

Université de Montréal

Conception, modélisation moléculaire et synthèse d'inhibiteurs potentiels d'enzymes et approches vers la synthèse totale de la cyclizidine

par
Eric Therrien
Département de chimie
Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en chimie

Juillet, 2005

©Eric Therrien, 2005



AVIS

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

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

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

NOTICE

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

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

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

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée:

Conception, modélisation moléculaire et synthèse d'inhibiteurs potentiels d'enzymes et
approches vers la synthèse totale de la cyclizidine

présentée par
Eric Therrien

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Prof. Yvan Guindon
Président-rapporteur

Prof. Stephen Hanessian
Directeur de recherche

Prof. Richard Giasson
Membre du jury

Dr. Youssef Bennani
Examineur externe

Prof. Yvan Guindon
Représentant du doyen de la FES

À Laurence,

Résumé

La thrombine et le facteur VIIa sont tous deux des protéases à sérine qui sont des enzymes impliquées dans la cascade de la coagulation sanguine. Une suractivité de ces enzymes résultent en la formation de thromboses menant à des maladies importantes et même fatales. Le développement d'un agent anticoagulant actif oralement basé directement sur l'inhibition de ces protéases est un but très important en chimie médicinale.

Rigidifier une molécule dans sa conformation bioactive conduit souvent à des composés plus actifs et sélectifs pour une cible donnée. Ainsi, des études conformationnelles sur des inhibiteurs prototypes rigides ajoutées à l'étude des interactions probables de ce ligand avec la macromolécule cible peuvent aider la conception de composés originaux potentiellement actifs. Cette approche est appliquée à la préparation d'inhibiteurs potentiels d'enzymes.

Des dérivés indolizidinones ont été synthétisés à partir de l'acide L-pyroglutamique selon différentes méthodologies. Ces stratégies reposent sur une addition de Mannich vinylogue et sur la réaction de fermeture de cycle par métathèse. Par la suite, un dérivé sultame a été synthétisé utilisant une stratégie similaire et une nouvelle classe de peptidomimétique a été découverte. L'évaluation de ces composés a montré le bien-fondé de cette approche et de nouvelles molécules actives ont été obtenues.

Des études de modélisation moléculaire, plus particulièrement de *docking*, ont été effectuées. Une étude comparative a permis de déterminer l'habileté de AutoDock à reproduire les conformations bioactives d'inhibiteurs de MPMs (métalloprotéases de matrice) telle qu'observées dans leurs structures cristallines respectives. Ce travail a mené à la conception de nouveaux inhibiteurs sélectifs des MPMs.

Par la suite, un nouveau protocole pour le *docking* et le *scoring* d'inhibiteurs de la β -sécrétase a été développé. La procédure de *docking*, qui utilise un algorithme génétique,

permet ainsi de reproduire adéquatement les modes de liaison d'inhibiteurs très flexibles dans une enzyme flexible. Ensuite, une nouvelle fonction d'évaluation a été développée pour ranger les composés selon leur activité biologique. Ce protocole a mené à la conception de puissants inhibiteurs de la β -sécrétase et l'efficacité de ce dernier a été confirmée après validation des activités biologiques.

Finalement, plusieurs voies synthétiques ont été élaborées dans le but d'entreprendre la synthèse totale de la cyclizidine, un agent anti-fongique. Chacune de ces approches reposent sur une stratégie innovatrice pour la construction stéréosélective du système indolizidine. La première approche consiste en la réaction de Mannich vinylogue, la deuxième approche repose sur une réaction de fermeture de cycle par métathèse sur un dérivé du D-glucose et la troisième approche implique une stratégie similaire à la précédente, mais à partir d'un dérivé de l'acide L-pyroglutamique.

Mots clés

β -Sécrétase, *docking*, indolizidine, indolizidinone, Mannich vinylogue, métathèse, peptidomimétique, produit naturel, sultame, thrombine.

Summary

Thrombin and Factor VIIa are both serine proteases which are enzymes involved in the blood coagulation cascade. Increased activation of these enzymes results in thrombosis formation and important diseases. The development of an orally active anticoagulant agent based on the direct inhibition of these enzymes is a very important goal in medicinal chemistry.

Constraining a molecule in its bioactive conformation often leads to a more active inhibitor with higher selectivity. Structure-based design of new constrained prototypical inhibitors is thus possible from conformational studies and evaluation of the possible interactions with the target macromolecule. This strategy is applied to the preparation of potential enzyme inhibitors.

Indolizidinones derivatives were synthesized from L-pyroglutamic acid according to different methodologies. These strategies rely on vinylogous Mannich addition and ring-closing metathesis. A sultam analogue was also synthesized using a similar strategy and a new class of peptidomimetics was discovered. The approach was further validated with biological assays and new active compounds were obtained.

Molecular modeling studies such as docking were initiated. A comparative study of fully automated docking programs AutoDock and DOCK in closely approximating the X-ray crystal structures of ten selected MMP (matrix metalloproteinase) inhibitors was performed. This work led to the design of new potential selective MMP inhibitors.

A new protocol for the docking and scoring of β -secretase inhibitors was developed. This protocol includes a new method of flexible docking where both ligand and receptor flexibility is considered. The docking method is based on a genetic algorithm where genes code both the ligand conformation/translation/orientation and the protein conformation. A scoring function was also developed and was found to be more

predictive than currently available scoring functions. This work led to the design and the discovery of new low nanomolar β -secretase inhibitors.

Finally, several synthetic approaches were elaborated in order to begin the total synthesis of cyclizidine. Each of these approaches relies on a novel strategy for the stereoselective construction of the indolizidine core. The first approach is based on the vinylogous Mannich addition, the second relies on the ring-closing metathesis of a D-glucose derivative, and the third approach uses a similar strategy, but starting from the L-pyroglutamic acid.

Key words

β -Secretase, *docking*, indolizidine, indolizidinone, metathesis, natural product, peptidomimetics, sultam, thrombin, vinylogous Mannich.

Table des matières

Résumé	iv
Summary	vi
Liste des Figures	xxiv
Liste des Schémas	xxix
Liste des Tableaux	xxxiii
Liste des Abréviations	xxxiv
Acides aminés	xxxvii
Remerciements	xxxviii

Chapitre I

La coagulation sanguine et les traitements thérapeutiques	1
I.1 Le phénomène de la coagulation sanguine	2
I.2 Les désordres du système hémostatique	5
I.3 Les traitements actuels	6
I.4 Structure de la thrombine	7
I.5 Inhibiteurs directs de la thrombine	10

Chapitre II

Design et synthèse d'indolizidinones inhibiteurs d'enzymes de la coagulation sanguine	12
II.1 Introduction aux différentes stratégies de synthèse d'indolizidinones	13
II.2 Travaux précédents du groupe Hanessian	18
II.3 Modélisation et conception de nouveaux inhibiteurs potentiels du facteur VIIa	21
II.4 Approche rétrosynthétique pour la synthèse des indolizidinones	23
II.5 Synthèse de l'intermédiaire commun	24

II.6 Synthèse des dérivés cyclohexénylméthyle, benzyle et isobutényle	29
II.7 Synthèse de l'isomère du dérivé cyclohexénylméthyle	35
II.8 Résultats biologiques	37
II.9 Nouvelles méthodologies de synthèse d'indolizidinones	39
II.10 Synthèse de l'analogue amino indolizidinone comme preuve de concept	42
II.11 Sultames comme analogues rigides de la proline	48
II.12 Synthèse des dérivés sultames comme inhibiteurs de la thrombine	53
II.13 Résultats biologiques II	57
II.14 Conclusion	59

Chapitre III

Composés hétérocycliques achiraux comme inhibiteurs de la thrombine 60

III.1 Exemples de composés hétérocycliques inhibiteurs de la thrombine	61
III.2 Conception de nouveaux hétérocycles inhibiteurs de la thrombine	65
III.3 Synthèse du motif phénolique en P ₂	67
III.4 Synthèse de la série A	69
III.5 Synthèse de la série B	71
III.6 Synthèse des séries C et D	72
III.7 Évaluation biologique des analogues phénoliques	74
III.8 Conclusion	78

Chapitre IV

Utilisation de la modélisation moléculaire pour la conception

d'inhibiteurs de MPMs et de β -sécrétase 80

IV.1 La maladie d'Alzheimer	81
IV.2 Les traitements et domaines de recherche actuels	83
IV.3 La β -sécrétase comme cible biologique	84
IV.4 Structure de la β -sécrétase et inhibiteurs potentiels	88
IV.5 La modélisation moléculaire en chimie médicinale et les méthodes	

de <i>docking</i>	92
IV.6 Introduction aux méthodes de <i>docking</i>	97
IV.7 Étude comparative de programmes de <i>docking</i> et application à la conception de nouveaux inhibiteurs des MPMs	101
IV.8 Étude de <i>docking</i> d'inhibiteurs de la β -sécrétase	114
IV.9 <i>Docking</i> flexible d'inhibiteurs dans la β -sécrétase flexible	117
IV.10 Développement d'une nouvelle fonction d'évaluation (<i>scoring function</i>)	124
IV.11 Validation du protocole de <i>docking</i> et de la fonction d'évaluation	133
IV.12 Conclusion	136

