....	84

Schéma 19 : Synthèse de la résine 4-oxoproline 13	84
Schéma 20 : Synthèse de résines 4-aminopyrrole-2-carboxylate.....	85
Schéma 21 : Synthèse d'une pyrrolodiazépinone sur support solide.....	86

Liste des abréviations

Ac	-	Acétate
ADN	-	Acide désoxyribonucléique
Ar	-	Aromatique
Arg	-	Arginine
Asp	-	Aspartate
AT	-	Angiotensine
Boc	-	<i>tert</i> -Butoxycarbonyle
Bn	-	Benzyle
Bpoc	-	2-(4-Biphényle)- <i>iso</i> -propyloxycarbonyle
BSA	-	<i>N,O</i> -Bis(triméthylsilyl)acétamide
Bt	-	Benzotriazole
Bu	-	Butyl
BzR	-	<i>Benzodiazepine receptor</i>
Cbz	-	Carboxybenzyle
CCK	-	Cholécystokinine
CLSM	-	Chromatographie Liquide Spectroscopie de Masse
DAIB	-	(Diméthylamino)isobornéol
dba	-	Dibenzylidèneacétone
DC	-	Dichroïsme circulaire
DCC	-	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
DCE	-	Dichloroéthane
DCM	-	Dichlorométhane

DDQ	-	2,3-Dicyano-5,6-dichloro-parabenzoquinone
DIC	-	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide
DIEA	-	Diisopropyléthylamine
DMF	-	Diméthylformamide
DMS	-	Diméthylsulfure
DMSO	-	Diméthylsulfoxyde
DNA	-	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
dr	-	<i>Diastereoisomer ratio</i>
ED	-	Endothéline
EDCI	-	<i>N</i> -(3-Diméthylaminopropyl)- <i>N</i> -éthyl carbodiimide hydrochlorure
Et	-	Éthyle
Fmoc	-	Fluorénylméthoxycarbonyle
FTIR	-	<i>Fourier Transform Infrared</i>
g	-	Gramme
GABA	-	Acide γ -aminobutyrique
Gln	-	Glutamine
Gly	-	Glycine
GP	-	Glycoprotéine
HIV	-	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HOBt	-	Hydroxybenzotriazole
HRMS	-	<i>High Resolution Mass Spectroscopy</i>
Ile	-	Isoleucine
IR	-	Infrarouge

LC	-	<i>Liquid Chromatography</i>
LED	-	Lupus Érythémateux Disséminé
MC	-	Mélanocortine
Me	-	Méthyle
mg	-	Milligramme
mL	-	Millilitre
mmol	-	Millimole
Ms	-	Mésyl-
MS	-	<i>Mass Spectroscopy</i>
MS	-	<i>Molecular Sieves</i>
NBS	-	<i>N</i> -Bromosuccinimide
nm	-	Nanomètre
NMP	-	<i>N</i> -Méthylpyridine
NMR	-	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
nOe	-	<i>Nuclear Overhauser effect</i>
P	-	Protection
PhF	-	9-Phénylfluorényle
Pr	-	Propyl
PS	-	Polystyrène
<i>p</i> -TsOH	-	Acide <i>para</i> -toluènesulfonique
Py	-	Pyridine
RCPG	-	Récepteur Couplé à la Protéine G
RGD	-	Arginine Glycine Aspartate

RMN	-	Résonance Magnétique Nucléaire
RX	-	Halogénure d'alkyle
SMHR	-	Spectroscopie de Masse Haute Résolution
SPPS	-	Synthèse peptidique sur phase solide
TBS	-	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyl
TBTU	-	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetraméthyluronium tétrafluoroborate
<i>t</i> -Bu	-	<i>tert</i> -Butyle
TEMPO	-	2,2,6,6-Tétraméthylpiperidine-1-oxyl
TFA	-	Acide trifluoroacétique
THF	-	Tétrahydrofurane
TLC	-	<i>Thin Layer Chromatography</i>
Troc	-	Trichloroéthoxycarbonyl
Ts	-	Tosyl-
Tyr	-	Tyrosine
VIH	-	Virus de l'Immunodéficience Humaine
μL	-	Microlitre

Chapitre 1

Introduction

1.1 Peptides et développement d'agents thérapeutiques

Plusieurs évènements biochimiques et physiologiques sont modulés par des protéines ou des peptides endogènes. Par exemple, l'insuline contrôle la consommation cellulaire du glucose sanguin, l'enképhaline inhibe la sensation de douleur, l'angiotensine a un rôle dans la régulation de la pression artérielle et la bradykinine est un important vasodilatateur agissant comme sensibilisateur de l'inflammation.¹ Ces protéines et ces peptides endogènes constituent des cibles thérapeutiques de choix pour développer de nouveaux médicaments ou pour étudier des mécanismes d'action lorsqu'ils sont impliqués dans une pathologie. Toutefois, l'administration orale des peptides peut être problématique. Ces derniers peuvent souffrir d'une mauvaise pharmacocinétique due à une métabolisation rapide (protéolyse), une faible absorption, une faible biodisponibilité ainsi qu'une excrétion rapide.²

De plus, la liberté conformationnelle peut parfois limiter la spécificité des peptides envers le récepteur ciblé.^{3,4} Dans cet ordre d'idées, plusieurs études dans le domaine de la chimie médicinale ont pour but de développer des mimes peptidiques. Les mimes peptidiques sont des molécules possédant les éléments structuraux essentiels à l'activité biologique. Ces derniers peuvent mimer la conformation biologiquement active du peptide naturel dans un espace tridimensionnel. Ceci permet d'interagir avec la cible biologique en produisant la même réponse tout en ayant de meilleurs paramètres pharmacocinétiques.⁵

1.2 Mimes peptidiques

Plusieurs approches peuvent être envisagées pour le développement de mimes peptidiques. Par exemple, il y a la modification des liens amide du squelette peptidique (isostères),⁹ la modification des chaînes latérales,⁶ la cyclisation du squelette peptidique afin de restreindre sa liberté conformationnelle⁷ ainsi que le mimétisme des structures secondaires.⁸

Ces mimes peptidiques peuvent généralement être classés dans deux groupes principaux.⁹ Le premier groupe comporte les molécules dont le squelette peptidique est modifié au niveau des liens amide, soit les isostères peptidiques (Figure 1).

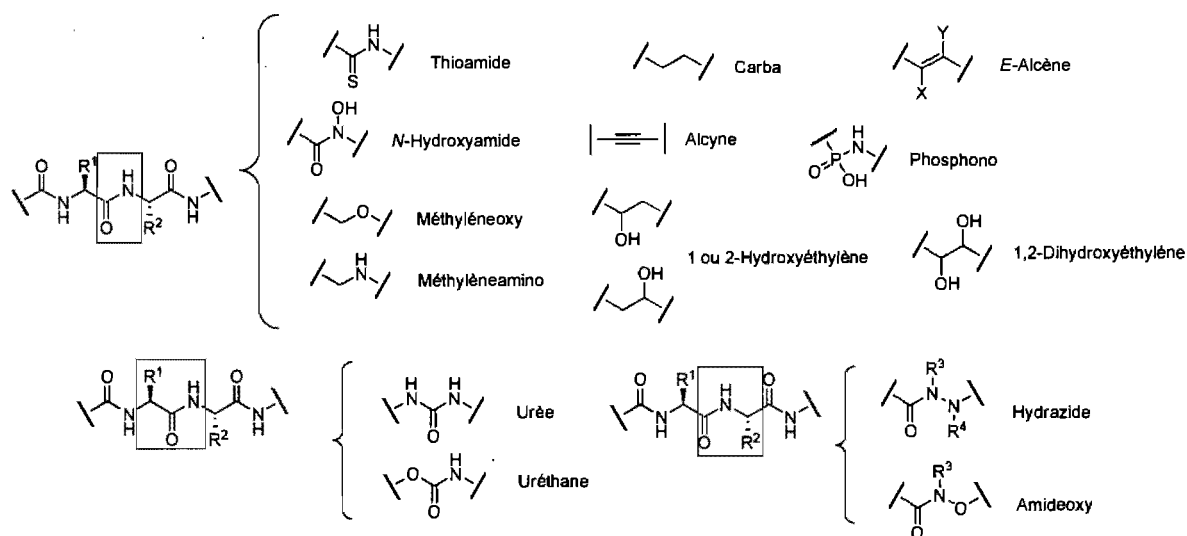


Figure 1 : Isostères peptidiques communs⁹

Ces molécules contenant des isostères peuvent servir d'inhibiteurs d'enzymes au site de clivage du substrat. Plus spécifiquement, certains de ces inhibiteurs peuvent mimer l'état de transition de certaines réactions enzymatiques et fournir de l'information sur l'activité enzymatique.⁹ À titre d'exemple, certains isostères ont été utilisés dans le développement de plusieurs inhibiteurs d'enzymes, comme les γ -sécrétases pour le traitement de la maladie d'Alzheimer,¹⁰ l'interleukine-1 β pour le traitement des maladies inflammatoires¹¹ ainsi que la protéase du VIH pour le traitement du SIDA. La Figure 2 illustre les structures de l'Indinavir® (1) et du Palinavir® (2), deux inhibiteurs de la protéase du VIH possédant un isostère hydroxyéthylène.^{12,13}

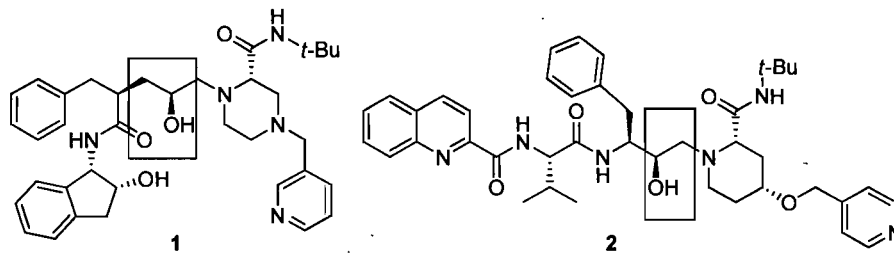


Figure 2 : Inhibiteurs de la protéase du VIH avec isostère hydroxyéthylène^{12,13}

Le deuxième groupe de mimes peptidiques comporte les petites molécules non peptidiques. Il s'agit de composés possédant les éléments et groupements essentiels à l'activité biologique (pharmacophore) et pouvant se lier en tant que mime rigide au site de liaison du peptide endogène. En d'autres termes, ces composés possèdent les éléments topographiques essentiels à l'activité biologique et miment la conformation du peptide dans un espace tridimensionnel.⁹ Toutes ces caractéristiques font d'eux des mimes peptidiques idéaux.

1.3 Les structures des protéines

Les protéines peuvent s'organiser hiérarchiquement selon différents niveaux de complexité. Il y a les structures primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires. La simple chaîne d'acides aminés constitue la structure primaire tandis que les repliements locaux réguliers de cette même chaîne constituent les structures secondaires. L'assemblage de ces repliements locaux réguliers dans des domaines compacts constitue les structures tertiaires tandis que l'assemblage de l'ensemble de la protéine constitue la structure quaternaire.¹⁴ Pour bien comprendre comment les protéines peuvent adopter différentes conformations locales, il est tout d'abord nécessaire de discuter des liens amide et des angles dièdres.

Les amides possèdent un caractère partiel double dû à leurs structures de résonance. Ceci confère des caractéristiques importantes à la conformation de la protéine (Figure 3-a). Premièrement, le carbone du groupement carbonyle, l'oxygène et l'azote figurent tous dans un même plan où aucune rotation libre n'est permise (Figure 3-c). Deuxièmement, il n'y a que deux angles dièdres possibles autour de ce lien, soit $\omega = 0^\circ$ et $\omega = 180^\circ$ qui définissent respectivement les isomères *cis* et *trans* (Figure 3-b).¹⁵

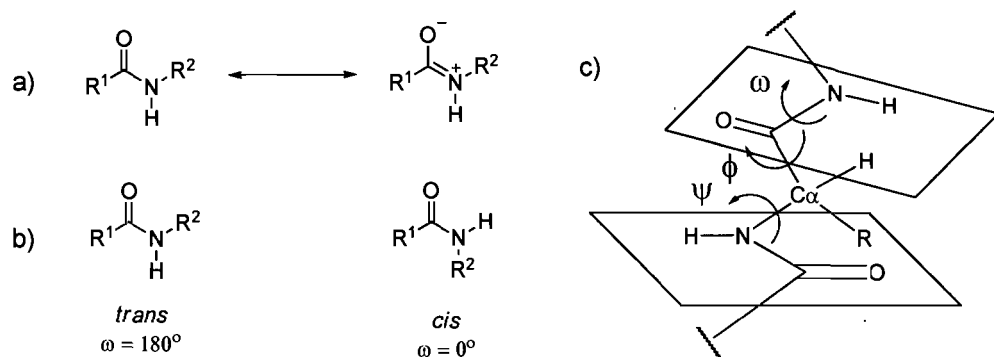


Figure 3 : Angles dièdres et liens amide¹⁵

Les angles dièdres définissent la liberté de rotation autour du carbone α . Ainsi, on considère le carbone α comme un pivot à partir duquel les 2 plans amide s'articulent. Les angles dièdres qui en résultent sont ψ , la rotation autour du lien N-C α et ϕ , la rotation autour du lien C α -C(O) (Figure 3-c).¹⁵ Seulement certaines combinaisons de ces angles dièdres ψ et ϕ sont permises, donnant lieu aux différents types de structures secondaires.

1.4 Les structures secondaires

Les structures secondaires sont des conformations locales que peuvent adopter les chaînes peptidiques lorsqu'elles se replient ou tournent afin de minimiser leur énergie par la formation de ponts hydrogène. Parmi les structures secondaires, on compte les hélices- α , les feuillets- β ainsi que les différents tours. Les hélices- α sont des enroulements réguliers d'une chaîne peptidique par la formation de ponts hydrogène intrachaînes.¹⁵ Les feuillets- β sont des empilements de chaînes par la formation de ponts hydrogène interchaînes, tandis que les tours sont des changements de direction de la chaîne peptidique.¹⁵ Ces différents éléments structuraux sont représentés à la Figure 4 sur le diagramme topographique de la flavodoxine, une protéine bactérienne.¹⁴

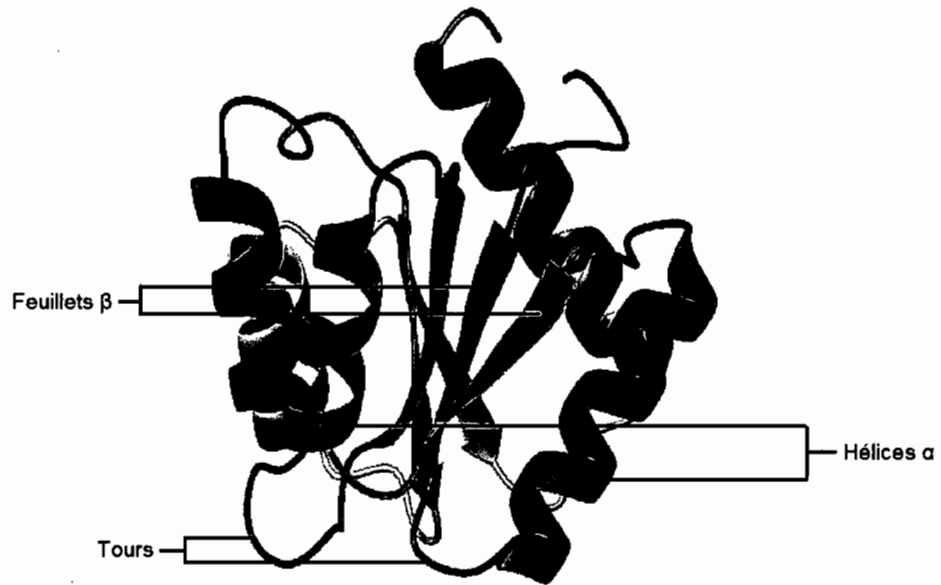


Figure 4 : Représentation d'éléments structuraux de la flavodoxine¹⁴

1.4.1 Les tours

On distingue trois types de tours, soit les tours- α , - β et - γ (Figure 5). Les tours- α , l'unité minimale de répétition d'une hélice- α , sont des cycles à treize membres formés par cinq acides aminés. Les tours- β sont des cycles à dix membres formés par quatre acides aminés et les tours- γ sont des cycles à sept membres formés par trois acides aminés.¹⁶

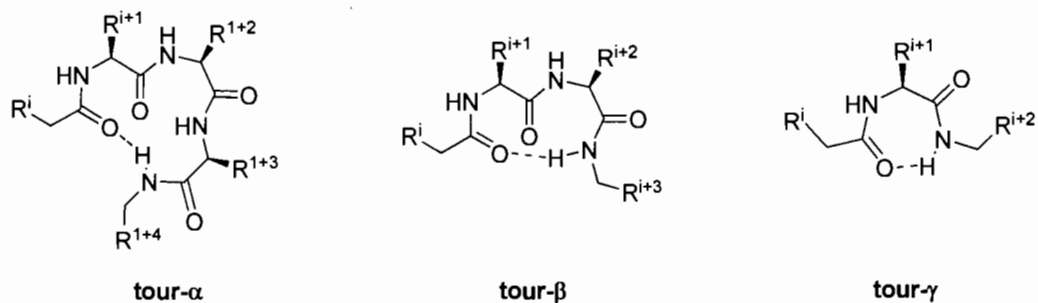


Figure 5 : Les différents types de tours¹⁶

Comparativement aux hélices, les tours sont plus difficiles à catégoriser vu leur nature non hétérogène et non périodique.¹⁷ Toutefois, les tours se retrouvent parfois à la surface des peptides et des protéines où ils interagissent avec un récepteur donné en servant d'élément de reconnaissance moléculaire.¹⁷ Les mimes rigides de structures secondaires ont donc le potentiel de fournir de l'information sur la conformation des chaînes peptidiques ainsi que sur la liaison et l'activation d'un récepteur donné.

1.4.1.1 Les tours γ

Les tours- γ sont des cycles à sept membres formés par un pont hydrogène entre le groupement carbonyle d'un résidu acide aminé i et l'azote du groupement amide d'un résidu acide aminé $i+2$. Le positionnement du squelette peptidique dans un espace tridimensionnel est caractérisé par des intervalles d'angles dièdres, soit le tour- γ et le tour- γ inverse (Figure 6).^{18,19}

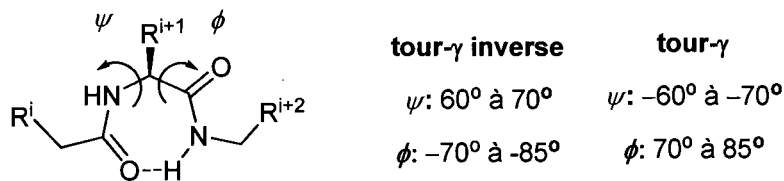


Figure 6 : Tour- γ ^{18,19}

Malgré que les tours- γ soient observés moins fréquemment dans les protéines, ils ont démontré un rôle important dans la reconnaissance moléculaire de petits peptides. Par exemple, une étude a démontré une relation entre l'adoption d'une structure en forme de

tour- γ par différents dérivés enképhaline et la liaison de ces dérivés à une membrane de phosphatidylcholine et de phosphatidylsérine.²⁰ Une autre étude a démontré que des pentapeptides cycliques possédant un tour- γ inverse pouvaient servir d'antagonistes pour une gamme de récepteurs couplés à la protéine-G (RCPG) possédant des domaines de liaison similaires.²¹ Comme dernier exemple, il y a les peptides contenant la séquence Arg-Gly-Asp (RGD), comme la vitronectine, une glycoprotéine dont le tour- γ de la séquence RGD contribue à la reconnaissance spécifique par les récepteurs d'intégrine $\alpha_v\beta_3$.²²

Plusieurs peptides endogènes sont aussi connus pour adopter une conformation de type tour- γ dans leur conformation biologiquement active. C'est le cas de l'ocytocine,²³ de l'urotensine,²⁴ de la vasopressine,²⁵ de l'angiotensine,²⁶ de la bradykinine,²⁷ de la substance P,²⁸ de la cyclosporine²⁹ et de la somatostatine cyclique³⁰, toutes des protéines impliquées dans des événements biologiques fondamentaux. Ce faisant, des approches synthétiques ont été développées de façon à induire ou à mimer la conformation d'un tour- γ . À titre d'exemple, des analyses conformationnelles, soit par RMN, dichroïsme circulaire (DC), rayons-X ou modélisation moléculaire ont démontré que les dérivés synthétiques cyclopropanes **3**³¹ et **4**³² ainsi que les diazépines **5**³³ et **6**³⁴ adoptent des conformations qui s'apparentent à celle d'un tour- γ (Figure 7). Quant au composé **7**, il a été montré par RMN et par DC qu'en alternant les liens amide avec des isostères amideoxy, il est possible d'induire des tours- γ .³⁵

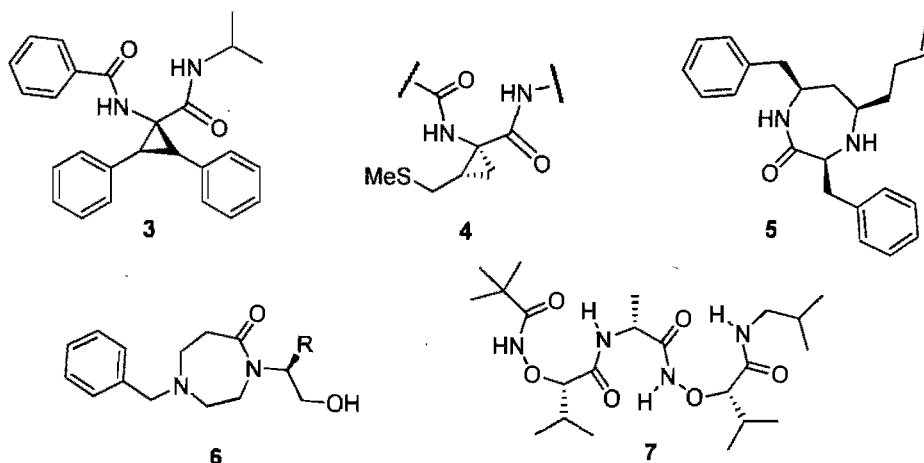


Figure 7 : Mimes de tours- γ ³¹⁻³⁵

Les exemples de la Figure 8 illustrent des cas où des structures rigides ont été introduites dans les peptides naturels angiotensine et vasopressine. À titre d'information, l'angiotensine joue un rôle dans le maintien de la pression artérielle tandis que la vasopressine produit une action antidiurétique.¹ Dans l'analogue de l'angiotensine **8**, un dérivé benzodiazépine a été introduit dans le peptide naturel à la place des résidus Tyr et Ile pour donner un composé avec une grande sélectivité pour les récepteurs AT₂ et une affinité à l'échelle du nanomolaire pour ces mêmes récepteurs.²⁶ Quant à l'analogue de la vasopressine **9**, l'incorporation d'un dérivé morpholinone à la place du dérivé Gln dans le peptide naturel permet d'obtenir un composé dont la conformation s'apparente favorablement à celle du peptide naturel d'après des études de modélisation moléculaire et de RMN.²⁵

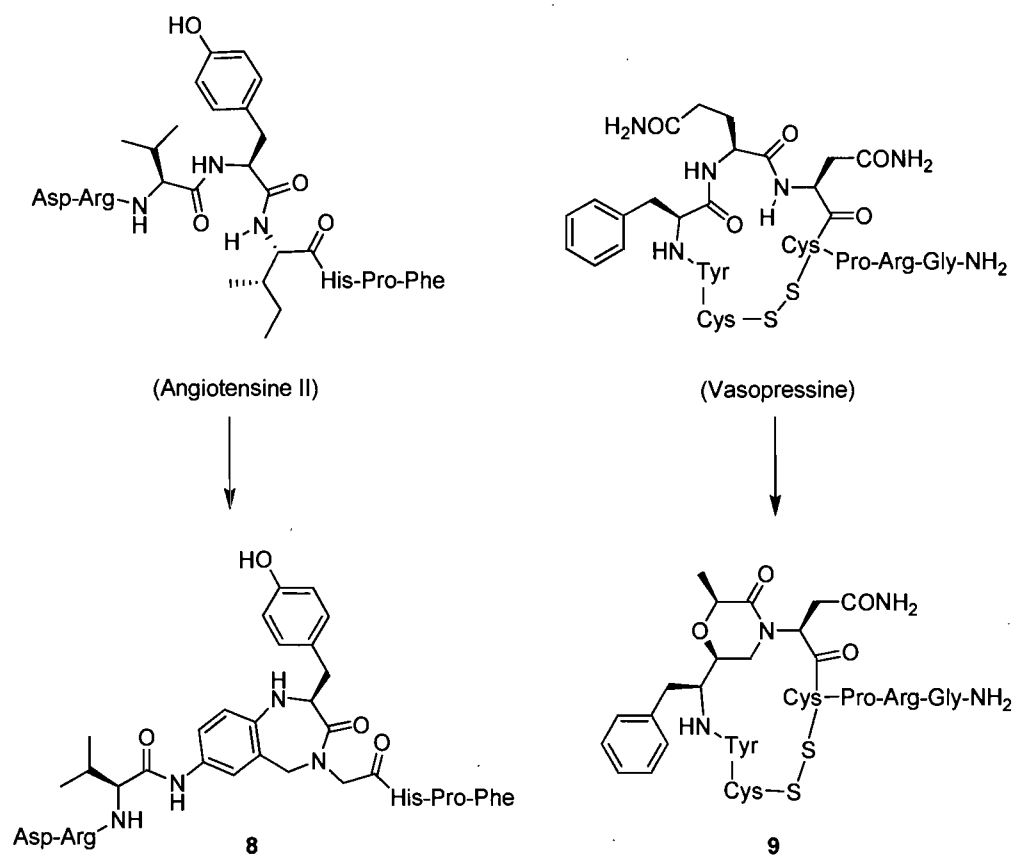


Figure 8 : Incorporation de mimes rigides dans des peptides^{25,26}

1.5 Les structures privilégiées

Afin de bien établir les bases de notre projet de recherche, il est nécessaire d'introduire un deuxième concept après celui des mimes peptidiques, soit le concept des structures privilégiées. Le terme «structure privilégiée» a été introduit en premier lieu pour désigner une classe de molécules étant capable de se lier à plusieurs récepteurs avec une grande affinité.^{36,37} Depuis, ce terme a été employé plusieurs fois dans la littérature pour décrire des composés organiques biologiquement actifs, tel que les 1,4-benzodiazépin-2-ones (10),³⁶ les 1,4-dihydropyridines (12),³⁸ les benzopyranes (13),^{39,40,41,42} les

benzopipérazinones (**14**),³⁷ les indoles (**15**),⁴³ les purines (**16**, **17**)³⁷ et autres (Figure 9). À titre d'exemple, le dérivé 1,4-benzodiazépin-2-one Bz-423 **11** a été extrêmement efficace pour le traitement de l'arthrite rhumatoïde et du lupus érythémateux disséminé (LED) sur des modèles animaux lors d'études cliniques.⁴⁴ Le Bz-423 induit l'apoptose des cellules B et T auto-réactives par l'augmentation des superoxydes (O_2^-) intracellulaires.⁴⁵ Contrairement aux autres traitements disponibles contre le LED, une maladie auto-immune, le Bz-423 a l'avantage d'être non-immunosuppresseur et non-myéloablatif.

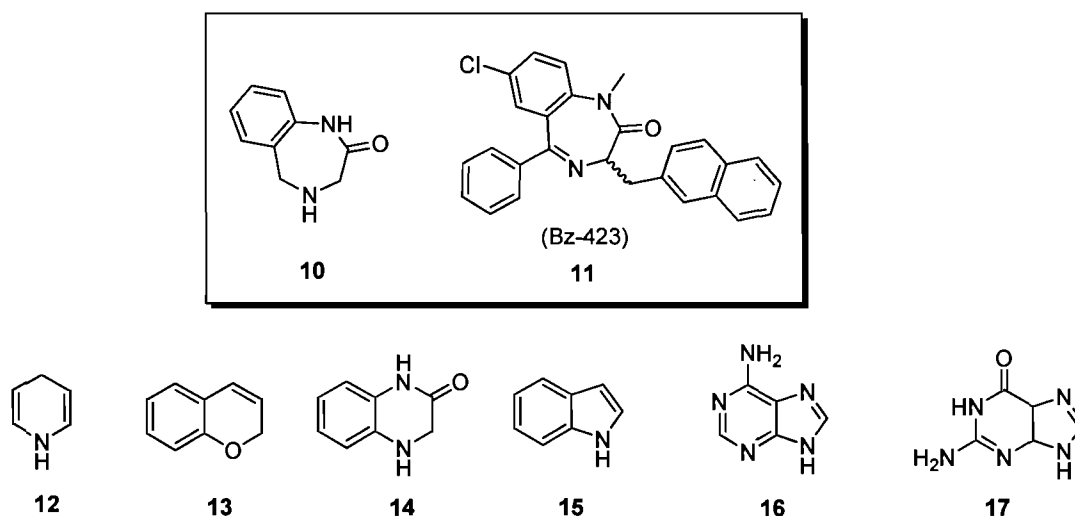


Figure 9 : Structures privilégiées représentatives³⁶⁻⁴³

Considérant l'importance d'obtenir une tête de série le plus rapidement possible dans le processus de développement d'un médicament, les chimistes doivent développer efficacement le plus d'analogues biologiquement actifs afin d'augmenter le taux de succès. Dans ce sens, les structures privilégiées offrent la possibilité de synthétiser une librairie

basée sur un motif commun pouvant mener à des activités biologiques sur une gamme de cibles thérapeutiques.³⁷

1.5.1 Les 1,4-benzodiazépin-2-ones

Les 1,4-benzodiazépin-2-ones ou simplement benzodiazépines ont tout d'abord été utilisées pour leurs propriétés anxiolytiques, antiépileptiques, hypnotiques et sédatives. Cette gamme d'activités biologiques passe par la modulation des récepteurs du GABA_A, l'acide γ -aminobutyrique, un neurotransmetteur inhibiteur largement répandu dans le système nerveux central. Les benzodiazépines se lient à des sous-sites des récepteurs du GABA_A communément appelés récepteurs des benzodiazépines (BzR). De plus, il est intéressant de voir que de petites modifications sur le squelette commun des benzodiazépines leur confèrent des applications pharmacologiques différentes.^{46,47} À titre d'exemple, le Flunitrazépam® (**18**) est un puissant hypnotique tandis que le Diazépam® ou Valium® (**19**) ainsi que le Lorazépam® aussi connu sous le nom d'Ativan® (**20**) sont prescrits pour des cas d'anxiété et d'insomnie (Figure 10).

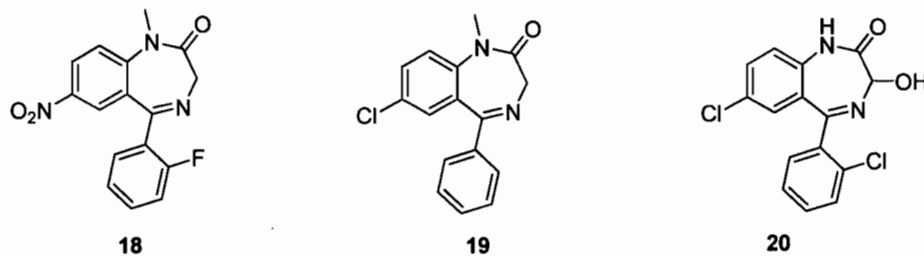


Figure 10 : Benzodiazépines se liant aux récepteurs du GABA_A⁴⁷

Les 1,4-benzodiazépin-2-ones sont aussi la classe de composés à l'origine du terme «structure privilégiée». Les travaux originaux dans ce domaine avaient démontré l'habileté de ces structures à se lier aux récepteurs de la cholécystokinine (CCK) et de la gastrine, en plus de se lier aux récepteurs benzodiazépine (BzR).³⁶ Depuis, les 1,4-benzodiazépin-2-ones ont servi d'antagonistes pour des récepteurs couplés à la protéine G (RCPG) comme l'ocytocine (**21**),⁴⁸ la neurokinine-1 (**22**)⁴⁹ et l'endothéline (**23**).⁵⁰ Elles ont aussi servi comme bloqueur de l'interaction ADN/anticorps pour le traitement du Lupus Érythémateux Disséminé (LED) (**24**)⁵¹ et comme inhibiteur de la caspase-3 dans l'apoptose (**25**)⁵² (Figure 11).

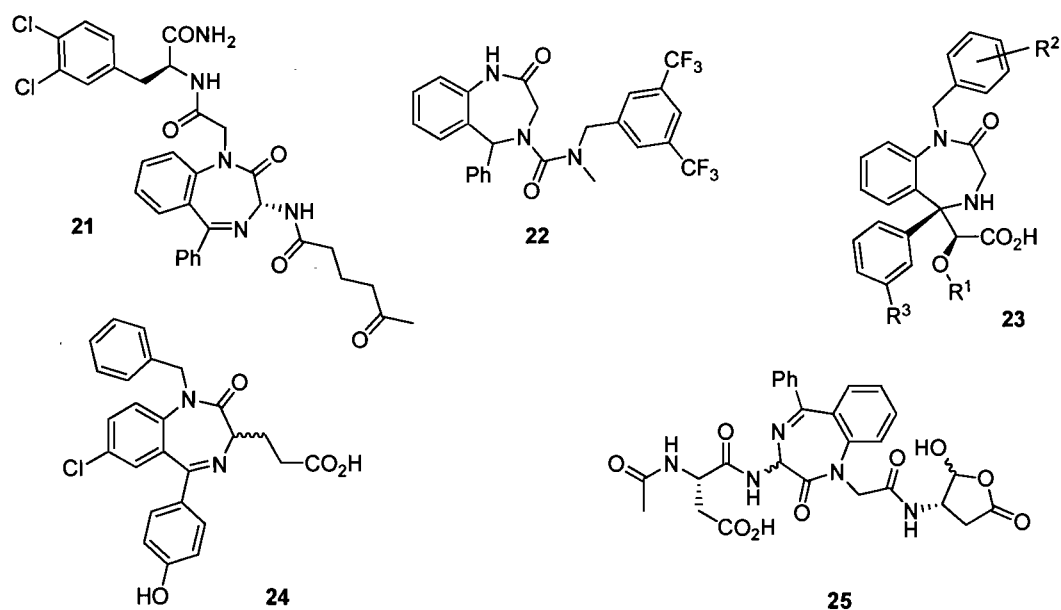


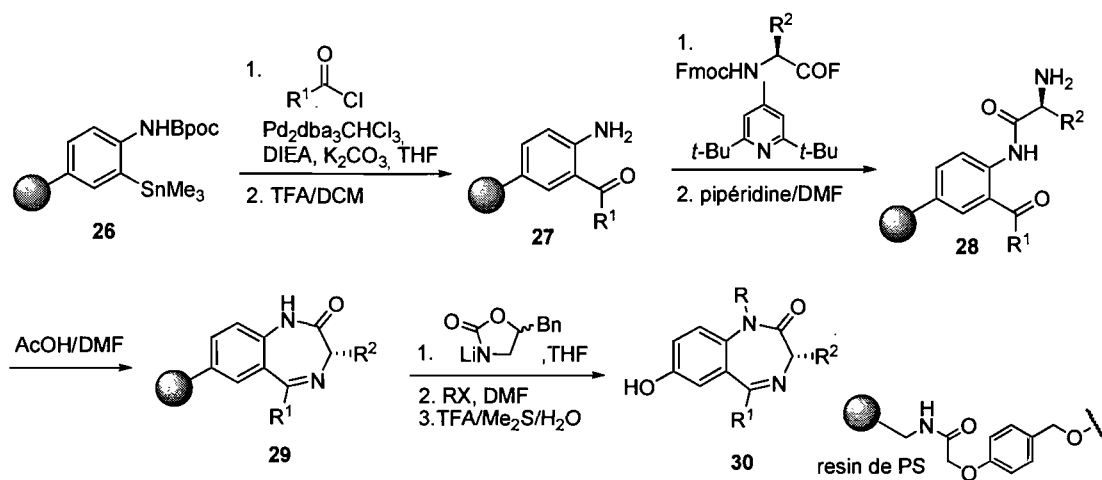
Figure 11 : 1,4-Benzodiazépin-2-ones biologiquement actives⁴⁸⁻⁵²

1.6 Synthèse de bibliothèques

Étant donné les applications biologiques diverses et le potentiel des dérivés 1,4-benzodiazépin-2-one en chimie médicinale, plusieurs approches synthétiques permettant de générer des bibliothèques ont émergé au cours de la dernière décennie. Les sections 1.6.1 à 1.6.4 présentent différentes approches synthétiques pour former le cycle diazépnone. Considérant la quantité de travaux effectués dans le domaine, seules les synthèses sur support solide permettant de générer des bibliothèques seront présentées.

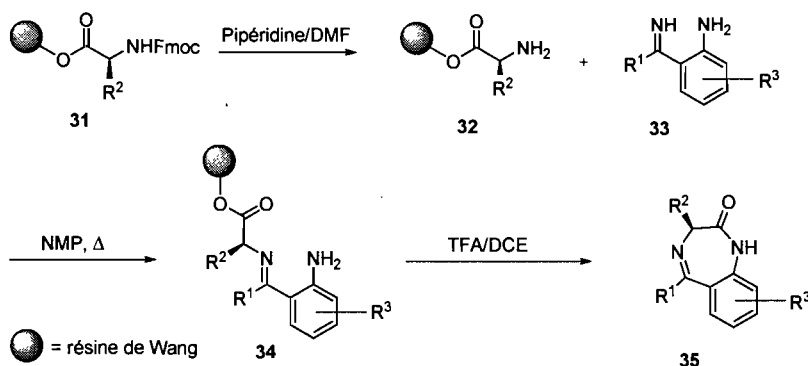
1.6.1 Benzodiazépinones par condensation

La première approche présentée est celle de Ellman (Schéma 1).^{53,54,55} Les dérivés aminobenzophénone **27** sur support solide sont générés par couplage de *Stille*⁵⁶ sur les stannanes **26** correspondants. L'acylation de l'amine **27** avec différents fluorures d'acides aminés; la déprotection de l'amine primaire et la cyclisation par condensation donne l'aryldiazépinone **29**. Finalement, la lithiation de l'amide **29** en présence de lithium 5-phénylméthyl-2-oxazolidinone puis l'alkylation permet ensuite d'introduire de la diversité en position *N*-1.

Schéma 1 : Synthèse de diazépines par Ellman⁵³⁻⁵⁵

1.6.2 Benzodiazépines par formation d'amide

La deuxième approche a été développée par DeWitt⁵⁷ (Schéma 2) et récemment utilisée par Sams⁵⁸ pour faire la synthèse d'une librairie de benzodiazépines. Des acides aminés sur résine de Wang (**32**) réagissent avec différentes aminobenzoïmines **33** pour générer les imines correspondantes **34**. Il y a ensuite cyclisation et clivage de la résine en une seule étape. Cette stratégie bénéficie de peu d'étapes de synthèse pour générer efficacement les dérivés 1,4-benzodiazépines-2-one **35**.

Schéma 2 : Synthèse de diazépines par DeWitt^{57,58}

1.6.3 Benzodiazépinones par cyclisation 7-*exo-trig*

La troisième approche présentée est celle développée par Bhalay (Schéma 3).⁵⁹ La résine de Wang est initialement traitée avec du chlorure de fumaryle (**36**) pour donner le chlorure d'acide **37**, lequel est traité avec différents amino-alcools, puis mésylé pour fournir l'amide **38**. Le groupement mésylate est ensuite déplacé par substitution nucléophile avec différentes amines primaires. Le traitement de la résine **39** avec du méthoxyde de sodium permet la cyclisation de type 7-*exo-trig*⁶⁰ et le clivage de la résine en une seule étape.

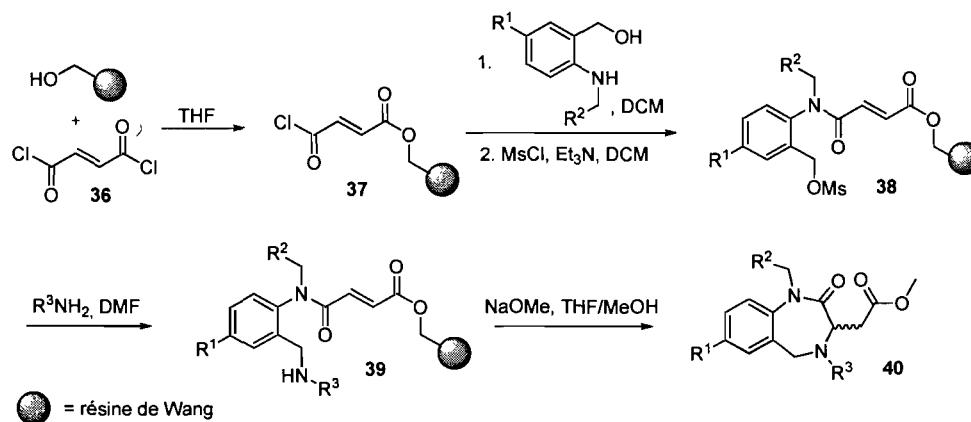
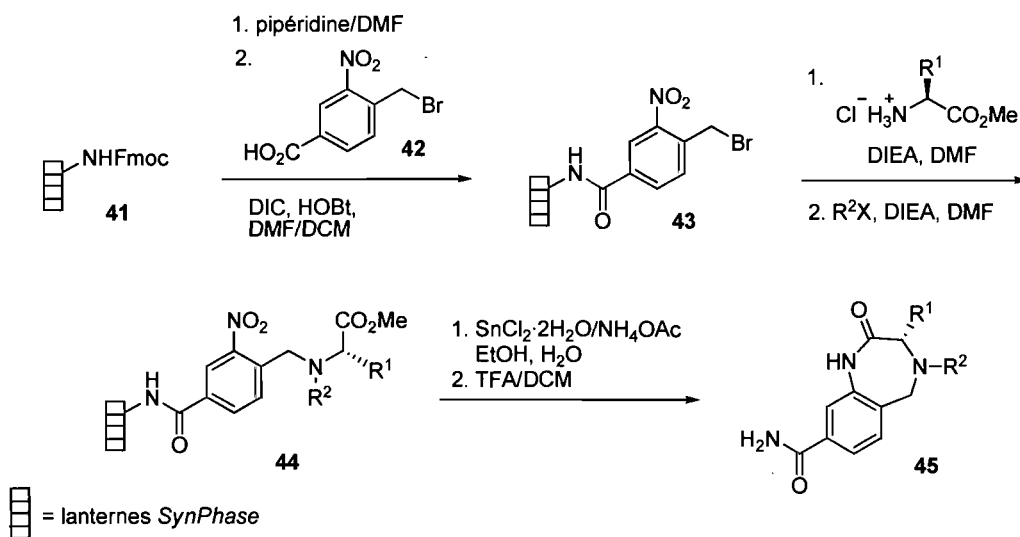


Schéma 3 : Synthèse de diazépinones par Bhalay⁵⁹

1.6.4 Benzodiazépinones par réduction de nitro et formation d'amide

La dernière approche présentée est celle développée par Ede (Schéma 4).⁶¹ Contrairement aux méthodes précédentes qui utilisaient une stratégie de synthèse classique sur résine, cette méthode utilise des lanternes *SynPhase*. Il s'agit d'un type de support solide où un polymère, comme le polystyrène, est greffé à la surface d'un plastique rigide.⁶²

La synthèse en question commence par l'attachement de l'acide nitrobenzoïque **42** sur les lanternes, par couplage peptidique pour donner l'amide **43**. Il y a ensuite substitution nucléophile du brome avec différents esters aminés, puis alkylation de l'amine secondaire formée pour générer le précurseur acyclique **44**. La réduction du groupement nitro en présence de chlorure d'étain, la cyclisation et le clivage de la résine par traitement en milieu acide permettent d'obtenir les diazépines **45** désirées.

Schéma 4 : Synthèse de diazépines par Ede⁶¹

1.7 Autres types de benzodiazépines

Outre les populaires 1,4-benzodiazépin-2-ones, les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones et les 1,5-benzodiazépin-2-ones ont démontré des activités biologiques tout aussi remarquables. Les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones ont été utilisées comme antagonistes des récepteurs plaquettaires glycoprotéines (GPIIb-IIIa) (**46**),⁶³ comme agonistes des récepteurs de mélanocortine (MC) (**47**),⁶⁴ comme antagonistes des récepteurs d'endothéline (ED)

(48)⁶⁵ et comme agent antiépileptique et anxiolytique (Figure 12).³⁷ Quant aux 1,5-benzodiazépinon-2-ones, elles ont suscité beaucoup moins de recherches. Toutefois, certains dérivés ont montré des activités inhibitrices de l'enzyme de conversion de l'interleukine-1 β (49), (50).⁶⁶

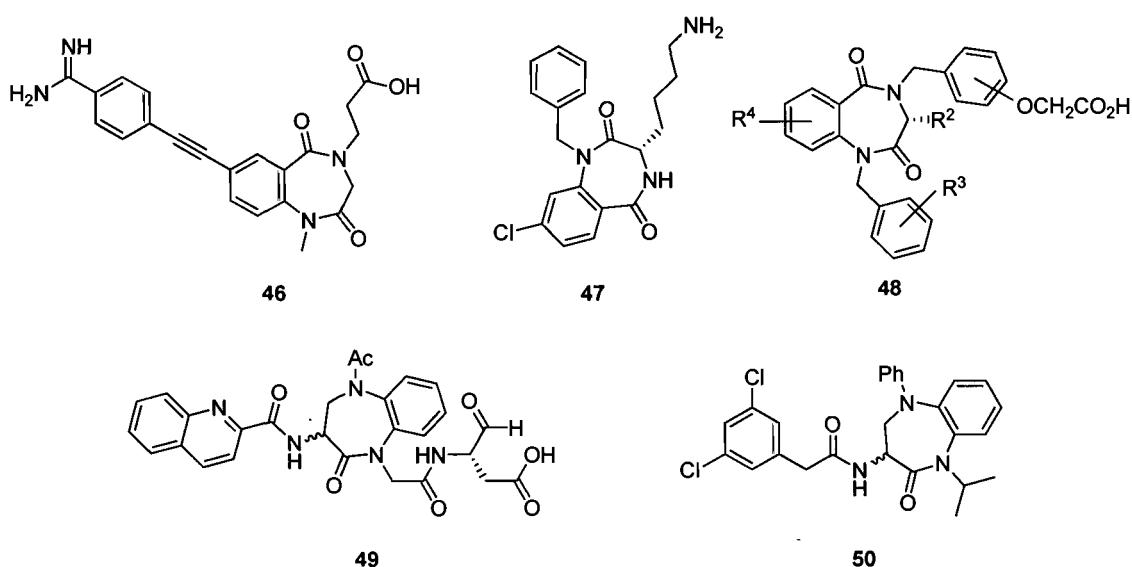


Figure 12 : Autres types de benzodiazépinones⁶³⁻⁶⁶

1.8 Les pyrrolodiazépinones

Parmi les différents hétérocycles fusionnés au cycle diazépino, peu de dérivés pyrrolo ont été synthétisés à ce jour. Malgré tout, les activités biologiques des quelques exemples rapportés dans la littérature sont prometteuses. Les pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépines tel que l'Anthramycine (51), une famille de produits naturels⁶⁷, sont des agents anti-cancéreux étant capable de lier sélectivement l'ADN de façon covalente.⁶⁸ À titre d'exemple, le dimère SJG-136 53 est sujet à des études cliniques de phase I.⁶⁹ Quant

à la pyrrolo[1,2-*b*][1,2]diazépine **52** et à la pyrrolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazépine **54**, elles sont respectivement des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ainsi que de la transcriptase inverse du VIH^{70,71} (Figure 13).

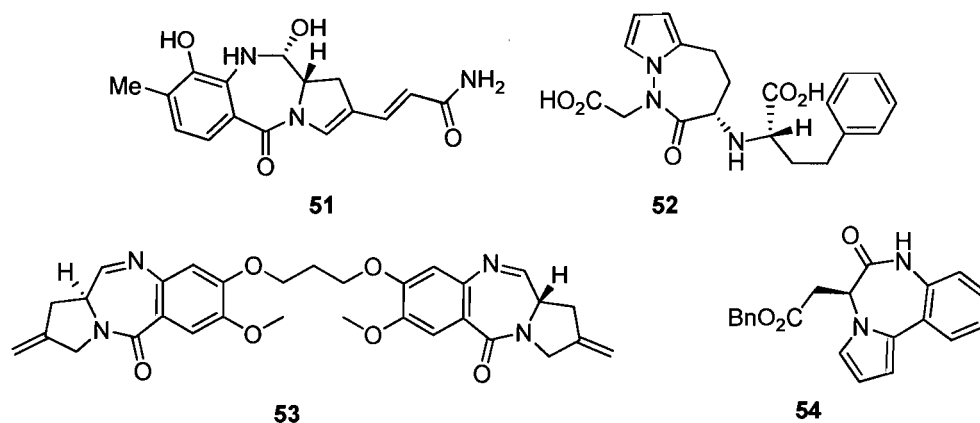


Figure 13 : Pyrrolodiazépinones biologiquement actives⁶⁷⁻⁷¹

1.8.1 Synthèses :

Malgré l'abondance et la popularité moins grande des dérivés pyrrolodiazépinone, le spectre d'activités biologiques des composés synthétisés et testés a inspiré le développement de nouvelles voies synthétiques afin d'élargir la diversité des pyrrolodiazépinones.

1.8.1.1 Synthèse de pyrrolodiazépinones par amination réductrice

Cette approche synthétique développée dans le groupe du Professeur Lubell commence par un couplage peptidique entre un acide α -aminé **56** et un acide β -aminé **55** pour donner le dipeptide **57** correspondant. Une addition conjuguée de bromure de

vinylmagnésium génère ensuite la cétone homoallylique **58**. L'oléfine terminale est oxydée par ozonolyse ou selon la méthode de *Tsuji-Wacker*⁷² pour obtenir respectivement l'aldéhyde ou la cétone **59**. Après clivage du groupement Boc, une cyclisation de *Paal-Knorr*⁷³ permet d'obtenir le système hétérocyclique pyrrolodiazépinone **60** désiré (Schéma 5).⁷⁴

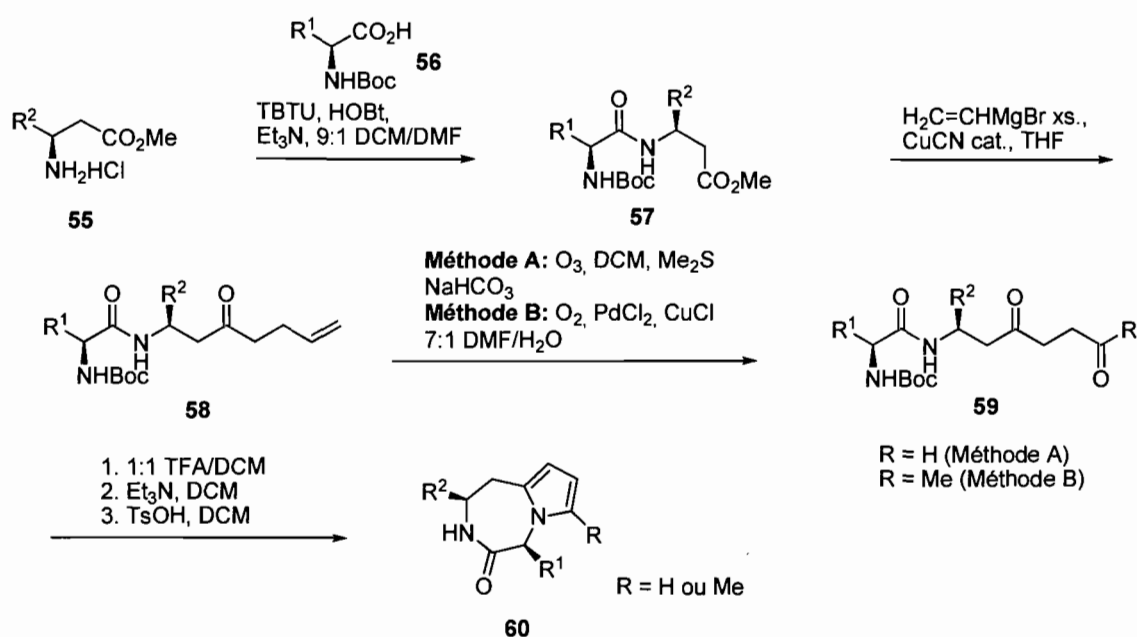


Schéma 5 : Synthèse de pyrrolodiazépinones par cyclisation de dipeptides⁷⁴

1.8.1.2 Synthèse de pyrrolodiazépinones par réaction de *Ugi*

Cette méthode utilise des dérivés de l'acide anthranilique **61** comme substrat de départ. Le pyrrole **62** est obtenu après une condensation de *Paal-Knorr*⁷³ avec le 2,5-diméthoxytétrahydrofuran. La formylation de *Vilsmeier-Haack*⁷⁵ du pyrrole et l'hydrolyse du méthyl ester génèrent ensuite le formylpyrrole acide carboxylique **64**. La réaction de

*Ugi*⁷⁶ à quatre composantes donne ensuite l'hétérocycle pyrrolodiazépinone **65** (Schéma 6).⁷⁷

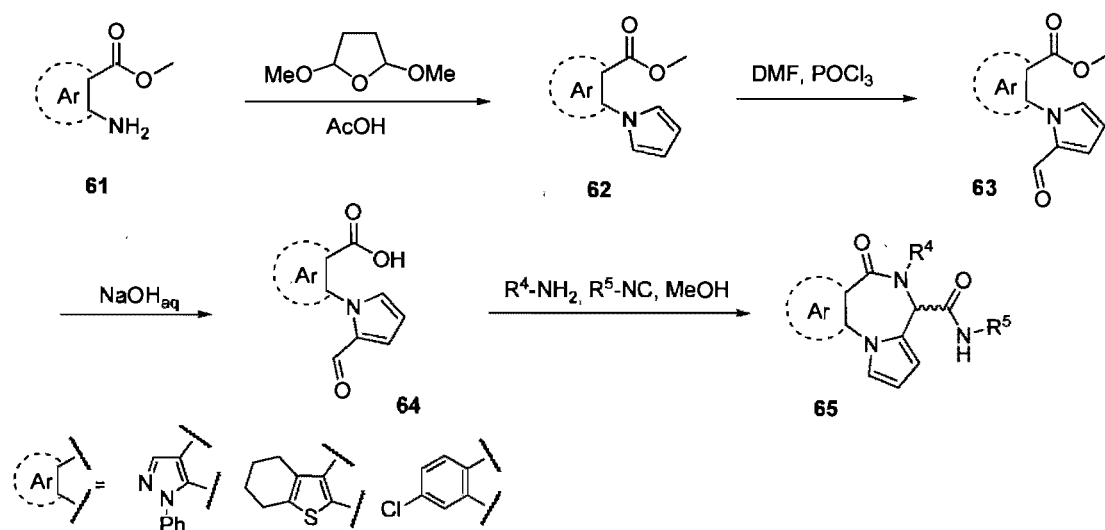


Schéma 6 : Synthèse de pyrrolodiazépinones par réaction de *Ugi*⁷⁷

1.8.1.3 Synthèse de pyrrolodiazépinones par réarrangement de cyclopropylkétimines

Cette méthode consiste à effectuer une addition de type *Michael*⁷⁸ de différentes amines primaires sur un cyclopropylidène acétate **66** suivi d'un couplage peptidique en utilisant différents acides α -aminés pour obtenir le dipeptide **67**. Le groupement Boc est ensuite clivé et la cyclisation effectuée en milieu basique. Après substitution du groupement chloro par un groupement azido, la cyclopropylkétimine **69** est obtenue par réarrangement dans des conditions de pression réduite et de chauffage pour donner le dihydropyrrole **70**. Ce dernier est oxydé en présence de DDQ pour donner l'hétérocycle pyrrolodiazépinone **71** désiré (Schéma 7).^{79,80}

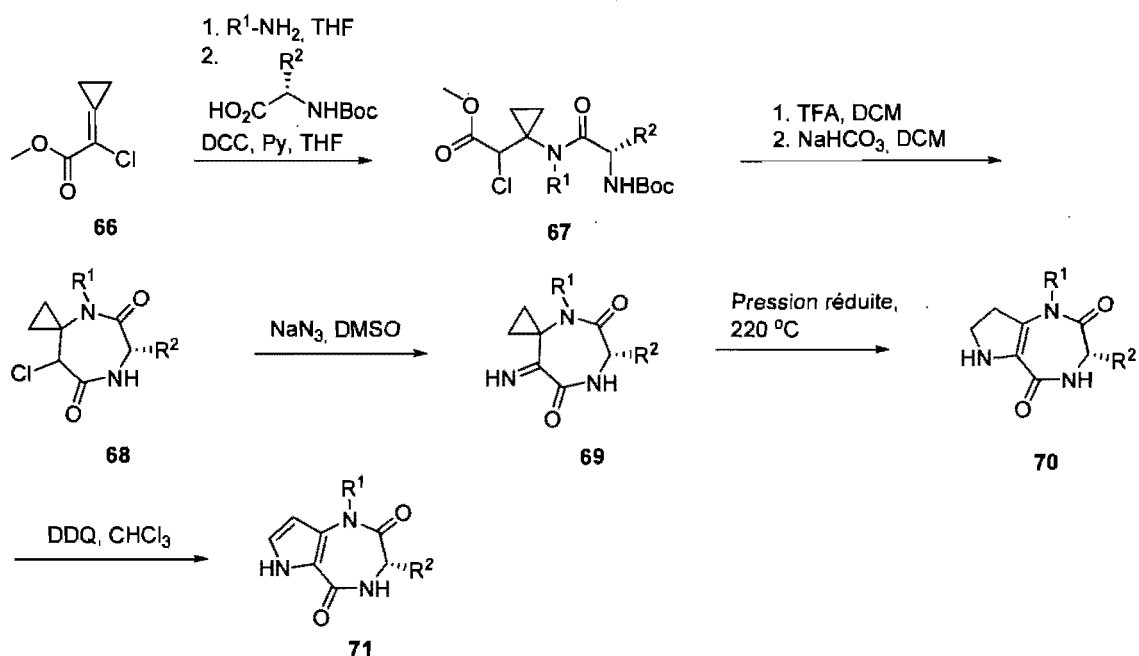


Schéma 7 : Synthèse de pyrrolodiazépinones par réarrangement de cyclopropylkétimines^{79,80}

1.8.1.4 Synthèse de dérivés Anthramycine

Une méthode récente pour élaborer des dérivés pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépines a été développée par le groupe de Thurston.⁶⁹ L'amide **74** est obtenue par couplage entre le dérivé hydroxyproline **73** et l'acide nitrovératique **72**. Le groupement nitro est ensuite hydrogéné, l'amine obtenue est protégée et l'alcool libéré en présence d'acide acétique pour donner l'intermédiaire **77**. L'oxydation de l'alcool primaire permet ensuite la cyclisation et la formation de l'hydroxyamine **78** (Schéma 8).⁶⁹

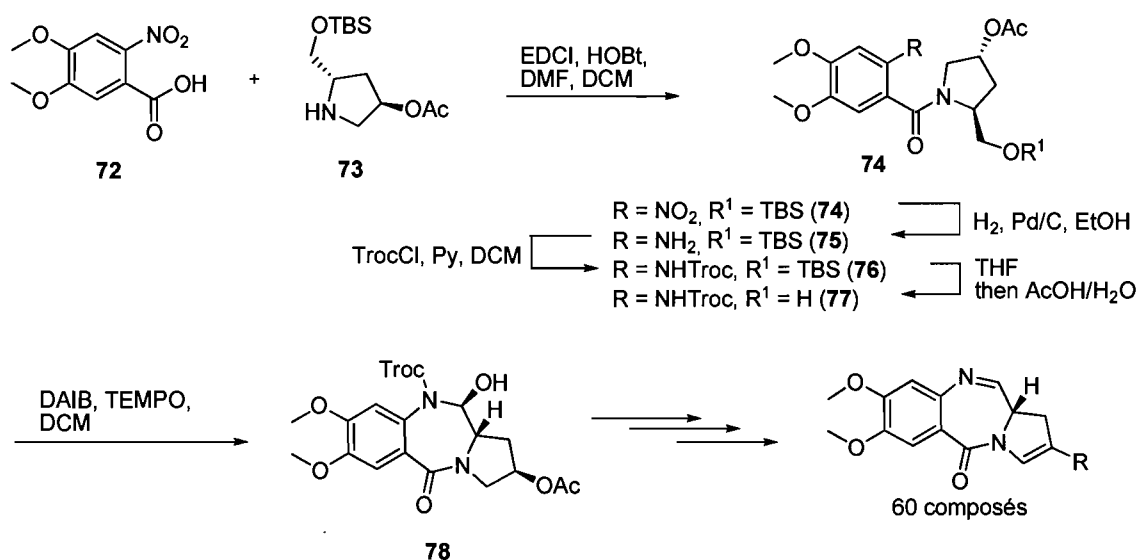


Schéma 8 : Synthèse de dérivés Anthramycine par formation d'hydroxyamides⁶⁹

1.9 Perspectives du projet

Considérant les activités biologiques remarquables et l'intérêt porté pour les arylidiazépinones en chimie médicinale, nous avons proposé une nouvelle approche synthétique basée sur la diversité pour générer des 1,4-pyrrolo-diazépin-2-ones (Schéma 9). La première partie du projet a pour but de développer la méthode en solution afin de prouver le concept et connaître les limitations de l'approche. Ensuite, la synthèse est appliquée sur support solide pour générer plus efficacement une librairie des composés désirés.

La stratégie en sept ou huit étapes utilise l'hydroxyproline **79**, un composé peu dispendieux, comme substrat de départ. L'estérification de l'acide carboxylique, la protection du groupement amine et l'oxydation de l'alcool donne l'oxoproline **80** selon une procédure déjà établie.⁸¹ L'aminopyrrole **81** peut ensuite être obtenu avec une gamme de

substituants R^1 en utilisant différentes amines primaires.⁸² L'acylation de l'amine secondaire **81** avec différents acides aminés permet de générer les amino-amidopyrroles **82** avec différents substituants R^3 . Les amines secondaires **83** peuvent être obtenues avec différents substituants R^4 soit par amination réductrice soit par alkylation. Finalement, la réaction de *Pictet-Spengler*⁸³ intermoléculaire sert d'étape clef pour la cyclisation des amines primaires **82** ou des amines secondaires **83** pour générer les pyrrolodiazépinones tri- ou tétra-substituées **84**. Contrairement à la plupart des approches synthétiques qui permettent d'obtenir une insaturation entre les positions *N*-4 et *C*-5 (voir 1.6 Synthèse de bibliothèques), la stratégie envisagée fournit plus de diversité par l'introduction d'un substituant sur un centre stéréogénique en position *C*-5.

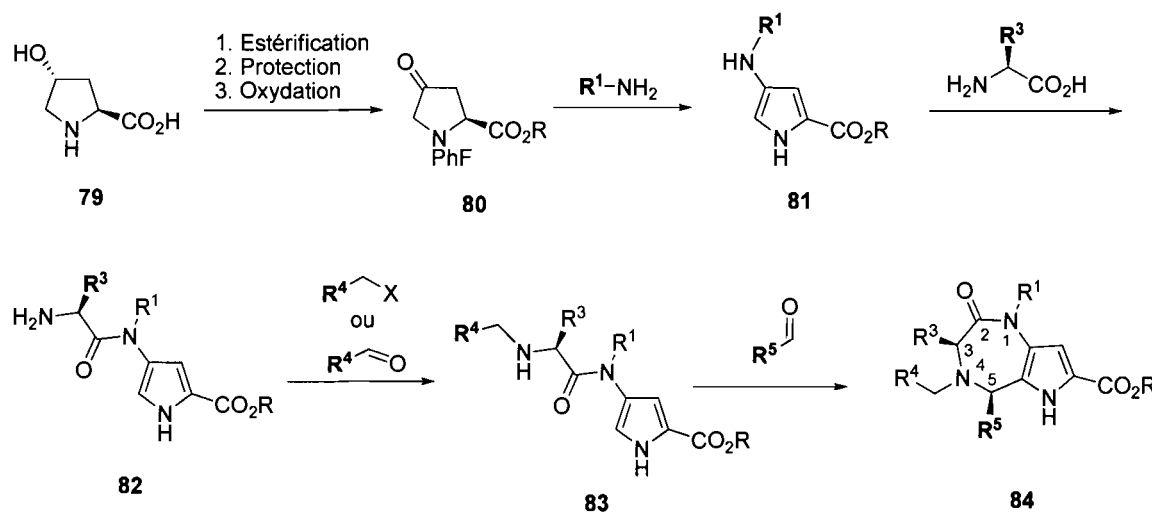


Schéma 9 : Synthèse orientée sur la diversité

1.10 Références

1. Alberts, B. ; Johnson, A. ; Lewis, J. ; Raff, M. ; Roberts, K. ; Walter, P. *Biologie Moléculaire de la Cellule* **2004**, Paris, Médecine-Sciences Flammarion.
2. Pauletti, G. M.; Gangwar, S.; Siahaan, T. J.; Aubé, J.; Borchardt, R. T. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *27*, 235.
3. Anh, J. M.; Boyle, N. A.; Macdonalds, M. T.; Janka, K. D. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 463.
4. Hedenström, M.; Yuan, Z.; Brickmann, K.; Carlsson, J.; Ekholm, K.; Johansson, B.; Kreutz, E.; Nilsson, A.; Sethson, I.; Kihlberg, J. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2501.
5. Vagner, J.; Qu, H.; Hruby, V. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 292.
6. Devadas, K.; Boykins, R. A.; Hardegen, N. J.; Philp, D.; Kleinman, H. K.; Osa, E. O.; Wang, J.; Clouse, K. A.; Wahl, L. M.; Hewlett, I. K.; Rappaport, J.; Yamada, K. M.; Dhawan, S. *Peptides* **2006**, *27*, 611.
7. Kapurniotu, A.; Buck, A.; Weber, M.; Schmauder, A.; Hirsch, T.; Bernhagen, J.; Tatarek-Nossol, M. *Chemistry and Biology* **2003**, *10*, 149.
8. Stigers, K. D.; Soth, M. J.; Nowick, J.S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 714.
9. Ripka, A. S.; Rich, D. H. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 441.
10. Olson, R. E.; Marcin, L. R. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2007**, *42*, 27.
11. Dolle, R. E.; Prouty, C. P.; Prasad, C V. C.; Cook, E.; Saha, A.; Morgan Ross, T.; Salvino, J. M.; Helaszek, C. T.; Ator, M. A. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2438.
12. Cheng, Y. ; Lu, Z.; Chapman, K. T. Tata, J. R. *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 445.

-
13. Beaulieu, P. L.; Lavallée, P.; Abraham, A.; Anderson, P. C.; Boucher, C.; Bousquet, Y.; Duceppe, J.-S.; Gillard, J.; Gorys, V.; Grand-Maître, C.; Grenier, L.; Guindon, Y.; Guse, I.; Plamondon, L.; Soucy, F.; Valois, S.; Wernic, D.; Yoakim, C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3440.
 14. Branden, C.; Tooze, J. *Introduction à la structure des protéines* **1996**, Paris, De Boeck Université, Chapitres 1-2.
 15. Moore, M. L.; Grant, G. *Peptide Design Considerations, Synthetic Peptides: A user's guide* **1993**, New-York, Freeman, W. H. and Co. Editions.
 16. Shepherd, N. E.; Hoang, H. N.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2974.
 17. Marcelino, A. M. C.; Gierasch, L. M. *Biopolymers* **2008**, *89*, 380.
 18. Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. D. *Adv. Protein Chem.* **1985**, *37*, 1.
 19. Alkorta, I.; Suarez, M.-L.; Herranz, R.; González-Muñiz, R.; García-López, M. T. *J. Mol. Model.* **1996**, *2*, 16.
 20. Milon, A.; Miyazawa, T.; Higashijima, T. *Biochemistry* **1990**, *29*, 65.
 21. Porcelli, M.; Casu, M.; Lai, A.; Pinori, M.; Cappelletti, S.; Mascagni, P. *Biopolymers* **1999**, *50*, 211.
 22. Haubner, R.; Gratias, R.; Diefenbach, B.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461.
 23. Yuan, Z.; Blomberg, D.; Sethson, I.; Brickmann, K.; Ekholm, K.; Johansson, B.; Nilsson, A.; Kihlberg, J. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2512.

-
24. Boivin, S.; Guilhaudis, L.; Milazzo, I.; Oulyadi, H.; Davoust, D.; Fournier, A. *Biochemistry* **2006**, *45*, 5993.
 25. Brickmann, K.; Yuan, Z.; Sethson, I.; Somfai, P.; Kihlberg, J. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2241.
 26. Rosenstrom, U.; Skold, C.; Plouffe, B.; Beaudry, H.; Lindeberg, G.; Botros, M.; Nyberg, F.; Wolf, G.; Karlen, A.; Gallo-Payet, N.; Hallberg, A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4009.
 27. Cann, J. R.; Stewart, J. M.; Matsueda, G. R. *Biochemistry* **1973**, *12*, 3780.
 28. Levian-Teitelbaum, D.; Kolodny, N.; Chorev, M.; Selinger, Z.; Gilon, C. *Biopolymers* **1989**, *28*, 51.
 29. Lautz, J.; Kessler, H.; Kaptein, R.; van Gusteren, W. F. *J. Comp-Aid. Mol. Design* **1987**, *1*, 219.
 30. Vander Elst, P.; Gondol, D.; Wynants, C.; Tourwé, D.; Van Binst, G. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1987**, *29*, 331.
 31. Moye-Sherman, D.; Jin, S.; Li, S.; Welch, M. B.; Reibenspies, J.; Burgess, K. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2730.
 32. Burgess, K.; Ke, C.-Y. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8627.
 33. Iden, H. S.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3425.
 34. Ramanathan, S. K.; Keeler, J.; Lee, H.-L.; Reddy, D. S.; Lushington, G.; Aubé, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1059.
 35. Yang, D.; Lee, W.; Qu, J.; Luo, S.-W.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13018.

-
36. Evans, B. E.; Rittle, K. E.; Bock, M. G.; DiPardo, R. M.; Freidinger, R. M.; Whitter, W. L.; Lundell, G. F.; Veber, D. F.; Aderson, P. S.; Chang, R. S. L.; Lotti, V. J.; Cerino, D. J.; Chen, T. B.; Kling, P. J.; Kunkel, K. A.; Spinger, J. P.; Hirshfield, J. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2235.
 37. Horton, D. A.; Bourne, G. T.; Smythe, M. L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 893.
 38. Jacobson, K. A.; Kim, Y.-C.; King, B. F. *Journal of the Autonomic Nervous System* **2000**, *81*, 152.
 39. Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Roecker, A. J.; Cao, G.-Q.; Barluenga, S.; Mitchell, H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *112*, 9939.
 40. Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Barluenga, S.; Mitchell, H. J.; Roecker, A. J.; Cao, G.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9968.
 38. Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Mitchell, H. J.; Roecker, A. J.; Barluenga, S.; Cao, G.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9954.
 42. Nicolaou, K. C.; Roecker, A. J.; Barluenga, S.; Pfefferkorn, J. A.; Cao, G.-Q. *ChemBioChem* **2001**, *2*, 460.
 43. Patchett, A. A. ; Nargund, R. P. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2000**, *35*, 289.
 44. Boitano, A.; Emal, C. D.; Leonetti, F.; Blatt, N. B.; Dineen, T. A.; Ellman, J. A.; Roush, W. R.; Opipari, A. W.; Glick, G. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3327.
 45. Boitano, A.; Ellman, J. A.; Glick, G. D.; Opipari, A. W. Jr. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 6870.
 46. Danneberg, P.; Weber, K. H. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1983**, *16*, 231S.

-
47. Hadjipavlou-Litina, D.; Hansch, C. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1483.
 48. Wyatt, P. G.; Allen, M. J.; Chilcott, J.; Hickin, G.; Miller, N. D.; Woolard, P. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1301.
 49. Armour, D. R.; Aston, N. M.; Morriss, K. M. L.; Congreve, M. S.; Hawcock, A. B.; Marquess, D.; Mordaunt, J. E.; Richards, S. A.; Ward, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2037.
 50. Bolli, M. H.; Marfurt, J.; Grisostomi, C.; Boss, C.; Binkert, C.; Hess, P.; Treiber, A.; Thorin, E.; Morrison, K.; Buchmann, S.; Bur, D.; Ramuz, H.; Clozel, M.; Fischli, W.; Weller, T. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2776.
 51. Stevens, S. Y.; Bunin, B. A.; Plunkett, M. J.; Swanson, P. C.; Ellman, J. A.; Glick, G. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10650.
 52. Micale, N.; Vairagoundar, R.; Yakovlev, A. G.; Kozikowski, A. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6455.
 53. Plunkett, M. J.; Ellman, J. A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2885.
 54. Plunkett, M. J.; Ellman, J. A. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6006.
 55. Plunkett, M. J.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3306.
 56. Milstein, D.; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636.
 57. DeWitt, S. H.; Kiely, J. S.; Stankovic, C. J.; Schroeder, M. C.; Cody, D. M. R.; Pavia, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1993**, *90*, 6909.
 58. Laustsen, L. S.; Sams, C. K. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 1094.
 59. Bhalay, G.; Blaney, P.; Palmer, V. H.; Baxter, A. D. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8375.

-
60. Baldwin, J. E.; Thomas, R. C.; Kruse, L. I.; Silberman, L. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3846.
61. Wu, Z.; Ercole, F.; FitzGerald, M.; Perera, S.; Riley, P.; Campbell, R.; Pham, R.; Rea, P.; Sandanayake, S.; Mathieu, M. N.; Bray, A. M.; Ede, N. J. *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 166.
62. Rasoul, F.; Ercole, F.; Pham, Y.; Bui, C. T.; Wu, Z.; James, S. N.; Trainor, R. W.; Wickham, G.; Maeji, N. J. *Biopolymers* **2000**, *55*, 207.
63. Blackburn, B. K.; Lee, A.; Baier, M.; Kohl, B.; Olivero, A. G.; Matamoros, R.; Robarge, K. D.; McDowell, R. S. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 717.
64. Joseph, C. G.; Wilson, K. R.; Wood, M. S.; Sorenson, N. B.; Phan, D. V.; Xiang, Z.; Witek, R. M.; Haskell-Luevano, C. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1423.
65. Cheng, M.-F.; Fang, J.-M. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 99.
66. (a) Batchelor, M. J.; Bebbington, D.; Bemis, G. W.; Fridman, W. H.; Gillespie, R. J.; Golec, J. M. C.; Gu, Y.; Lauffer, D. J.; Livingston, D. J.; Matharu, S. S.; Mullican, M. D.; Murcko, M. A.; Murdoch, R.; Nyce, P. L.; Robidoux, A. L. C. *Inhibitors of interleukin-1 β converting enzyme*. PCT Int. Appl. WO 9722619 A2 19970626, **1997**.
- (b) Bemis, G. W.; Golec, J. M. C.; Lauffer, D. J.; Mullican, M. D.; Murcko, M. A.; Livingston, D. J. *Preparation of peptide analogues as inhibitors of interleukin-1 β converting enzyme (ICE)*. PCT Int. Appl. WO 9535308.

-
67. Kaneko, T.; Wong, H.; Doyle, T. W.; Rose, W. C.; Bradner, W. T. *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 388.
68. Thurston, D. E. *Advances in the Study of Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine (PBD) Antitumour Antibiotics*. In *Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions* **1993**, London, Neidle, S.; Waring, M. J., Eds.; The Macmillan Press Ltd, Vol. 1, pp 54-88.
69. Antonow, D.; Cooper, N.; Howard, P. W.; Thurston, D. E. *J. Comb. Chem.* **2007**, 9, 437.
70. Bolos, J.; Perez, A.; Gubert, S.; Anglada, L.; Sacristan, A.; Ortiz, J. A. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3535.
71. De Lucca, G. V.; Otto, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 1639.
72. Tsuji, J.; Nagashima, H.; Nemoto, H. *Organic Syntheses* **1984**, 62, 9.
73. (a) Paal, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, 18, 367. (b) Knorr, L. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, 18, 299.
74. Iden, H. S.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2006**, 8, 3425.
75. Vilsmeier, A.; Haack, A. *Ber.* **1927**, 60, 119.
76. Ugi, I. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, 1, 8.
77. Ilyn, A. P.; Trifilenkov, A. S.; Kuzovkova, J. A.; Kutepov, S. A.; Nikitin, A. V.; Ivachtchenko, A. V. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1478.
78. Michael, A. *Journal für Praktische Chemie* **1887**, 35, 349.
79. Belov, V. N.; Funke, C.; Labahn, T.; Es-Sayed, M.; de Meijere A. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1345.

-
80. Funke, C.; Es-Sayed, M.; de Meijere, A. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4249.
 81. Blanco, M.-J. ; Sardina, F. J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4748.
 82. Marcotte, F.-A.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2601.
 83. Pictet, A.; Spengler, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 2030.

Chapitre 2

Article

**Diastereoselective Pictet-Spengler approach for the synthesis of
pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one peptide turn mimics**

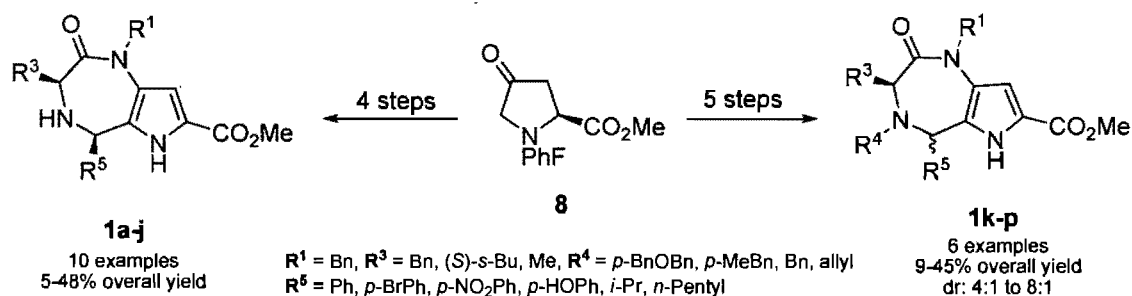
Deaudelin, P.; Lubell, W. D. *Organic Letters* **2008**, *10*, 2841.

**Diastereoselective Pictet-Spengler approach for the synthesis
of pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one peptide turn mimics**

Philippe Deaudelin and William D. Lubell*

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

2.1 Abstract



Scheme 10 : Abstract

Sixteen pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-ones **1** were synthesized in 4-5 steps and 5-48% overall yields from 4-oxoproline **8** by a route featuring a diastereoselective Pictet-Spengler reaction to close the seven-membered diazepinone ring. Crystallographic analysis of pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one **1b** by X-ray diffraction demonstrated that the α -amino acid residue adopted dihedral angle geometry similar to an ideal γ -turn, illustrating the potential for employing these novel heterocycles as peptide turn mimics.