Chapitre V

Approches vers la synthèse totale de la cyclizidine 137

V.1 Indolizidines	138
V.2 Isolation et identification de la cyclizidine	138
V.3 Approches synthétiques vers la cyclizidine	141
V.4 Synthèse totale d'une indolizidine apparentée	142
V.5 Différentes voies synthétiques pour la synthèse de la cyclizidine	144
V.6 Première approche: réaction de Mannich vinylogue	144
V.7 Deuxième approche: RCM à partir du D-glucose	150
V.8 Troisième approche: RCM à partir de l'acide pyroglutamique	157
V.9 Conclusion	175

Chapitre VI

Partie expérimentale 176

VI.1 Notes générales	177
VI.2 Procédures expérimentales des composés du chapitre II	180
(3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-oxo-pyrrolidine-1- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyl (2.59)	180

(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2 <i>S</i>)-5-oxo-2,5-dihydro-furan-2-yl]- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.62)	181
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-hydroxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.64)	182
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.55)	183
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.65)	183
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.66)	184
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.68)	185
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-acide-6-azido-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.69)	185
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.70)	186
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.50)	187
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-benzyl-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.71)	188
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.72)	189
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.73)	189
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-acide-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.54)	190
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.74)	191
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.51)	192

(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.75)	192
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.76)	193
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylamino-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.77)	194
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.78)	195
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-acide-6- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.79)	195
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4- <i>N</i> -Boc-carbamimidoyl-benzamide) (2.80)	196
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.52)	197
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-(4-cyclohex-1-ènylméthyl)-5-oxo-tétrahydro-furan-2-yl]- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.83)	197
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-(4-azido-4-cyclohex-1-ènylméthyl)-5-oxo-tétrahydro-furan-2-yl]- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.84)	198
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-hydroxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.85)	199
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.82)	200
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.86)	200
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-acide-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.87)	201

(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(-4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.88)	202
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.53)	203
(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-5- <i>cis</i> -propènyl-pyrrolidine-1- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyl (2.109)	203
(3 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,3,6,8 <i>a</i> -tétrahydro-1 <i>H</i> -indolizin-5-one (2.118)	204
(3 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.119)	205
(3 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-6-benzyl-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.120)	206
(3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.121)	206
(3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.122)	206
(3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-3hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-5-one (2.123)	207
(3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.124)	208
(3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.107)	209
(3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-3hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-5-one (2.125)	210
(3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-azido-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.127)	210
(3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>aS</i>)-6-amino-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.128)	211
(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphénylsilanyloxyméthyl)-5- <i>cis</i> -propènyl-pyrrolidine (2.179)	212

(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthènesulfonyl-5- <i>cis</i> -propènyl-pyrrolidine (2.180)	213
(6 <i>S</i> ,3 <i>aS</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3 <i>a</i> ,4,5,6-tétrahydro-pyrrolo[1,2- <i>b</i>]isothiazole 1,1-dioxide (2.181)	213
(6 <i>S</i> ,3 <i>aS</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2- <i>b</i>]isothiazole 1,1-dioxide (2.182)	214
(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-(prop-2-ène-1-sulfonyl)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphénylsilanyloxyméthyl)-5- <i>cis</i> -propènyl-pyrrolidine (2.184)	215
(7 <i>S</i> ,4 <i>aS</i>)-7-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4 <i>a</i> ,5,6,7-tétrahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.185)	215
(7 <i>S</i> ,4 <i>aS</i>)-7-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-2 <i>H</i> -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.186)	216
(7 <i>S</i> ,4 <i>aS</i>)-2-benzyl-7-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.187)	216
(2 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>S</i>)-2-azido-2-benzyl-7-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.188)	217
(2 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>S</i>)-(2-azido-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1 λ^6 -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazin-7-yl)-méthanol (2.189)	218
(2 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>S</i>)-(4- {[(2-azido-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1 λ^6 -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine-7-(4- <i>N</i> -Boc-carbamimidoyl-benzamide) (2.190)	219
(2 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>S</i>)-2-amino-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1 λ^6 -pyrrolo[1,2- <i>b</i>][1,2]thiazine-7-(4-carbamimidoyl-benzylamide) (2.165)	220
VI.3 Procédures expérimentales des composés du chapitre III	221
2-allyloxy-4-méthyl-1-nitro-benzène (3.30)	221
1-allyl-2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-benzène (3.32)	221
acide-(2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-phényl)-acétique (3.33)	222
(2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-phényl)-acétate de méthyle (3.34)	222
(2-benzyloxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétate de méthyle (3.43)	223

(3-benzènesulfonylamino-2-benzyloxy-6-méthyl-phényl)-acétate de méthyle (3.44)	224
[2-benzyloxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.45)	224
[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(toluène-4-sulfonylamino)-phényl]-acétate de méthyle (3.46)	225
[2-benzyloxy-3-(4-chloro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.47)	225
[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]- acétate de méthyle (3.48)	225
[2-benzyloxy-3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.49)	226
[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-sulfonylamino)-phényl]- acétate de méthyle (3.50)	226
[2-benzyloxy-3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.51)	227
[2-benzyloxy-3-(3-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.52)	227
[2-benzyloxy-3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1H-pyrazole-4-sulfonylamino)- 6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.53)	227
[2-benzyloxy-3-(4-chloro-2-fluoro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.54)	228
[2-benzyloxy-3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.55)	228
[2-benzyloxy-3-(2-chloro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.56)	229
[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonylamino)-phényl]- acétate de méthyle (3.57)	229
[2-benzyloxy-3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.58)	229
[2-benzyloxy-3-(3-fluoro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-	

acétate de méthyle (3.59)	230
[2-benzyloxy-3-(1,2-diméthyl-1 <i>H</i> -imidazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.60)	230
[2-benzyloxy-3-(3-chloro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.61)	231
[2-benzyloxy-3-(3-chloro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.62)	231
[2-benzyloxy-3-(3-chloro-phénylméthanesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- acétate de méthyle (3.63)	231
(3-benzoylamino-2-benzyloxy-6-méthyl-phényl)-acétate de méthyle (3.64)	232
(2-benzyloxy-6-méthyl-3-phénylacétylamino-phényl)-acétate de méthyle (3.65) ...	233
[2-benzyloxy-3-(3-benzyl-ureido)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.66)	233
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3- phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.79)	234
2-(3-benzènesulfonylamino-2-hydroxy-6-méthyl-phényl)- <i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz- carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.80)	234
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy- benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.81)	235
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-4- sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.82)	235
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-benzènesulfonylamino)-2- hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.83)	235
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3- (3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.84)	236
<i>N</i> -{3-[(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzylcarbamoyl)-méthyl]-2-hydroxy-4-méthyl- phényl}-benzamide (3.85)	237
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylacétylamino- phényl)-acétamide (3.86)	237
2-[3-(3-benzyl-ureido)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl- benzyl)-acétamide (3.87)	237

<i>N</i> -(2,5-dichloro-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.88)	238
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.89)	238
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.90)	239
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.91)	239
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(3-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.92)	239
2-[2-benzyloxy-3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1 <i>H</i> -pyrazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.93)	240
<i>N</i> -(4- <i>N</i> -Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-2-fluoro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.94)	240
<i>N</i> -(2- <i>N</i> -Boc-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.95)	241
<i>N</i> -(2- <i>N</i> -Boc-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.96)	241
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.97)	242
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.98)	242
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.99)	242
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-benzyloxy-3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.100)	243
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-fluoro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.101)	243
<i>N</i> -(6- <i>N</i> -Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-benzyloxy-3-(1,2-diméthyl-1 <i>H</i> -imidazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.102)	244

2-[3-(3-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.103)	244
2-[3-(3-chloro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.104)	245
2-[3-(3-chloro-phénylméthanesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.105)	245
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonyl-amino-phényl)-acétamide (3.106)	246
2-(3-benzènesulfonylamino-2-hydroxy-6-méthyl-phényl)- <i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.107)	246
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.108)	246
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-4-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.109)	247
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.110)	247
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.111)	247
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.112)	248
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.113)	248
2-[3-(3-benzyl-ureido)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]- <i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.114)	248
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.115)	249
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.116)	249
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.117)	249

<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(3-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.118)	250
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1 <i>H</i> -pyrazole-4-sulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.119)	250
<i>N</i> -(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-2-fluoro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.120)	251
<i>N</i> -(2-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.121)	251
<i>N</i> -(2-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.122)	252
<i>N</i> -(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.123)	252
<i>N</i> -(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.124)	252
<i>N</i> -(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.125)	253
<i>N</i> -(6-amino-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.126)	253
<i>N</i> -(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-fluoro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.127)	254
<i>N</i> -(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(1,2-diméthyl-1 <i>H</i> -imidazole-4-sulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.128)	254

VI.4 Procédures expérimentales pour la modélisation moléculaire du chapitre IV

A. Étude comparative de programmes de <i>docking</i> et application à la conception d'inhibiteurs potentiels des MPMs	255
B. Développement d'un protocole pour le <i>docking</i> flexible d'inhibiteurs dans la β -sécrétase flexible	257

VI.5 Procédures expérimentales des composés du chapitre V

259

(2 <i>R</i>)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-5-oxo-2,5-dihydro-pyrrole-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.33)	259
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-2-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3,4-dihydroxy-5-oxo-pyrrolidine-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.34)	260
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-oxo-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.35)	260
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-(5-oxo-2,5-dihydro-furan-2-yl)-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.37)	261
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>S</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrol-4-yl-5-(5-oxo-furan-2-yl) (5.38)	262
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>S</i>)-9-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-hydroxy-hexahydro-indolizin-8-one (5.39)	263
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>S</i>)-9-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-hydroxy-indolizidine (5.40)	263
(1 <i>aS</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>S</i>)-9-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-oxo-indolizidine (5.40a)	264
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8a-hexahydro-indolizine-1,2-diméthylacétonide (5.42)	265
Méthyl 2-azido-2-déoxy-4,6- <i>O</i> -benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.62)	266
Méthyl 3-azido-3-déoxy-4,6- <i>O</i> -benzylidène- α -D-glucopyranoside (5.62a)	266
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-4,6- <i>O</i> -benzylidène- α -D-allopyranoside (5.63)	266
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-4,6- <i>O</i> -benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.56)	267
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-6- <i>O</i> -benzyl- α -D-gulopyranoside (5.64)	268
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3- <i>O</i> -benzyl-4,6- <i>O</i> -benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.65)	268
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6- <i>O</i> -dibenzyl- α -D-gulopyranoside (5.66)	269
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6- <i>O</i> -dibenzyl-4- <i>O</i> -imidazylate- α -D-gulopyranoside (5.67)	270

Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6- <i>O</i> -dibenzyl-4- <i>O</i> -acétyl- α -D-idopyranoside (5.68)	270
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6- <i>O</i> -dibenzyl- α -D-idopyranoside (5.55)	271
2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6- <i>O</i> -dibenzyl- α -D-idopyranose (5.69)	271
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-azido-3,6-bis-benzyloxy-3-méthyl-hexane-1,4,5-triol (5.54)	272
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-azido-1,4-bis-benzyloxy-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxy)-4-méthyl-hexane-2,3-diol (5.70)	272
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-[2-azido-3-benzyloxy-3-(5-benzyloxyméthyl-2,2-dioxo-2 λ ⁶ -[1,3,2]dioxathiolan-4-yl)-butoxy]- <i>tert</i> -butyl-diphényl-silane (5.53)	273
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-4-benzyloxy-2-benzyloxyméthyl-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthyl-pyrrolidin-3-ol (5.52)	274
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-4-benzyloxy-2-benzyloxyméthyl-1-but-3-ènyl-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthyl-pyrrolidin-3-ol (5.81)	274
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ènyl-2-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-pyrrolidine (5.81a)	275
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-(3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ènyl-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-pyrrolidin-2-yl)-méthanol (5.82)	276
(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ènyl-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-2-vinyl-pyrrolidine (5.51)	277
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>R</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-oxo-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.89)	278
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>R</i>)-4-acétoxy-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.90)	278
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-cyano-2,2-diméthyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.93)	279
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-4-allyl-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.94)	280
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.103)	280
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole (5.104)	281

(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-5-but-3-ènyl-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole (5.105)	282
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -hexahydro-indolizine-1,2-diméthylacétonide (5.106)	282
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(hydroxyméthyl)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -hexahydro-indolizine-1,2-diméthylacétonide (5.107)	283
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-5-but-3-ènone-6-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole (5.108)	284
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -tétrahydro-1 <i>H</i> -indolizin-5-one-1,2-diméthylacétonide (5.109)	284
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-3-(hydroxyméthyl)-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -tétrahydro-1 <i>H</i> -indolizin-5-one-1,2-diméthylacétonide (5.110)	285
Composé (5.112)	286
Composé (5.113)	286
Composé (5.114)	287
(1 <i>aR</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-6-hydroxyméthyl-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]pyrrole-5- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.115)	287
Composé (5.117)	288
Composé (5.119)	289
Composé (5.120)	289
Composé (5.121)	290
Composé (5.122)	291
Composé (5.123)	291
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-3,4-dihydroxy-5-hydroxyméthyl-3-méthyl-2-propènyl-pyrrolidine-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.128)	292
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3,4-dihydroxy-3-méthyl-2-propènyl-pyrrolidine-1- <i>N-tert</i> -butyloxycarbonyl (5.129)	292
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-2-propènyl-3,4-bis-triméthylsilanyloxy-pyrrolidine (5.130).....	293
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-1-but-3-ènyl-5-(<i>tert</i> -butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-2-propènyl-3,4-bis-triméthylsilanyloxy-pyrrolidine (5.131).....	293

Chapitre VII

Références 295

Liste des Figures

Figure 1.1 Formation du clou plaquettaire	2
Figure 1.2 Schéma simplifié de la cascade de la coagulation sanguine	4
Figure 1.3 Représentation de la structure rayons X de la thrombine	7
Figure 1.4 Mécanisme de l'hydrolyse d'un lien peptidique par une protéase à sérine	8
Figure 1.5 Site actif de la thrombine et représentation schématique des interactions (1ABJ) avec PPACK (le chlorométhylcétone est remplacé par le méthylcétone)	9
Figure 1.6 Quelques inhibiteurs directs de la thrombine	10
Figure 2.1 Peptidomimétisme de coude β	13
Figure 2.2 Conception et synthèse d'antagonistes du récepteur NK-2 de la tachykinin	19
Figure 2.3 Stratégie utilisée pour la conception d'un inhibiteur de la thrombine ...	19
Figure 2.4 Surface de Connolly de la structure rayons X du complexe thrombine-2.47 (jaune) superposée au PPACK (magenta)	20
Figure 2.5 Stratégie de rigidification pour la conception de nouvelles indolizidinones	21
Figure 2.6 Modélisation moléculaire sur le facteur VIIa	23
Figure 2.7 Analyse rétrosynthétique utilisant l'addition de Mannich vinylogue	23
Figure 2.8 Intermédiaire réactionnel proposé pour l'alkylation de l'énolate	26
Figure 2.9 Réaction de Mannich et sa variante vinylogue	27
Figure 2.10 États de transition possibles pour la réaction de Mannich vinylogue ..	28
Figure 2.11 Intermédiaire réactionnel pour l'alkylation de l'azidure de trisyle à gauche et représentation tridimensionnelle à droite (simple minimisation, Chem3D)	30
Figure 2.12 Types de réaction de métathèse d'oléfine	40
Figure 2.13 Catalyseurs de Schrock et de Grubbs, première et deuxième génération	41
Figure 2.14 Cycle catalytique et mécanisme de la réaction de fermeture	

de cycle par métathèse	41
Figure 2.15 Amino indolizidinone comme preuve de concept	43
Figure 2.16 Intermédiaire réactionnel proposé pour l'addition d'organocuivre sur un ion <i>N</i> -acyl iminium	45
Figure 2.17 Structures rayons X des composés 2.68 et 2.123	47
Figure 2.18 Médicament comportant une fonctionnalité sultame	49
Figure 2.19 Sultames comme inhibiteurs potentiels de la thrombine	53
Figure 2.20 Résultats de <i>docking</i> (AutoDock) montrant l'indolizidinone 2.107 (orange) et la sultame 2.165 (vert) dans le site actif de la thrombine	59
Figure 3.1 Analogues hétérocycliques du PPACK	61
Figure 3.2 Analogues lactames par Corvas	62
Figure 3.3 Analogues pyridones par Corvas	62
Figure 3.4 Analogues pyridones par Merck	63
Figure 3.5 Analogues pyrazinones par Merck	63
Figure 3.6 Analogues phényliques par Boehringer-Mannheim	64
Figure 3.7 Analogues phényliques par 3-D Pharmaceuticals	65
Figure 3.8 Motif phénolique prototype comme inhibiteur de la thrombine	66
Figure 3.9 Stratégie de synthèse des quatre séries de composés phénoliques	67
Figure 3.10 Analogues phénoliques par 3-D Pharmaceuticals	68
Figure 3.11 Analogues phénoliques de la série A	71
Figure 3.12 Analogues phénoliques de la série B	72
Figure 3.13 Analogues des séries C (gauche) et D (droite)	74
Figure 3.14 Modélisation moléculaire (AutoDock) du dérivé 1-naphthyl sulfonamide 3.116 (gauche) et superposition avec PPACK 1.1 (droite)	76
Figure 4.1 Aloïs Alzheimer (1862-1915)	81
Figure 4.2 Plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires	82
Figure 4.3 Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase	83
Figure 4.4 Hypothèse de la déposition des plaques amyloïdes	85
Figure 4.5 Processus protéolytique du précurseur la protéine amyloïde- β	86
Figure 4.6 Structure de la β -sécrétase et séquence de APP démontrant les sites de clivages	87