2.2 Introduction

Arydiazepine ring systems have been called "privileged structures" because of their capacity to bind at multiple receptor types with high affinity.^{1,2} For example, they act as antagonists on G-protein coupled receptors,^{2,3} block protein-DNA interactions^{2,4} and function as scaffolds in enzyme inhibitors.^{2,5} Their affinity for various receptors is likely due to their capacity to mimic peptide turn geometry. For example, benzodiazepinones can position peptide side-chain and backbone residues in orientations that mimic β -turns.⁶ 1,4-Diazepinones have been shown by X-ray analysis to mimic γ -turns.⁷

Among diverse aryl and heteroaryl systems fused to diazepine ring, few pyrrole analogs have been synthesized, yet their activity has been remarkable. For example, pyrrolo[1,2-*b*][1,2]diazepine **2** and pyrrolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazepine **3** inhibit respectively angiotensin-converting enzyme and HIV-1 reverse transcriptase (Figure 14).^{8,9}

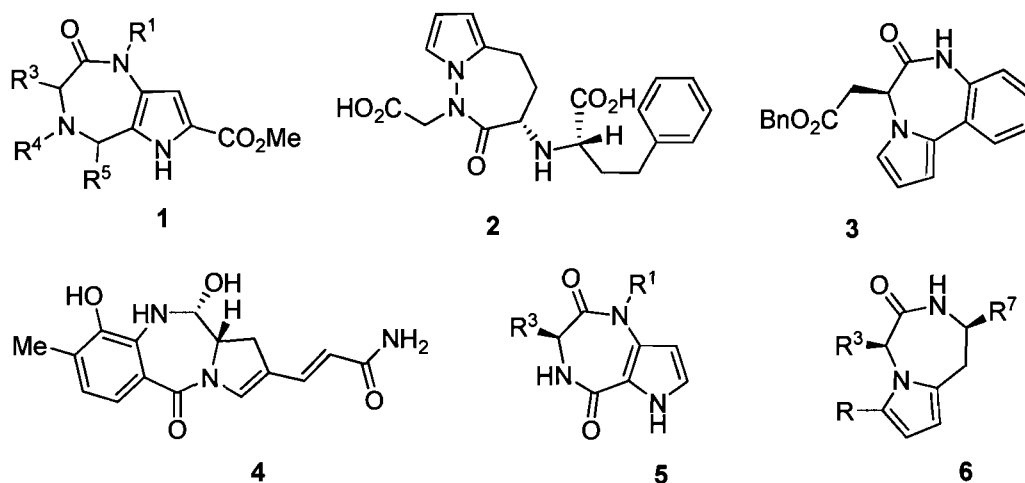
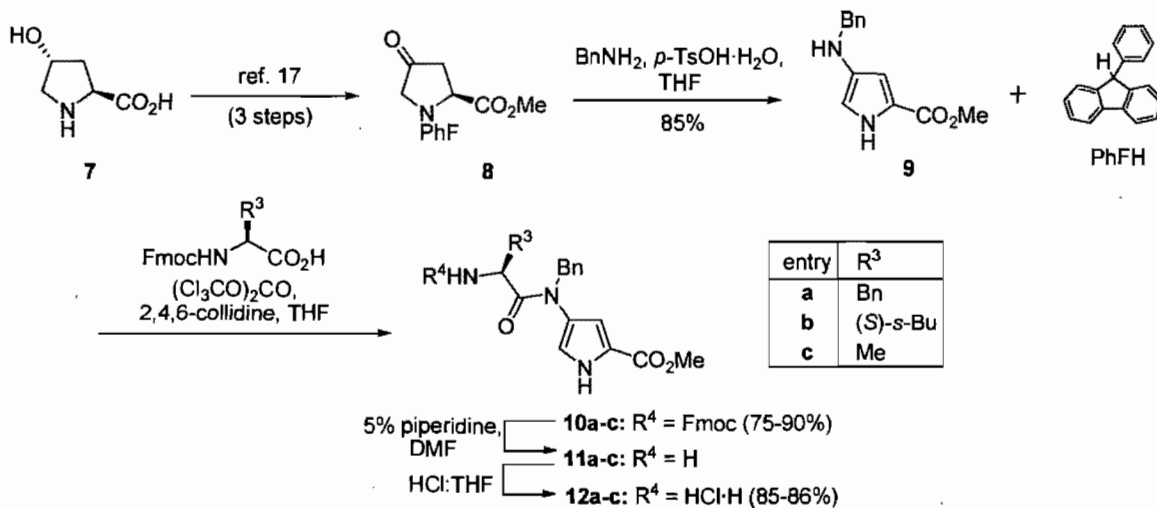


Figure 14 : Representative pyrrolo-diazepinones

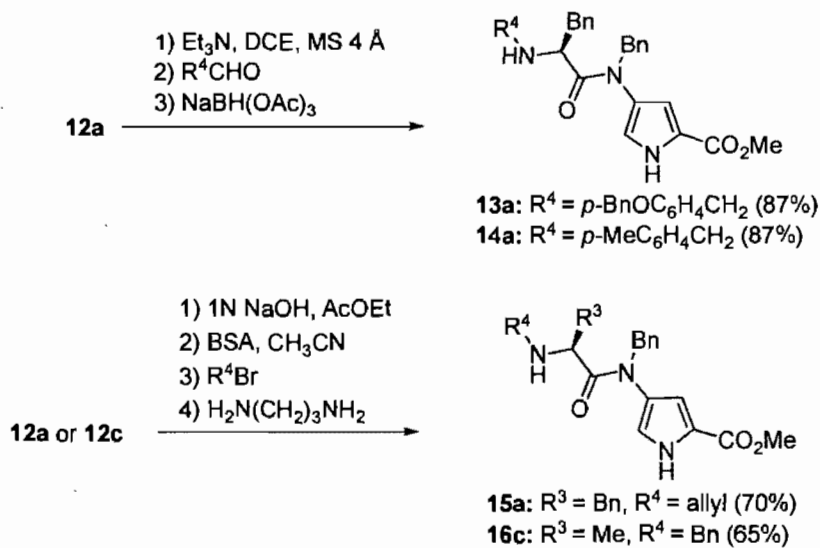
Pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepines, such as anthramycin **4**, are antitumor antibiotics.¹⁰ Their promising activity has inspired new chemistry to expand pyrrolodiazepinone diversity, including multicomponent Ugi reactions,¹¹ as well as rearrangements of cyclopropylketimines,¹² and intramolecular Paal-Knorr condensations,⁷ which have respectively delivered pyrrolodiazepines **5** and **6**. In this vein, we report now a diastereoselective Pictet–Spengler¹³ route to pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-ones **1**. Although formaldehyde was recently employed in a Pictet–Spengler reaction to make pyrimido[4,5-*b*][1,4]benzodiazepines,¹⁴ to the best of our knowledge, this reaction has never been used in pyrrolodiazepinone synthesis.¹⁵

2.3 Discussion:

In light of our previous approach for making 4-aminopyrrole-2-carboxylates with various 4-alkylamino substituents,¹⁶ efforts were focused on diazepinone assembly using different α -amino acids and aldehydes. Thus, we restricted our study to 4-benzylaminopyrrole **9**, which was prepared from 4-oxoproline **8** (Scheme 11).¹⁷



Scheme 11 : Synthesis of aminoamidopyrroles 10-12



Scheme 12 : Synthesis of aminoamidopyrrole 13-16

Methyl 4-[*N*-(Fmoc)aminoacyl]benzylamino-1*H*-pyrrole-2-carboxylates **10a-c** were isolated in 75-90% yields from acylation of benzylaminopyrrole **9** with *N*-(Fmoc)amino acid chlorides (Ala, Ile and Phe), generated using bis(trichloromethyl)carbonate and 2,4,6-

collidine in THF at rt.¹⁸ The Fmoc group removal using 5% piperidine in DMF¹⁹ gave amines **11a-c** after filtration through a pad of silica gel to separate the dibenzofulvene-piperidine adduct. Hydrochlorides **12a-c** were obtained in 85-86% yields by treating amines **11** with 12N HCl in THF (1:100 v/v) and freeze-drying.

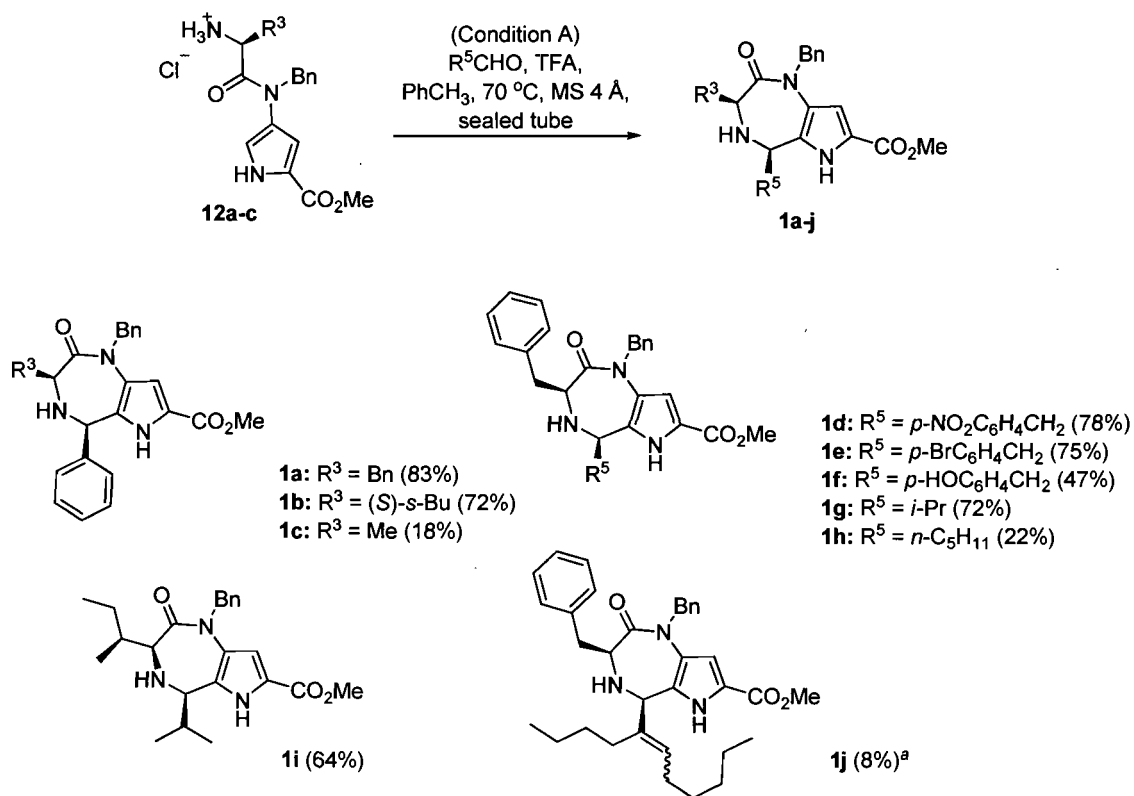
Alkylation of amine **12a** was performed by reductive amination²⁰ and by way of a silylamide intermediate.²¹ Hydrochloride **12a** was treated with triethylamine and respectively condensed with *p*-benzyloxybenzaldehyde and tolualdehyde (90 mol %), in the presence of molecular sieves to yield imines, which were reduced with sodium triacetoxyborohydride (150 mol %) in dichloroethane providing secondary amines **13a** and **14a**, both in 87% yield. Allylamine **15a** and benzylamine **16c** were respectively prepared in 70% and 65% yields by a sequence featuring silylation of amine **11a** and **11c** with *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA, 160 mol %), alkylation with allyl and benzyl bromide (200 mol %) and treatment with propylenediamine to scavenge excess alkyl halide (Scheme 12).

With primary and secondary amino pyrroles in hand, we explored diazepinone annulation. The Pictet-Spengler reaction refers commonly to the condensation of a tryptamine analog with an aldehyde or ketone to yield a β -carboline;²² however, this intramolecular annulation via an iminium ion intermediate has been accomplished with a variety of amines tethered to electron rich aromatic and heteroaromatic ring systems. Few reports have, however, described Pictet-Spengler reactions with pyrrole as

nucleophile.^{23,24,25,26,27} For example, pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidines were made from the Pictet-Spengler reactions of ureidopyrroles and arylaldehydes.²⁷

To explore the Pictet-Spengler cyclization for adding substituents to the 5-position of the diazepinone ring, we initially heated *N*-(phenylalaninyl)aminopyrrole **12a** with a set of aldehydes and TFA at 70 °C in toluene (Condition A, Scheme 13). Analysis by LC-MS showed masses corresponding to diazepinone **1** and starting material. Diazepinones **1a-j** were purified on silica gel and isolated as pure diastereomers in 8-83% yields (Scheme 13). Although the electron-rich *p*-hydroxybenzaldehyde gave diazepinone **1f** in 47% yield, benzaldehyde and the electron-poor *p*-nitro- and *p*-bromobenzaldehydes, all reacted with aminoamidopyrrole **12a** to give **1a,d-e** in 75-83% yields, suggesting that electron deficient iminium ions were more reactive in the cyclization. Hexanal reacted to give diazepinone **1h** in 22% yield, accompanied by diazepinone **1j** (8%) from a homo-aldol reaction prior to cyclization.²⁸ On the contrary, *iso*-butyraldehyde gave diazepinone **1g** in 72% yield.

With primary amino pyrroles **12**, our best Pictet-Spengler reaction yields and purity were obtained using the aldehyde as the limiting reagent (90 mol %) with **12** (100 mol %) at low concentration (0.01M) in toluene. A sealed system and degassed solvent avoided oxidation to the corresponding 4,5-unsaturated diazepinone, such as **17** (Scheme 14), which formed on air oxidation of **1g**.²⁹

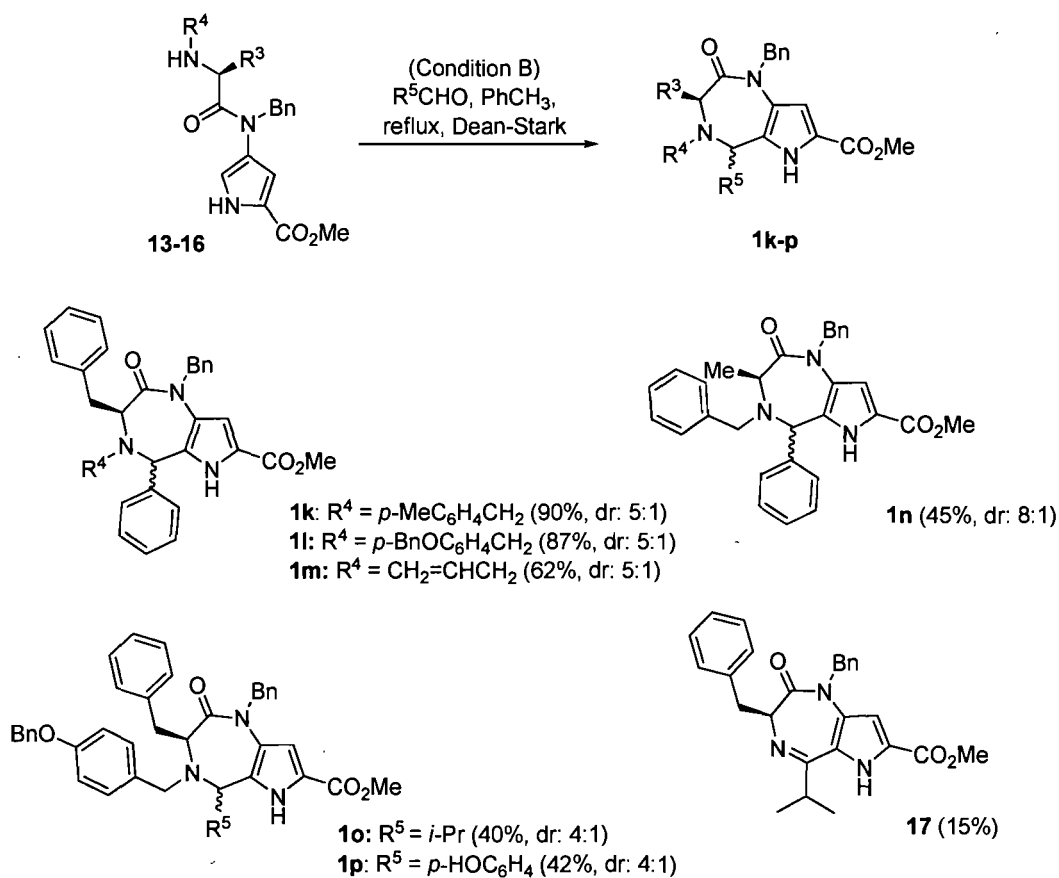
Scheme 13 : Diazepinones **1a-j** (isolated yields)

a. **1j** was obtained as side product from the synthesis of **1h** as a single olefin isomer

Condition A (Scheme 13) was also used to react *N*-(isoleucinyl)aminopyrrole **12b** with benzaldehyde and *iso*-butyraldehyde to give diazepinones **1b** and **1i** in 72% and 64% yields, respectively. On the other hand, the less sterically demanding *N*-(alaninyl)aminopyrrole **12c** reacted with benzaldehyde to give **1c** in only 18% yield.

In the case of secondary amines, *p*-substituted benzylamines and allylamine **13a-15a** reacted with benzaldehyde under condition B (excess aldehyde in toluene at reflux using a Dean-Stark apparatus) to give diazepinones **1k-m** in 62 to 90% yields, respectively (Scheme 14). *p*-Benzyloxybenzylamine **13a** reacted respectively with *p*-

hydroxybenzaldehyde and *iso*-butyraldehyde to give diazepinone **1p** in 42% yield and diazepinone **1o** in 40% yield; likely due to the volatility of *iso*-butyraldehyde. Alaninylaminopyrrole **16c** also reacted with benzaldehyde to provide diazepinone **1n** in 45% yield.



Scheme 14 : Diazepinones **1k-p** (isolated yields) and **17**

Diastereoisomerically pure and enriched diazepinones **1** were respectively isolated after cyclization of primary **12a-c** and secondary amines **13a-16a**. The *cis* relative stereochemistry of the major product was assigned based on the observed nuclear

Overhauser effect between the signals for the *C*-5 and *C*-3 protons in the NOESY spectra of **1a** and the major diastereoisomer of diazepinone **11**. Although unaware of prior art in stereoselective diazepinone synthesis by iminium ion cyclization, we note that *cis* diastereoselectivity was reported in Pictet-Spengler reactions leading to fused azepinone systems and suggest a similar mechanism featuring endo-attack of the *E*-iminium ion in a transition state having a preferred equatorial conformer of the amino acid side chain.³⁰

Crystals of diazepinone **1b** were grown from ethyl ether and analyzed by X-ray diffraction, which showed an ordered cubic matrix, and confirmed the relative *cis* stereochemistry. In the crystal structure of **1b**, the amino acid residue dihedral angles ($\psi = 72^\circ$, $\phi = -93^\circ$) compared favorably to those of an ideal reverse γ -turn ($\psi = 60^\circ$ to 70° , $\phi = -70^\circ$ to -85°).³¹ Hence, pyrrolodiazepinones **1** may serve as reverse γ -turn peptide mimics.

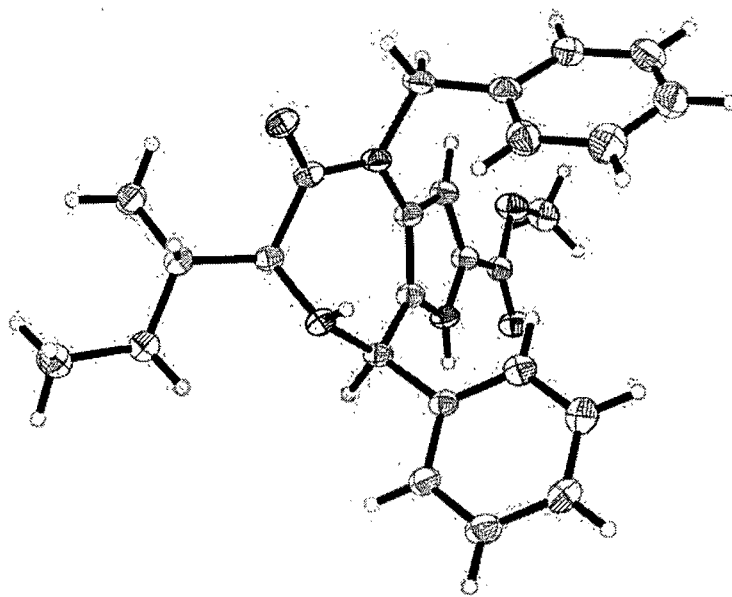


Figure 15 : X-ray crystal structure of diazepinone 1b

2.4 Conclusion:

1,3,5-Tri- and 1,3,4,5-tetrasubstituted pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepin-2-ones **1** were synthesized from *N*-(aminoacyl)aminopyrroles **12-16** using diastereoselective Pictet-Spengler annulations. The dihedral angle geometry observed in the crystal structure of pyrrolodiazepinone **1b** compared favorably with an ideal peptide γ -turn, suggesting potential for turn mimicry. In light of the remarkable biological activity of diazepinones, this diversity-oriented methodology should find use for peptide mimicry and medicinal chemistry.

2.5 Acknowledgments:

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les

Technologies (FQRNT) and the Canadian Institutes of Health Research (CIP-79848). We thank Dr. Gil Fridkin (UdeM) and Dr. John W. Blankenship (UdeM) for helpful discussions, Francine Bélanger-Gariépy (UdeM) for X-ray crystal structure determination and Sylvie Bilodeau from the Centre Régional de RMN (UdeM).

2.6 Supporting information:

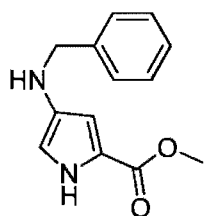
General Information

General Procedures: Unless otherwise noted, all reactions were performed under anhydrous conditions, under argon atmosphere in flame-dried glassware. Reagent-grade solvents (DCM, THF, DMF, PhCH₃, CH₃CN) were degassed with argon and obtained by passage through solvent filtration systems (GlassContour, Irvine, CA). Chromatography was performed using silica gel (Silicycle: 230-400 mesh) and thin layer chromatography (TLC) was performed on glass plates coated with (0.2 mm) silica gel, using the indicated solvent system.

Instrumentation: NMR spectra were recorded on Bruker® Avance (¹H 700 MHz; ¹³C 175 MHz) equipped with cryoprobe or Avance (¹H 400 MHz; ¹³C 100 MHz) spectrometers and analyzed using TopSpin software. Chemical shifts (δ) are reported in part per million (ppm) and referenced to the solvent residual peak at 7.26 (77.2) for CHCl₃ and at 4.79 for H₂O, or to tetramethylsilane (0.00 ppm), or by using the spectrometer intern reference unless otherwise noted. Melting points were determined with a capillary melting point apparatus using a thermometer and are uncorrected. FTIR spectra were recorded on a Bruker® Alpha-P ATR spectrometer and treated using Opus 6.5 software. Spectra were recorded

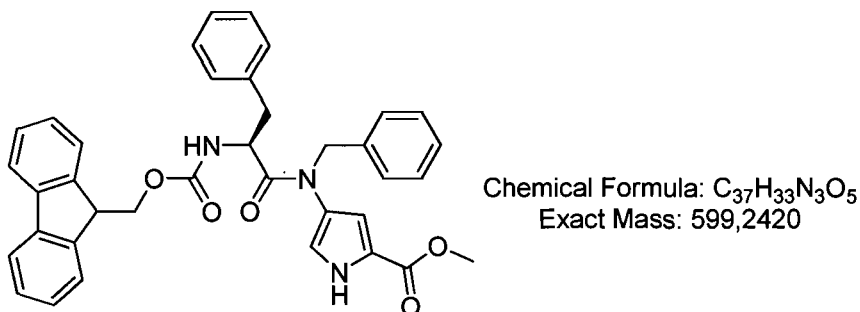
from 4000 to 375 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} using 10-40 scans. Data are represented as follow: frequency of absorption (cm^{-1}), intensity of absorption (s = strong, m = medium, w = weak). High Resolution Mass Spectroscopy (HRMS) were performed by the Centre Régional de Spectroscopie de Masse de l'Université de Montréal on a LC-MSD-Tof instrument from Agilent Technologies® in electrospray ionisation mode (EI). Either protonated molecular ions $(\text{M}+\text{H})^+$ or sodium adducts $(\text{M}+\text{Na})^+$ were used for empirical formula calculation. Specific rotations were measured with a Perkin-Elmer® 341 polarimeter at 589 nm and are reported as follow: $[\alpha]_{\text{temp}}$, concentration (c in g/100 mL) and solvent.

Abbreviations used: EtOAc – ethyl acetate, THF – tetrahydrofuran, DCM – dichloromethane, DMF – dimethylformamide, TLC – thin layer chromatography.



Chemical Formula: C₁₃H₁₄N₂O₂
Exact Mass: 230,1055

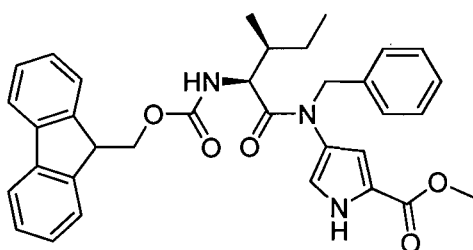
Methyl 4-benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (9): Oxoproline **8** prepared according to ref. 1, (5.0 g, 13 mmol) and *para*-toluenesulfonic acid monohydrate (248 mg, 1.31 mmol), were dissolved in 600 mL of THF in a round bottom flask equipped with a water condenser. Benzylamine (5.7 mL, 52 mmol), was then added dropwise to the reaction mixture, which was heated to 50 °C and stirred overnight. After completion of the reaction was indicated by the disappearance of starting material on TLC, 300 mL of saturated NH₄Cl were added to the reaction mixture. The phases were separated, the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 50 mL) and the combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated. The residue was dissolved in a minimum of toluene and purified on silica gel eluting with 10% to 30% EtOAc in hexane. Aminopyrrole **9** (2.56 g, 85% yield) was isolated as a yellow powder: R_f 0.32, 30% EtOAc:hexane; mp 96.5 °C; FTIR (cm⁻¹): 3332 (s), 1692 (s), 1579 (m), 1495 (m), 1446 (m), 1395 (m), 1365 (m), 1325 (m), 1276 (m), 1212 (m); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.61 (s, 1H), 7.38-7.24 (m, 5H), 6.45 (m, 1H), 6.38 (m, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.80 (s, 3H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 161.6, 139.8, 137.3, 128.6, 127.8, 127.3, 120.9, 108.0, 104.2, 51.6, 51.5.; HRMS (EI) *m/z* 231.1128 [M + H]⁺; calcd for C₁₃H₁₅N₂O₂⁺ 231.1128.



General procedure for aminoacylation of aminopyrrole 9.

Methyl 4-[N-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-phenylalaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (10a): A solution of *N*-(Fmoc)phenylalanine (5.3 g, 14 mmol) and bis(trichloromethyl)carbonate (1.35 g, 4.56 mmol) in 30 mL of THF at 0 °C was treated slowly with 2,4,6-collidine (4.82 mL, 36.5 mmol) yielding a white suspension, by an exothermic process. After 1-3 min, a solution of aminopyrrole 9 (700 mg, 3.04 mmol) in 10 mL of THF was slowly added to the mixture containing the freshly formed acid chloride. The reaction mixture was stirred vigorously for a maximum of 24 h under argon atmosphere or until completion of the reaction was indicated by the absence of starting material on TLC. The reaction mixture was filtered through a fritted filter and the precipitate was washed with THF (3 × 50 mL). The filtrate and washings were combined, treated with 100 mL of 1N HCl, followed by a volume of EtOAc suitable for separating the aqueous and organic layers. The organic layer was separated and washed with 5% Na_2CO_3 (3 × 100 mL) and with brine (100 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The resulting oil was dissolved in a minimum volume of THF, absorbed onto a minimum amount of silica gel, dried under vacuum and added to a silica gel column. Elution with 10 to 30% EtOAc in hexane, collection of the desired fractions and evaporation provide amide

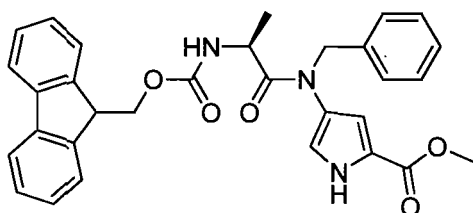
10a (1.46 g, 80% yield) as a yellow foam: R_f 0.26, 30% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 30.2 (c 1.30, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3274 (m), 3028 (m), 2947 (m), 1696 (s), 1638 (s), 1495 (m), 1438 (m), 1391 (m), 1322 (m), 1247 (s), 1210 (s); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.98 (s, 1H), 7.76 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.42-6.99 (m, 14H), 6.27 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.55 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 4.84 (d, $J=14$ Hz, 1H), 4.73 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.62 (d, $J=14$ Hz, 1H), 4.30 (m, 2H), 4.18 (t, $J=4.2$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.00 (dd, $J=4.8, 8.2$ Hz, 1H), 2.88 (dd, $J=4.8, 8.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 161.1, 155.6, 144.0, 141.4, 136.9, 136.3, 129.7, 128.9, 128.5, 127.8, 127.6, 127.7, 127.2, 127.0, 126.2, 125.3, 121.9, 120.8, 120.1, 113.3, 67.1, 53.6, 52.6, 51.9, 47.2, 39.9.; HRMS (EI) m/z 600.2486 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_5^+$ 600.2493.



Chemical Formula: $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$
Exact Mass: 565,2577

Methyl 4-[N-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-isoleucinyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (10b): A beige foam (1.29 g, 75% yield) was prepared from aminopyrrole **9** (700 mg, 3.04 mmol) and isolated according to the general protocol described for **10a**: R_f 0.30, 30% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 34.0 (c 0.78, CHCl_3); FTIR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3250 (m), 3017 (m), 2963 (m), 1707 (s), 1646 (s), 1498 (m), 1440 (m), 1392 (m), 1214 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.99 (s, 1H), 7.77 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.61 (m, 2H), 7.42-7.19 (m, 9H), 6.65 (m, 2H), 5.41 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J=12.6$ Hz,

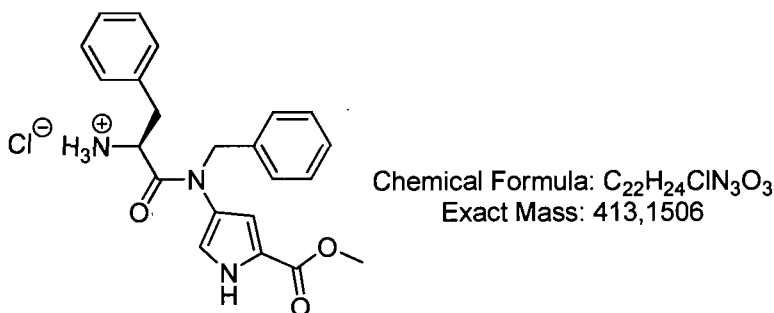
1H), 4.45 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.37 (dd, $J = 9.1, 16.8$ Hz, 1H), 4.33 (dd, $J = 9.1, 16.8$ Hz, 1H), 4.22 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 1.68 (m, 1H), 1.53 (m, 2H), 1.03 (m, 1H), 0.82 (m, 6H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 161.1, 156.2, 144.0, 141.4, 137.4, 128.8, 128.6, 127.8, 127.7, 127.2, 126.7, 125.3, 122.1, 121.0, 120.1, 113.4, 67.0, 55.5, 53.5, 51.9, 47.3, 38.4, 24.2, 15.9, 11.5.; HRMS (EI) m/z 566.2640 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5^+$ 566.2650.



Chemical Formula: $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5$
Exact Mass: 523,2107

Methyl 4-[N-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-alaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-

carboxylate (10c): A beige foam (1.43 g, 90% yield) was prepared from aminopyrrole **9** (700 mg, 3.04 mmol) and isolated according to the general protocol described for **10a**: R_f 0.12, 30% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 42.3 (c 1.90, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3306 (m), 3018 (m), 2963 (m), 1698 (s), 1639 (s), 1496 (m), 1439 (m), 1391 (m), 1272 (m), 1214 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 9.16 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.41-7.17 (m, 9H), 6.64 (m, 2H), 5.68 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.32 (m, 2H), 4.21 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 1.26 (d, $J = 4.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 173.6, 160.7, 155.4, 143.8, 143.6, 141.1, 136.9, 128.3, 127.4, 126.9, 126.1, 125.0, 124.6, 122.0, 120.3, 119.8, 112.9, 66.7, 53.3, 51.6, 47.2, 46.9, 19.1.; HRMS (EI) m/z 524.2178 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_5^+$ 524.2180.

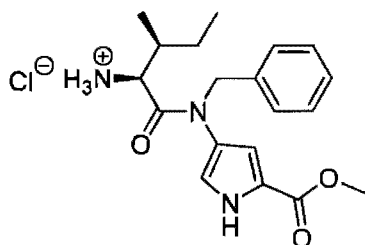


General procedure for the synthesis of hydrochloride salts 12.

Methyl 4-(L-phenylalanyl)benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate hydrochloride

(12a): Amidopyrrole **10a** (1.44 g, 2.40 mmol) was stirred vigorously in 25 mL of a 5% v/v piperidine/DMF solution for 15 min or until completion of the reaction was indicated by the absence of starting material on TLC. The solution was evaporated to a solid residue that was dissolved in a minimum volume of toluene and loaded to the top of a 5 cm thick silica gel pad on top of a filtration funnel. Small volumes of 30% EtOAc in hexane were filtered through the pad until complete elution of the dibenzofulvene-piperidine adduct was observed by TLC (R_f 0.85, 30% EtOAc:hexane). Amine **11a** was isolated by elution using 0.1% Et₃N and 10% MeOH in DCM. Evaporation of the collected fractions gave a residue that was treated with a 12N HCl in THF (1:100 v/v) solution for 15 min, evaporated, dissolved in water and isolated after freeze-drying to afford hydrochloride salt **12a** as a white solid (853 mg, 86% yield): R_f 0.22, 10% MeOH:DCM; [α]_D²⁰ 76.9 (*c* 1.37, CH₃CN); FTIR (cm⁻¹): 3295 (m), 3030 (m), 2962 (m), 1699 (s), 1640 (s), 1496 (m), 1439 (m), 1392 (m), 1273 (m), 1214 (s); ¹H NMR (700 MHz, D₂O) δ 7.31-7.22 (m, 6H), 7.11 (d, *J*= 5.6 Hz, 2H), 6.94 (m, 2H), 6.25 (s, 1H), 6.10 (s, 1H), 4.90 (d, *J*= 15.4 Hz, 1H), 4.53 (d, *J*= 15.4 Hz, 1H), 4.37 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.09 (dd, *J*= 5.6, 8.4 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J*= 5.6, 8.4 Hz,

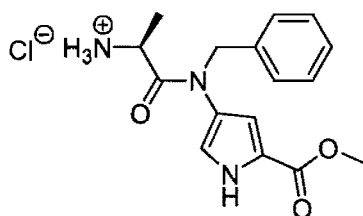
1H); ^{13}C NMR (175 MHz, D_2O) δ 169.8, 162.5, 135.6, 133.7, 129.3, 129.0, 128.7, 128.6, 127.9, 127.8, 123.8, 122.0, 120.9, 113.5, 53.7, 51.9, 51.8, 36.9.; HRMS (EI) m/z 378.1806 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 378.1818.



Chemical Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 379,1663

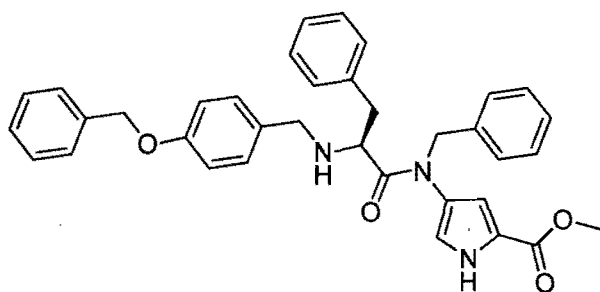
Methyl 4-(L-isoleucinyl)benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate hydrochloride (12b):

A light white solid (319 mg, 85% yield) was prepared from amidopyrrole **10b** (559 mg, 0.989 mmol) and isolated according to the general protocol described for **12a**: R_f 0.09, 10% MeOH:DCM; $[\alpha]_D^{20}$ 116.1 (c 0.93, CH_3CN); FTIR (cm^{-1}): 3305 (m), 3030 (m), 2962 (m), 1700 (s), 1640 (s), 1496 (m), 1439 (m), 1392 (m), 1275 (m), 1214 (s); ^1H NMR (700 MHz, D_2O) δ 7.34-7.29 (m, 3H), 7.21 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 6.91 (m, 1H), 6.75 (m, 1H), 4.86 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.75 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.15 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 1.85 (m, 1H), 1.38 (m, 1H), 1.04 (m, 1H), 0.81 (d, J = 7.7 Hz, 3H), 0.76 (t, J = 6.3 Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, D_2O) δ 170.2, 162.6, 136.0, 128.7, 128.4, 127.9, 124.4, 122.1, 121.3, 113.7, 55.2, 53.9, 52.0, 35.7, 22.9, 14.7, 10.3.; HRMS (EI) m/z 344.1957 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 344.1969.



Chemical Formula: $C_{16}H_{20}ClN_3O_3$
Exact Mass: 337,1193

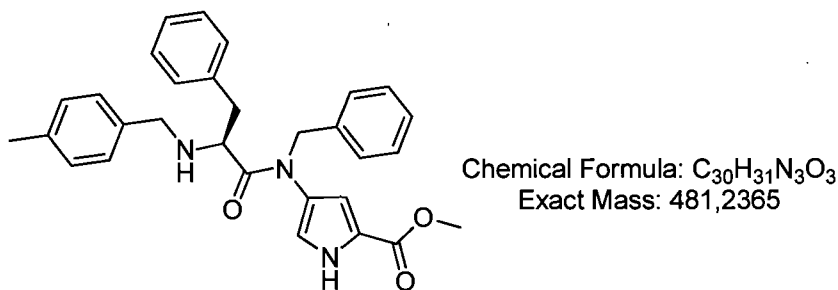
Methyl 4-(L-alaninyl)benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate hydrochloride (12c): A light white solid (786 mg, 86 % yield) was prepared from amidopyrrole **10c** (913 mg, 2.71 mmol) and isolated according to the general protocol described for **12a**: R_f 0.09, 10% MeOH:DCM; $[\alpha]_D^{20}$ 72.8 (c 0.05, CH_3CN); FTIR (cm^{-1}): 3306 (m), 3030 (s), 2930 (s), 1700 (s), 1640 (s), 1496 (m), 1439 (m), 1392 (m), 1273 (m), 1214 (s); 1H NMR (700 MHz, D_2O) δ 7.39-7.15 (m, 5H), 6.91 (m, 1H), 6.73 (m, 1H), 5.23 (m, 2H), 4.75 (s, 3H), 4.19 (q, J = 7.0 Hz, 1H), 1.30 (d, J = 7.7 Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, D_2O) δ 170.5, 160.5, 134.8, 134.4, 127.5, 126.9, 123.0, 121.1, 120.0, 112.6, 65.5, 52.4, 46.1, 14.8.; HRMS (EI) m/z 302.1487 $[M + H]^+$; calcd for $C_{16}H_{20}N_3O_3^+$ 302.1499.



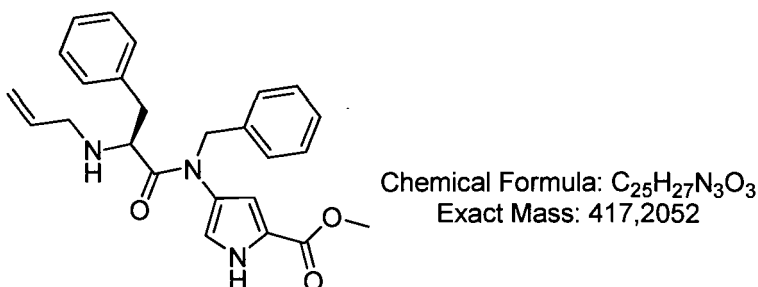
Chemical Formula: $C_{36}H_{35}N_3O_4$
Exact Mass: 573,2628

Methyl 4-[N-(4-benzyloxybenzyl)-L-phenylalaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (13a): Hydrochloride **12a** (129 mg, 0.312 mmol) was dissolved in 2.0 mL of dichloroethane containing triethylamine (43 μ L, 0.31 mmol). The solution was treated with

molecular sieves (4 Å, 8-12 mesh), stirred at rt for 5 min, treated with 4-benzyloxybenzaldehyde (59.6 mg, 0.281 mmol) in 0.5 mL of dichloroethane, stirred for 5 min, treated with sodium triacetoxyborohydride (106 mg, 0.499 mmol) and stirred for 24 h. When TLC indicated the absence of starting material, 10 mL of NaOH 1M and 10 mL of dichloromethane were added to the reaction mixture. After separation of the phases, the aqueous layer was washed with dichloromethane (3 × 5 mL). The organic layers were combined and washed with brine (10 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was dissolved in a minimum of toluene, added to a silica gel column and eluted with 10 to 40% EtOAc in hexane. Evaporation of the collected fractions gave secondary amine **13a** (140 mg, 87% yield) as an oil: R_f 0.20, 50% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 46.2 (c 1.27, CHCl₃); FTIR (CHCl₃, cm⁻¹): 3233 (m), 3029 (m), 2925 (m), 1704 (s), 1636 (s), 1495 (m), 1437 (m), 1389 (m), 1270 (m), 1214 (s); ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (s, 1H), 7.44-7.12 (m, 15H), 7.00 (m, 2H), 6.86 (m, 2H), 6.06 (s, 1H), 5.34 (s, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.83 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 14 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.73 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 3.59 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 3.52 (d, J = 12.6 Hz, 1H) 2.92 (dd, J = 4.2, 8.4 Hz, 1H), 2.81 (dd, J = 4.2, 8.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 175.1, 161.0, 157.7, 138.0, 137.3, 137.1, 131.5, 129.6, 129.2, 128.9, 128.6, 128.3, 128.2, 128.0, 127.5, 127.4, 126.4, 126.2, 121.4, 120.7, 114.7, 113.3, 69.9, 58.9, 53.3, 51.7, 50.9, 40.4.; HRMS (EI) m/z 596.2499 [M + H]⁺; calcd for C₃₆H₃₅N₃NaO₄ 596.2520.



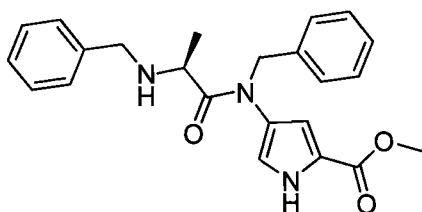
Methyl 4-[N-(4-methylbenzyl)-L-phenylalaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (14a): An oil (45 mg, 87% yield) was prepared from hydrochloride **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and *p*-tolualdehyde (13 μ L, 0.11 mmol) and isolated according to the protocol described for **13a**: R_f 0.17, 50% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 42.8 (*c* 1.70, CHCl₃); FTIR (CHCl₃, cm⁻¹): 3233 (m), 3026 (m), 2927 (m), 1704 (s), 1636 (s), 1495 (m), 1437 (m), 1390 (m), 1270 (m), 1212 (s); ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.96 (s, 1H), 7.26-6.99 (m, 14H), 6.05 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.83 (d, *J* = 14 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 14 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.73 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 3.60 (dd, *J* = 3.5, 5.6 Hz, 1H), 3.52 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 2.90 (dd, *J* = 3.6, 16.1 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 3.6, 16.1 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 175.3, 161.1, 138.1, 137.3, 136.8, 136.5, 129.7, 129.1, 128.9, 128.3, 128.2, 128.0, 127.4, 126.4, 126.3, 121.4, 120.8, 113.4, 59.1, 53.3, 51.7, 51.3, 40.5, 21.2.; HRMS (EI) *m/z* 482.2442 [M + H]⁺; calcd for C₃₀H₃₂N₃O₃⁺ 482.2438.