Figure 4.7 Inhibiteurs peptidomimétiques de Ghosh et Tang	88
Figure 4.8 Représentation schématique tridimensionnelle de la β -sécrétase (vue stéréoscopique)	88
Figure 4.9 Interactions entre la β -sécrétase et l'inhibiteur 4.2 (gauche) et représentation tridimensionnelle de l'inhibiteur dans le site actif (droite)	89
Figure 4.10 Inhibiteur de la β -sécrétase par Ghosh et Tang	90
Figure 4.11 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Elan Pharmaceuticals	90
Figure 4.12 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Eli Lilly and Company	91
Figure 4.13 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Takeda, Neurologic et Vertex	91
Figure 4.14 Implication du <i>docking</i> lors du développement d'un nouveau médicament	93
Figure 4.15 Théorie du complexe clef/serrure de Emil Fischer	94
Figure 4.16 Interactions entre particules pour une molécule hypothétique et représentation des forces contribuant à la fonction d'énergie potentielle	95
Figure 4.17 Représentation schématique d'une hypersurface d'énergie potentielle d'un complexe ligand-macromolécule en représentation 2D et 3D	98
Figure 4.18 Processus de liaison entre un ligand et un récepteur	100
Figure 4.19 Conception de nouveaux analogues rigidifiés	103
Figure 4.20 Grille utilisée par le programme GRID	104
Figure 4.21 a) Superposition de six différentes MPMs; b) Analyse GRID d'une MPM-3 démontrant les zones hydrophobes (jaune), les zones favorables aux oxygènes de sulfonamide (rouge) et azote d'amide (bleu)	106
Figure 4.22 Inhibiteurs sélectionnés pour l'étude comparative, code PDB et MPM respective	108
Figure 4.23 Complexes MPM/inhibiteur: structure cristallographique (jaune), structures proposées par AutoDock (vert) et DOCK (rose); usn n'est pas montré pour AutoDock	113
Figure 4.24 État de protonation de la β -sécrétase proposé par Park et Lee	115
Figure 4.25 Composé de Vertex utilisé en <i>docking</i> pour valider l'état de protonation	115
Figure 4.26 État de protonation de la β -sécrétase proposé par Rajamani et	

Reynolds	116
Figure 4.27 Rigidification de l'isostère par un carbocycle	118
Figure 4.28 Superposition des structures cristallines du composé 4.18 (jaune) et de OM99-2 (orange)	120
Figure 4.29 Superposition de deux structures rayons X représentatives	121
Figure 4.30 Représentation schématique du chromosome	122
Figure 4.31 Charte illustrant le fonctionnement de l'algorithme génétique	123
Figure 4.32 Superposition de OM99-2 modélisé (vert) avec la structure rayons X (jaune)	124
Figure 4.33 Exemple général de représentation du coefficient de Spearman	128
Figure 4.34 Énergies de liaison prédites vs énergies de liaison observées	131
Figure 4.35 Distribution du classement de la collection (<i>testing set</i>) (a) de façon aléatoire; (b) avec RankScore; (c) avec LigScore2; (d) avec PLP2	134
Figure 4.36 Charte illustrant l'utilisation du protocole pour validation	135
Figure 5.1 Quelques exemples d'indolizidines	138
Figure 5.2 Structure rayons X de la cyclizidine	139
Figure 5.3 Unités acétates et propionates incorporées dans la cyclizidine	140
Figure 5.4 Mécanismes hypothétiques pour la biosynthèse de la cyclizidine	140
Figure 5.5 Mécanisme probable pour la biosynthèse des cycles à cinq et à trois chaînons de la cyclizidine	141
Figure 5.6 Cycloaddition 1,3-dipolaire et silylation réductrice par Haigh	141
Figure 5.7 Approche hétéro Diels-Alder par Haigh	142
Figure 5.8 Structure de l'indolizomycine	143
Figure 5.9 Approche rétrosynthétique de l'indolizomycine par Danishefsky	143
Figure 5.10 Trois voies synthétiques pour la synthèse du squelette de base de la cyclizidine	144
Figure 5.11 Analyse rétrosynthétique pour l'approche de la réaction de Mannich vinylogue	145
Figure 5.12 Représentation tridimensionnelle du modèle proposé de l'intermédiaire réactif pour l'addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium obtenu par simple minimisation (Chem3D)	147

Figure 5.13 Représentation tridimensionnelle pour l'élimination du mésylate 5.41 (certains groupements ont été omis pour clarté)	149
Figure 5.14 Deuxième approche: voie du méthyl α -D-glucopyranoside	151
Figure 5.15 Analyse rétrosynthétique pour l'approche de l'indolizidine 5.85 par RCM	158
Figure 5.16 Confirmation de la stéréochimie du composé 5.119 par rmn	165
Figure 5.17 Intermédiaire réactif proposé pour l'attaque du Grignard méthylique sur la cétone 5.118 (certains groupes ont été omis pour clarté, structure obtenue par simple minimisation, Chem3D)	165
Figure 5.18 Protonation de l'amine tertiaire au cours de la réaction d'hydrolyse partielle de l'éther silylé 5.122	166
Figure 5.19 Deux approches pour la construction de la chaîne latérale de la cyclizidine	168
Figure 5.20 Étude méthodologique de la réaction de Suzuki par Charette et collaborateurs	170

Liste des Schémas

Schéma 2.1	Approche radicalaire de fragmentation de l'hydroxamate de thiopyridine de Hanessian	14
Schéma 2.2	Addition de type Mannich vinylogue sur un ion <i>N</i> -acyl iminium par Hanessian	14
Schéma 2.3	Méthode par alkylation de Schöllkopf par Mueller et Revesz	15
Schéma 2.4	Condensation de Claisen/amination réductrice/lactamisation de Lubell	16
Schéma 2.5	Seconde approche de Lubell utilisant un déplacement S_N2	16
Schéma 2.6	Méthodologie diastéréosélective de Kahn	17
Schéma 2.7	Approche de Colombo et Scolastico par déplacement S_N2	17
Schéma 2.8	Hydrogénation asymétrique par Hruby et Mulzer	18
Schéma 2.9	Synthèse du buténolide 2.62 via la réaction de Mannich vinylogue ...	26
Schéma 2.10	Synthèse de l'intermédiaire commun	29
Schéma 2.11	Alkylations du dérivé cyclohexènylméthyle	30
Schéma 2.12	Déprotection du groupe <i>tert</i> -butyldiphénylesilyle	31
Schéma 2.13	Synthèse du dérivé cyclohexènylméthyle	31
Schéma 2.14	Synthèse du dérivé benzyle	32
Schéma 2.15	Synthèse du dérivé isobutényle	34
Schéma 2.16	Isomérisation de la double liaison du composé 2.80	35
Schéma 2.17	Tentative infructueuse d'alkylation du dérivé épimérique en position 3	35
Schéma 2.18	Synthèse de l'isomère du dérivé cyclohexènylméthyle	36
Schéma 2.19	Synthèse d'indolizidinone via une cyclisation intramoléculaire de Dieckmann par Dr. Helen Sailes	39
Schéma 2.20	Approche par métathèse pour la synthèse d'indolizidinones par Alexander Munro	42
Schéma 2.21	Addition d'organocuivre sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium	44
Schéma 2.22	Addition d'organocuivre par Wistrand et Thaning	44
Schéma 2.23	Addition d'organocuivres par Pedregal et collaborateurs	44

Schéma 2.24 Synthèse de l'analogue amino indolizidinone	46
Schéma 2.25 Fin de la synthèse de l'amino indolizidinone	47
Schéma 2.26 Synthèse de l'épimère en position 3 de l'amino indolizidinone	48
Schéma 2.27 Synthèse de dérivés benzothiazinones par acylation anionique de Friedel-Crafts	49
Schéma 2.28 Synthèse de propane-1,3-sultame par substitution nucléophile	50
Schéma 2.29 Méthodologie de Hanson pour la synthèse de sultames	50
Schéma 2.30 Approche de DuPont utilisant la RCM et cycloaddition 1,3-dipolaire	51
Schéma 2.31 Cycloaddition de Diels-Alder de Tozer	51
Schéma 2.32 Peptidosulfonamides cycliques de Liskamp et Brouwer	51
Schéma 2.33 Synthèse de β -lactame-sulfonamides par Metz et collaborateurs	52
Schéma 2.34 Synthèse de sultames par métathèse de fermeture de cycle	52
Schéma 2.35 Alkylations de sulfonamides cycliques par Kaiser et collaborateurs	54
Schéma 2.36 Synthèse d'inhibiteurs de la protéase VIH par Glaxo Wellcome et Vertex Pharmaceuticals	54
Schéma 2.37 Synthèse de nouveaux agents anti-arthritiques	55
Schéma 2.38 Alkylations stéréosélectives par Naito et collaborateurs	55
Schéma 2.39 Synthèse de la sultame 5,5	56
Schéma 2.40 Synthèse de la sultame 6,5	57
Schéma 3.1 Synthèse du motif phénolique	68
Schéma 3.2 Voie synthétique du motif phénolique par 3-D pharmaceuticals	69
Schéma 3.3 Synthèse du dérivé 1-naphthyl sulfonamide 3.116	70
Schéma 3.4 Synthèse du dérivé 2-méthylphényl sulfonamide 3.123	71
Schéma 3.5 Synthèse du dérivé 2,5-dichloro-phényl sulfonamide 3.121	73
Schéma 3.6 Synthèse du dérivé 3-chloro-4-méthyl-phényl sulfonamide 3.104	74
Schéma 5.1 Voie proposée pour compléter la synthèse de la cyclizidine par Haigh	142
Schéma 5.2 Synthèse du dérivé hémiacétal précurseur à la réaction de Mannich vinylogue	146

Schéma 5.3 Addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium dérivé de 5.36	146
Schéma 5.4 Synthèse de l'indolizidine 5.40	148
Schéma 5.5 Élimination de l'alcool secondaire	148
Schéma 5.6 Élaboration du système bicyclique	149
Schéma 5.7 Oxydation et addition du Grignard méthylique sur la cétone 5.47	150
Schéma 5.8 Synthèse du composé azido-alcool 5.62	152
Schéma 5.9 Épimérisation de l'azidure lors de la séquence d'addition du méthyle	152
Schéma 5.10 Addition du Grignard méthylique et confirmation de la structure par analyse rayons X	153
Schéma 5.11 Inversion de l'alcool en C4	154
Schéma 5.12 Synthèse du sulfate cyclique 5.53	155
Schéma 5.13 Cyclisation de l'amine sur le sulfate cyclique	155
Schéma 5.14 Cyclisation intramoléculaire par Pollini et collaborateurs	156
Schéma 5.15 Synthèse de systèmes bicycliques par Denmark et collaborateurs ...	156
Schéma 5.16 Formation du système bicyclique par fermeture de cycle par métathèse	157
Schéma 5.17 Synthèse de l'hémiacétal 5.90 dérivé de l'acide L-pyroglutamique ...	158
Schéma 5.18 Addition d'un organo-cuivre sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium	159
Schéma 5.19 Addition du TMSCN sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium	159
Schéma 5.20 Addition de l'allyltriméthylsilane sur l'ion <i>N</i> -acyl iminium	160
Schéma 5.21 Conversion de l'allyle en vinyle par Moeller	161
Schéma 5.22 Nouvelle procédure pour la déprotection d'éthers allyliques par Roy et collaborateurs	161
Schéma 5.23 Isomérisation d'un dérivé allyle en dérivé propényle lors de la synthèse de la (-)-tuberostemonine par Wipf et collaborateurs	162
Schéma 5.24 Synthèse de l'indolizidine 5.107	162
Schéma 5.25 Voie synthétique de l'indolizidinone	163
Schéma 5.26 Protection sélective menant à l'alcool secondaire 5.117	164
Schéma 5.27 Séquence d'oxydation-addition menant au dérivé 5.119	164
Schéma 5.28 Construction du système indolizidine tricyclique par RCM	166

Schéma 5.29 Hydrolyse sélective d'un disiloxane similaire par Hanessian et collaborateurs	167
Schéma 5.30 Synthèse alternative pour obtenir l'indolizidine 5.132	168
Schéma 5.31 Études modèles de la réaction croisée de Suzuki	169
Schéma 5.32 Études modèles (en cours) de la réaction du couplage croisé de Stille	170
Schéma 5.33 Études modèles de la réaction de condensation de Julia	171
Schéma 5.34 Synthèse du modèle N-benzyl pyrrolidine	172
Schéma 5.35 Études modèles de la réaction de condensation de Julia avec le N-benzyl pyrrolidine	172
Schéma 5.36 Voie synthétique complète et proposée pour la synthèse de l'énantiomère de la cyclizidine	174

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Différents facteurs impliqués dans la cascade de la coagulation sanguine	3
Tableau 2.1 Études des conditions d'alkylation du groupement éthyle	25
Tableau 2.2 Inhibition de la thrombine et du facteur VIIa, mesurée en CI_{50} (μM) .	38
Tableau 2.3 Inhibition de la thrombine, mesurée en CI_{50} (μM)	58
Tableau 3.1 Activités biologiques pour les analogues de la série A	75
Tableau 3.2 Activités biologiques pour les analogues de la série B	77
Tableau 3.3 Activités biologiques pour les analogues de la série C	77
Tableau 3.4 Activités biologiques pour les analogues de la série D	78
Tableau 4.1 Les différentes métalloprotéases de matrice et leurs substrats respectifs	102
Tableau 4.2 Résidus observés dans différents sous-sites des MPMs	105
Tableau 4.3 Valeurs de rmsd et valeurs d'énergie de la pose présentant le meilleur score pour l'étude avec DOCK	110
Tableau 4.4 Valeurs de rmsd et valeurs d'énergie pour l'étude avec AutoDock	112
Tableau 4.5 Collection de 50 inhibiteurs de la β -sécrétase (<i>training set</i>)	125
Tableau 4.6 Coefficients de Spearman pour le classement du <i>training set</i>	129
Tableau 5.1 Survol des conditions pour la réaction de Julia menant au composé 5.139	171
Tableau 5.2 Survol des conditions pour la réaction de Julia menant au composé 5.154	173


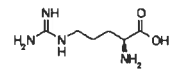
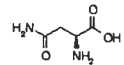
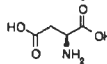

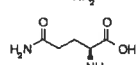
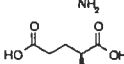

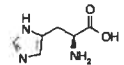


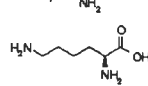
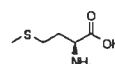
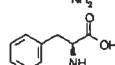



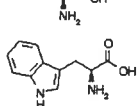
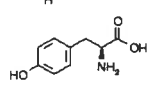

Liste des abréviations

δ :	Déplacement chimique en ppm (rmn)
2D :	Deux dimensions
3D :	Trois dimensions
Ac :	Acétyle
A β :	Amyloïde- β
APP :	Précurseur de la protéine amyloïde
atm :	Atmosphère
Bn :	Benzyle
Boc :	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
BOP :	(Benzotriazol-1-yloxy)tris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate
BOB-Cl :	Chlorure bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinique
Bu :	Butyle
cat :	Catalytique
Cbz :	Carbobenzoxy
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CDI :	Carbonyl diimidazole
CI ₅₀ :	Concentration inhibitrice à 50%
CM :	Métathèse croisée
CoA :	Co-Enzyme A
COSY :	Spectroscopie corrélée
Cp :	Cyclopentadiényle
CSA :	Acide camphre sulphonique
Cy :	Cyclohexyle
DBU :	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCC :	Dicyclohexylcarbodiimide
DIBAL :	Hydruure de diisobutylaluminium
DMAP :	Diméthylaminopyridine
DMF :	<i>N,N</i> -Diméthylformamide

DMPU :	<i>N,N'</i> -Diméthylpropylurée
DMS :	Diméthyle sulfide
DMSO :	Diméthyle sulfoxyde
EDC :	Hydrochlorure de 1-Éthyl-3-(3-diméthyllaminopropyl)carbodiimide
Et :	Éthyle
FAB :	Fast Atom Bombardment
GA :	Algorithme génétique
h :	Heure
Het :	Hétérocycle
HOBt:	1-Hydroxybenzotriazole
SMHR:	Spectrométrie de masse à haute résolution
Hz :	Hertz
IR :	Spectroscopie infrarouge
K_i :	Constante d'inhibition
L :	Ligand
LDA :	<i>N,N</i> -Diisopropylamidure de lithium
LIE :	Interaction d'énergie linéaire (<i>Linear interaction energy</i>)
LiHMDS :	<i>N,N</i> -Bis(triméthylsilyl)amidure de lithium
M :	Molaire
mCPBA:	acide <i>meta</i> -chloropéroxybenzoïque
Me :	Méthyle
Mes :	Mésityle
mmol :	Millimole
mol :	Mole
MOM :	Méthoxyméthyle
MPM :	Métalloprotéase à matrice
Ms :	Méthanesulfonyle
SM :	Spectrométrie de masse (basse résolution)
N :	Normale
NBS :	Nitrobenzylsulfonyle
NMM :	<i>N</i> -méthylmorpholine

NMO :	Oxyde de <i>N</i> -méthylmorpholine
nOe :	Effet nucléaire Overhauser
PDB :	Banque de protéines (Protein Data Bank)
PDC :	Dichromate de pyridinium
Pf :	Point de fusion
Ph :	Phényle
PhF :	Phénylfluorényle
Pr :	Propyle
PSI :	Livre par pouce carré
RCM :	Fermeture de cycle par métathèse (ou rcm)
RMN :	Résonance magnétique nucléaire (ou rmn)
RMSD :	<i>Root mean square deviation</i> (ou rmsd)
ROMP :	Polymérisation par ouverture de cycle par métathèse
SAR :	Relation structure-activité
S _N 2 :	Substitution nucléophile de type 2
TBAF :	Fluorure de tétrabutylammonium
TBS :	tert-Butyldiméthylsilyle
TBDPS :	tert-Butyldiphénylsilyle
Tf :	Trifluorométhanesulfonyle
TFA :	Acide trifluoroacétique
THF :	Tétrahydrofurane
TMS :	Triméthylsilyle
TMSOF :	Triméthylsilyloxyfurane
TPAP :	Tétrapropylammonium perruthénate
Tr :	Trityle
TsOH :	Acide <i>p</i> -toluènesulfonique

Acides aminés:

Code 3 lettres	Code 1 lettre	Nom	Structure (L-)
Ala	A	Alanine	
Arg	R	Arginine	
Asn	N	Asparagine	
Asp	D	Acide aspartique	
Cys	C	Cystéine	
Gln	Q	Glutamine	
Glu	E	Acide glutamique	
Gly	G	Glycine	
His	H	Histidine	
Ile	I	Isoleucine	
Leu	L	Leucine	
Lys	K	Lysine	
Met	M	Méthionine	
Phe	F	Phénylalanine	
Pro	P	Proline	
Ser	S	Sérine	
Thr	T	Thréonine	
Trp	W	Tryptophane	
Tyr	Y	Tyrosine	
Val	V	Valine	

Remerciements

Je tiens à remercier spécialement mon directeur de recherche, le prof. Stephen Hanessian pour m'avoir accueilli dans son groupe. La relation que j'ai pu développer avec lui m'a grandement profitée au niveau intellectuel et professionnel. Je lui suis reconnaissant pour ses conseils et sa motivation tout au long des mes études. Je tiens particulièrement à souligner la confiance et la liberté d'action qu'il m'a confié dans les multiples projets auxquels j'ai été impliqué. Je crois sincèrement que son souhait le plus cher de nous transmettre son savoir et sa passion pour la chimie est grandement reflété par la façon dont il réussi à constamment nous motiver à se surpasser au-delà de nos ambitions.