Methyl 4-[N-(allyl)-L-phenylalaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (15a) :

Hydrochloride salt **12a** (18 mg, 0.0431 mmol) was dissolved in 10 mL of EtOAc and extracted with 10 mL of NaOH 1M. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over magnesium sulfate, evaporated and dried under vacuum to yield amine **11a**, which was dissolved in 4 mL of acetonitrile in a three neck round bottom flask equipped with a water condenser. The solution was heated to 60 °C, treated with *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamide (17 μL, 0.069 mmol), stirred for 30 min, treated with allylbromide (7.0 μL, 0.086 mmol) and stirred overnight. When completion of the reaction was indicated by the absence of starting material by TLC, 1,3-diaminopropane (36 μL, 0.43 mmol) was added to the reaction mixture, which was stirred for 15 min and partitioned between 15 mL of EtOAc and 15 mL of water. After separation of the phases, the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 5 mL) and the combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was dissolved in a minimum of toluene, added to a silica gel column and eluted with 50% EtOAc in hexane. Evaporation of the collected fractions gave secondary amine **15a** (13 mg, 70% yield) as an oil: R_f 0.19, 60% AcOEt:hexane; [α]_D²⁰ 20.5 (c 0.20, CHCl₃); FTIR (CHCl₃, cm⁻¹): 3224 (m), 2923 (m),

2852 (m), 1707 (s), 1638 (s), 1496 (s), 1438 (s), 1391 (s), 1318 (m), 1273 (m), 1214 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.88 (s, 1H), 7.26-7.02 (m, 10H), 6.14 (m, 1H), 5.80 (m, 1H), 5.42 (m, 1H), 5.13 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5.02 (d, $J=17$ Hz, 1H), 4.85 (d, $J=14$ Hz, 1H), 4.61 (d, $J=14$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.55 (q, $J=5.0$ Hz, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.90 (dd, $J=6.0, 7.0$ Hz, 1H), 2.81 (dd, $J=6.0, 7.0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 175.2, 161.0, 138.0, 137.2, 136.5, 129.7, 129.0, 128.3, 128.2, 127.4, 126.4, 126.3, 121.5, 120.8, 116.1, 113.4, 59.1, 53.4, 51.7, 50.2, 40.7.; HRMS (EI) m/z 440.1942 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{NaO}_3^+$ 440.1945.

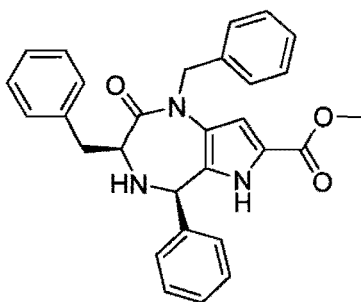


Chemical Formula: $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 391,18959

Methyl 4-[N-(benzyl)-L-alaninyl]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate (16c) :

An oil (16 mg, 65% yield) was prepared from hydrochloride **12c** (22 mg, 0.065mmol) and benzylbromide (16 μL , 0.13 mmol) and isolated according to the protocol described for **15a**: R_f 0.11, 40% AcOEt:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 8.3 (c 0.35, CHCl_3); FTIR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3016 (m), 2927 (m), 1706 (s), 1644 (s), 1496 (s), 1439 (s), 1391 (s), 1268 (m), 1215 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.97 (s, 1H), 7.32-7.19 (m, 10H), 6.47 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.88 (d, $J=14.2$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J=14.2$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.81 (d, $J=12.8$ Hz, 1H), 3.55 (d, $J=12.8$ Hz, 1H), 3.47 (q, $J=6.8$ Hz, 1H), 1.16 (d, $J=6.7$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (175MHz, CDCl_3) 176.6, 161.0, 140.0, 137.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 127.5, 127.0, 126.8, 121.9,

120.1, 113.2, 53.2, 52.6, 51.9, 51.7, 19.8. HRMS (EI) m/z 392.1969 $[M + H]^+$; calcd for $C_{23}H_{26}N_3O_3^+$ 392.1969.

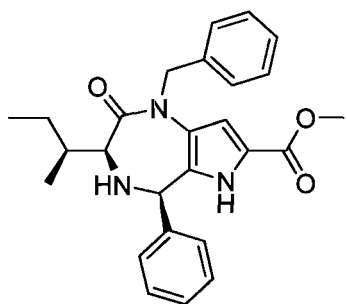


Chemical Formula: $C_{29}H_{27}N_3O_3$
Exact Mass: 465,2052

General procedure for the synthesis of pyrrolo-diazepinones (1a-j) (condition A).

(3*S*,5*R*)-Methyl 4*H*-1,3-dibenzyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1a): A solution of hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) in 12 mL of toluene over molecular sieves (4 Å, 8-12 mesh) was treated with trifluoroacetic acid (9.0 μL, 0.12 mmol) and benzaldehyde (11 μL, 0.11 mmol). The reaction vessel was sealed and heated at 70 °C with stirring for 48 h. The vessel was cooled to room temperature and treated with 10 mL of 1M NaOH. The phases were separated and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 10 mL) and the combined organic layers were washed with brine (20 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was dissolved in a minimum volume of toluene, added to a silica gel column and eluted with 20% EtOAc in hexane. Collection of the desired fractions gave diazepinone **1a** (42 mg, 83% yield) as an oil: R_f 0.26, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -32.0 (c 0.20, $CHCl_3$); FTIR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3233 (m), 3027 (m), 2952 (m), 1699 (m), 1647 (s), 1488 (s), 1453 (m), 1388 (w), 1302 (m), 1215

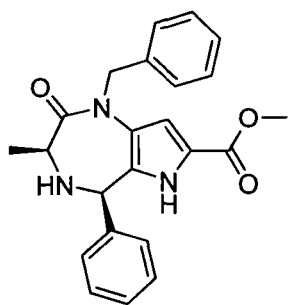
(s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.24 (s, 1H), 7.35-7.13 (m, 13H), 6.88 (m, 2H), 6.70 (s, 1H), 5.47 (d, $J=14.7$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.76 (d, $J=14.7$ Hz, 1H), 3.87 (q, $J=4.9$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.37 (dd, $J=4.9, 9.8$ Hz, 1H), 2.88 (dd, $J=4.9, 9.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.5, 160.9, 140.9, 138.4, 137.4, 130.0, 129.4, 128.9, 128.6, 128.2, 127.8, 127.7, 127.3, 126.8, 126.6, 125.4, 120.9, 108.1, 63.2, 59.7, 51.7, 49.8, 37.4.; HRMS (EI) m/z 466.2121 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 466.2125.



Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 431,2209

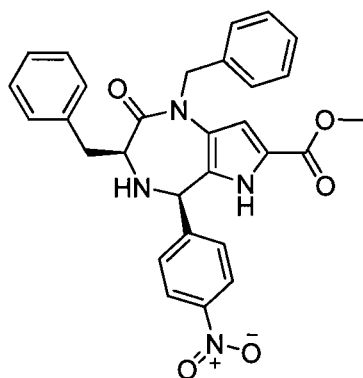
(3S,5R)-Methyl 4H-1-benzyl-3-[(1S)-1-methylpropyl]-5-phenyl-6H-pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1b): An oil (37 mg, 72% yield) was prepared from hydrochloride salt **12b** (50 mg, 0.13 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.40, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 49.2 (c 2.26, CHCl_3); FTIR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3133 (m), 3019 (m), 2955 (m), 1693 (s), 1618 (s), 1485 (s), 1453 (m), 1393 (w), 1288 (m), 1214 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1H), 7.30-7.17 (m, 8H), 6.94 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 5.38 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.75 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.37 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 1.86 (m, 2H), 1.61 (m, 1H), 1.17 (m, 1H), 1.00 (d, $J=6.7$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J=4.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 161.1, 140.9, 137.8, 130.2, 129.0, 128.7, 128.5, 128.0, 127.8, 127.3, 125.8, 120.7, 108.3, 62.9, 62.8, 51.7, 49.9,

35.7, 24.8, 16.8, 11.5.; HRMS (EI) m/z 432.2286 $[M + H]^+$; calcd for $C_{26}H_{30}N_3O_3^+$ 432.2282.



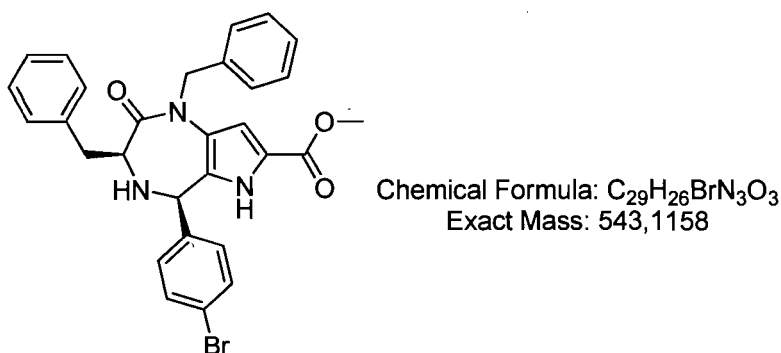
Chemical Formula: $C_{23}H_{23}N_3O_3$
Exact Mass: 389,1739

(3*S*,5*R*)-Methyl 4*H*-1-benzyl-3-methyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1c): An oil (9 mg, 18% yield) was prepared from hydrochloride salt **12c** (50 mg, 0.15 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.23, 40% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 54.5 (c 0.58, $CHCl_3$); FTIR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3150 (m), 3019 (m), 2955 (m), 1693 (s), 1618 (s), 1486 (s), 1453 (s), 1393 (w), 1288 (w), 1214 (s); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.45 (s, 1H), 7.32-7.19 (m, 8H), 7.02 (m, 2H), 6.67 (s, 1H), 5.43 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.76 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.79 (q, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 1.39 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 173.3, 161.0, 141.1, 137.6, 129.3, 128.9, 128.6, 127.8, 127.7, 127.3, 126.9, 125.4, 120.8, 108.2, 62.7, 53.7, 51.7, 49.9, 17.9.; HRMS (EI) m/z 390.1812 $[M + H]^+$; calcd for $C_{23}H_{24}N_3O_3^+$ 390.1812.

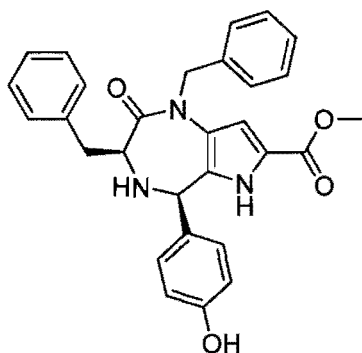


Chemical Formula: $C_{29}H_{26}N_4O_5$
Exact Mass: 510,1903

(3*S*,5*R*)-Methyl 4*H*-1,3-dibenzyl-5-*para*-nitrophenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1d): An oil (43 mg, 78% yield) was prepared from hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.15, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 20.3 (c 3.45, $CHCl_3$); FTIR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3272 (m), 3017 (m), 2875 (m), 1700 (s), 1643 (s), 1494 (s), 1440 (m), 1392 (w), 1347 (m), 1270 (m), 1215 (s); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.89 (s, 1H), 7.93 (m, 2H), 7.34-7.24 (m, 10H), 7.04 (m, 2H), 6.75 (s, 1H), 5.45 (d, $J=14$ Hz, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.59 (d, $J=14$ Hz, 1H), 3.88 (q, $J=7.1$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.32 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H), 2.90 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 172.1, 161.1, 148.5, 147.5, 138.1, 137.2, 129.4, 128.7, 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 127.6, 126.8, 125.3, 123.9, 121.3, 108.5, 60.9, 58.9, 51.8, 49.8, 37.3.; HRMS (EI) m/z 533.1793 $[M + Na]^+$; calcd for $C_{29}H_{26}N_4NaO_5^+$ 533.1795.



(3*S*,5*R*)-Methyl 4*H*-5-*para*-bromophenyl-1,3-dibenzyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1e): An oil (45 mg, 75% yield) was prepared from hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.29, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 20.3 (c 3.61, $CHCl_3$); FTIR (cm^{-1}): 3233 (m), 3027 (m), 2948 (m), 1699 (s), 1637 (m), 1485(s), 1453 (m), 1388 (m), 1297 (m), 1213 (m), 1164 (s); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.82 (s, 1H), 7.32-7.22 (m, 12H), 6.69 (m, 3H), 5.46 (d, $J=16.4$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.66 (d, $J=16.4$ Hz, 1H), 3.83 (q, $J=4.5$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.29 (dd, $J=4.9, 9.8$ Hz, 1H), 2.85 (dd, $J=4.9, 9.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 172.5, 161.2, 140.3, 138.4, 137.4, 131.9, 129.4, 129.3, 128.8 (3C), 128.6, 127.9, 127.4, 126.7, 125.3, 122.3, 121.0, 108.3, 61.8, 59.3, 51.7, 49.9, 37.4.; HRMS (EI) m/z 566.1040 $[M + Na]^+$; calcd for $C_{29}H_{26}BrN_3NaO_3^+$ 566.1050.

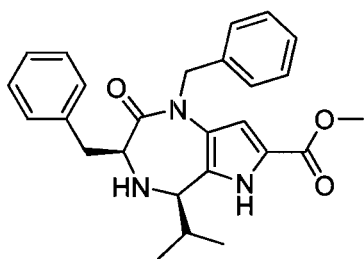


Chemical Formula: C₂₉H₂₇N₃O₄
Exact Mass: 481,2002

(3S,5R)-Methyl

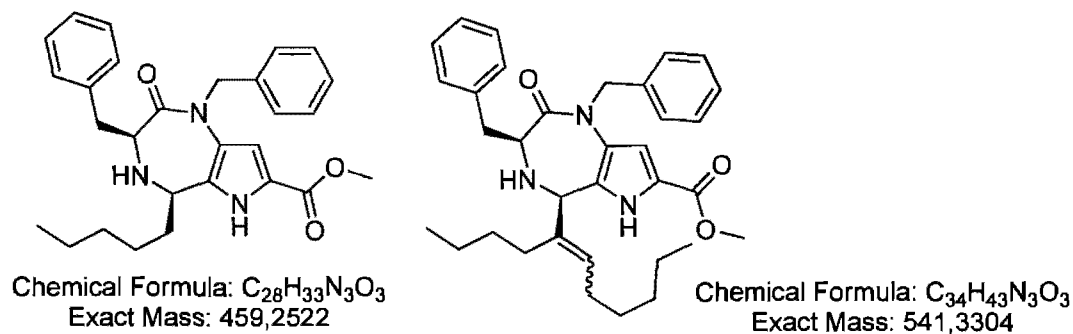
4H-1,3-dibenzyl-5-*para*-hydroxyphenyl-6H-pyrrolo[3,2-

e][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1f): An oil (24 mg, 47% yield) was prepared from hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.20, 40% EtOAc:hexane; [α]_D²⁰ -5.1 (*c* 1.98, CHCl₃); FTIR (CHCl₃, cm⁻¹): 3271 (m), 3025 (m), 2951 (m), 1698 (m), 1637 (s), 1493 (s), 1439 (m), 1391 (m), 1268 (m), 1215 (s); ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (s, 1H), 7.33-7.21 (m, 10H), 6.65 (s, 1H), 6.63 (m, 2H), 6.45 (m, 2H), 5.42 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.77 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.83 (q, *J* = 4.4 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.33 (dd, *J* = 6.3, 9.8 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J* = 6.3, 9.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 172.8, 161.5, 155.9, 138.4, 137.5, 132.7, 129.6, 129.3, 129.0, 128.7, 127.6, 127.3, 126.7, 125.3, 125.2, 120.5, 115.7, 108.4, 62.6, 59.7, 51.9, 49.9, 37.3.; HRMS (EI) *m/z* 482.2069 [M + H]⁺; calcd for C₂₉H₂₈N₃O₄⁺ 482.2074.



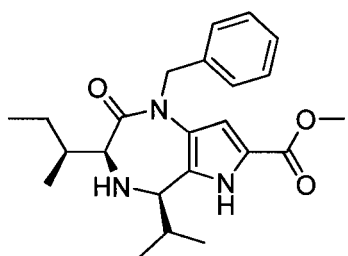
Chemical Formula: $C_{26}H_{29}N_3O_3$
Exact Mass: 431,2209

(3*S*,5*R*)-Methyl 4*H*-1,3-dibenzyl-5-*iso*-propyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1g): An oil (34 mg, 72% yield) was prepared from amine hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.26, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 22.8 (c 1.39, $CHCl_3$); FTIR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3175 (m), 3019 (m), 2950 (m), 1693 (s), 1652 (s), 1488 (m), 1454 (m), 1390 (w), 1269 (m), 1214 (m); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.93 (s, 1H), 7.30-7.18 (m, 10H), 6.64 (s, 1H), 5.25 (d, $J=15.1$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J=15.1$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.67 (q, $J=4.9$ Hz, 1H), 3.28 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H), 2.88 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.62 (m, 1H), 0.6 (m, 6H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 161.4, 138.7, 137.4, 130.2, 129.4, 128.4, 127.9, 127.2, 126.4, 125.7, 119.8, 108.1, 62.8, 58.6, 51.7, 49.9, 37.4, 33.9, 18.7, 16.8.; HRMS (EI) m/z 432.2281 $[M + H]^+$; calcd for $C_{26}H_{30}N_3O_3^+$ 432.2282.



(3S,5R)-Methyl 4H-1,3-dibenzyl-5-pentyl-6H-pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1h) and (3S,5R)-Methyl 4H-1,3-dibenzyl-5-[1-butylhept-1-en-1-yl]-6H-pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1j): Diazepinone **1h** and diazepinone **1j** were prepared from hydrochloride salt **12a** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol of **1a**. First to elute was **1j** (5 mg, 8% yield): R_f 0.66, 30% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -37.1 (c 0.14, $CHCl_3$); FTIR (cm^{-1}): 3233 (m), 2925 (m), 2855 (m), 1704 (m), 1652 (s), 1486 (s), 1454 (m), 1378 (m), 1269 (m), 1214 (s); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.22 (s, 1H), 7.33-7.21 (m, 10H), 6.61 (s, 1H), 5.28 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 5.12 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 4.84 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.66 (q, J = 4.9 Hz, 1H), 3.36 (dd, J = 4.8, 10.2 Hz, 1H), 2.87 (dd, J = 4.8, 10.2 Hz, 1H), 1.93 (m, 2H), 1.87 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.28 (m, 6H), 1.22 (m, 2H), 1.07 (m, 2H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.76 (t, J = 7.0 Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 172.5, 161.0, 139.9, 138.5, 137.5, 131.3, 129.3, 128.5, 128.2, 127.3, 127.1, 126.6, 125.8, 120.0, 107.8, 67.0, 59.6, 51.6, 49.8, 37.4, 31.9, 31.6, 30.0, 29.7, 29.2, 27.7, 23.1, 22.6, 14.1, 13.9.; HRMS (EI) m/z 542.3374 [$M + H$] $^+$; calcd for $C_{34}H_{44}N_3O_3^+$ 542.3377. Second to elute was **1h** (11 mg, 22% yield): R_f 0.34, 30% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 32.5 (c 0.36, $CHCl_3$); FTIR ($CHCl_3$, cm^{-1}): 3225 (m), 2954 (m),

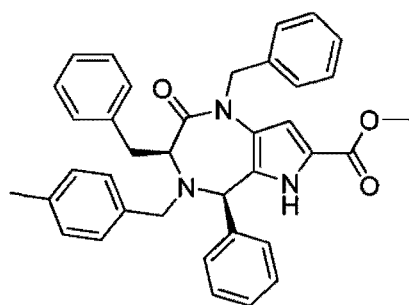
2860 (m), 1700 (m), 1653 (s), 1487 (s), 1450 (m), 1388 (w), 1271 (m), 1212 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.61 (s, 1H), 7.29-7.17 (m, 10H), 6.61 (s, 1H), 5.20 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 3.91 (t, $J=6.3$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.27 (q, $J=4.9$ Hz, 1H), 3.28 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H), 2.86 (dd, $J=4.9, 9.1$ Hz, 1H), 1.44 (m, 2H), 1.15 (m, 2H), 1.03 (m, 4H), 0.8 (t, $J=7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.7, 161.3, 138.6, 137.3, 130.6, 129.4, 128.5, 128.4, 127.6, 127.2, 126.5, 125.1, 120.0, 108.2, 59.2, 57.2, 51.8, 50.2, 37.5, 37.0, 31.4, 24.8, 22.6, 14.0.; HRMS (EI) m/z 460.2592 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 460.2595.



Chemical Formula: $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 397,2365

(3S,5R)-Methyl 4H-1-benzyl-3-[(1S)-1-methylpropyl]-5-iso-propyl-6H-pyrrolo[3,2-e][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1i): An oil (28 mg, 64% yield) was prepared from hydrochloride salt **12b** (50 mg, 0.12 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1a**: R_f 0.25, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ 12.9 (c 0.66, CHCl_3); FTIR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3201 (m), 3017 (m), 2954 (m), 1689 (m), 1647 (s), 1488 (s), 1447 (m), 1388 (w), 1269 (m), 1213 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.85 (s, 1H), 7.27-7.20 (m, 5H), 6.65 (s, 1H), 5.14 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 4.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 4.04 (d, $J=4.9$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.17 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.83 (m, 2H), 1.17 (m, 2H), 0.95 (d, $J=6.7$ Hz,

3H), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.83 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.65 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 173.3, 161.3, 137.5, 131.2, 128.4, 127.9, 127.2, 126.1, 119.9, 108.2, 63.1, 61.7, 51.8, 49.9, 35.5, 33.7, 29.8, 24.7, 18.9, 17.0, 11.2. ; HRMS (EI) m/z 398.2427 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 398.2438.

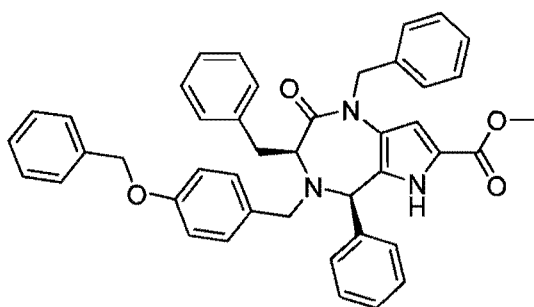


Chemical Formula: $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 569,26784

General procedure for the synthesis of pyrrolodiazepinones 1k-n,p using condition B.

(3*S*,5*R*)-Methyl 1,3-dibenzyl-4-*para*-methylbenzyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1k): Amine **14a** (24 mg, 0.050 mmol) was dissolved in 1 mL of toluene in a round bottom flask equipped with a water condenser and a Dean-Stark trap apparatus. Benzaldehyde (25.5 μL , 0.250 mmol) was added to the solution, which was heated to reflux and stirred for 24 h. When completion of the reaction was indicated by the absence of starting material by TLC, the reaction mixture was cooled to rt and evaporated under vacuum. The residue was dissolved in a minimum of toluene, added to a silica gel column and eluted with 10% EtOAc in hexane. Diazepinone **1k** (26 mg, 90% yield) was obtained as a 5:1 mixture of (*5R*)- and (*5S*)-diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.71 and 3.77 ppm in the proton NMR spectrum. Fractions containing the major (*5R*)-diastereoisomer (8 mg, 28% yield) were isolated: R_f

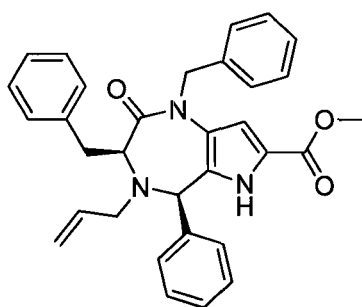
0.47, 20% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -121 (c 0.80, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3234 (m), 3027 (m), 2924 (m), 1704 (s), 1645 (s), 1481 (s), 1452 (s), 1379 (m), 1216 (s), 1165 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.30 (s, 1H), 7.36-7.27 (m, 5H), 7.16-7.00 (m, 10H), 6.83 (m, 2H), 6.71 (m, 1H), 6.65 (m, 2H), 5.19 (d, J = 3.8 Hz, 2H), 4.86 (s, 1H), 4.18 (dd, J = 2.5, 6.3 Hz, 1H), 4.05 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.37 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 3.29 (dd, J = 6.2, 8.5 Hz, 1H), 2.81 (dd, J = 6.2, 8.5 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.1, 160.8, 141.4, 139.0, 137.7, 137.0, 135.5, 129.3, 129.2, 129.0, 128.6, 128.5, 128.3, 127.8, 127.6, 127.5, 127.3, 126.5, 126.0, 125.5, 120.6, 107.2, 61.0, 60.8, 52.6, 51.6, 50.7, 36.8, 21.1.; HRMS (EI) m/z 570.2748 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 570.2751. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1k** (18 mg, 62% yield) were also recovered.



Chemical Formula: $\text{C}_{43}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_4$
Exact Mass: 661,29406

(3*S*,5*R*)-Methyl 1,3-dibenzyl-4-*para*-benzyloxybenzyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (11): An oil was prepared from amine **13a** (26 mg, 0.045 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1k**. Diazepinone **11** (26 mg, 87% yield) was obtained as a 5:1 mixture of (5*R*)- and (5*S*)-diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.74 and 3.77 ppm in the proton NMR spectrum. Purification on a silica gel column eluting with 10% EtOAc in hexane

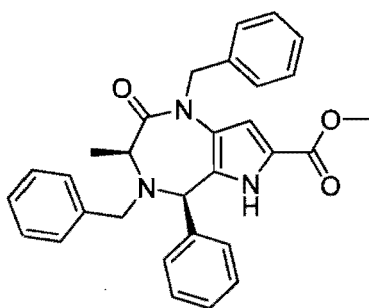
provided (3*S*,5*R*)-**1l** (16 mg, 55% yield): R_f 0.58, 35% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -103 (c 0.35, CHCl₃); FTIR (cm⁻¹): 3233 (m), 3027 (m), 2925 (m), 1703 (m), 1645 (s), 1480 (m), 1452 (m), 1379 (m), 1217 (s); ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (s, 1H), 7.46-6.84 (m, 22H), 6.72 (m, 1H), 6.63 (m, 2H), 5.18 (m, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.85 (s, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.03 (d, J = 13 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.35 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.29 (dd, J = 6.1, 7.1 Hz, 1H), 2.80 (dd, J = 6.1, 7.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 172.0, 160.8, 158.2, 141.4, 139.0, 137.7, 136.9, 130.9, 130.5, 129.3, 128.6(3C), 128.5, 128.4, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 126.5, 126.2, 125.6, 120.7, 114.7, 107.3, 70.0, 61.0, 60.9, 52.4, 51.7, 50.7, 36.8.; HRMS (EI) m/z 684.2832 [M + Na]⁺; calcd for C₄₃H₃₉N₃NaO₄⁺ 684.2833. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1k** (10 mg, 32% yield) were also recovered.



Chemical Formula: C₃₂H₃₁N₃O₃
Exact Mass: 505,2365

(3*S*,5*R*)-Methyl 4-allyl-1,3-dibenzyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1m**):** An oil was prepared from amine **15a** (5 mg, 0.012 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1k**. Diazepinone **1m** (3.8 mg, 62% yield) was obtained as a 5:1 mixture of (5*R*)- and (5*S*)-diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.75 and 3.72 ppm in the proton NMR spectrum. Purification on a silica gel column eluting with 10% EtOAc in hexane provided (3*S*,5*R*)-**1m**

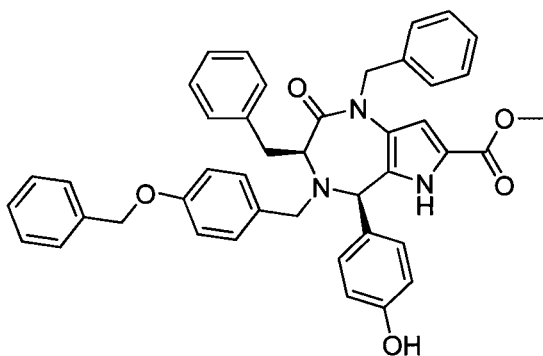
(3 mg, 49% yield): R_f 0.26, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -50.0 (c 0.10, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3233 (m), 3027 (m), 2925 (m), 1704 (m), 1643 (s), 1482 (s), 1452 (s), 1380 (m), 1262 (m), 1215 (m), 1165 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (s, 1H), 7.30 (m, 5H), 7.16 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.03 (m, 3H), 6.87 (m, 2H), 6.83 (m, 2H), 6.66 (s, 1H), 5.85 (m, 1H), 5.16-5.08 (m, 4H), 5.01 (s, 1H), 4.09 (dd, J = 2.2, 6.5 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.51 (m, 1H), 3.14 (dd, J = 6.0, 7.7 Hz, 1H), 3.02 (dd, J = 5.6, 8.4 Hz, 1H), 2.78 (dd, J = 5.6, 8.4 Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.1, 160.8, 141.1, 138.9, 137.6, 136.3, 129.4, 128.6, 128.5, 128.3, 127.8, 127.7, 127.5, 127.3, 126.8, 126.5, 125.6, 120.5, 118.3, 107.1, 61.2, 52.0, 51.6, 50.6, 36.2, 29.7. HRMS (EI) m/z 506.2445 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3^+$ 506.2438. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1k** (0.8 mg, 13% yield) were also recovered.



Chemical Formula: $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$
Exact Mass: 479,22089

(3*S*,5*R*)-Methyl 1,4-dibenzyl-3-methyl-5-phenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1n**):** An oil was prepared from amine **16c** (4.5 mg, 0.012mmol) and isolated according to the general protocol described for **1k**. Diazepinone **1n** (2.5 mg, 45% yield) was obtained as a 8:1 mixture of (5*R*)- and (5*S*)-diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.75 and 3.77 ppm in the proton NMR spectrum.

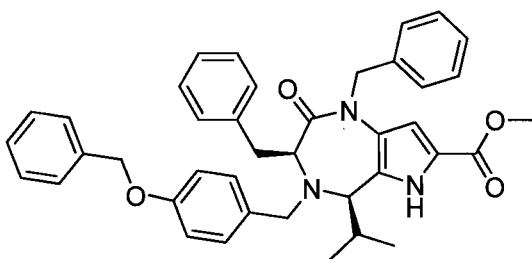
Purification on a silica gel column eluting with 20% EtOAc in hexane provided the (3*S*,5*R*)-**1n** (2.1 mg, 38% yield): R_f 0.37, 20% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -88.0 (c 0.21, CHCl₃); FTIR (CHCl₃, cm⁻¹): 3261 (m), 2924 (s), 2853 (m), 1708 (s), 1651 (s), 1482 (s), 1454 (s), 1377 (m), 1299 (m), 1262 (m), 1218 (m); ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (s, 1H), 7.38-7.24 (m, 13H), 6.95 (m, 2H), 6.73 (m, 1H), 5.23 (d, J = 14 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.01 (q, J = 5.0 Hz, 1H), 3.94 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.38 (d, J = 15 Hz, 1H), 1.22 (d, J = 7.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (175 MHz, CDCl₃) δ 173.1, 160.9, 142.1, 139.1, 137.8, 129.2, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 127.9, 127.5, 127.4, 127.3, 126.7, 125.7, 120.7, 107.3, 61.2, 54.9, 52.5, 51.7, 50.7, 16.8. HRMS (EI) m/z 502.2097 [M + Na]⁺; calcd for C₃₀H₂₉N₃NaO₃⁺ 502.2101. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1n** (0.4 mg, 7% yield) were also recovered.



Chemical Formula: C₄₃H₃₉N₃O₅
Exact Mass: 677,28897

(3*S*,5*R*)-Methyl 1,3-dibenzyl-4-*para*-benzyloxybenzyl-5-*para*-hydroxyphenyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (1p): An oil was prepared from amine **13a** (10 mg, 0.017 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1k**. Diazepinone **1p** (5 mg, 42% yield) was isolated as a 4:1 mixture of (5*R*)- and (5*S*)-

diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.77 and 3.82 ppm in the proton NMR spectrum. Purification on a silica gel column eluting with 25% EtOAc in hexane provided the (3*S*,5*R*)-**1p** (3 mg, 25% yield): R_f 0.14, 25% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -179 (c 0.10, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3273 (m), 2922 (s), 2852 (s), 1689 (m), 1611 (s), 1509 (s), 1481 (s), 1453 (s), 1378 (m), 1313 (m), 1217 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.24 (s, 1H), 7.46-7.28 (m, 10H), 7.14-7.05 (m, 5H), 6.93-6.87 (m, 4H), 6.71 (m, 1H), 6.47 (s, 4H), 5.20 (m, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.16 (dd, J = 2.7, 6.0 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.32 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.27 (dd, J = 6.0, 8.3 Hz, 1H), 2.81 (dd, J = 6.0, 8.3 Hz, 1H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 172.2, 160.9, 158.2, 154.9, 139.1, 137.7, 137.0, 133.9, 130.9, 130.4, 129.8, 129.3, 128.6, 128.0, 127.9, 127.6, 127.5, 127.4, 126.4, 126.3, 125.5, 120.6, 115.1, 114.7, 107.2, 70.0, 60.8, 60.2, 52.2, 51.7, 51.6, 36.7, 29.7.; HRMS (EI) m/z 678.2963 $[\text{M} + \text{H}]^+$; calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5^+$ 678.2963. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1p** (2 mg, 17% yield) were also recovered.

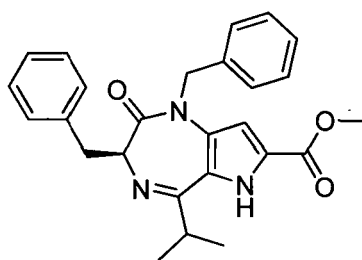


Chemical Formula: $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_4$
Exact Mass: 627,3097

(3*S*,5*R*)-Methyl 1,3-dibenzyl-4-*para*-benzyloxybenzyl-5-*iso*-propyl-6*H*-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (**1o**): An oil was prepared from amine **13a** (28 mg,

0.049 mmol) and isolated according to the general protocol described for **1k** with the exception that a water condenser was used instead of the Dean-Stark trap apparatus.

Diazepinone **1o** (12 mg, 40% yield) was obtained as a 4:1 mixture of (5*R*)- and (5*S*)-diastereoisomers as determined by integration of the methyl ester singlets at 3.78 and 3.74 ppm in the proton NMR spectrum. Purification using a silica gel column eluting with 10% EtOAc in hexane provided the (3*S*,5*R*)-**1o** (7 mg, 24% yield): R_f 0.59, 35% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -91.8 (c 0.62, CHCl_3); FTIR (cm^{-1}): 3306 (m), 3028 (m), 2925 (m), 1686 (m), 1647 (s), 1477 (m), 1453 (m), 1380 (m), 1215 (s); ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (s, 1H), 7.44-6.88 (m, 19H), 6.64 (m, 1H), 5.08 (q, J = 14 Hz, 2H), 5.05 (s, 2H), 4.01 (q, J = 3.8 Hz, 1H), 3.90 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.64 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 3.61 (dd, J = 3.6, 9.2 Hz, 1H), 3.12 (d, J = 14 Hz, 1H), 3.01 (dd, J = 3.6, 9.2 Hz, 1H), 1.80 (m, 1H), 0.72 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 0.52 (d, J = 7 Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, CDCl_3) δ 171.0, 161.1, 158.1, 139.4, 137.6, 136.9, 131.2, 131.1, 129.9, 129.1, 128.6, 128.5, 128.2, 128.0, 127.6, 127.5, 127.3, 126.1, 125.8, 120.0, 114.4, 107.6, 70.0, 63.7, 62.1, 54.0, 51.7, 50.5, 37.6, 33.9, 19.7, 18.1.; HRMS (EI) m/z 650.2986 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{NaO}_4^+$ 650.2989. Fractions containing a diastereomeric mix of (3*S*,5*RS*)-**1o** (5 mg, 16% yield) were also recovered.



Chemical Formula: $C_{26}H_{27}N_3O_3$
Exact Mass: 429,2052

(3S)-Methyl 1,3-dibenzyl-5-*iso*-propyl-6H-pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazepin-2-one-7-carboxylate (17): From the synthesis of diazepinone **1g** from hydrochloride **12a** (50 mg, 0.12 mmol) according to the general protocol described for **1a**, when the system was open to air, diazepinone **17** was isolated as an oil (7 mg, 15% yield): R_f 0.56, 35% EtOAc:hexane; $[\alpha]_D^{20}$ -28.0 (c 0.20, $CHCl_3$); FTIR (cm^{-1}): 3233 (m), 2965 (m), 2852 (m), 1716 (s), 1648 (s), 1560 (m), 1489 (m), 1434 (m), 1381 (m), 1265 (s), 1216 (s); 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ 8.82 (s, 1H), 7.38-7.17 (m, 8H), 7.03 (m, 2H), 6.64 (m, 1H), 5.33 (d, $J=14.2$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J=14.2$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.78 (m, 1H), 3.58 (dd, $J=6.0, 8.2$ Hz, 1H), 3.53 (dd, $J=6.0, 8.2$ Hz, 1H), 2.78 (m, 1H), 1.21 (d, $J=7.0$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ 166.4, 166.0, 160.7, 139.6, 136.7, 131.7, 130.1, 128.5, 128.0, 127.1, 126.0, 124.2, 123.2, 105.7, 66.0, 52.1, 49.7, 38.6, 35.0, 29.7, 21.5, 19.4.; HRMS (EI) m/z 430.2125 $[M + H]^+$; calcd for $C_{26}H_{28}N_3O_3^+$ 430.2129.

2.7 References:

-
1. (a) Evans, B. E.; Rittle, K. E.; Bock, M. G.; DiPardo, R. M.; Freidinger, R. M.; Whitter, W. L.; Lundell, G. F.; Veber, D. F.; Anderson, P. S.; Chang, R. S. L.; Lotti, V. J.; Cerino, D. J.; Chen, T. B.; Kling, P. J.; Kunkel, K. A.; Springer, J. P.; Hirshfield, J. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2235. (b) Patchett, A. A.; Nargund, R. P. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2000**, *35*, 289.
 2. Horton, D. A.; Bourne, G. T.; Smythe, M. L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 893.
 3. (a) Wyatt, P. G.; Allen, M. J.; Chilcott, J.; Hickin, G.; Miller, N. D.; Woolard, P. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1301. (b) Bolli, M. H.; Marfurt, J.; Grisostomi, C.; Boss, C.; Binkert, C.; Hess, P.; Treiber, A.; Thorin, E.; Morrison, K.; Buchmann, S.; Bur, D.; Ramuz, H.; Clozel, M.; Fischli, W.; Weller, T. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2776. (c) Armour, D. R.; Aston, N. M.; Morriss, K. M. L.; Congreve, M. S.; Hawcock, A. B.; Marquess, D.; Mordaunt, J. E.; Richards, S. A.; Ward, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2037. (d) Kees, K. L.; Cheeseman, R. S.; Prozialeck, D. H.; Steiner, K. E. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 13. (e) Kornecki, E.; Ehrlich, Y. H.; Lenox, R. H. *Science* **1984**, *226*, 1454.
 4. (a) Stevens, S. Y.; Bunin, B. A.; Plunkett, M. J.; Swanson, P. C.; Ellman, J. A.; Glick, G. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10650. (b) Thurston, D. E. *In Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions*; Macmillan: London, UK, **1993**, *1*, 54.
 5. (a) Micale, N.; Vairagoundar, R.; Yakovlev, A. G.; Kozikowski, A. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6455. (b) Ramdas, L.; Bunnin, B. A.; Plunkett, M. J.; Sun, G.;

-
- Ellman, J.; Gallick, G.; Budde R. J. A. *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *368*, 394. (c)
- Proudfoot, J. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 163.
6. (a) Micale, N.; Kozikowski, A. P.; Ettari, R.; Grasso, S.; Zappalà, M.; Jeong, J.-J.; Kumar, A.; Hanspal, M.; Chishti, A. H. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3064. (b) Im, I.; Webb, T. R.; Gong, Y.-D.; Kim, J.-I.; Kim, Y.-C. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 207.
7. Iden, H. S.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3425.
8. Bolos, J.; Perez, A.; Gubert, S.; Anglada, L.; Sacristan, A.; Ortiz, J. A. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3535.
9. De Lucca, G. V.; Otto, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 1639.
10. Kaneko, T.; Wong, H.; Doyle, T. W.; Rose, W. C.; Bradner, W. T. *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 388.
11. Ilyn, A. P.; Trifilenkov, A. S.; Kuzovkova, J. A.; Kutepov, S. A.; Nikitin, A. V.; Ivachtchenko, A. V. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1478.
12. Funke, C.; Es-Sayed, M.; de Meijere, A. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4249.
13. Pictet, A.; Spengler, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 2030.
14. Duncton, M. A. J.; Smith II, L. M.; Burdzovic-Wizeman, S.; Burns, A.; Liu, H.; Mao, Y.; Wong, W. C.; Kiselyov, A. S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9629.
15. Pyrrolodiazepines were unstable intermediates that underwent Smiles rearrangement to produce pyrrolo[1,2-*f*]pteridines in: Xiang, J.; Zheng, L.; Chen, F.; Dang, Q.; Bai, X. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 765.
16. Marcotte, F.-A.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2601.
17. Blanco, M.-J.; Sardina, F. J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4748.