Je tiens également à remercier les membres du groupe qui ont, tout au long de mon séjour, su agrémente l'atmosphère et l'ambiance au neuvième étage. Je souhaite remercier le prof. Nicolas Moitessier pour son amitié et son influence sur ma vie personnelle et professionnelle. Je lui suis aussi reconnaissant pour m'avoir transmis son savoir sur la modélisation et sa participation au cours des différents projets de collaboration. Je désire aussi remercier mes collègues Simon Giroux, Daniel Simard, Martin Tremblay pour leur amitié et plus particulièrement, Malken Bayrakdarian pour son amitié et son *leadership*. Je remercie également Xuehong Luo, Alexander Munro, Helen Sailes, Willem van Otterlo ainsi que Jayakumar S. Warrior pour leur aide inestimable au cours de mes projets de synthèse.

Je souhaite remercier mesdames Carol St-Vincent major, Éline Fournelle et Fabienne Pollet pour leur support et leur collaboration grandement appréciés. Je remercie également le personnel de l'Université pour leur service professionnel: Dalbir S. Sekhon, Dr. Minh Tan Phan Viet, Sylvie Bilodeau, Robert Mayer, Dr. Michel Simard et tout le personnel des services de bibliothèque, spectroscopie rmn, spectrométrie de masse, diffraction rayons X, atelier mécanique/électronique, et secrétariat.

Je désire également remercier Dr. Ingemar Nilsson et Dr. Ola Fjellström pour leur implication et leur collaboration. Je remercie AstraZeneca (Suède) pour mon séjour de

six semaines, les tests d'inhibition et leur support financier pour le projet de la thrombine/facteur VIIa. La compagnie Novartis Pharma (Suisse) est aussi remerciée pour le support financier au cours du projet de la β -sécrétase.

Enfin, je tiens à remercier mes parents et ma famille qui ont su me supporter et m'encourager pendant cette longue période d'études graduées. Je remercie aussi ma conjointe Julie pour son amour et sa compréhension. Je désire aussi souligner la venue au monde de ma fille, Laurence qui m'a conférée l'énergie supplémentaire pour mener à terme cette thèse.

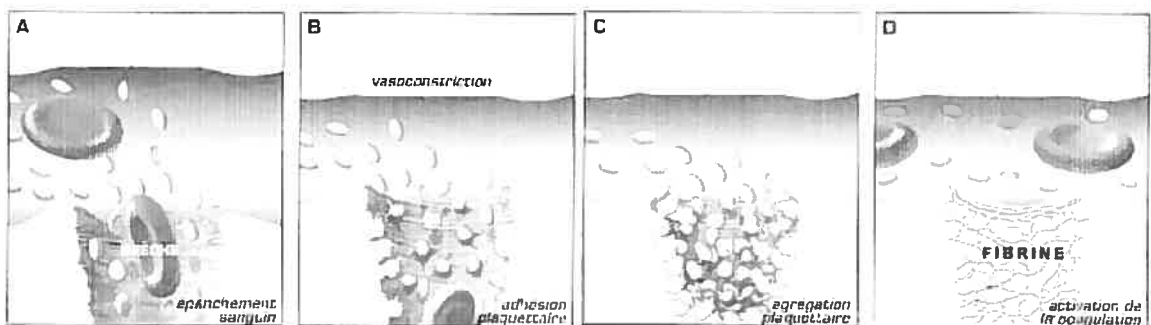
Chapitre I
La coagulation sanguine et les traitements
thérapeutiques

I.1 Le phénomène de la coagulation sanguine

Lorsque survient une rupture au niveau des vaisseaux sanguins, le corps humain réagit immédiatement afin d'arrêter l'hémorragie.¹ La coagulation sanguine est un processus physiologique relativement complexe se traduisant par le passage du sang liquide à un caillot solide. Le caillot sanguin en formation est riche en globules rouges (érythrocytes), en globules blancs (leucocytes) ainsi qu'en plaquettes (thrombocytes), et ses composants sont rassemblés par un réseau de filaments protéiques (fibrine). L'ensemble du processus de l'arrêt de l'hémorragie est appelé hémostasie. L'hémostasie peut en principe être divisée en deux phases, nommées l'hémostasie primaire et l'hémostasie secondaire. Il n'existe toutefois pas de séparation nette entre les deux systèmes.

Lors de l'hémostasie primaire, suite à une lésion d'un vaisseau sanguin, la paroi vasculaire provoque immédiatement, en collaboration avec les plaquettes sanguines, un colmatage du site de la lésion (Figure 1.1, A). Les cellules musculaires de la paroi vasculaire se contractent (vasoconstriction) (Figure 1.1, B), ce qui diminue le flux sanguin. Une couche de plaquettes sanguines se dépose sur l'endroit endommagé de la paroi vasculaire (Figure 1.1, C). La forme des plaquettes sanguines se modifie, ce qui permet le dépôt de plaquettes supplémentaires, de sorte qu'un clou plaquettaire se forme finalement sur le site de la lésion (Figure 1.1, D).

Figure 1.1 Formation du clou plaquettaire.¹



Après la constriction vasculaire et la formation du clou plaquettaire débute l'hémostase secondaire. Celle-ci désigne la formation de fibrine à partir du précurseur dissout dans le plasma sanguin, le fibrinogène, qui est stimulé à former de la fibrine par un grand nombre de réactions successives de facteurs de la coagulation. Les filaments de fibrine insolubles dans le plasma forment un échafaudage réticulé qui stabilise le clou plaquettaire au site de la lésion. Des protéines anticoagulantes empêchent la formation exagérée de fibrine, ce qui limite la formation du caillot au site de la lésion et l'empêche de s'étendre au reste indemne du système vasculaire. Une autre composante essentielle de l'hémostase secondaire est la dissolution du réseau de fibrine (fibrinolyse) par la plasmine, une protéine dissoute dans le plasma. La fibrinolyse est aussi un processus important, car le caillot sanguin n'est plus nécessaire une fois la cicatrisation achevée, et doit être enlevé. Tous les processus de l'activation et de l'inhibition de la coagulation ainsi que la fibrinolyse s'inscrivent dans un système d'équilibre très complexe.

Tableau 1.1 Différents facteurs impliqués dans la cascade de la coagulation sanguine.²

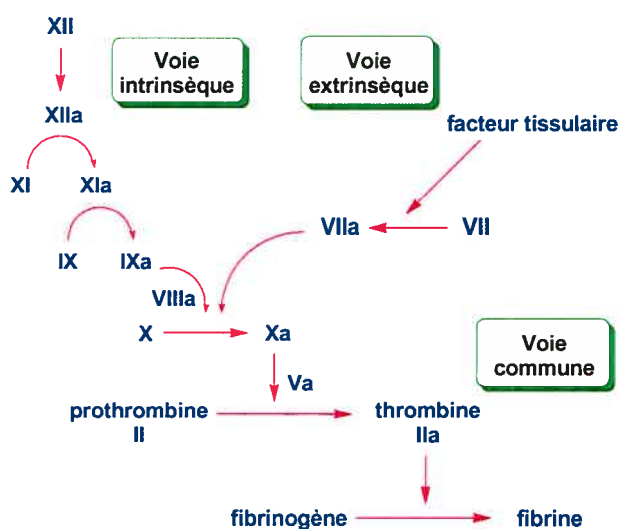
Numéro du facteur	Nom courant
I	Fibrinogène
II	Prothrombine
III	Facteur tissulaire ou thromboplastine
IV	Ca ²⁺
Va	Proaccéléline
VII	Proconvertine
VIII	Facteur antihémophilique
IX	Facteur Christmas
X	Facteur Stuart
XI	Facteur prothromboplastique plasmatique (PTA)
XII	Facteur Hageman
XIII	Facteur stabilisant la fibrine (FSF)

C'est au cours de l'hémostase secondaire que se produit la cascade de la coagulation qui implique plusieurs facteurs. Les facteurs de coagulation sont tous des glycoprotéines. Sur le plan fonctionnel, ils appartiennent à différents groupes selon qu'ils sont des zymogènes (proenzymes), des cofacteurs, des enzymes ou, comme le fibrinogène, un

simple substrat. Les facteurs de coagulation activés par protéolyse sont désignés par leur numéro en chiffres romains, accompagnés du suffixe "a" (Tableau 1.1).