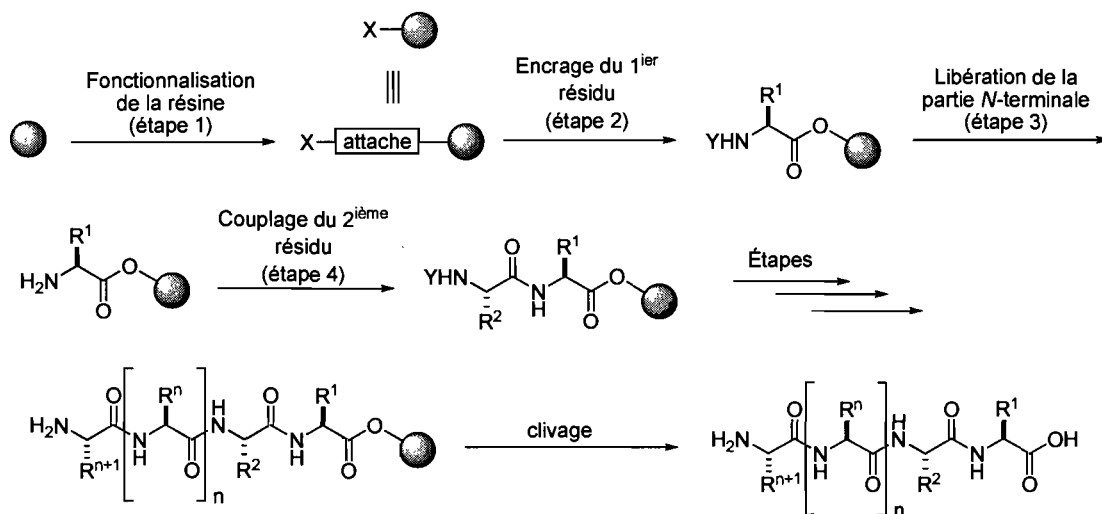
-
18. Falb, E.; Yechezkel, T.; Salitra, Y.; Gilon, C. *J. Pept. Res.* **1999**, *53*, 507.
 19. Atherton, E.; Fox, H.; Harkiss, D.; Logan, C. J.; Sheppard, R. C.; Williams, B. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 537.
 20. Abdel-Magid, A. F.; Mehrman, S. J. *Org. Proc. Res. Dev.* **2006**, *10*, 971.
 21. Ando, W.; Tsumaki, H. *Chem. Lett.* **1981**, 693.
 22. Cox, E. D.; Cook, J. M. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1797.
 23. Xiang, J.; Zheng, L.; Chen, F.; Dang, Q.; Bai, X. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 765.
 24. Rousseau, J.-F.; Dodd, R. H. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2731.
 25. Raiman, M. V.; Pukin, A. V.; Tyvorskii, V. I.; De Kimpe, N.; Kulinkovick, O. G. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5265.
 26. Raheem, I. T.; Thiara, P. S.; Jacobsen, E. N. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1577.
 27. Fridkin, G.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 849.
 28. Seayad, J.; Seayad, A. M.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1086.
 29. Diness, F.; Beyer, J.; Meldal, M. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8056.
 30. Royer, J.; Bonin, M.; Micouin, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2311.
 31. Rose, G. D.; Gierasch, L. M. Smith, J. D. *Adv. Protein Chem.* **1985**, *37*, 1.

Chapitre 3

Support solide et perspectives

3.1 La synthèse peptidique sur support solide

La synthèse peptidique sur support solide ou synthèse peptidique sur phase solide (SPPS) a été développée par Robert Bruce Merrifield. Ce dernier a prouvé son concept en synthétisant le térapeptide L-leucyl-L-alaninylglycyl-L-valine.¹ Tel que décrit au Schéma 15, la technique consiste à utiliser des billes de résine insolubles sur lesquelles des attaches fonctionnalisées y sont greffées (étape 1, Schéma 15). Un acide α -aminé dont la partie *N*-terminale et les chaînes latérales sont protégées de façon orthogonale² est ensuite lié de façon covalente au support solide (étape 2, Schéma 15). Le groupement protecteur Y de la partie *N*-terminale est ensuite clivé pour permettre le couplage d'un deuxième acide α -aminé (étapes 3 et 4, Schéma 15). Ces étapes peuvent ensuite être répétées de façon à bâtir le peptide désiré, lequel est clivé à la fin de la synthèse avec la libération des chaînes latérales.³ La SPPS permet d'augmenter la simplicité et la rapidité des étapes de synthèse en remplaçant la purification de chacun des intermédiaires par la simple filtration des excès de réactifs.

Schéma 15 : Synthèse Peptidique sur Phase Solide (SPPS)³

3.2 Les stratégies Fmoc/*t*-Bu et Boc/Cbz

Comme la réactivité lors des étapes de couplages doit se limiter à l'amine libre et à l'acide carboxylique formant le lien amide, les autres fonctionnalités doivent être protégées et déprotégées de façon orthogonale.² Ceci signifie que certains groupes protecteurs peuvent être clivés de façon sélective par rapport aux autres groupes présents en utilisant des conditions spécifiques. Il existe deux stratégies majeures en SPPS pour la protection des groupes fonctionnels, soit : la stratégie Fmoc/*t*-Bu et la stratégie Boc/Cbz (Figure 16).³

La stratégie Boc/Cbz consiste à protéger l'amine-α avec un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) et à protéger les chaînes latérales avec un ester de benzyle (Cbz). Le groupement Boc est clivé en présence d'acide trifluoroacétique tandis que le groupement Cbz est clivé en présence d'acides plus forts comme HBr et HF ou par hydrogénation.

La deuxième stratégie, Fmoc/*t*-Bu, offre des conditions de clivage plus douces. L'amine- α est protégée avec le groupement 9-fluorénylméthoxycarbonyle (Fmoc) lequel est clivé par β -élimination en présence d'une base, la pipéridine. Lorsque le groupe Fmoc est utilisé pour protéger l'amine- α , les chaînes latérales sont alors protégées sous forme d'esters de *tert*-butyle, lesquels sont clivés en présence de TFA.

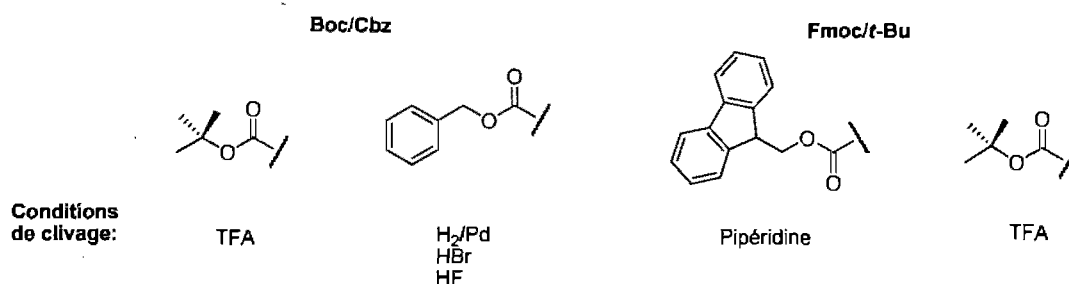


Figure 16 : Conditions de clivage des groupements Fmoc/*t*-Bu et Boc/Cbz³

3.3 Les résines à base de polystyrène (PS)

Le support solide a une influence importante sur l'issue de la synthèse. Il doit être inerte aux différents réactifs avec lesquels il est en contact et il doit posséder une bonne stabilité mécanique. Il doit aussi gonfler efficacement dans le solvant de façon à exposer les molécules aux réactifs. Finalement, il doit être suffisamment réactif pour permettre l'encrage et le clivage de la molécule qui y sera synthétisée.³

La résine utilisée dans ce projet est une résine à base de polystyrène, la résine de Wang. Les résines de polystyrène (3) sont typiquement faites par copolymérisation radicalaire du styrène (1) en présence de divinylbenzène 2 (Schéma 16).⁴ La capacité de la

résine à se remplir de solvant et gonfler est proportionnelle au taux de réticulation. De façon générale, les résines de polystyrène contiennent de 1 à 2% d'unités dérivées du divinylbenzène, ce qui leur donne une bonne stabilité mécanique ainsi qu'une bonne capacité à se gorger de solvant. D'autre part, les résines de PS peuvent être facilement fonctionnalisées avec les différentes réactions d'acylations ou d'alkylations de *Friedel-Crafts*.⁵

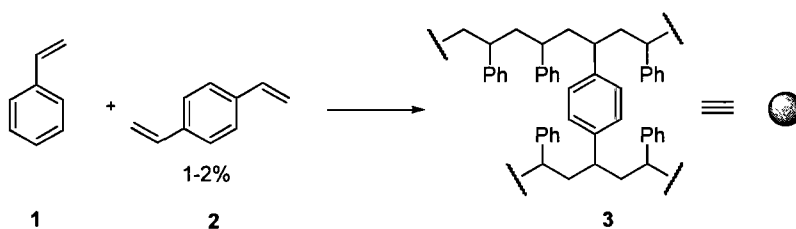


Schéma 16 : Synthèse d'une résine de polystyrène⁴

3.3.1 La résine de Wang

L'encrage du peptide ou du substrat de départ sur le support solide doit se faire à l'aide d'une attache fonctionnalisée permettant d'espacer la molécule à synthétiser de la résine en plus d'offrir des conditions spécifiques d'encrage et de clivage. Le choix des attaches fonctionnalisées dépend donc des différentes conditions utilisées lors de la synthèse, des groupes fonctionnels présents ainsi que du groupement désiré lors du clivage de la résine.

La résine de Wang (5) est une résine à base de polystyrène possédant l'alcool 4-benzyloxybenzyle comme attache. Cette résine est l'une des plus utilisées en SPPS. Son

attache est labile en milieu acide. La résine de Wang (5) est typiquement synthétisée à partir de la résine de Merrifield (4) par substitution nucléophile du chlore avec l'alkoxyde de sodium de l'alcool 4-hydroxybenzyle (Schéma 17).⁶

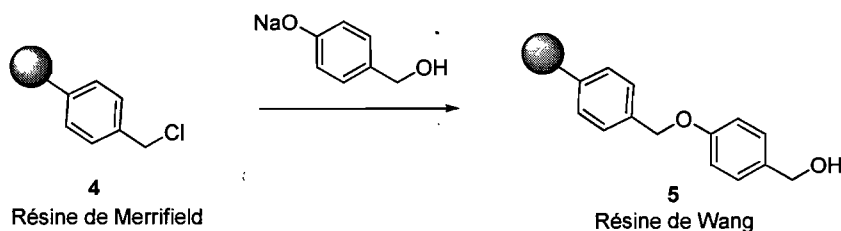
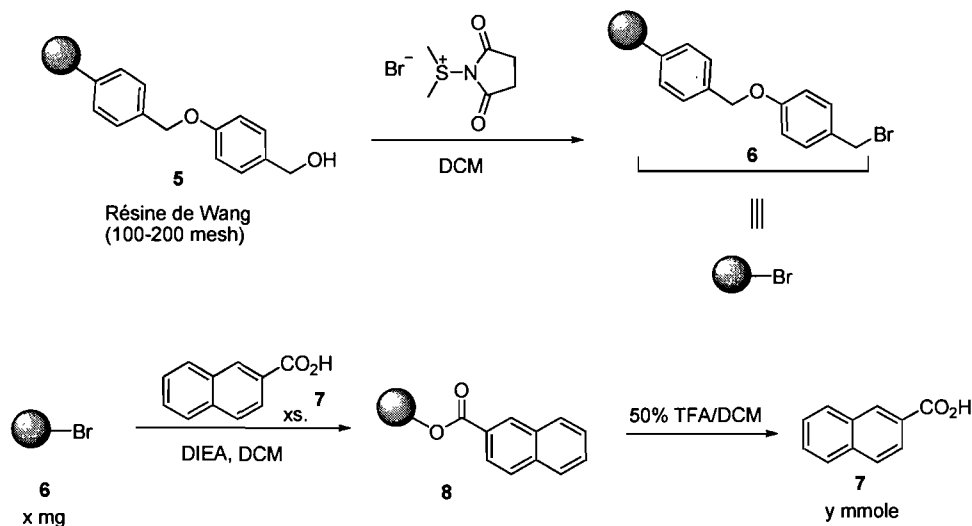


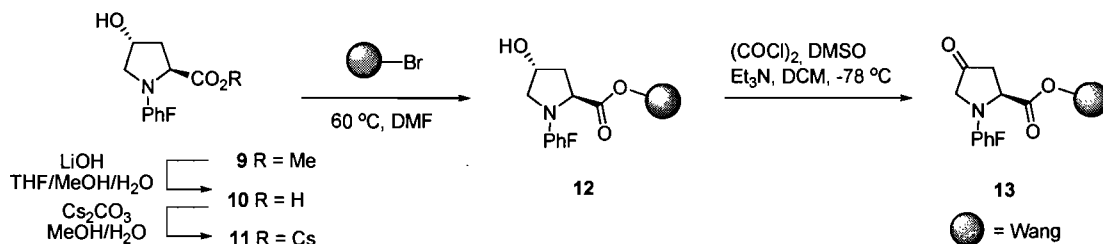
Schéma 17 : Synthèse de la résine de Wang⁶

3.4 Synthèse d'aminopyrroles sur support solide

Récemment, le groupe Lubell a développé une méthode efficace sur support solide afin de générer des 3-aminopyrrole-2,5-dicarboxylates 15.⁷ La technique utilise la résine de bromure de Wang (6), un dérivé de la résine de Wang, étant donné la présence d'un groupement alcool sur le substrat hydroxyproline 11. Cette résine de bromure (6) est générée en traitant la résine de Wang (5) avec une solution du sel diméthylsulfide/*N*-bromosuccinimide (DMS/NBS) dans le DCM (Schéma 18).⁸ La disparition de la bande d'élongation O-H à 3435 cm⁻¹ combiné à l'apparition de la bande d'élongation C-Br à 592 cm⁻¹ en spectroscopie IR permet de confirmer de façon qualitative la synthèse de la résine. Le chargement de la résine peut ensuite être évalué en traitant la résine avec l'acide 2-naphtoïque (7) en présence de DIEA. Après lavage et clivage avec une solution de 50% TFA/DCM (Schéma 18), la masse d'acide (7) récupéré permet de calculer le chargement de la résine.

Schéma 18 : Synthèse de la résine de bromure de Wang⁸

La *N*-(PhF)-4-hydroxyproline **10** est générée par hydrolyse de l'ester de méthyle correspondant **9** en présence de LiOH. Le sel de césium **11** est ensuite obtenu en traitant l'acide carboxylique **10** avec du carbonate de césium. Le déplacement du brome est effectué en traitant la résine avec le sel de césium **11** dans le DMF afin d'obtenir la résine *N*-(PhF)-4-hydroxyproline **12**. L'évaluation du chargement de la résine **12** est alors relayée à une étape ultérieure, car le clivage de la résine causerait la solvolysse du groupement PhF. La résine 4-oxoproline **13** est obtenue par oxydation de l'alcool **12** en présence de chlorure d'oxalyle et de diméthylsulfoxyde (Schéma 19).

Schéma 19 : Synthèse de la résine 4-oxoproline **13**⁷

Les différentes résines 4-aminopyrrole **14** sont ensuite synthétisées en traitant la résine **13** avec une amine secondaire en présence d'une quantité catalytique d'acide *p*-toluènesulfonique monohydrate dans le THF (Schéma 20). Cette méthode développée en solution n'a été utilisée qu'avec des amines secondaires sur support solide pour la synthèse de 3-aminopyrrole-2,5-dicarboxylates **15**. Le départ du groupement PhFH **16** à cette étape permet de quantifier le chargement du 4-aminopyrrole **14**.

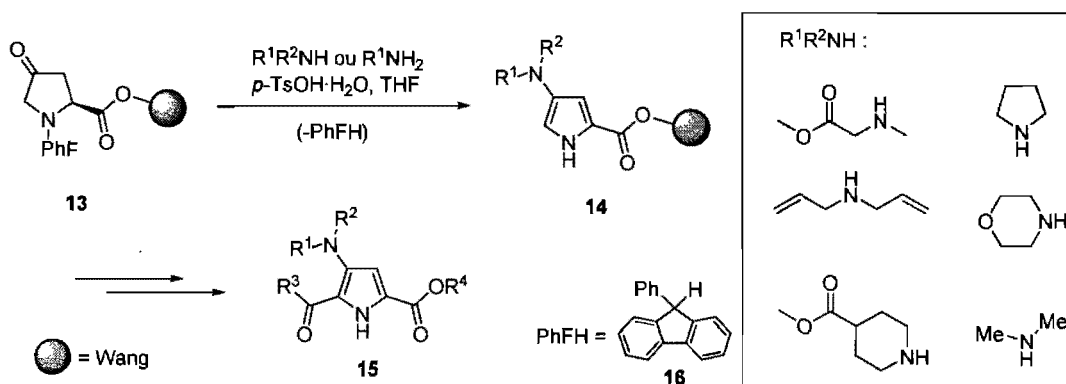


Schéma 20 : Synthèse de résines 4-aminopyrrole-2-carboxylate⁷

3.5 Synthèse de pyrrolodiazépinones sur support solide (preuve du concept)

Selon les mêmes conditions développées pour la synthèse de résines 4-aminopyrrole **14** à partir d'amines secondaires, la résine **17** a été synthétisée en utilisant une amine primaire, la *N*-benzylamine. La récupération du groupement PhFH **16** a permis de calculer un chargement de 1.0 mmol/g pour l'aminopyrrole **17** en plus de confirmer indirectement la réussite de la synthèse.

Suivant les résultats obtenus en solution (chapitre 2), l'amine secondaire **17** a ensuite été traitée avec le chlorure d'acide de la N^α -(Fmoc)- N^ϵ -(Boc)lysine généré *in-situ* en présence de triphosgène et de 2,4,6-collidine. Après 24 h d'agitation, un échantillon de la résine a été filtré, lavé et traité avec une solution de 50% TFA/DCM. L'analyse du filtrat par chromatographie liquide avec détecteur à spectrométrie de masse (CL-SM) a montré un seul pic majeur avec une masse correspondante au produit désiré **18a** (section 3.7). La résine N -[(Fmoc)lysiny]aminopyrrole **18a** a ensuite été traitée avec deux portions d'une solution de 20% pipéridine/DMF pour deux périodes de 30 min. Après filtration et lavages, le test de *Kaiser*¹⁰ sur un échantillon s'est montré positif, permettant d'affirmer de façon qualitative le clivage du groupement Fmoc et la libération de l'amine **18b**.

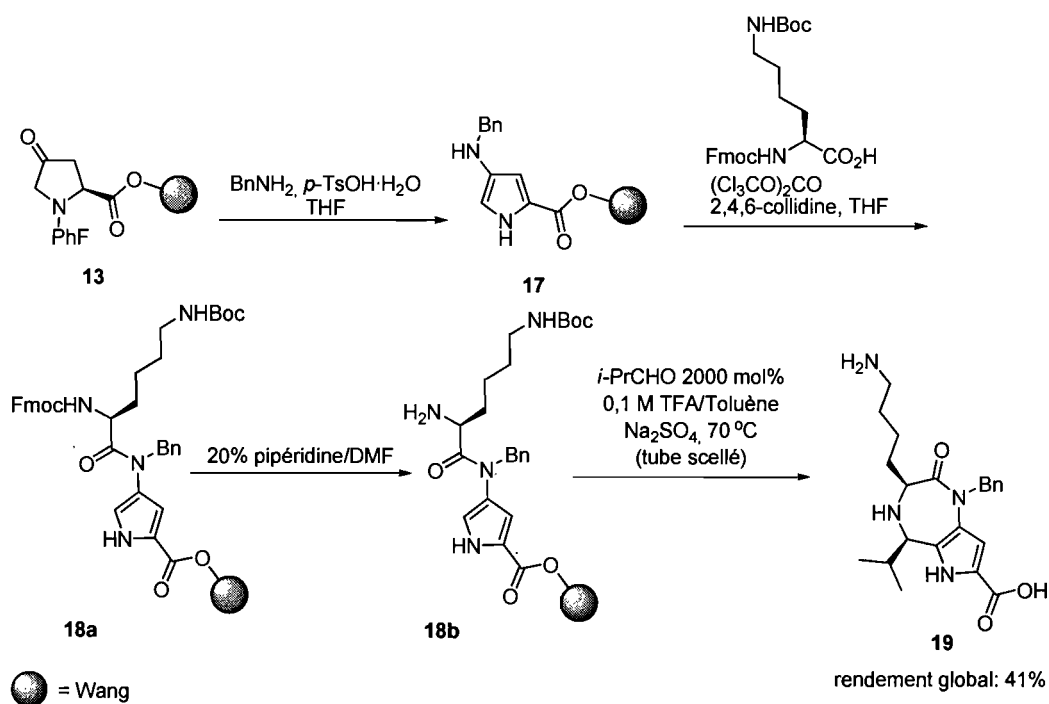


Schéma 21 : Synthèse d'une pyrroldiazépinone sur support solide

Pour l'étape clef de la synthèse, soit la cyclisation de *Pictet-Spengler*, la résine amine **18b** a été placée dans un tube scellé et traitée avec l'*iso*-butyraldéhyde en présence de sulfate de sodium dans une solution de 0,1 M de TFA/toluène à 70 °C. La présence du TFA permet la catalyse de la cyclisation par la formation d'un ion iminium, la libération de la chaîne latérale de la lysine et le clivage du support solide. Après 48 h, le mélange a été filtré, lavé et purifié par chromatographie sur gel de silice pour donner la diazépnone **19** dans un rendement global de 41% sous la forme d'un sel de HCl. Basée sur les résultats en solution, la stéréochimie relative *cis* a été assignée. Les exemples en solution avaient montré un seul diastéréoisomère d'après les analyses par CL-SM et une configuration relative *cis* d'après des analyses par diffraction des rayons-X et par RMN à effet nOe (chapitre 2). Ces résultats suggèrent une attaque *endo* sur l'ion iminium *E*.

3.6 Conclusion : travaux futurs et perspectives

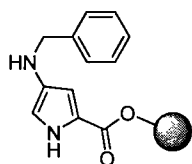
L'approche utilisant la cyclisation de *Pictet-Spengler* a permis la synthèse de seize pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazépin-2-ones 1,3,5-tri- et 1,3,4,5-tétrasubstituées à partir de différents *N*-(aminoacyl)aminopyrroles en solution. L'analyse par rayons-X a montré que les angles dièdres de la portion acide aminé se comparent favorablement à ceux d'un tour- γ inverse. Ces résultats obtenus en solution ont permis d'évaluer les limites de la méthode tout en fournissant une base pour l'application du projet sur support solide.

Quant aux derniers résultats obtenus, soit la synthèse de la diazépnone **19** sur support solide, ils ont démontré la faisabilité de l'approche sur résine. Cette stratégie sur

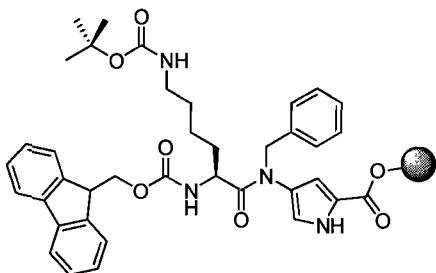
La stratégie Fmoc/*t*-Bu permet de son côté la cyclisation, la libération de la chaîne latérale et le clivage de la résine en une seule étape, tout en permettant d'incorporer un résidu acide aminé fonctionnalisé.

Considérant le potentiel des dérivés aryldiazépinone à mimer la conformation d'un tour- γ inverse et l'intérêt pour ces composés en chimie médicinale, la synthèse en solution de pyrrolo[3,2-*e*][1,4]diazépin-2-ones et la preuve du concept pour la synthèse sur support solide est une addition intéressante aux méthodes existantes.

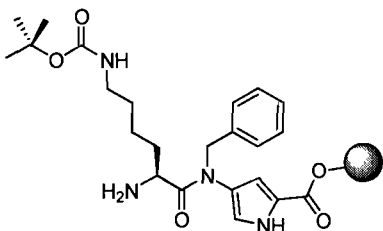
3.7 Partie expérimentale



Résine 4-benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate 17: La résine 4-oxoproline **13** (700 mg, 0.745 mmol), préparée selon la référence 7, a été placée dans un tube de polypropylène de 20 mL muni d'un fritté en polypropylène, gonflée avec 10 mL de THF sec, filtrée et lavée avec 2 portions de 10 mL de THF sec. Cette résine a ensuite été transférée dans un tricol de 100 mL équipé d'un agitateur mécanique et d'un condenseur, puis gonflée avec 15 mL de THF sec. La résine en suspension a ensuite été traitée avec la *N*-benzylamine (0.65 mL, 5.96 mmol) et le *p*-TsOH·H₂O (14 mg, 0.074 mmol). Le mélange a été agité pour 24 h à 50 °C dans un bain d'huile sous atmosphère d'argon, refroidi et transféré dans un tube de polypropylène de 20 mL équipé d'un fritté en polypropylène. Le mélange a été filtré et lavé séquentiellement pour des périodes de 1 min sur l'agitateur avec des volumes de 10 mL de : THF, DCM, EtOH, DCM, EtOH, DCM (3X). La résine verte/brune a été séchée sous vide et a été conservée au réfrigérateur sous atmosphère d'argon. IR (cm⁻¹): 1692 (C=O). L'évaporation des filtrats et la purification sur gel de silice (10:90 EtOAc/hexane, R_f = 0.7) a donné le PhFH (p.f. 148 °C), lequel a été utilisé pour quantifier le chargement du 4-aminopyrrole (1.0 mmol/g).

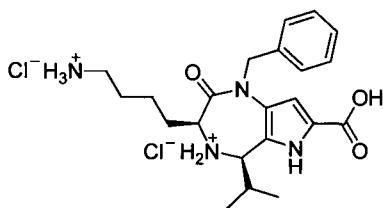


Résine 4-[N^{α} -(Fmoc)- N^{ϵ} -(Boc)lysiny]benzylamino-1*H*-pyrrole-2-carboxylate 18a : La N^{α} -(Fmoc)- N^{ϵ} -(Boc)lysine-OH (77 mg, 0.165 mmol) et le bis(trichlorométhyl)carbonate (16 mg, 0.055 mmol) ont été dissouts dans 2 mL de THF sec dans un ballon à fond rond séché à la flamme sous atmosphère d'argon. Le mélange résultant a ensuite été lentement traité avec la 2,4,6-collidine (0.06 mL, 0.468 mmol) puis agité pour 15 min. La suspension résultante de chlorure d'acide a été transférée dans un tube de polypropylène de 3 mL équipé d'un fritté en polypropylène et contenant la résine 4-benzylaminopyrrole-2-carboxylate 17 (50 mg, 0.055 mmol) laquelle a été préalablement lavée et gonflée avec 2 mL de THF. Le mélange a été agité sur l'agitateur pour 24h à température pièce et lavé séquentiellement pour des périodes de 1 min sur le vortex avec des volumes de 2 mL de : DCM (3X), EtOH (2X), DCM (2X), EtOH (2X), DCM (3X). La résine brune a été séchée sous vide et conservée au réfrigérateur sous atmosphère d'argon. IR (cm^{-1}): 1638 (C=O).



Résine 4-[N^{ϵ} -(Boc)lysiny]benzylamino-1*H*-pyrrole-2-carboxylate 18b : La résine 4-[N^{α} -(Fmoc)- N^{ϵ} -(Boc)lysiny]benzylamino-1*H*-pyrrole-2-carboxylate 18a (30 mg, 0.8 mmol) a

été placée dans un tube de polypropylène de 3 mL équipé d'un fritté en polypropylène, gonflée avec 1 mL de DMF sec, filtrée puis lavée avec 2 portions de 1 mL de DMF sec. Cette résine a ensuite été traitée avec 1 mL d'une solution de 20% (v/v) pipéridine/DMF puis agitée pour 30 min sur le vortex. La solution a été filtrée et la résine a été traitée pour 30 min supplémentaire avec 1 mL d'une solution de 20% (v/v) pipéridine/DMF. La résine a ensuite été lavée séquentiellement pour des périodes de 1 min sur le vortex avec des volumes de 1 mL de : DCM (6X). Un résultat positif au test de *Kaiser* (voir test de *Kaiser* p.92) a été observé après traitement de la résine avec les solutions appropriées. La résine brune **18b** a été séchée sous vide puis conservée au réfrigérateur sous atmosphère d'argon. IR (cm⁻¹): 1702 (C=O).



(3S,5R)-4H-3-(4-aminobutyl)-1-benzyl-5-(iso-propyl)-6H-pyrrolo[3,2-e][1,4]diazépin-2-one-7-carboxylate 19: La résine 4-[N^ε-(Boc)lysiny]benzylamino-1H-pyrrole-2-carboxylate **18b** (85 mg, 0.070 mmol) a été placée dans un tube scellé contenant 10 mL d'une solution de 0.1M de TFA dans le toluène. Du sulfate de sodium et de l'*iso*-butyraldéhyde (70 μL, 0.765 mmol) ont ensuite été ajoutés. Le mélange a été chauffé à 70 °C pour 48 h. Le mélange a ensuite été refroidi à température pièce, filtré à travers un morceau de coton, puis évaporé. Le résidu a été dissout dans 10 mL d'une solution aqueuse de 0.1 M HCl puis extrait avec du DCM (3 X 10 mL). La phase aqueuse a ensuite été

lyophilisée. Le résidu a été dissout dans un minimum d'éluant, additionné sur une colonne de gel de silice, puis élué avec le système de solvant suivant : AcOEt:MeOH:MeCN:H₂O (70:10:10:10). La récupération et l'évaporation des fractions désirées a donné la diazépnone **19** (14 mg, 41% rendement global). Solide jaune pâle. p.f.: (décomposition) 204 °C; RMN ¹H (700 MHz, CD₃OD) δ 7.26 (m, 5H), 6.69 (s, 1H), 5.10 (d, *J*=14.8 Hz, 1H), 4.80 (d, *J*=14.8 Hz, 1H), 4.03 (d, *J*=5.2 Hz, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 2.94 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.68 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.75 (m, 3H), 1.68 (m, 3H); RMN ¹³C (175 MHz, CD₃OD) δ 167.8, 136.1, 128.9, 128.6, 128.0, 126.6, 123.0, 106.6, 61.1, 56.5, 50.6, 47.1, 38.8, 31.9, 28.3, 26.2, 22.3, 18.6, 18.1, 17.8; SMHR (EI) *m/z* 399.2389 [M + H]⁺; calculé pour C₂₂H₃₀N₄O₃ 399.2391.

Test de Kaiser : Quelques billes de la résine à analyser ont été transférées dans une éprouvette de 5-10 mL. 3 gouttes d'une solution de phénol/éthanol, 3 gouttes d'une solution de KCN/eau/pyridine et 3 gouttes d'une solution de ninhydrine/éthanol ont été ajoutées. (Les solutions ont été préparées selon la réf. 10.) L'éprouvette a ensuite été chauffée dans un bain d'huile à 120 °C pendant 5 min ou jusqu'à ce que la solution passe au bleu forcé indiquant la présence d'amines libres.

3.8 Références

1. Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149.
2. Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition **1999**, N.-Y., John Wiley and Sons Inc.
3. (a) Grant, G. A. *Synthetic Peptides* **1992**, N.-Y., W.H. Freeman and Company.
(b) Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis* **1984**, N.-Y., Springer-Verlag.
4. Kates, S. A.; Albericio, F. *Solid-Phase Synthesis: A Practical Guide* **2000**, N.-Y., Dekker.
5. Calloway, N. O. *Chem. Rev.* **1935**, *17*, 327.
6. Wang, S.-S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328.
7. Brouillette, Y.; Rombouts, F. J. R.; Lubell, W. D. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 117.
8. Zoller, T.; Ducep, J.-B.; Nibert, M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9985.
9. Blanco, M. J.; Sardina, F. J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8493.
10. Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595.

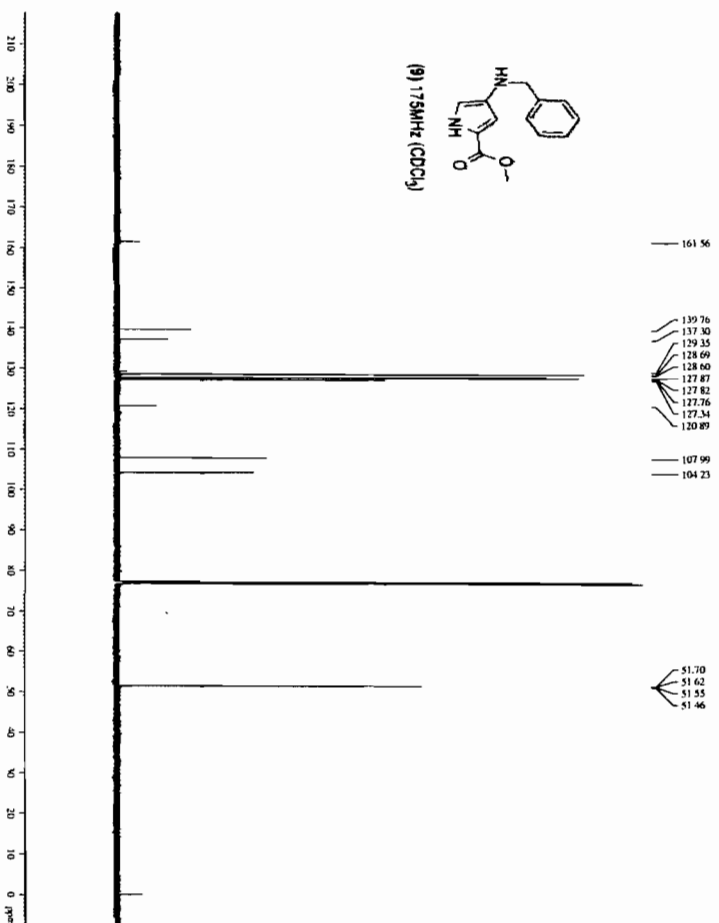
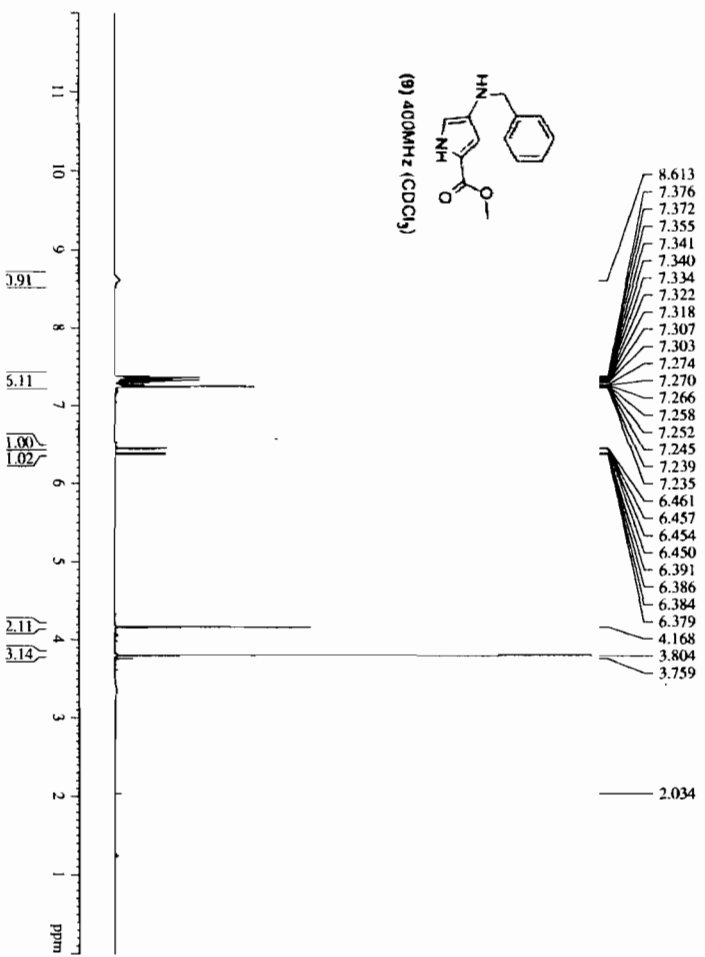
Annexes 1
(Spectres RMN du chapitre 2)

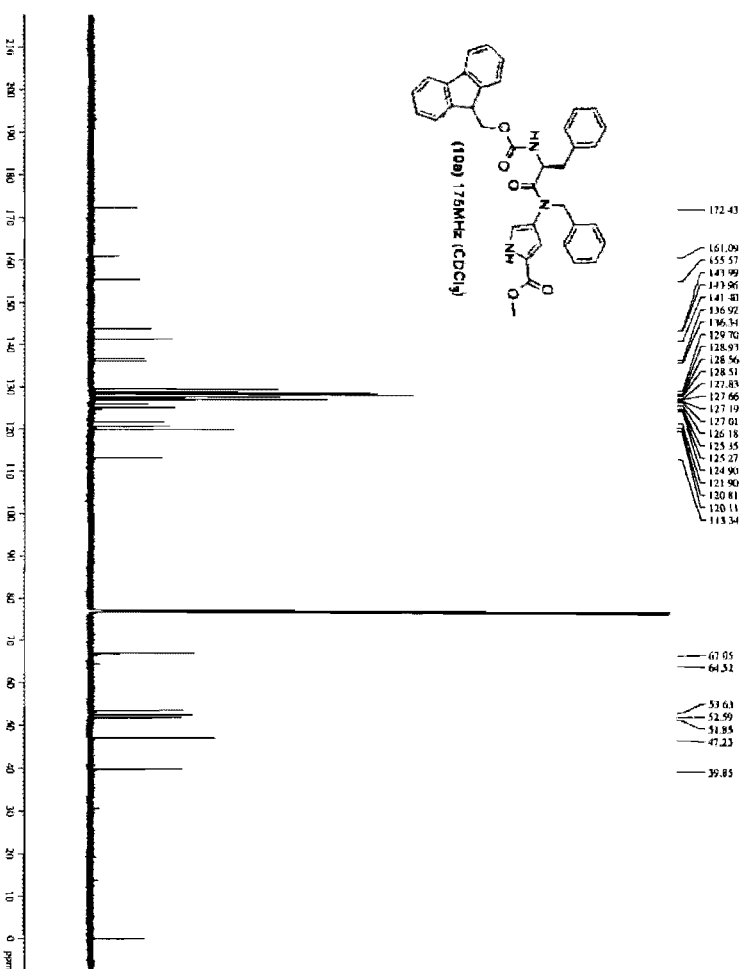
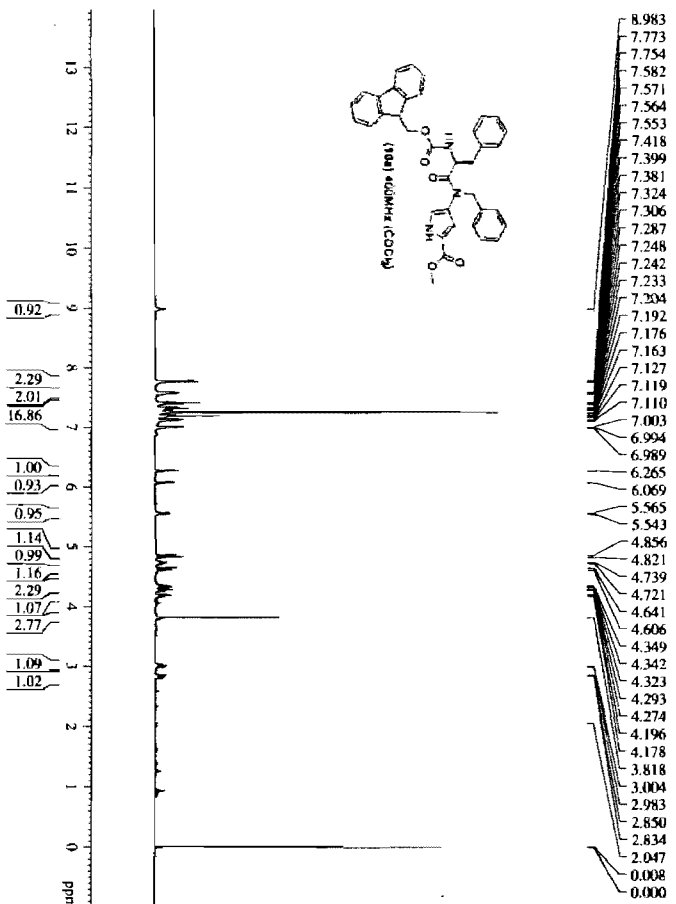
Annexes 1 (Spectres RMN du chapitre 2)**Table des matières :**

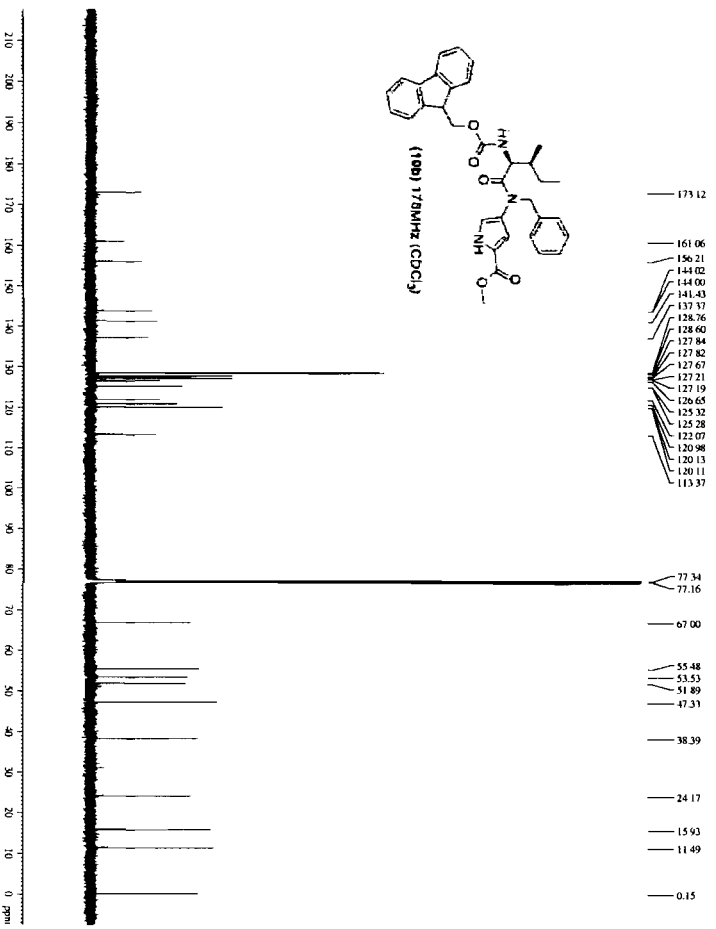
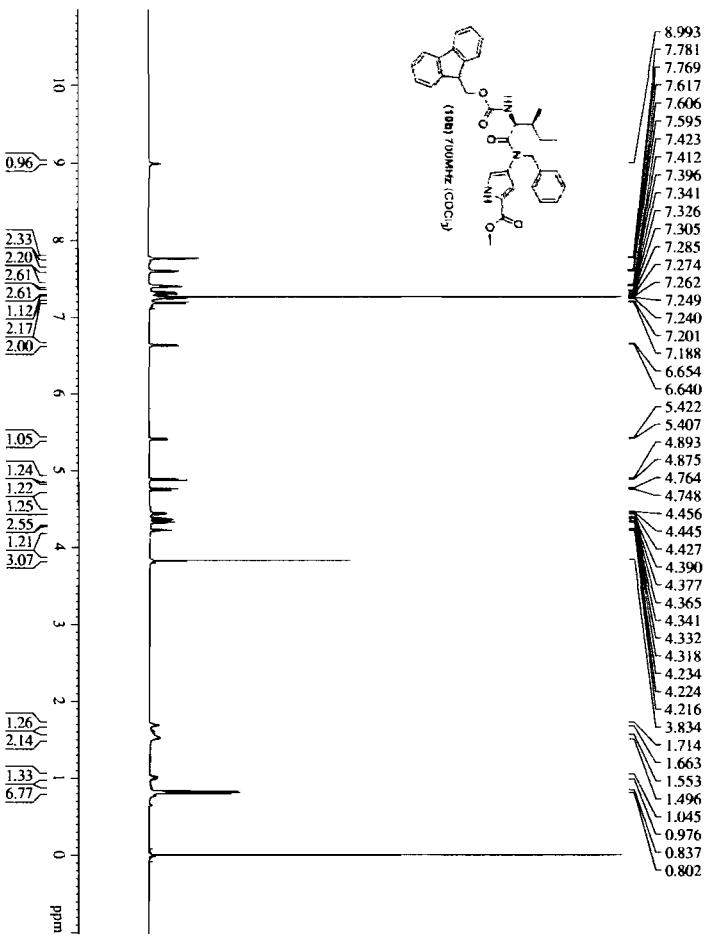
Spectre RMN ^1H de 9	V
Spectre RMN ^{13}C de 9	V
Spectre RMN ^1H de 10a	VI
Spectre RMN ^{13}C de 10a	VI
Spectre RMN ^1H de 10b	VII
Spectre RMN ^{13}C de 10b	VII
Spectre RMN ^1H de 10c	VIII
Spectre RMN ^{13}C de 10c	VIII
Spectre RMN ^1H de 12a	IX
Spectre RMN ^{13}C de 12a	IX
Spectre RMN ^1H de 12b	X
Spectre RMN ^{13}C de 12b	X
Spectre RMN ^1H de 12c	XI
Spectre RMN ^{13}C de 12c	XI
Spectre RMN ^1H de 13a	XII
Spectre RMN ^{13}C de 13a	XII
Spectre RMN ^1H de 14a	XIII
Spectre RMN ^{13}C de 14a	XIII
Spectre RMN ^1H de 15a	XIV
Spectre RMN ^{13}C de 15a	XIV
Spectre RMN ^1H de 16c	XV

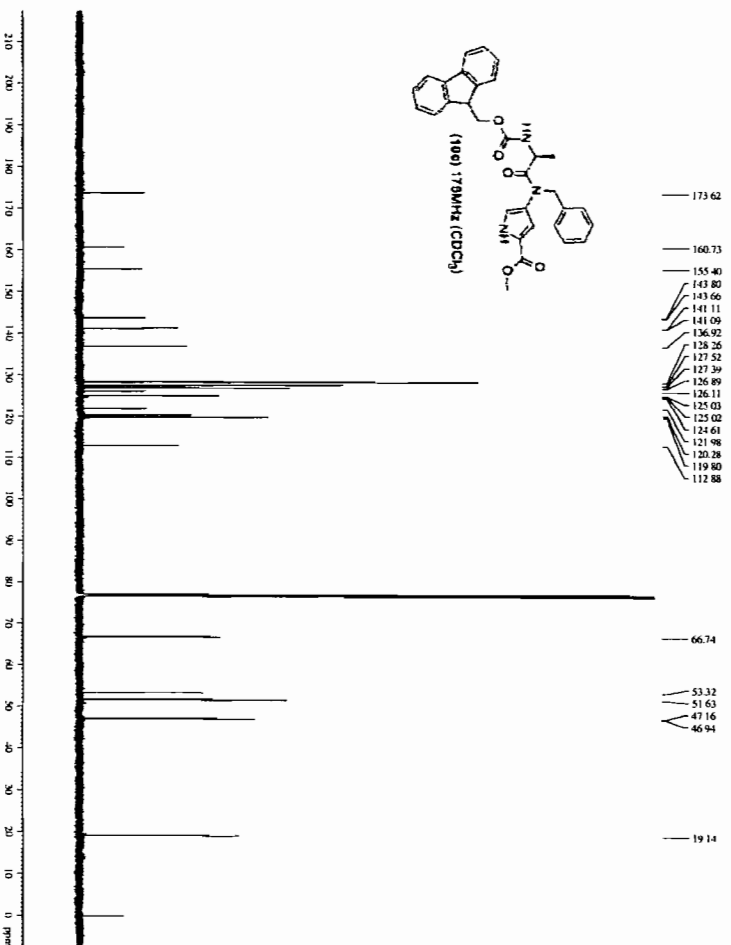
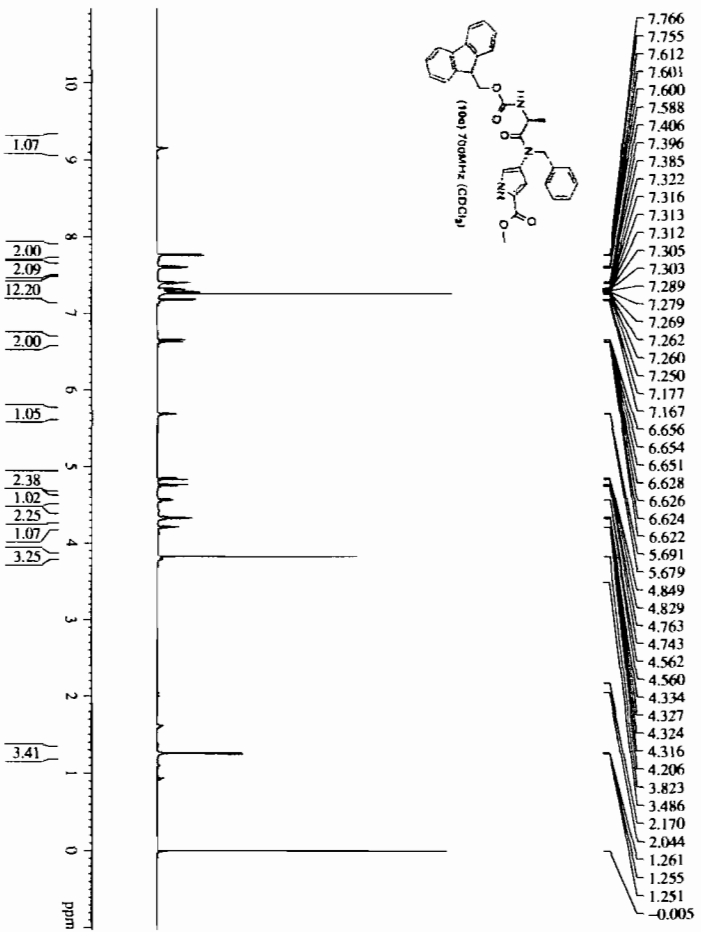
Spectre RMN ^{13}C de 1c	XV
Spectre RMN ^1H de 1a	XVI
Spectre RMN ^{13}C de 1a	XVI
Spectre RMN ^1H de 1b	XVII
Spectre RMN ^{13}C de 1b	XVII
Spectre RMN ^1H de 1c	XVIII
Spectre RMN ^{13}C de 1c	XVIII
Spectre RMN ^1H de 1d	XIX
Spectre RMN ^{13}C de 1d	XIX
Spectre RMN ^1H de 1e	XX
Spectre RMN ^{13}C de 1e	XX
Spectre RMN ^1H de 1f	XXI
Spectre RMN ^{13}C de 1f	XXI
Spectre RMN ^1H de 1g	XXII
Spectre RMN ^{13}C de 1g	XXII
Spectre RMN ^1H de 1h	XXIII
Spectre RMN ^{13}C de 1h	XXIII
Spectre RMN ^1H de 1i	XXIV
Spectre RMN ^{13}C de 1i	XXIV
Spectre RMN ^1H de 1j	XXV
Spectre RMN ^{13}C de 1j	XXV
Spectre RMN ^1H de 1k	XXVI
Spectre RMN ^{13}C de 1k	XXVI

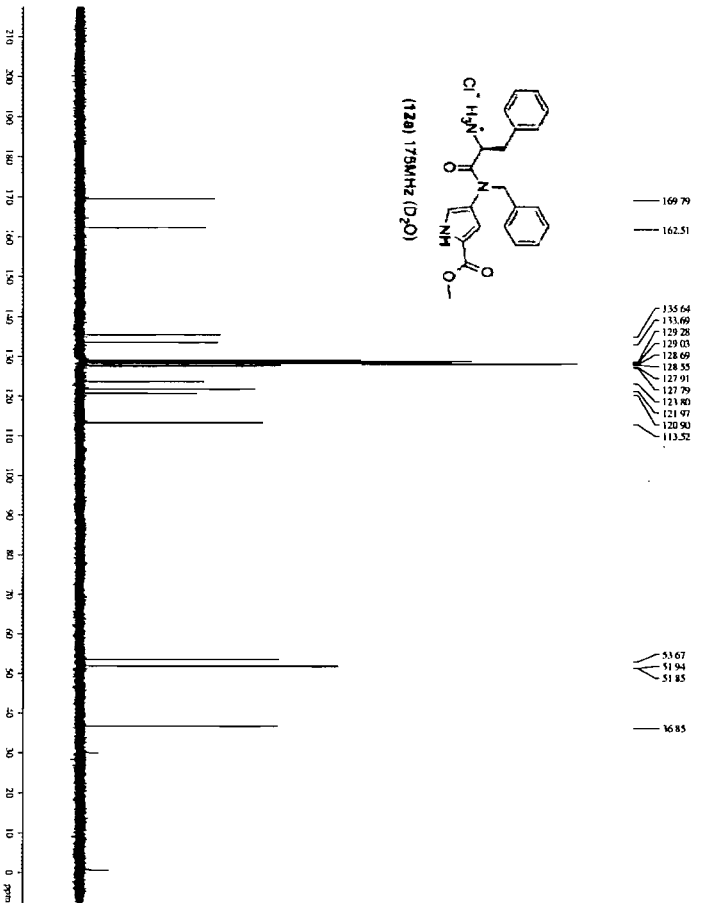
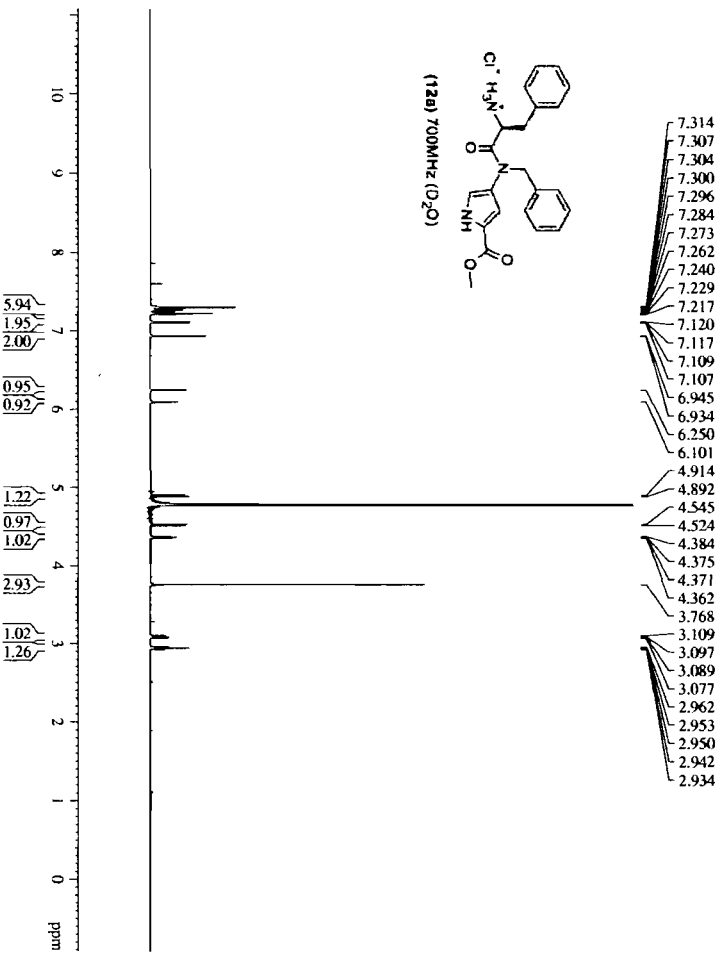
Spectre RMN ^1H de 1l	XXVII
Spectre RMN ^{13}C de 1l	XXVII
Spectre RMN ^1H de 1m	XXVIII
Spectre RMN ^{13}C de 1m	XXVIII
Spectre RMN ^1H de 1n	XXIX
Spectre RMN ^{13}C de 1n	XXIX
Spectre RMN ^1H de 1o	XXX
Spectre RMN ^{13}C de 1o	XXX
Spectre RMN ^1H de 1p	XXXI
Spectre RMN ^{13}C de 1p	XXXI
Spectre RMN ^1H de 17	XXXII
Spectre RMN ^{13}C de 17	XXXII

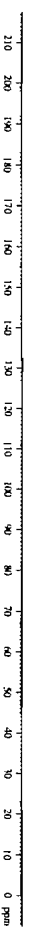
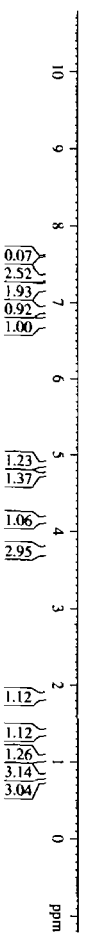
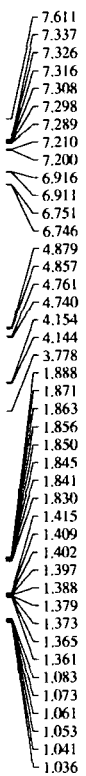


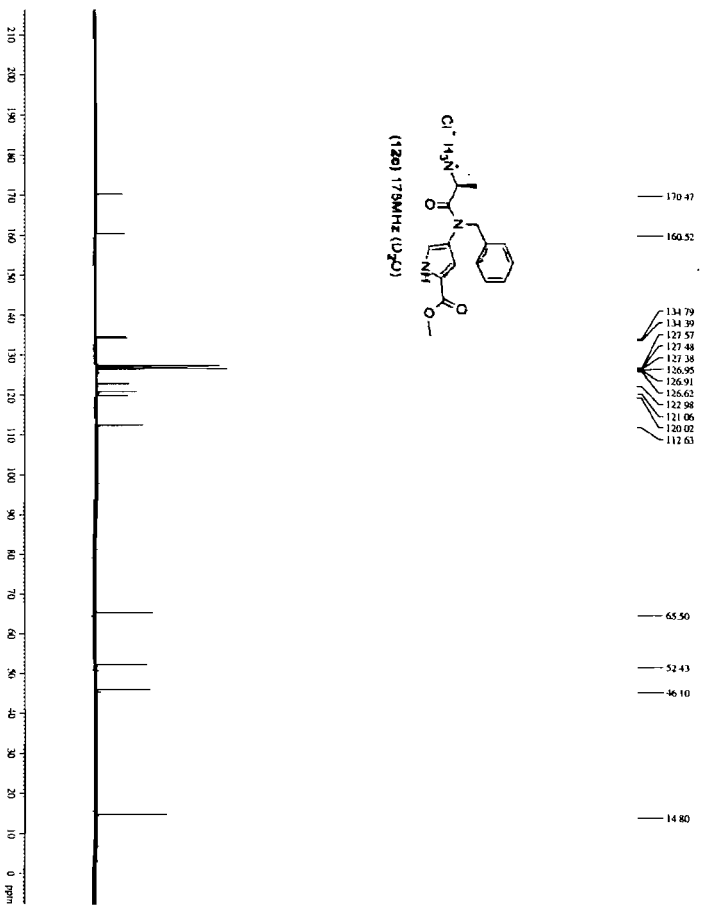
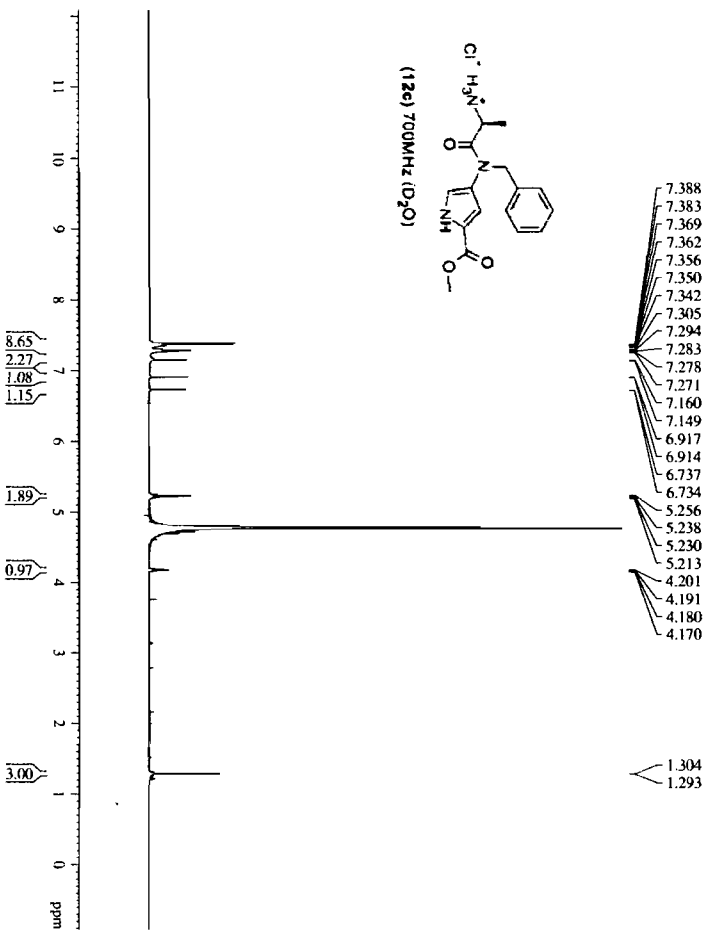


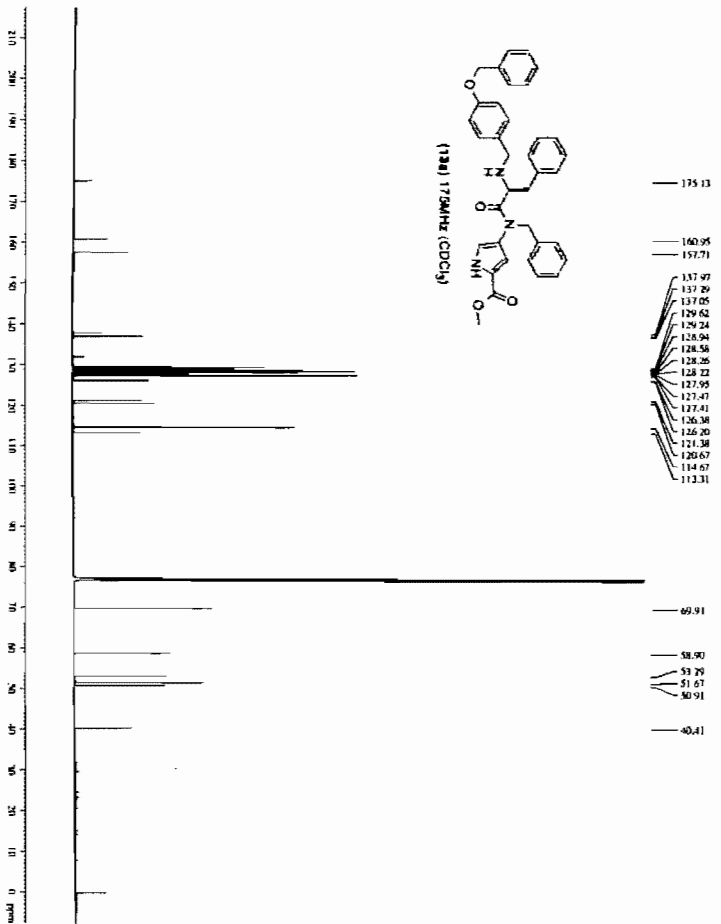
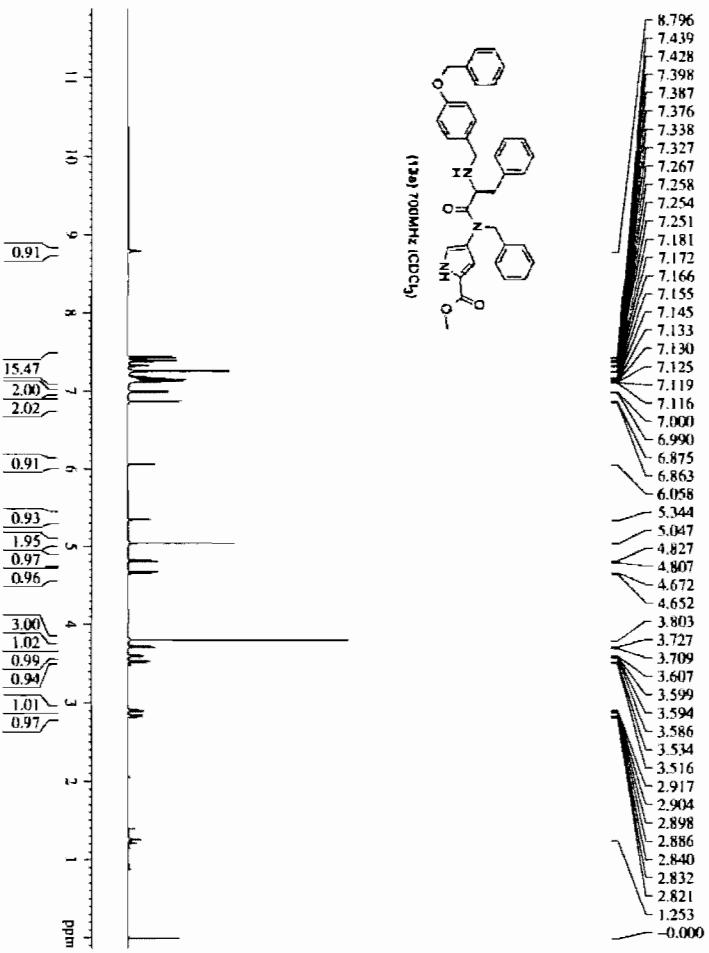


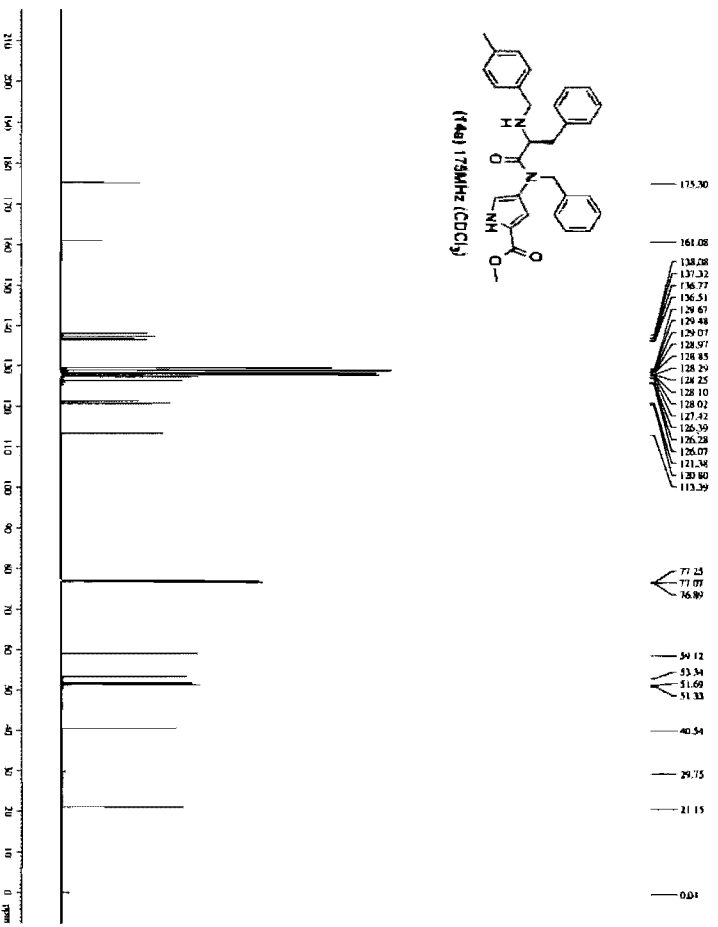
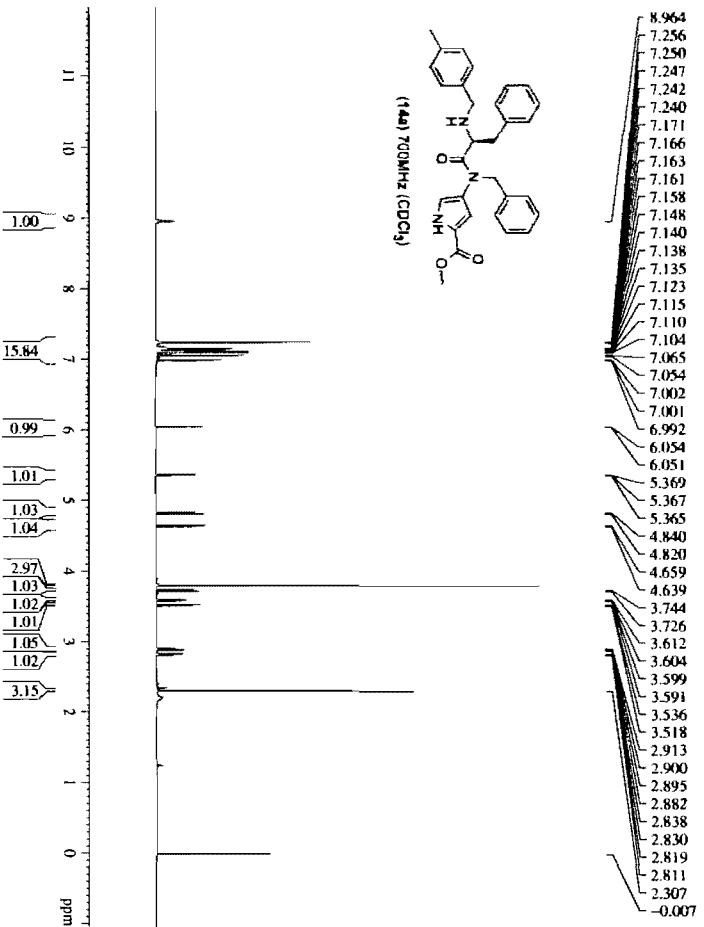


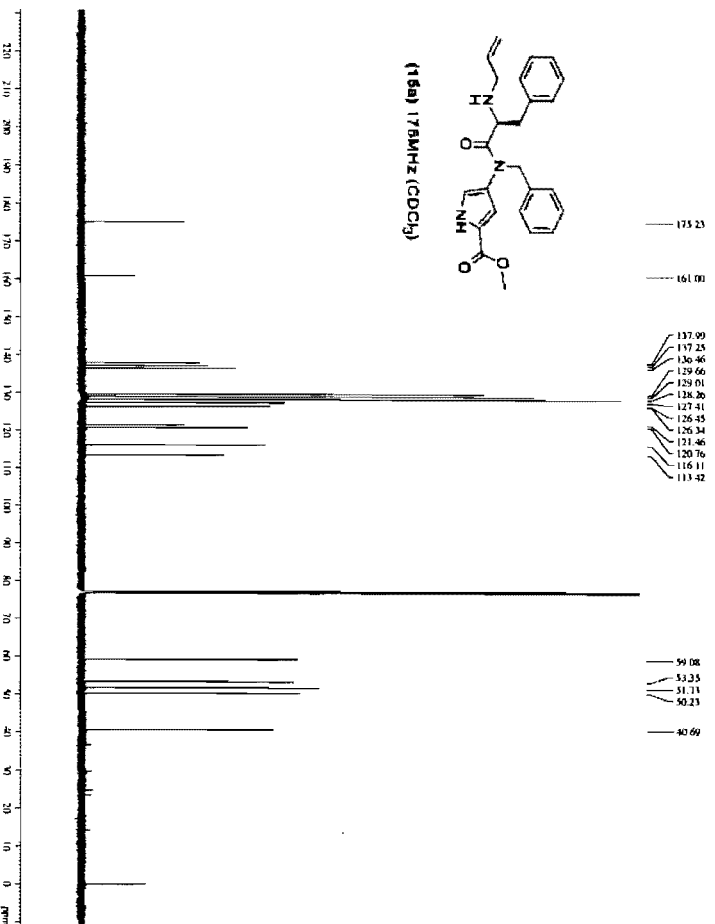
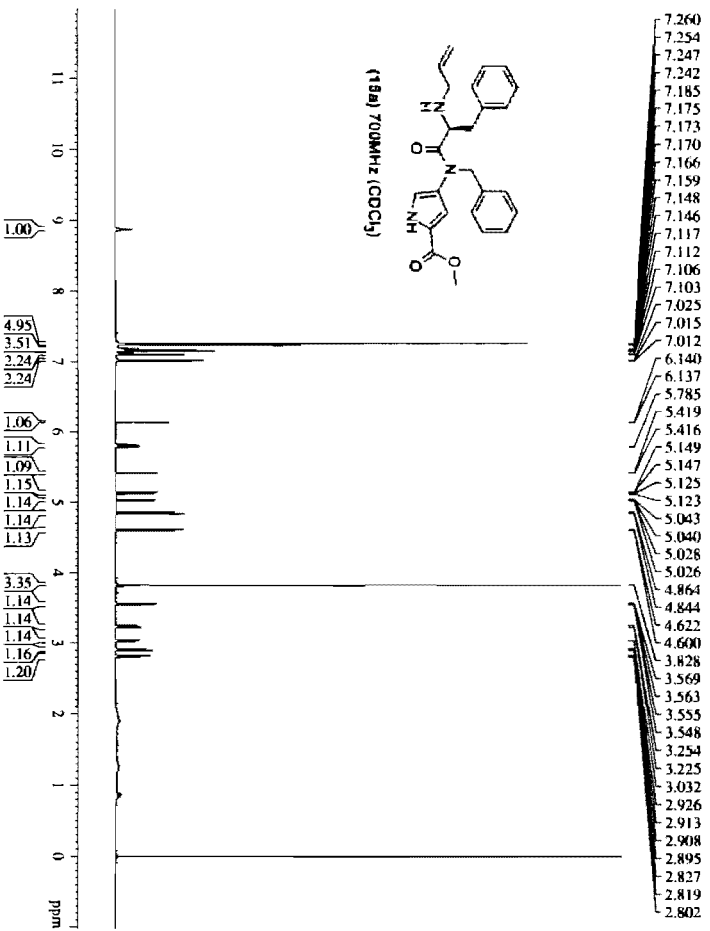


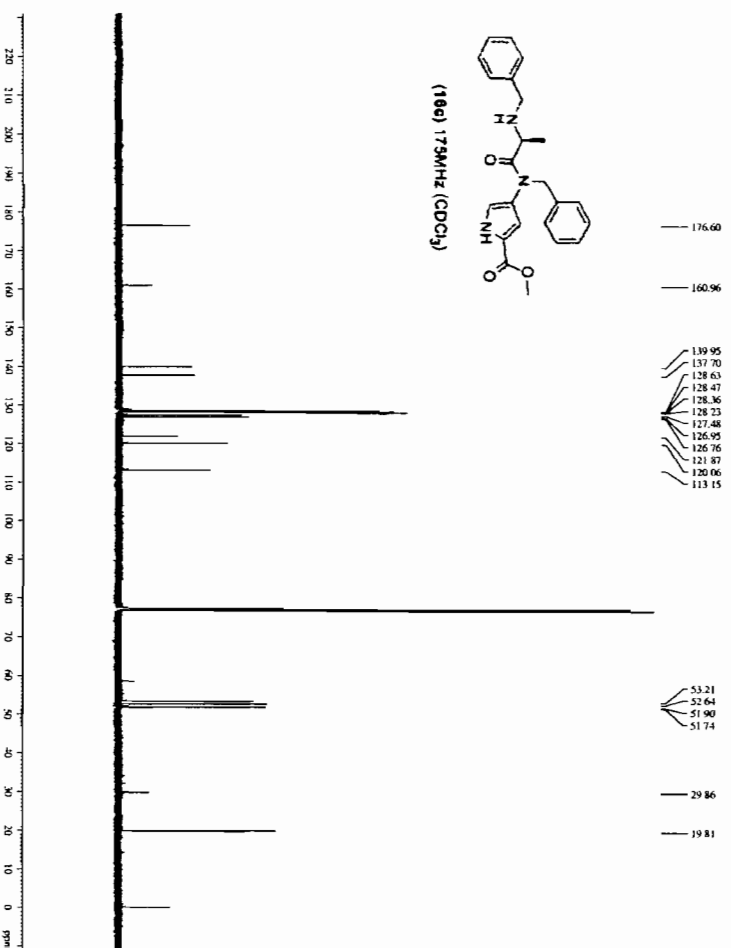
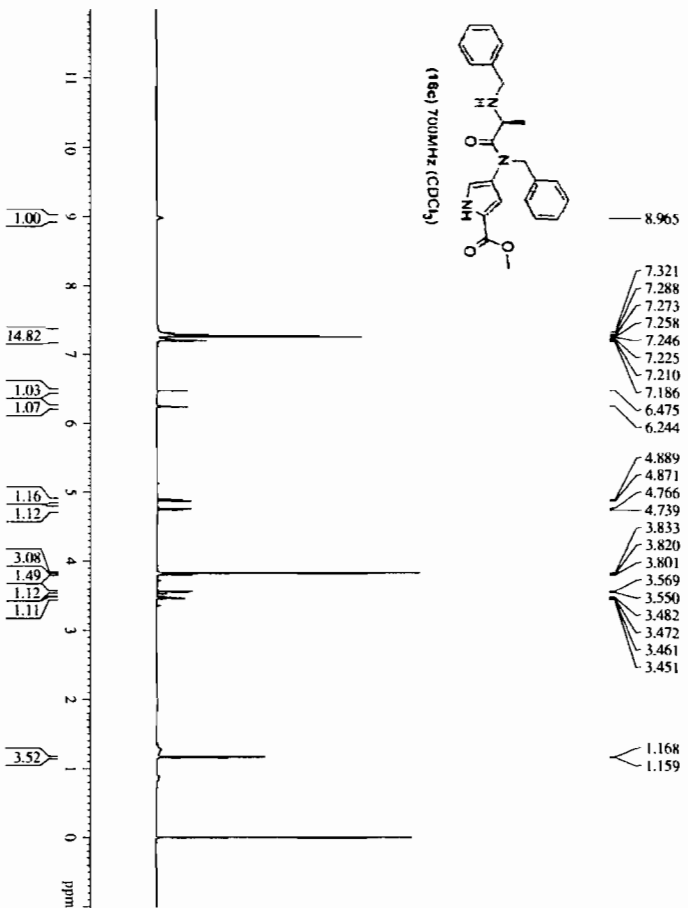


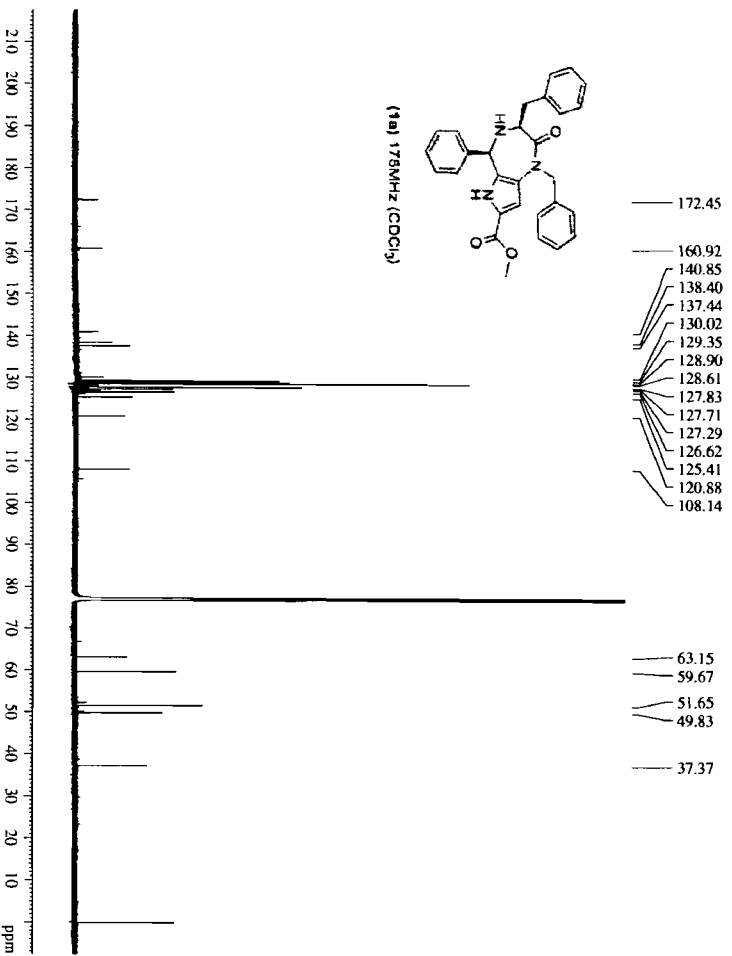
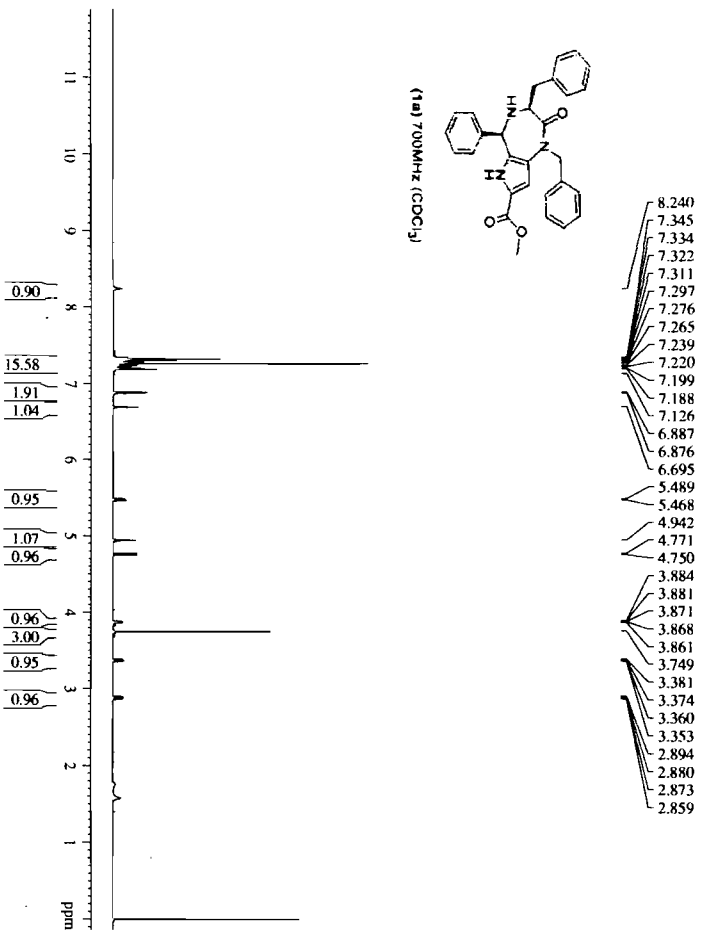