Parallèlement à l'hémostase se met en place une série d'évènements qui aboutissent à la formation d'un caillot de sang constituant ainsi la cascade de la coagulation sanguine (Figure 1.2).³ Il existe deux voies différentes, une intrinsèque, endogène, qui n'implique que des substances d'origine sanguine et une extrinsèque, exogène, faisant intervenir des facteurs tissulaires. Ces deux voies aboutissent au même résultat, c'est à dire à la formation de la thrombine (facteur II). Cette molécule agit sur le fibrinogène (facteur I) du plasma en activant sa transformation en fibrine. La fibrine va se polymériser pour constituer un réseau de fibres où s'emprisonnent les plaquettes et les globules rouges (thrombus rouge). Les plaquettes, sous l'effet de la thrombine, vont avoir tendance à resserrer le filet de fibrine qui les retient. On dit alors que le caillot s'assèche (le sérum est expulsé sous la pression du resserrement). La thrombine renforce également leur agrégation (ce qui augmente la production du facteur III). Enfin la thrombine va activer un facteur XIII qui a pour rôle de stabiliser le réseau de fibrine. Il y aura alors arrêt définitif du saignement. Chaque facteur activé devient l'activateur du suivant.

Figure 1.2 Schéma simplifié de la cascade de la coagulation sanguine.



La voie endogène débute par l'activation du facteur XII (ou facteur de Hageman) sous l'influence du collagène mis à nu par la lésion tissulaire. Une réaction en cascade s'ensuit avec l'activation du facteur XI, du facteur IX, puis X (en association avec le facteur VIII). La voie exogène commence par l'activation du facteur VII sous l'effet de la thromboplastine (facteur III) d'origine tissulaire et plaquettaire. Le facteur VII active directement le facteur X. C'est le facteur X qui permet la formation de thrombine (en association avec le facteur V). La vitamine K intervient dans la formation de plusieurs de ces facteurs (sous forme inactive). Les facteurs V et VIII sont également nécessaires et sont synthétisés sous l'effet de la thrombine.

I.2 Les désordres du système hémostatique

Lorsque l'équilibre hémostatique naturel est rompu, cela peut en principe se traduire par deux effets différents: une activation exagérée de la coagulation sanguine (hypercoagulabilité) ou une tendance renforcée aux saignements (hypocoagulabilité). Une manifestation typique d'une activation exagérée de la coagulation est la formation de caillots à l'intérieur des vaisseaux sanguins (thromboses). Ces caillots peuvent éventuellement se déplacer dans le système de circulation sanguine et bloquer complètement une partie du réseau (embolie). Certaines personnes présentent une tendance congénitale aux thromboses, mais celles-ci peuvent également se former suite à des affections dans le cadre desquelles l'activation unilatérale de la coagulation sanguine a perturbé l'équilibre hémostatique. Une tendance accrue aux saignements est souvent congénitale et apparaît le plus souvent par une insuffisance ou une absence de la production de l'un des facteurs de la coagulation dans le sang. Lorsque c'est le facteur VIII de la coagulation qui est concerné, on parle d'hémophilie A, et lors d'un déficit ou d'un manque de facteur IX, on parle d'hémophilie B. Outre une prédisposition héréditaire, certaines affections ou circonstances perturbant le système hémostatique peuvent provoquer une augmentation de la tendance aux saignements.

I.3 Les traitements actuels

La thrombine occupe une position centrale dans la cascade de la coagulation sanguine et c'est la raison pour laquelle cette enzyme est devenue une cible privilégiée pour la prévention thérapeutique dans le traitement des thromboses et des embolies pulmonaires.⁴ Les facteurs de coagulation visés pour l'inactivation incluent aussi le facteur Xa, le facteur IXa et le complexe du facteur de tissu/facteur VIIa. D'autres approches incluent également l'augmentation d'anticoagulants des voies endogènes ou l'activation de la fibrinolyse.

Présentement, les traitements actuels se limitent principalement à l'utilisation de l'héparine comme inhibiteur indirect de la thrombine ainsi que la famille des coumadins tel que la warfarine comme modulateurs de la synthèse de protéines dépendantes de la vitamine K. Bien que ces derniers soient très efficaces et largement utilisés, plusieurs limitations empêchent leur utilisation de façon générale. Ces limitations se résument à des propriétés pharmacocinétiques inadéquates et des effets secondaires imprévisibles tels que des saignements abondants et des complications nécessitant un suivi médical rigoureux. Les héparines de faible masse moléculaire (low-molecular-weight heparins, LMWHs) possèdent beaucoup moins d'effets secondaires mais leur utilisation demeure limitée étant donné le besoin d'une administration sous-cutanée. Plus récemment, les inhibiteurs directs de la thrombine ont commencé à remplacer progressivement les anciens traitements.

Parmi les inhibiteurs exclusifs de la thrombine se retrouve l'hirudine, une substance naturelle extraite à partir des glandes salivaires de la sangsue vers la fin du XX^e siècle. L'hirudine est composée de 65 acides aminés et possède une très forte affinité pour la thrombine. Elle se lie à la fois au site de reconnaissance des substrats macromoléculaires et au site catalytique de l'enzyme. Des études antérieures ont cependant montré que l'héparine permettait un meilleur contrôle de la génération de thrombine que l'hirudine mais que l'hirudine contrôlait mieux l'activité de la thrombine générée.

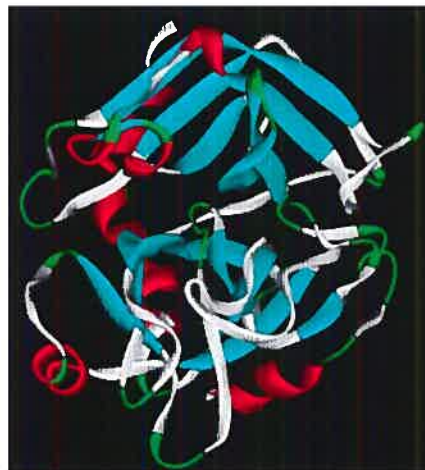
Parallèlement à l'hirudine, des inhibiteurs peptidiques spécifiques synthétiques ont été développés.^{4,5} Leur conception repose sur la connaissance de la structure tridimensionnelle du site actif de la thrombine.

I.4 Structure de la thrombine

La thrombine est une protéase à sérine, constituée de deux chaînes polypeptidiques liées par des ponts disulfures (Figure 1.3). La thrombine humaine possède une chaîne A de 36 acides aminés et une chaîne B de 259 acides aminés. La chaîne B est homologue de la trypsine et a une spécificité similaire, bien que plus sélective. Elle ne clive que quelques liaisons Arg-X et, moins fréquemment, Lys-X, avec une nette préférence lorsqu'une proline précède l'arginine ou la lysine.

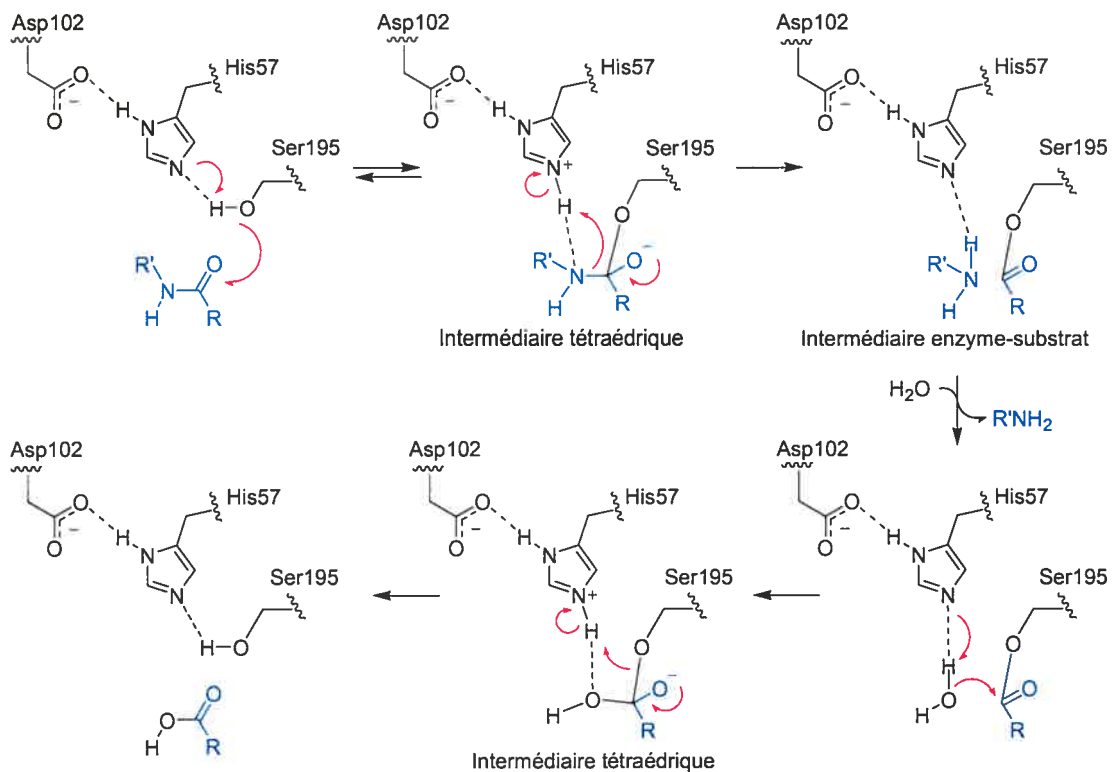
La thrombine humaine est synthétisée sous forme d'un zymogène de 579 acides aminés, la prothrombine (facteur II), qui est activée par deux clivages protéolytiques, catalysés par la forme activée du facteur Stuart (facteur Xa), produit de l'étape précédente dans la cascade de la coagulation.