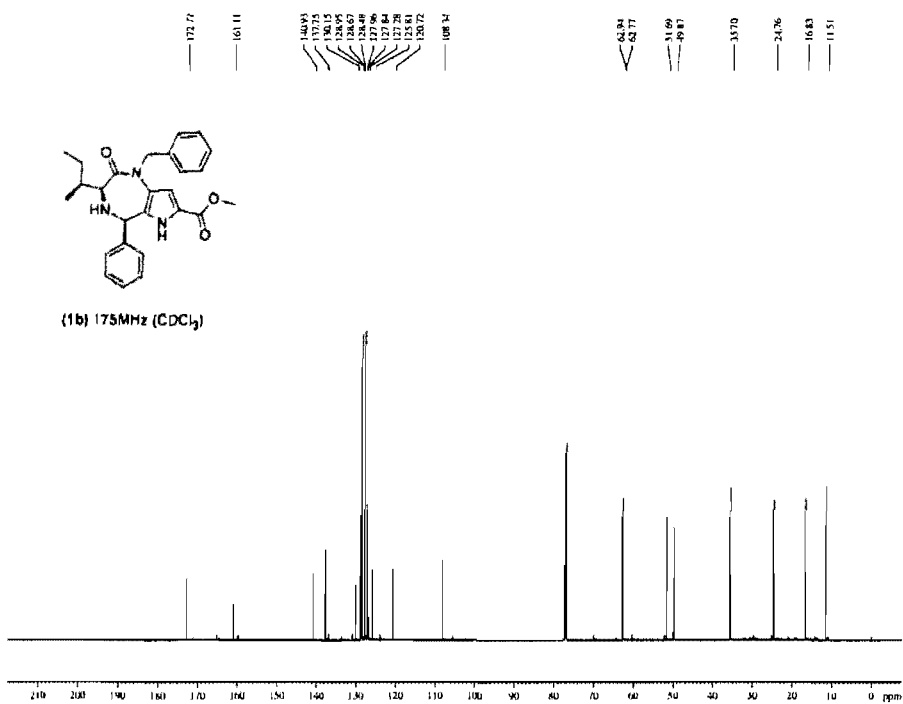
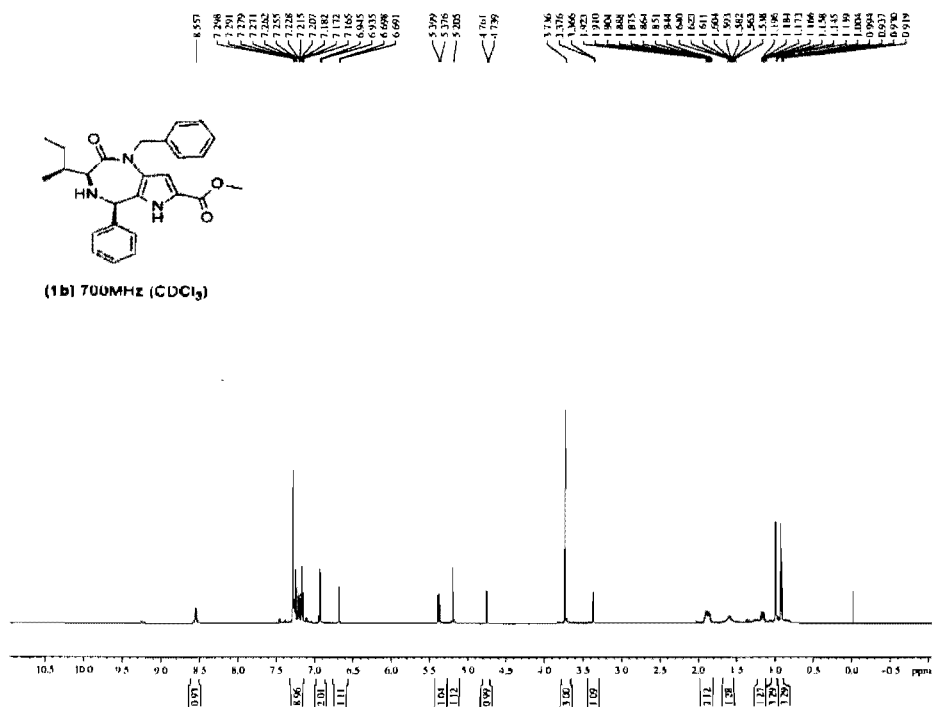


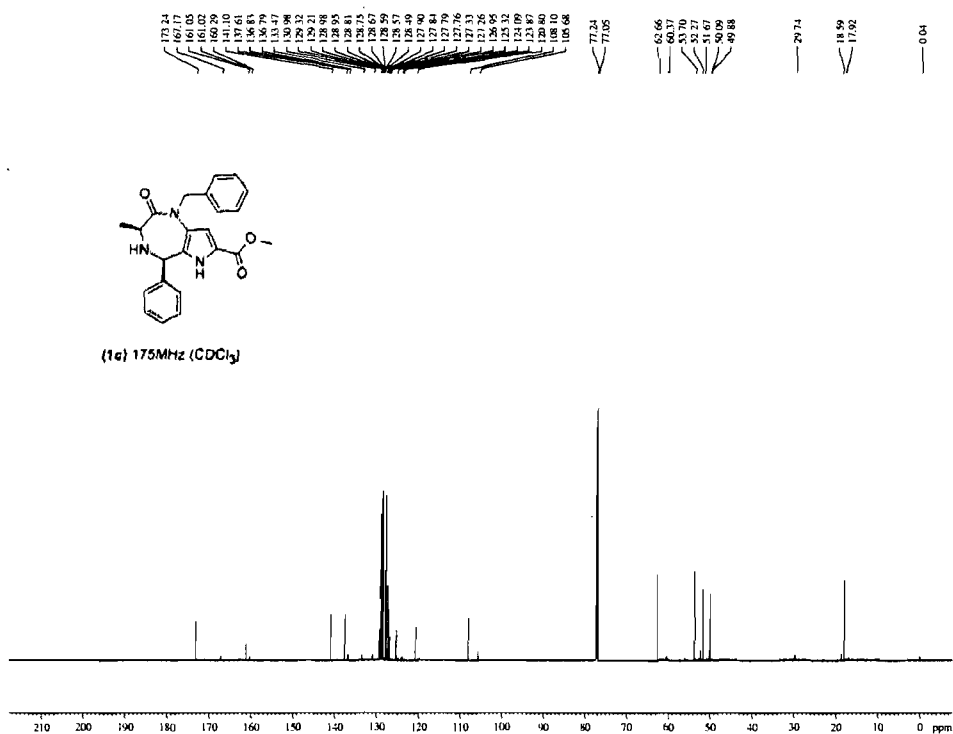
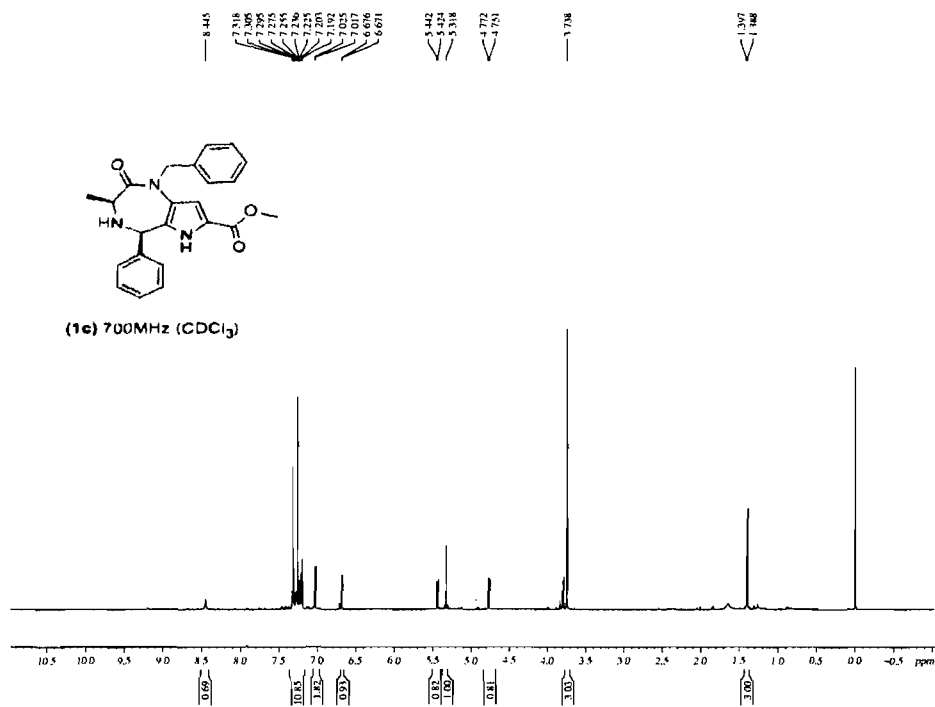


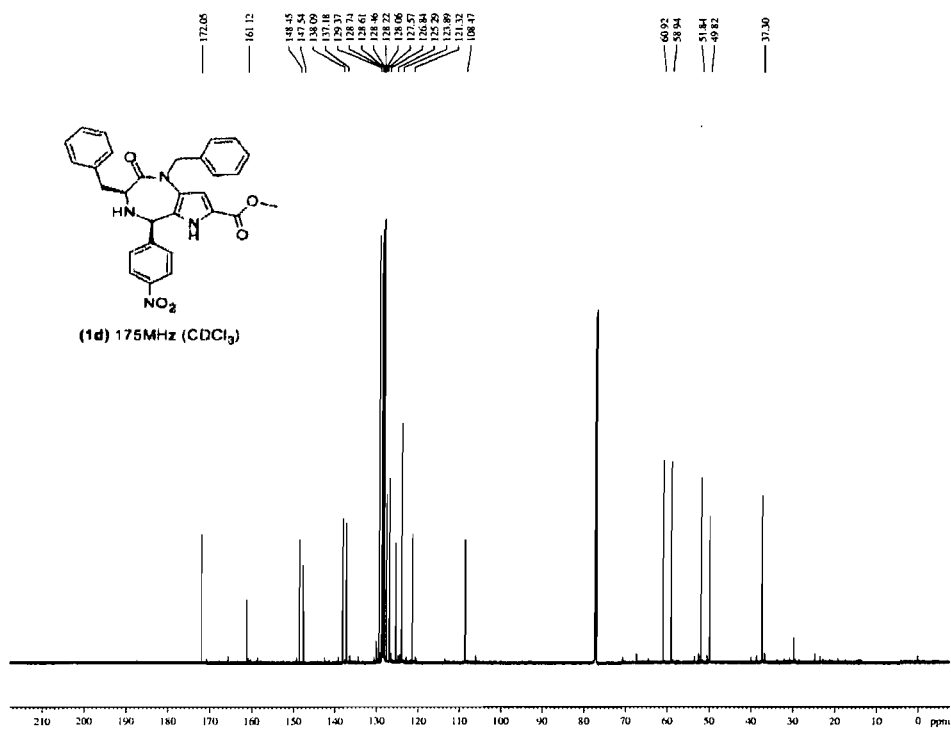
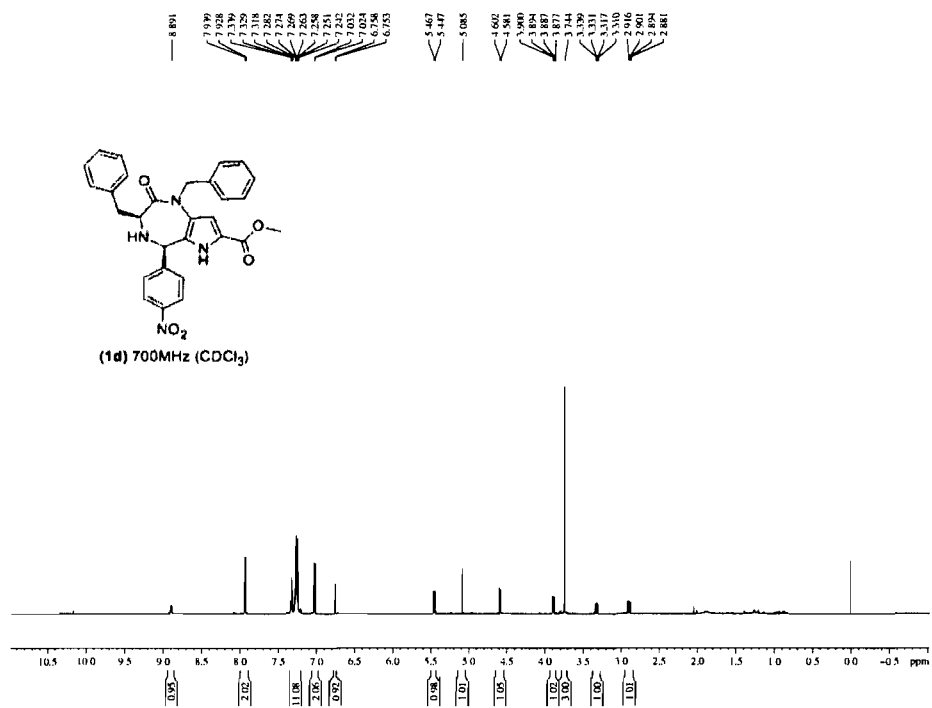


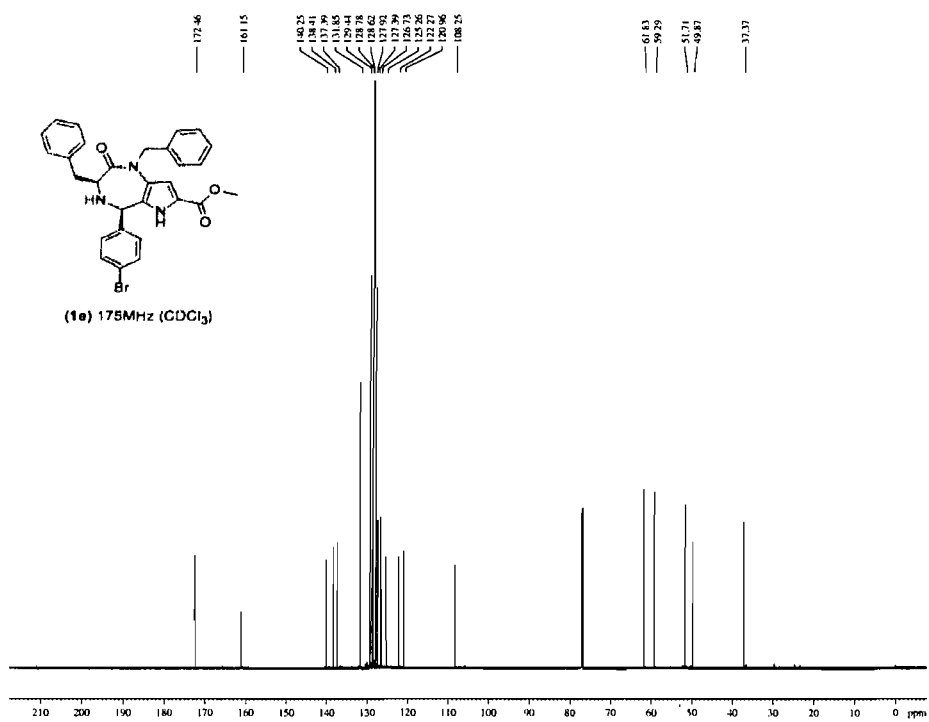
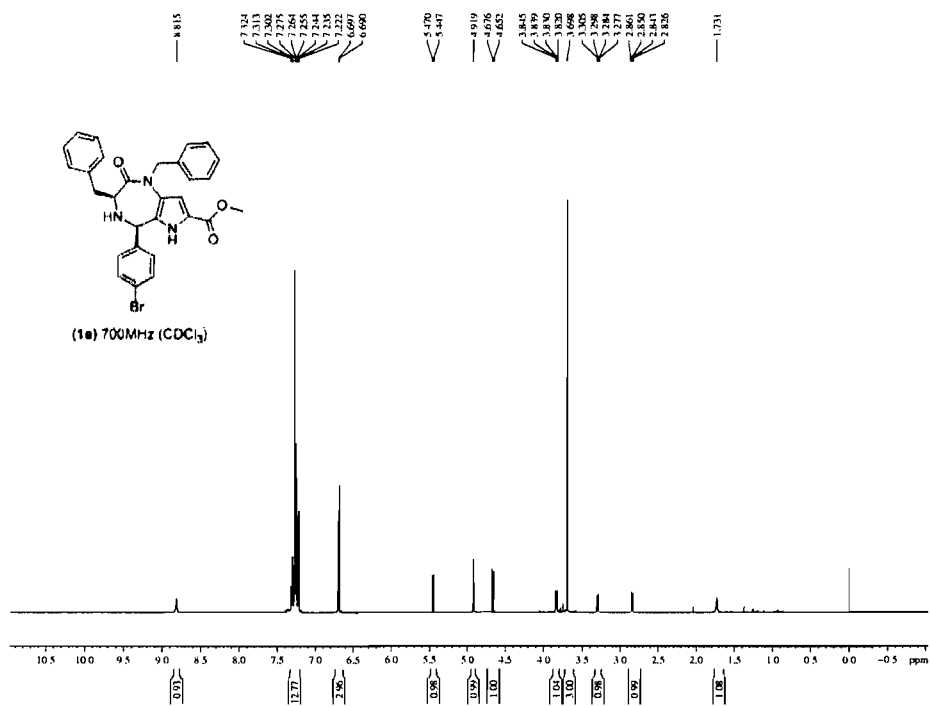


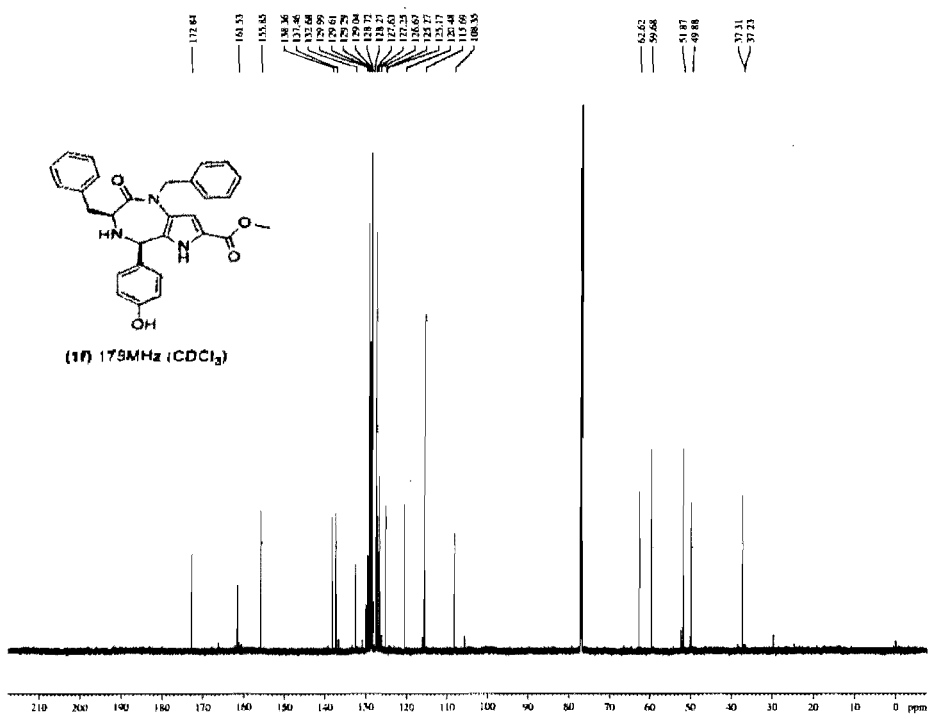
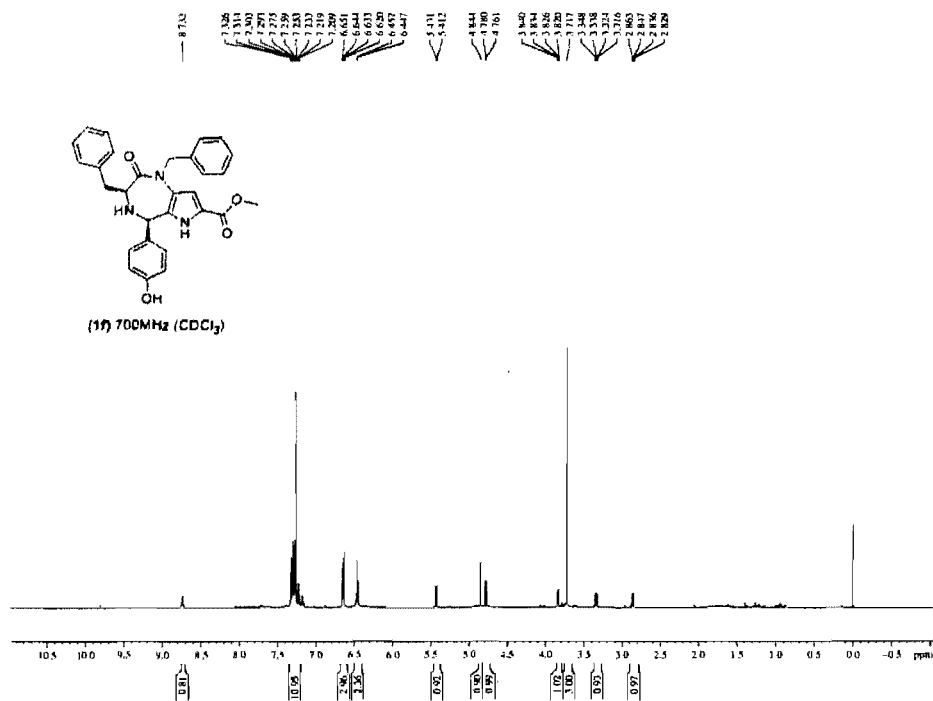


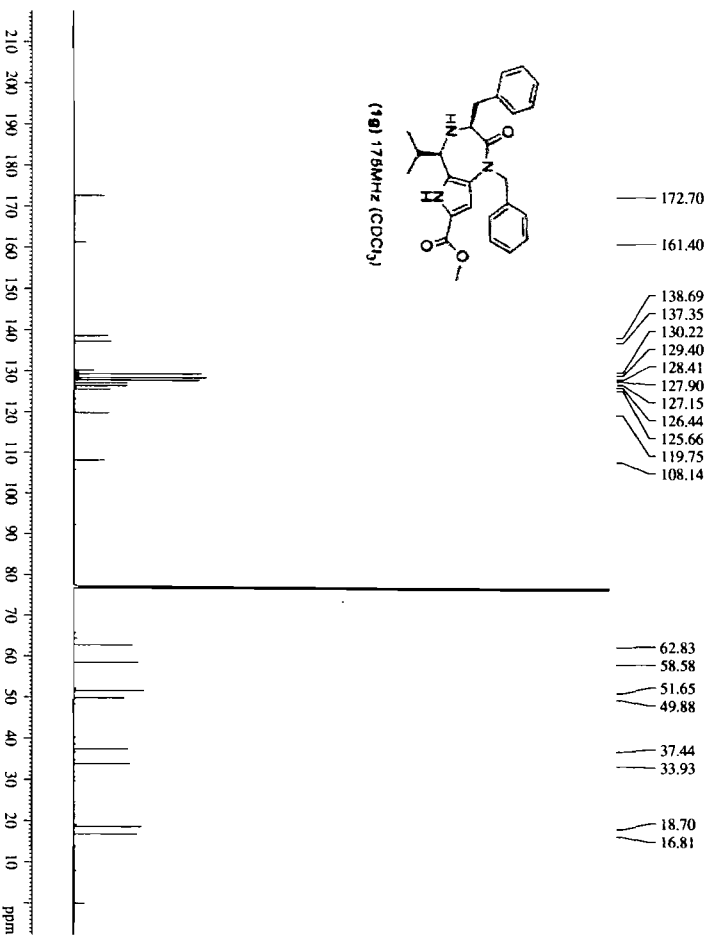
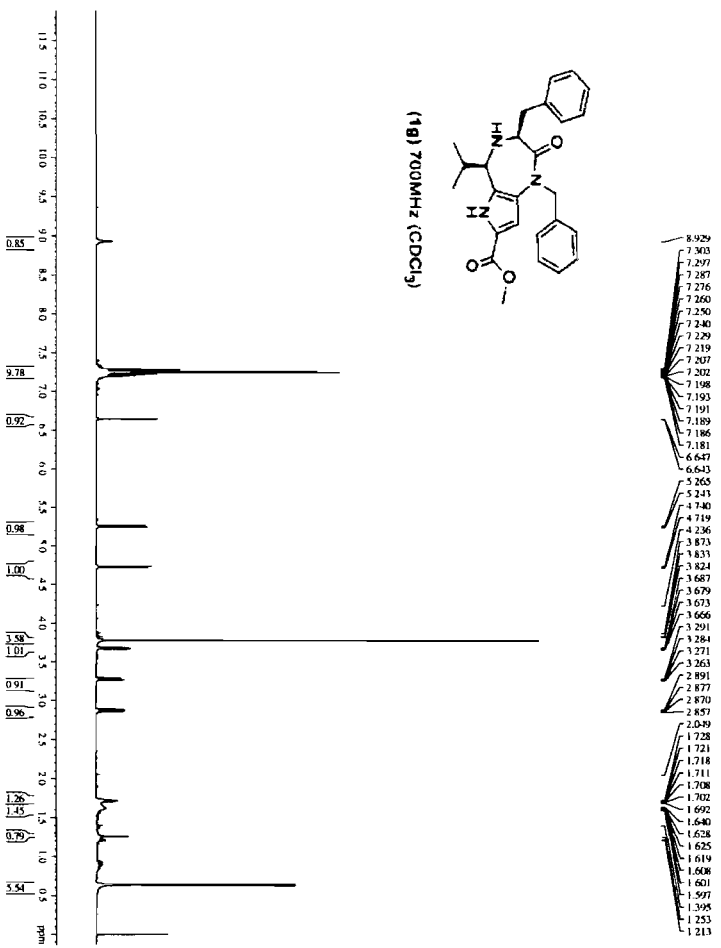


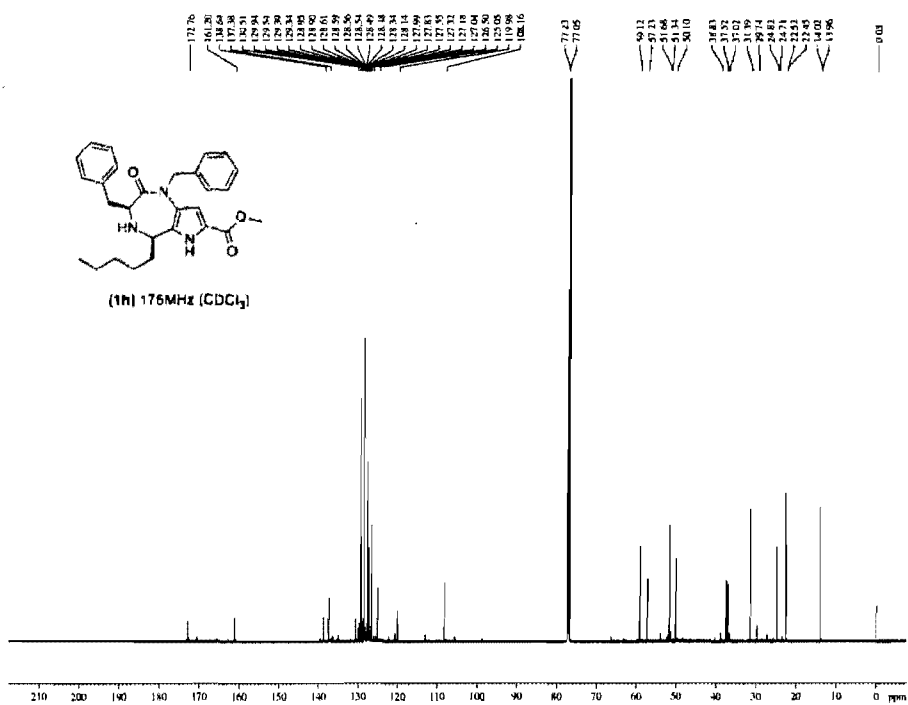
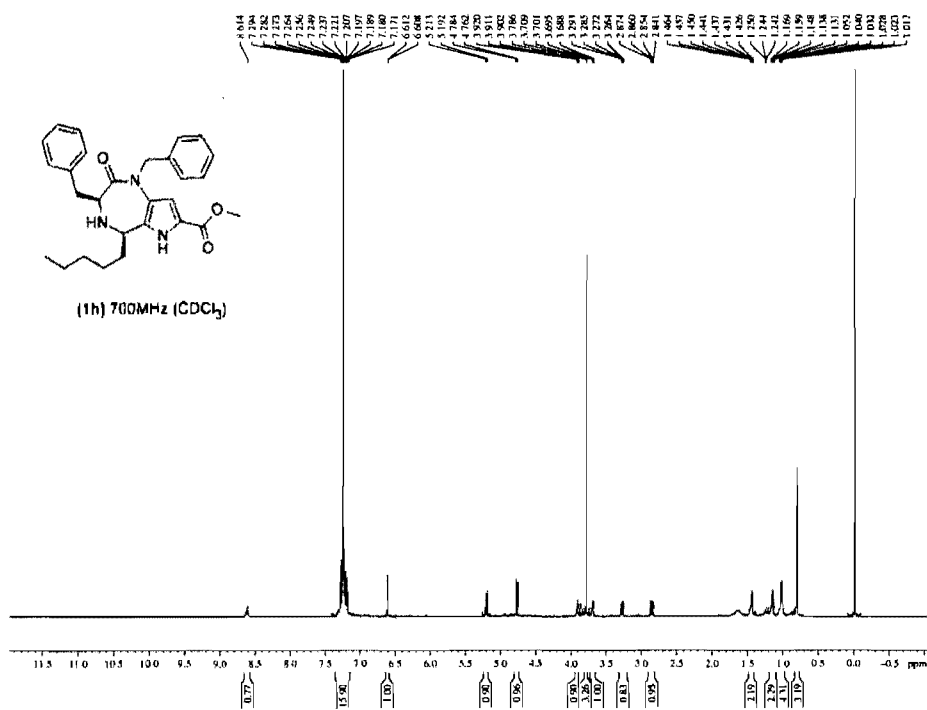


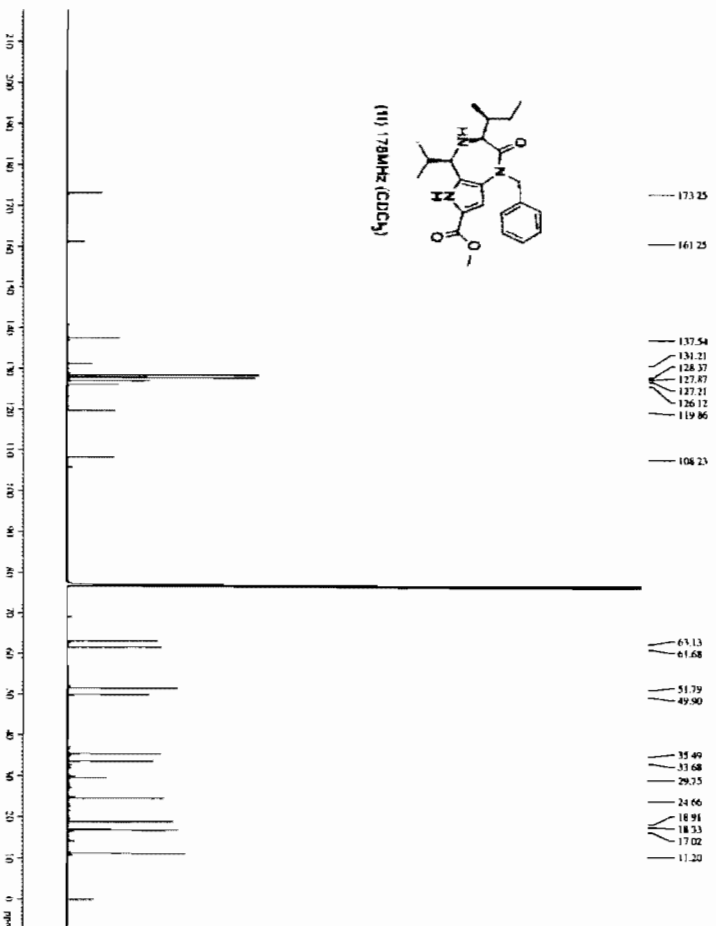
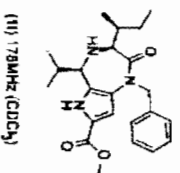
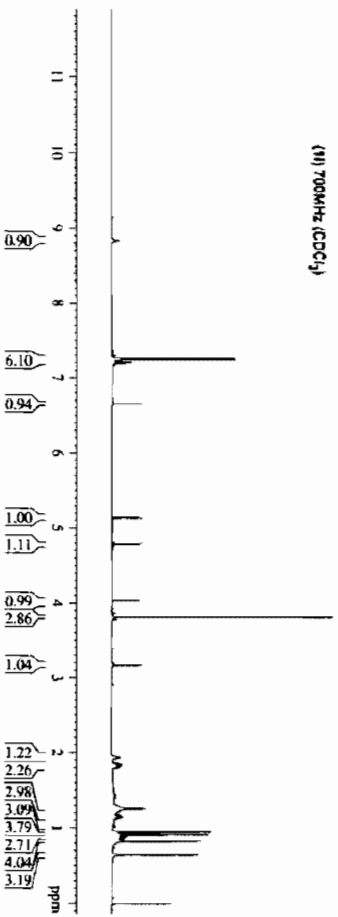
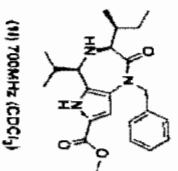
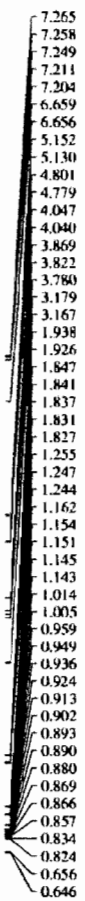


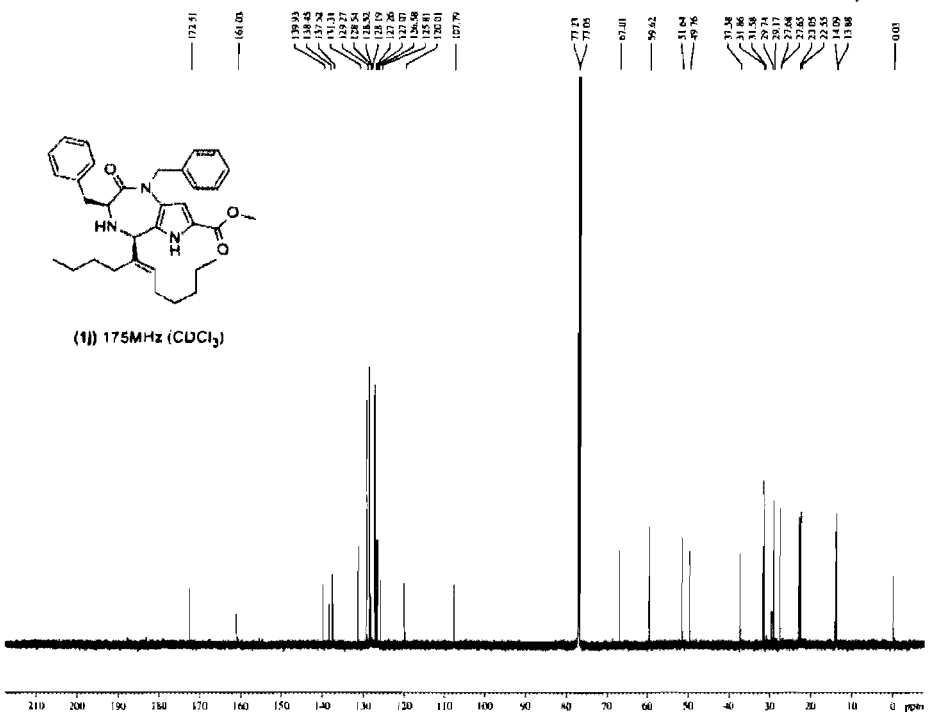
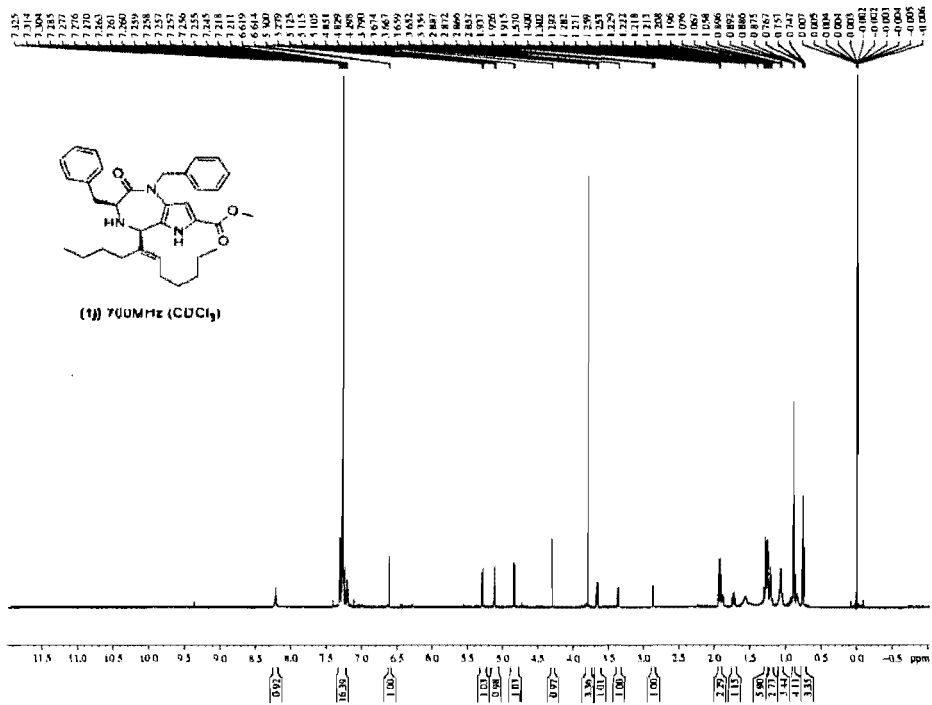


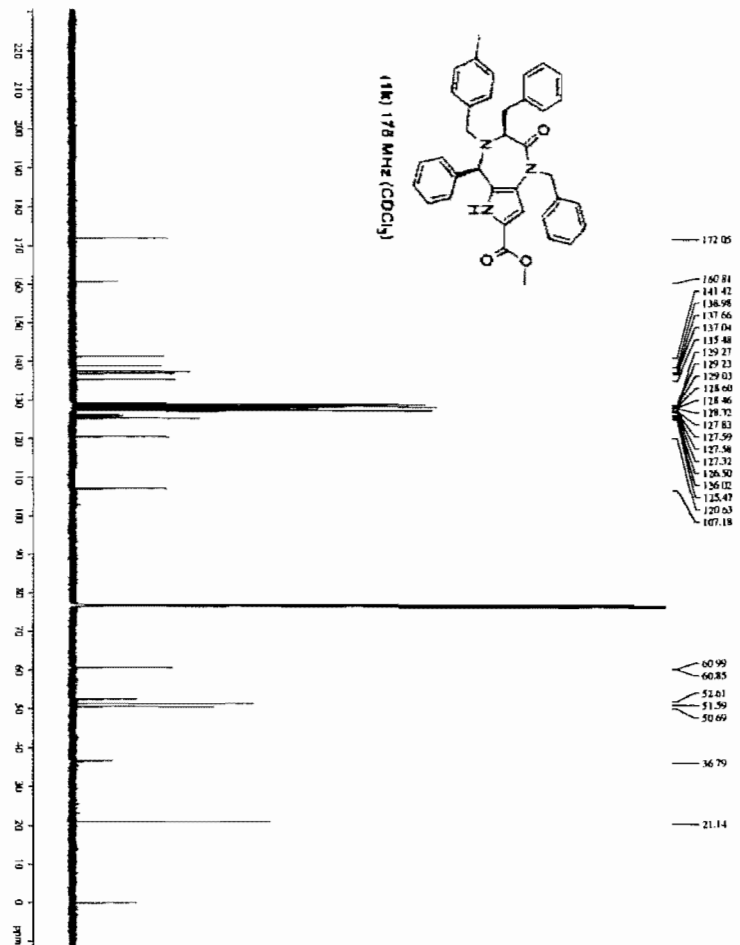
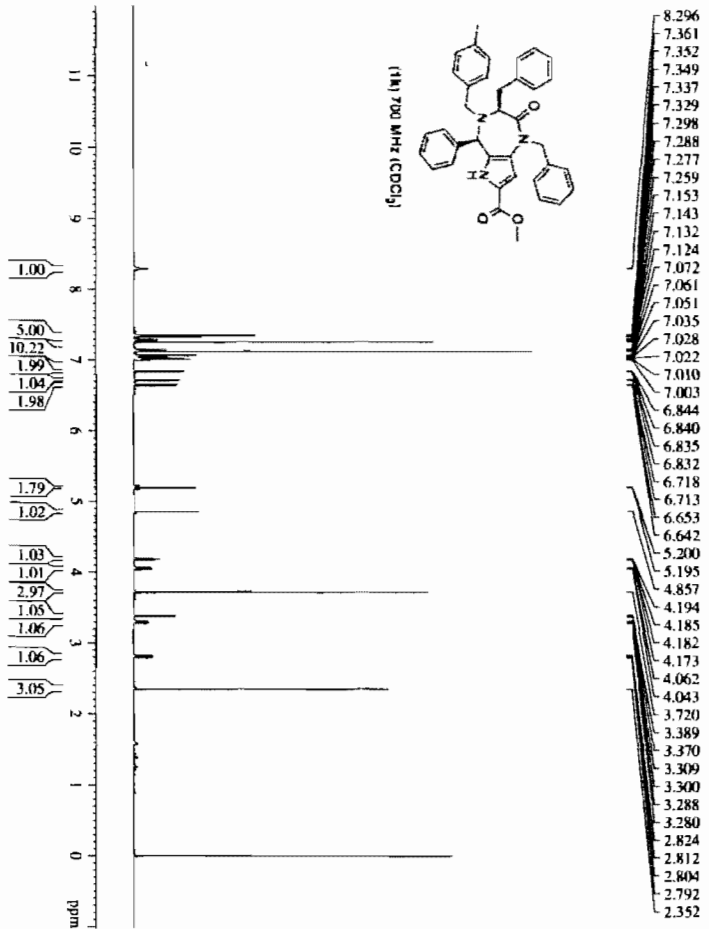


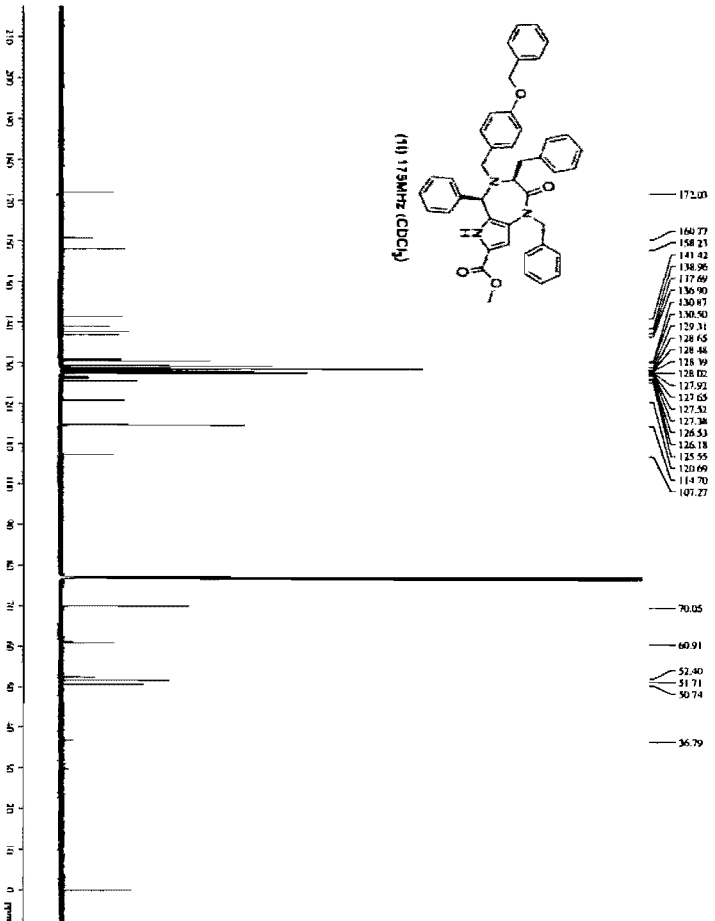
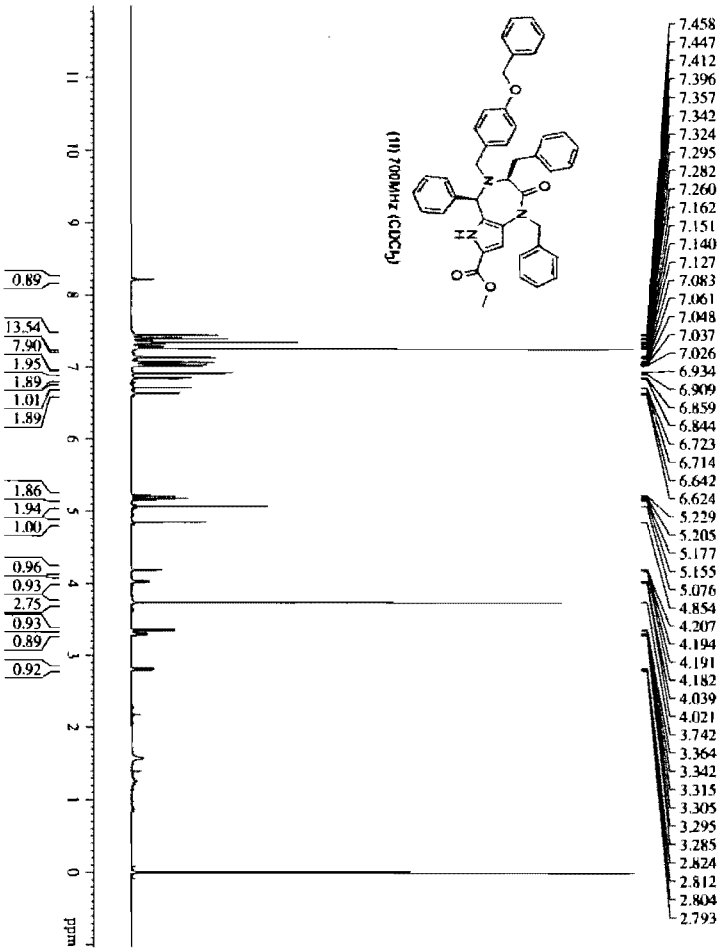


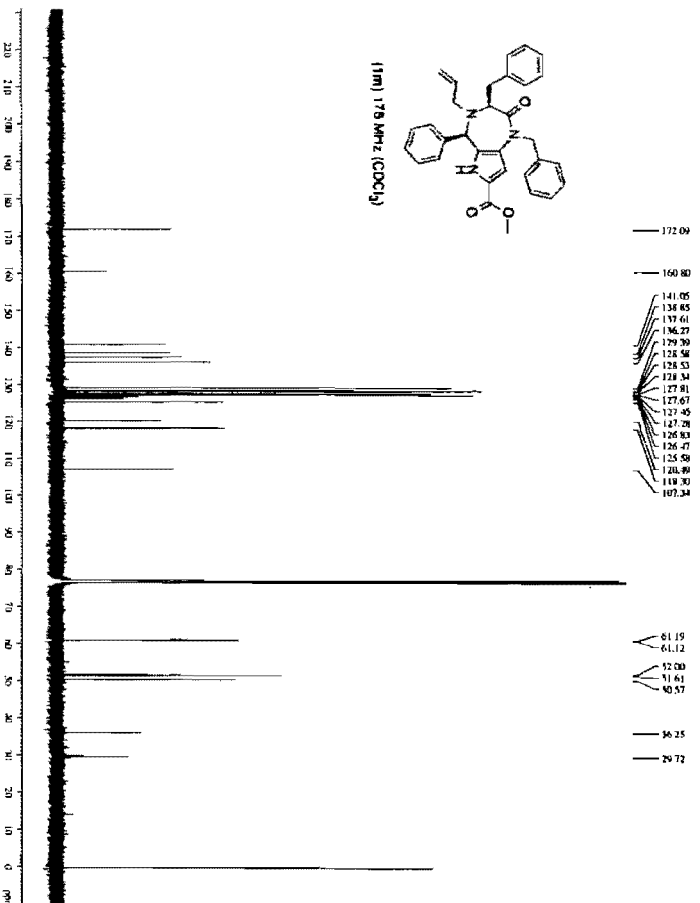
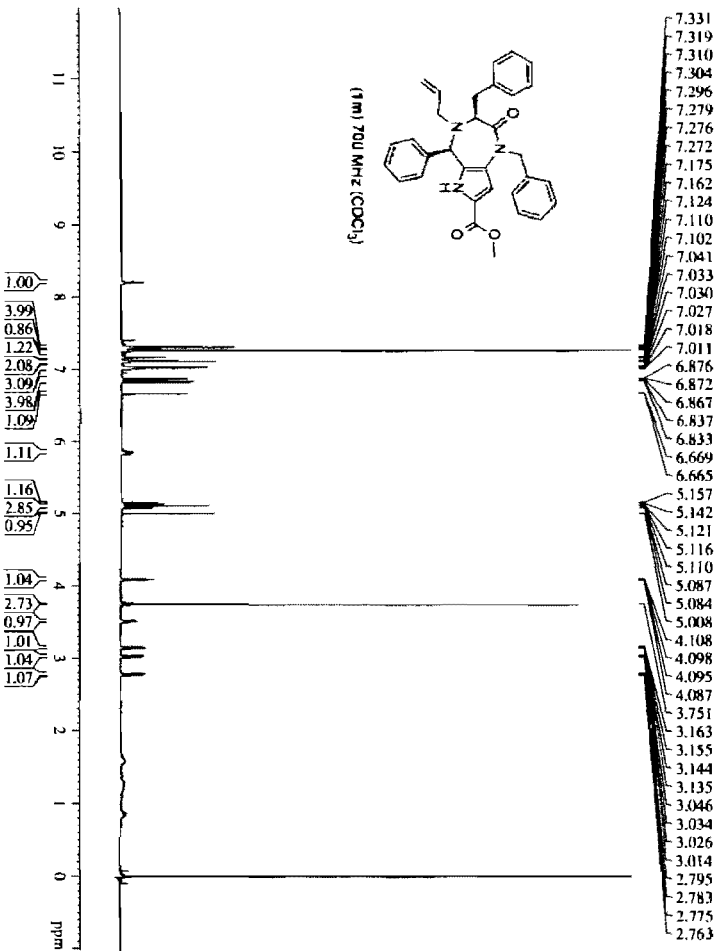


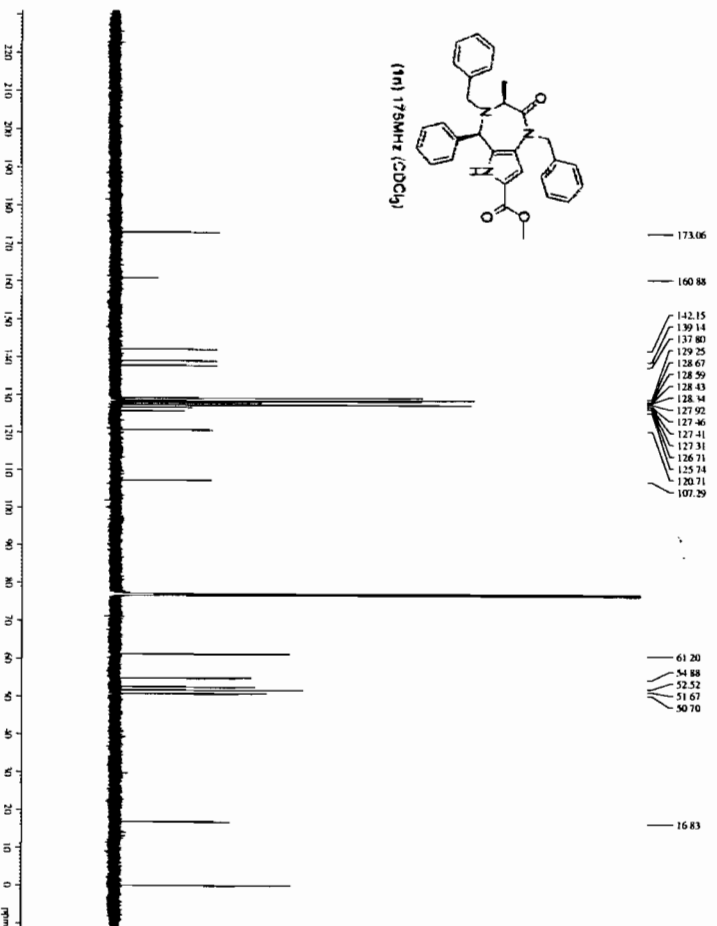
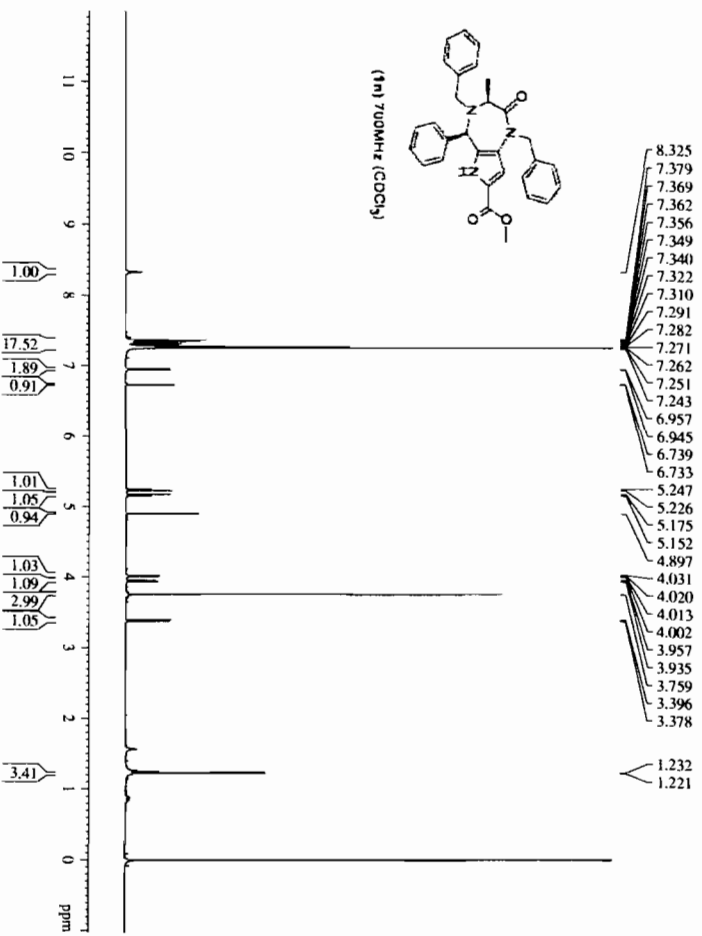






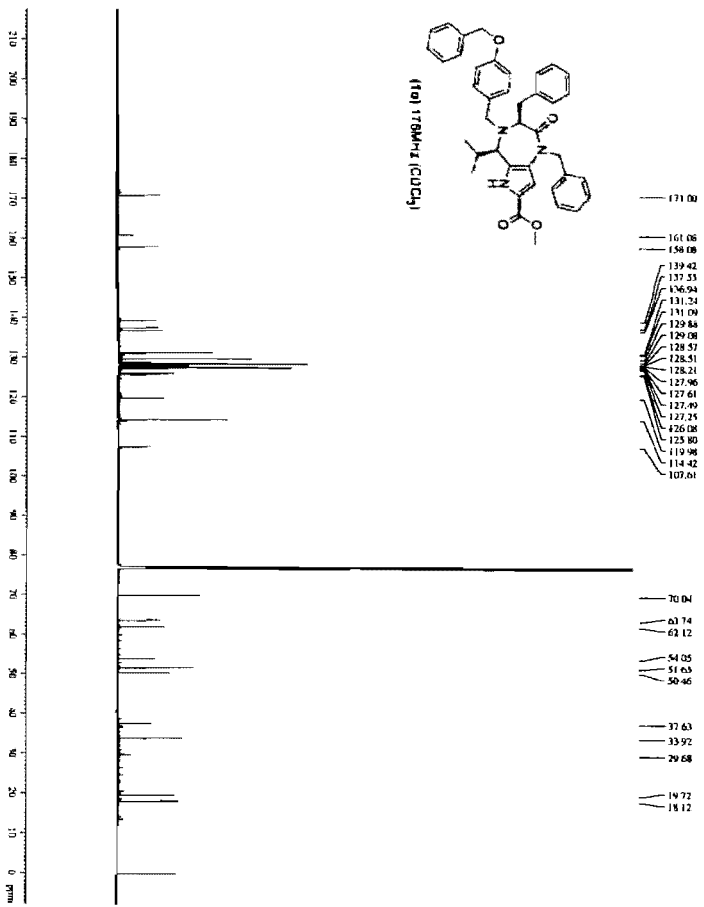
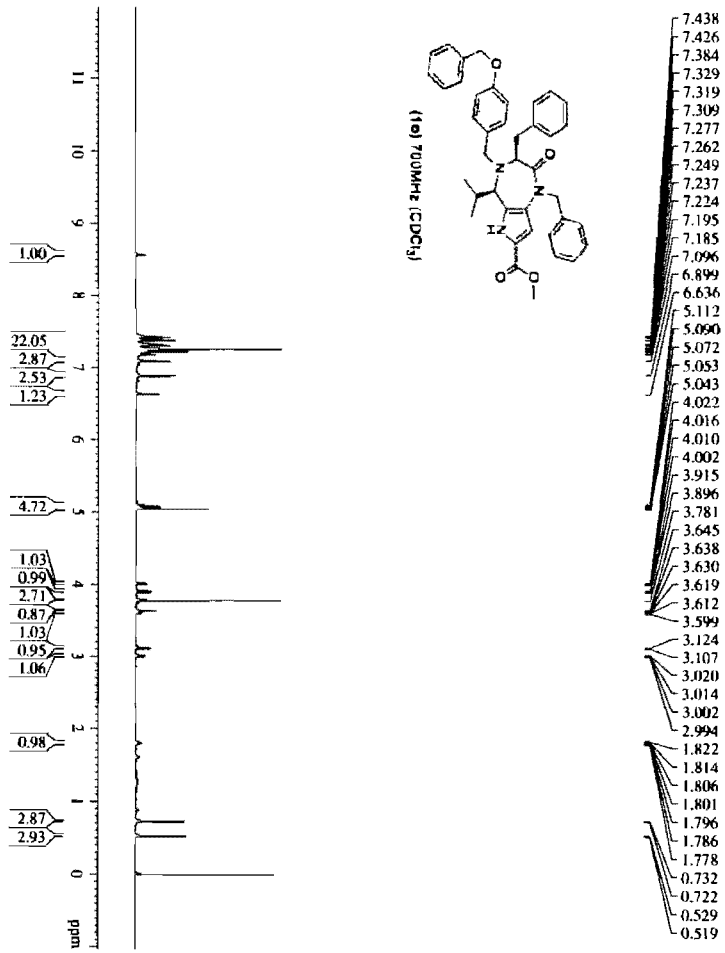


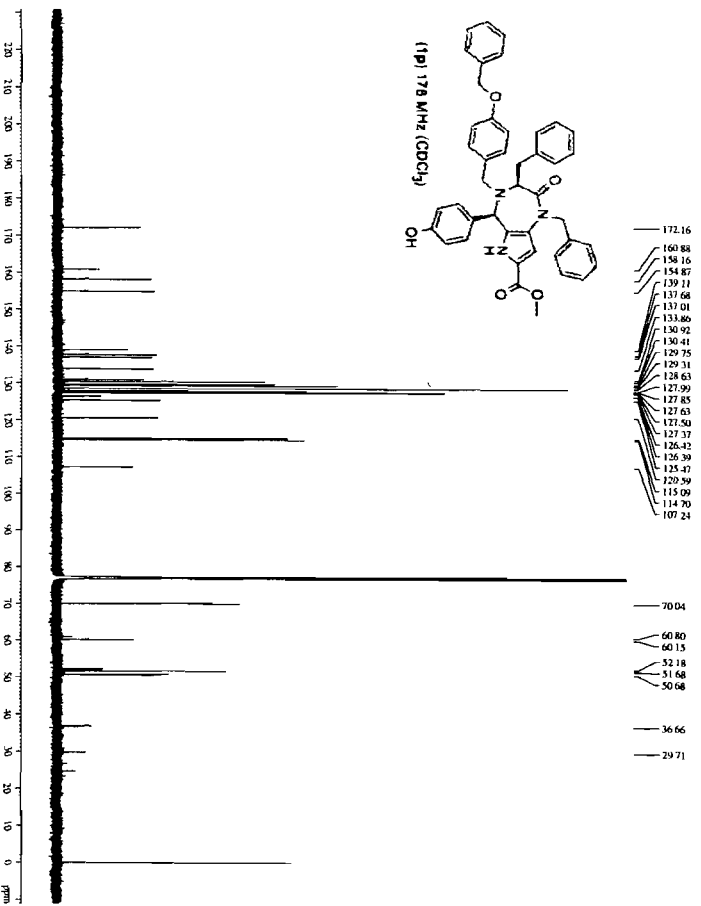
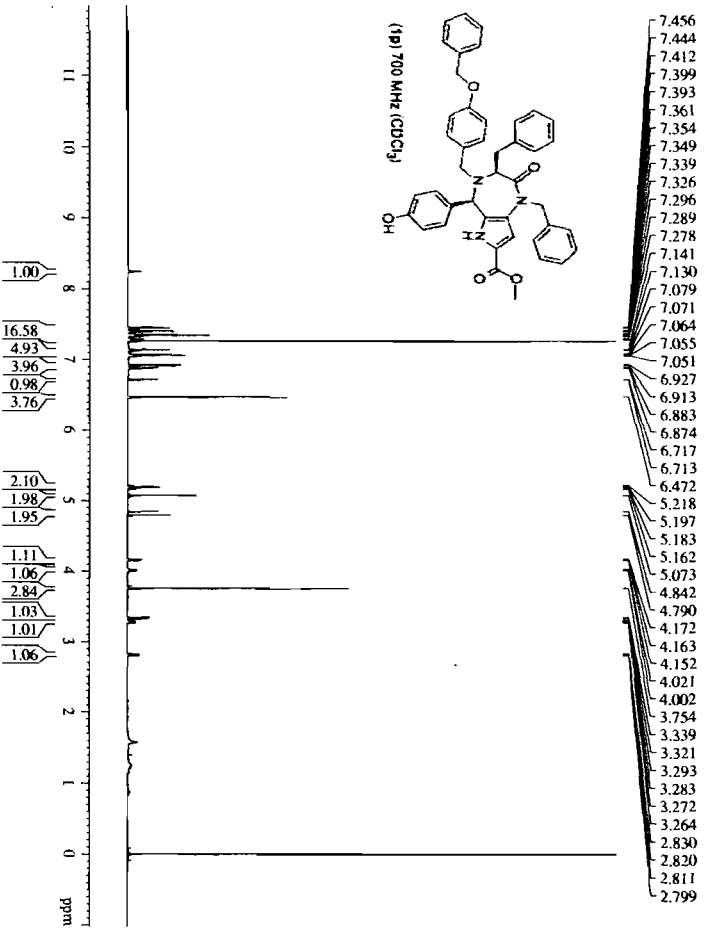


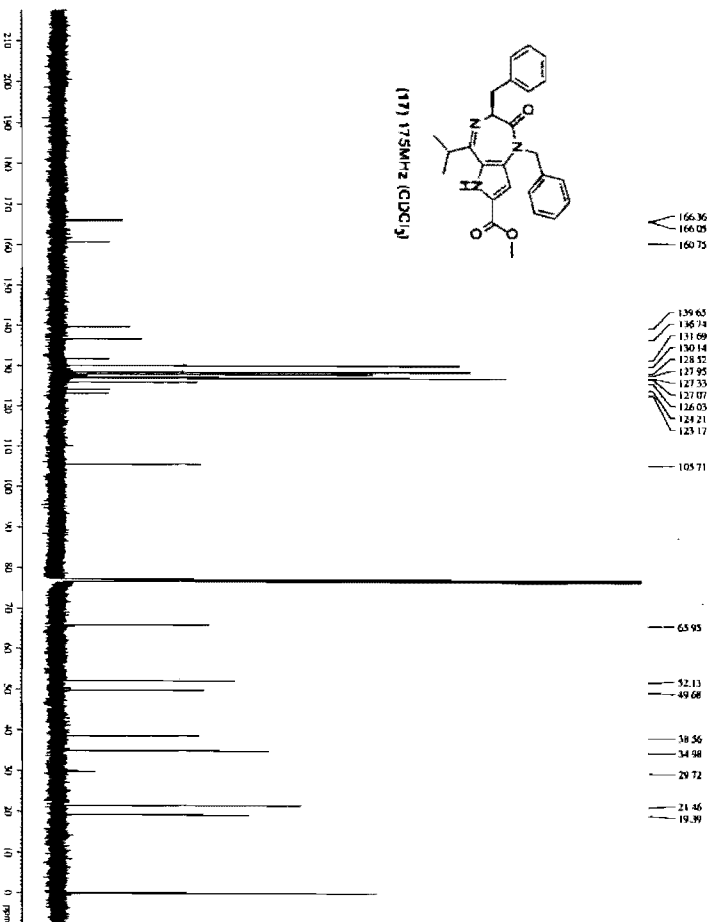
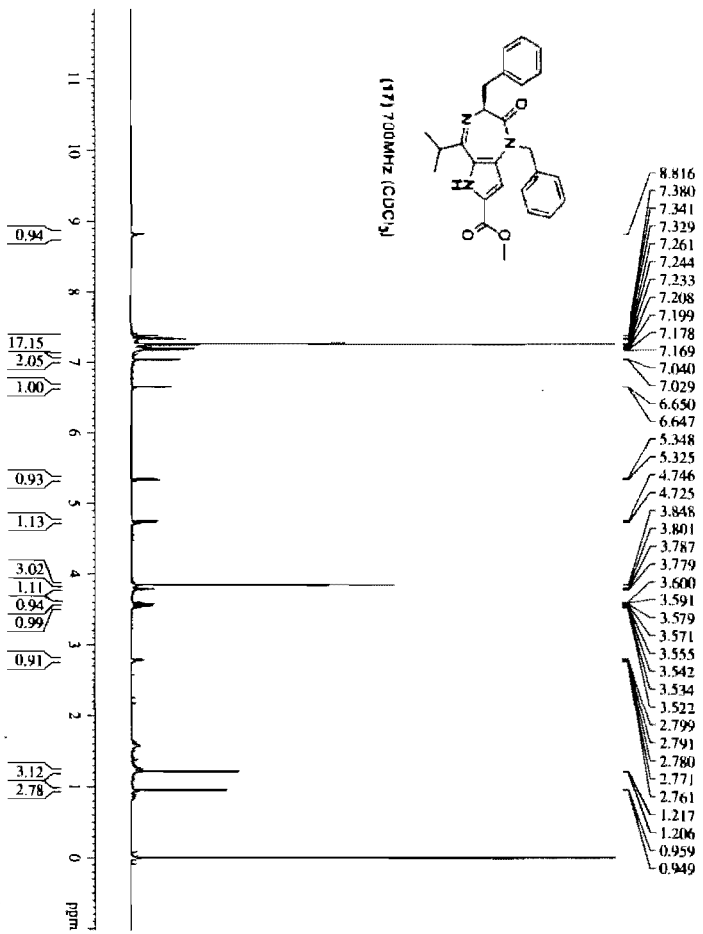


Annexes 1 (Spectres RMN du chapitre 2)

XXXX



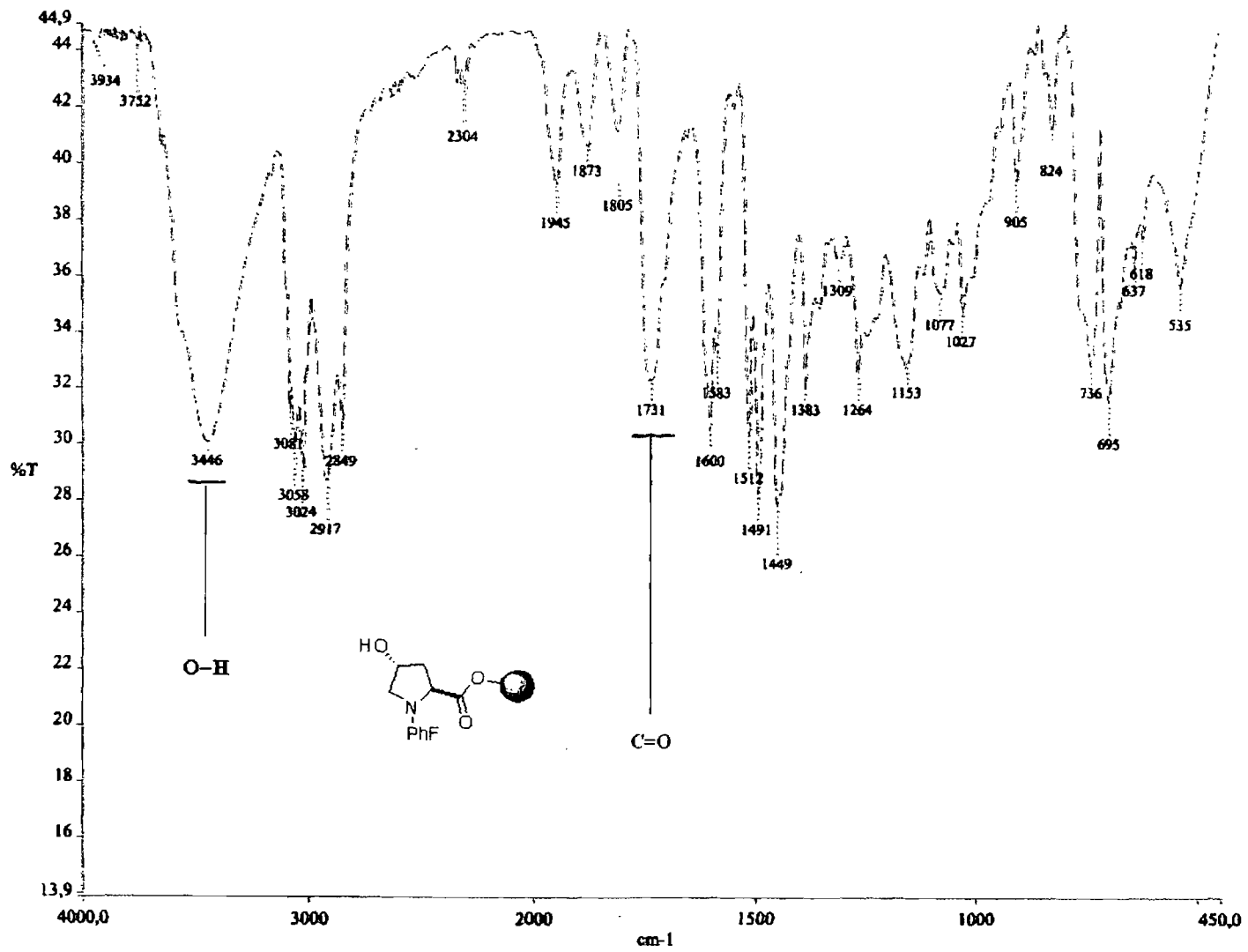


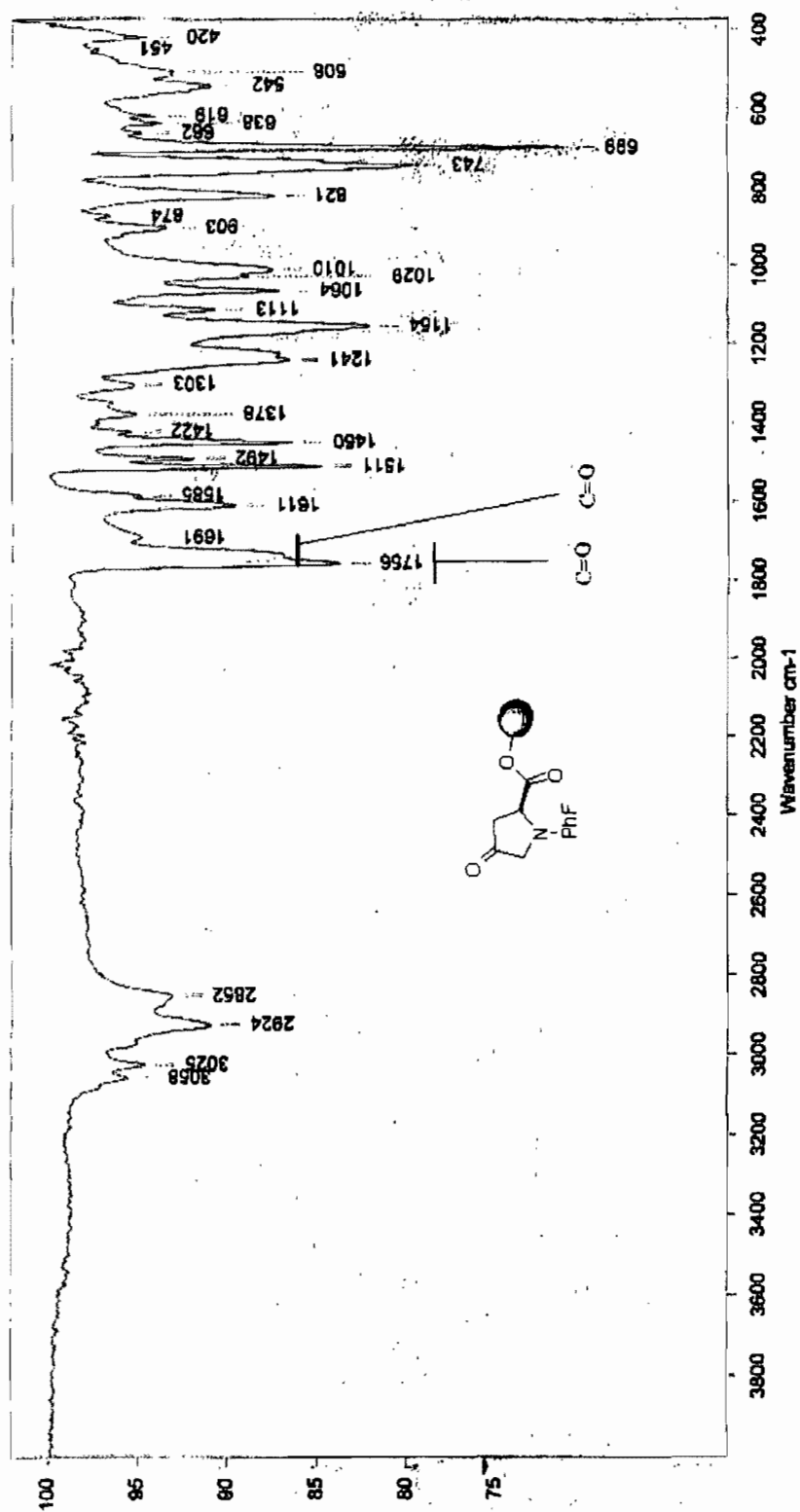


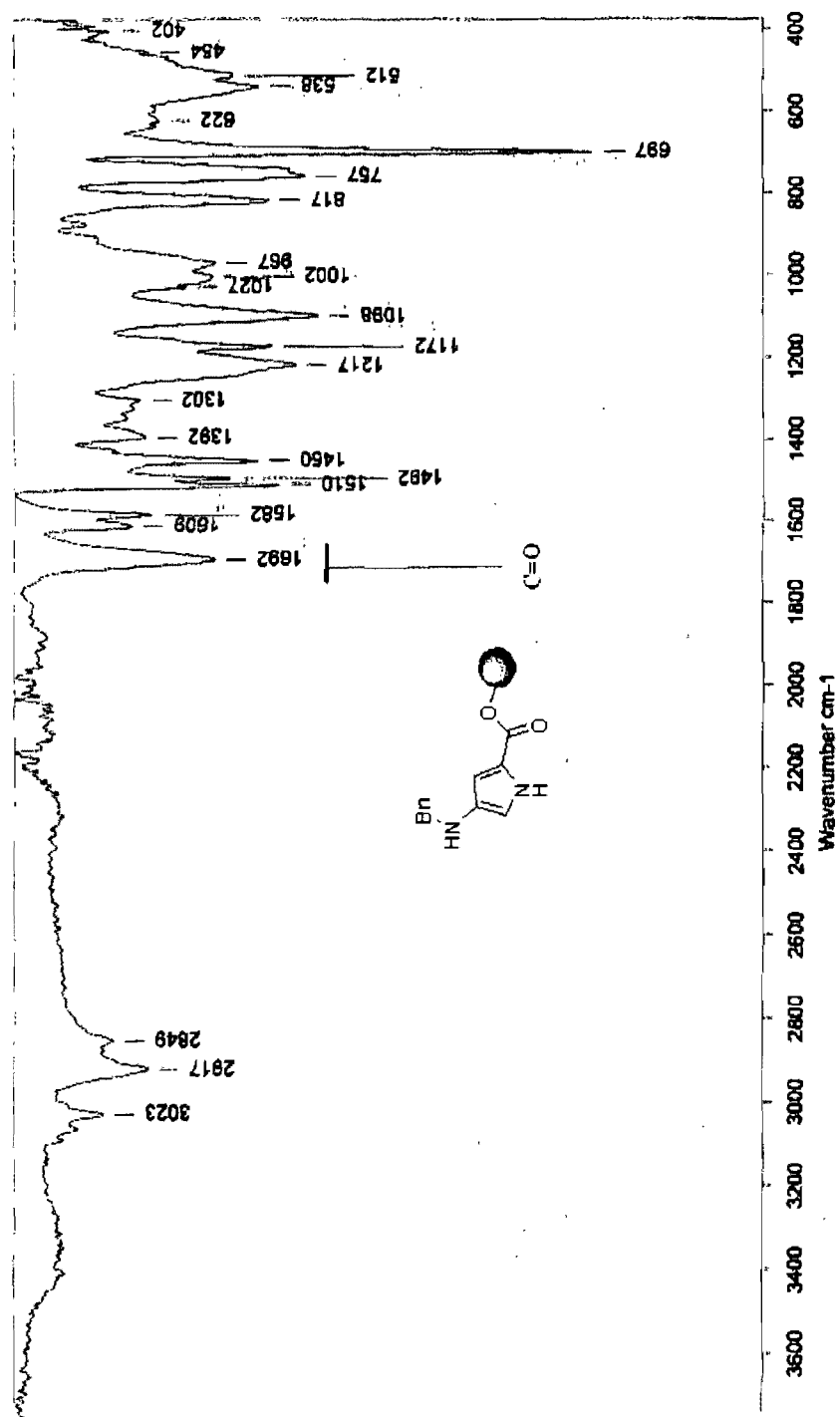
Annexes 2
(Spectres RMN et IR du chapitre 3)

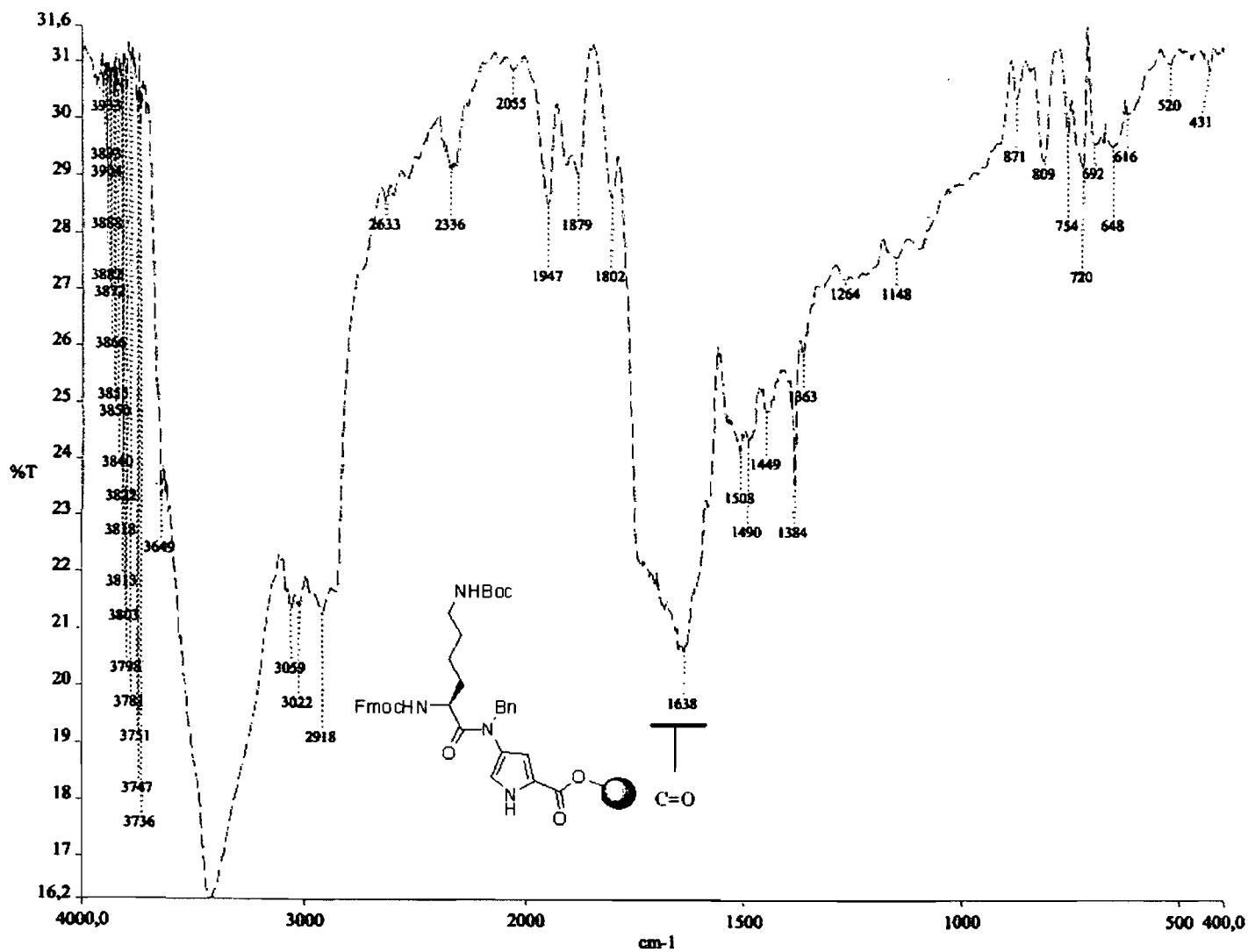
Annexes 2 (Spectres RMN et IR du chapitre 3)**Table des matières :**

Spectre IR de 12	XXXV
Spectre IR de 13	XXXVI
Spectre IR de 17	XXXVII
Spectre IR de 18a	XXXVIII
CL-SM.....	XXXIX
Spectre IR de 18b	XL
Spectre RMN ¹ H de 19	XLI
Spectre RMN ¹³ C de 19	XLII









LC-MS