Figure 1.3 Représentation de la structure rayons X de la thrombine.⁶



Le site actif de la thrombine est caractérisé par la présence de la triade catalytique, retrouvée également chez toutes les protéases à sérine, soit la sérine 195, l'histidine 57 ainsi que l'acide aspartique 102. Le mécanisme catalytique de la thrombine est une hydrolyse d'un lien peptidique (Figure 1.4). La réaction implique l'attaque nucléophile par la sérine du carbonyle de la liaison scissile pour former l'intermédiaire tétraédrique; la décomposition de l'intermédiaire tétraédrique pour donner un intermédiaire enzyme-substrat par catalyse générale acide grâce à l'histidine polarisée par l'acide aspartique, suivie de la libération du produit amine et de son remplacement par une molécule d'eau; la formation d'un deuxième intermédiaire tétraédrique et finalement, la libération du produit carboxylique et la régénération de l'enzyme active.

Figure 1.4 Mécanisme de l'hydrolyse d'un lien peptidique par une protéase à sérine.⁷

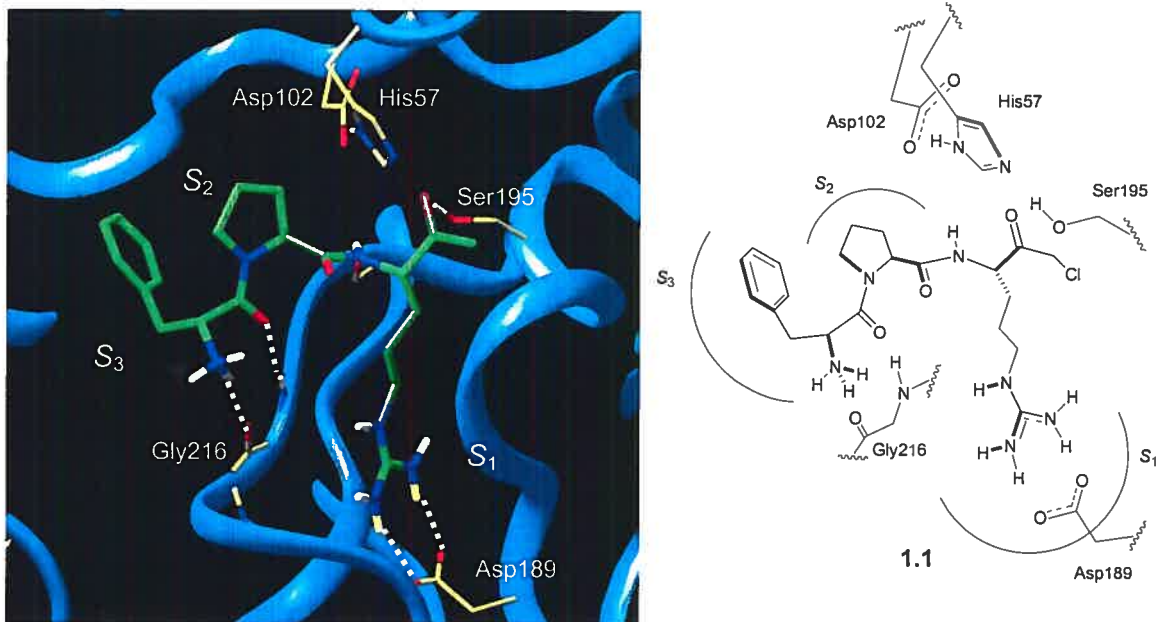


Le fibrinogène est le substrat naturel de la thrombine et celle-ci clive de manière spécifique la liaison Arg-X (X étant une glycine pour la plupart des espèces) qui joint

chaque fibrinopeptide à la fibrine. La séquence du fibrinogène a donc été un point de départ pour la conception de nouveaux inhibiteurs sélectifs pour la thrombine.

La structure tridimensionnelle de la thrombine a été déterminée par rayons X sous sa forme inactivée par la D-Phe-Pro-Arg chlorométhylcétone (PPACK, 1.1).⁸ Cet inhibiteur irréversible se lie de façon covalente par alkylation de l'histidine ainsi que par la formation d'un hémiacétal avec la sérine du site actif (analogue de l'intermédiaire tétraédrique). Le site actif de la thrombine est représenté à la Figure 1.5.

Figure 1.5 Site actif de la thrombine et représentation schématique des interactions (1ABJ)⁹ avec PPACK (le chlorométhylcétone est remplacé par le méthylcétone).

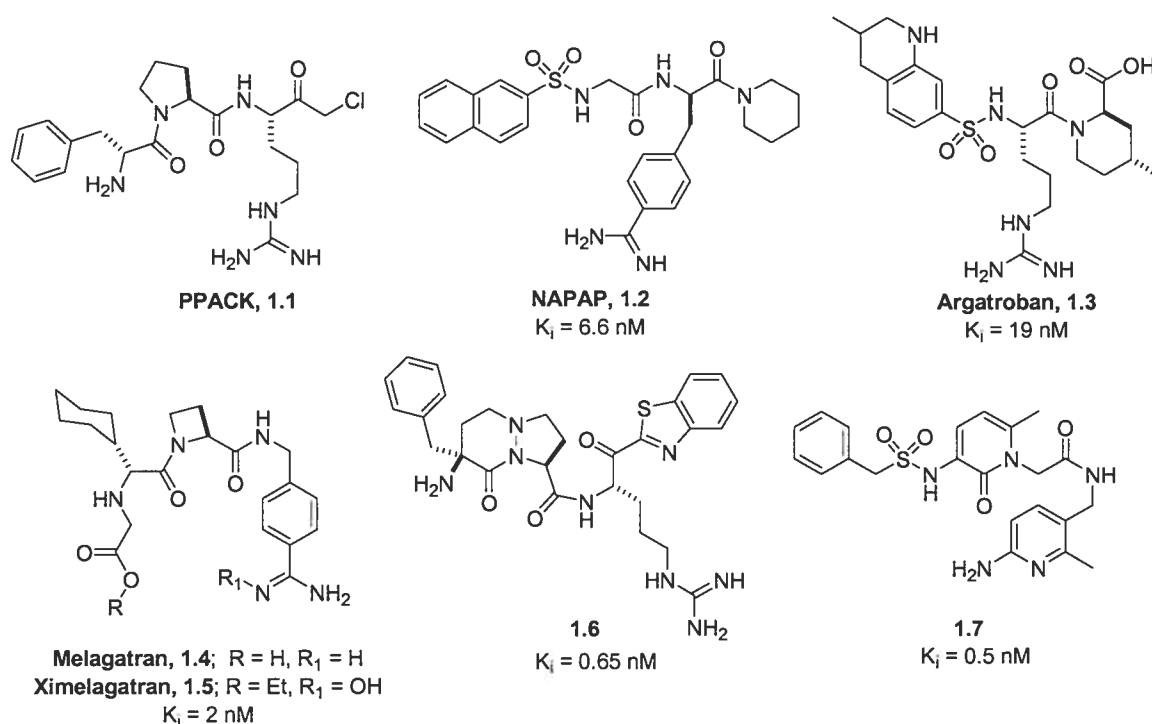


Les interactions importantes avec les résidus du site actif sont les interactions ioniques de Asp189 au fond de la poche S₁ et les interactions hydrophobes en S₂ et S₃. De plus, des interactions de type pont-hydrogène avec la Gly216 semblent être nécessaires pour la reconnaissance du substrat. Évidemment, selon la structure des ligands, d'autres interactions avec différents résidus peuvent être observées.

I.5 Inhibiteurs directs de la thrombine

Comme il a été mentionné auparavant, la structure de PPACK a servi de point de départ pour la conception de nouveaux inhibiteurs directs de la thrombine. Plusieurs motifs ont été créés et utilisés pour mimer la forme tridimensionnelle de cet inhibiteur basé sur la séquence des acides aminés du fibrinogène (Figure 1.6).

Figure 1.6 Quelques inhibiteurs directs de la thrombine.



NAPAP¹⁰ et Argatroban¹¹ sont tous deux issus des premières tentatives de la conception d'inhibiteurs directs de la thrombine. Argatroban, possédant un K_i de 19 nM, est actuellement sur le marché comme anticoagulant agissant contre les thromboses cérébrales et est aussi utilisé en hémodialyses. Par contre, ce médicament doit être administré par voie intraveineuse dû à sa mauvaise biodisponibilité. Récemment, AstraZeneca a développé le Melagatran avec un K_i de 2 nM et une biodisponibilité suffisante pour espérer une administration par voie orale.¹² Des recherches structurales

plus approfondies ont mené à l'élaboration de Ximelagatran, une pro-drogue surmontant la majorité des limitations d'ordre pharmacocinétiques et faisant de celle-ci un candidat très prometteur lors des études cliniques.¹³ Ximelagatran (Exanta®) est actuellement en cours d'autorisation en Europe et aux Etats-Unis.

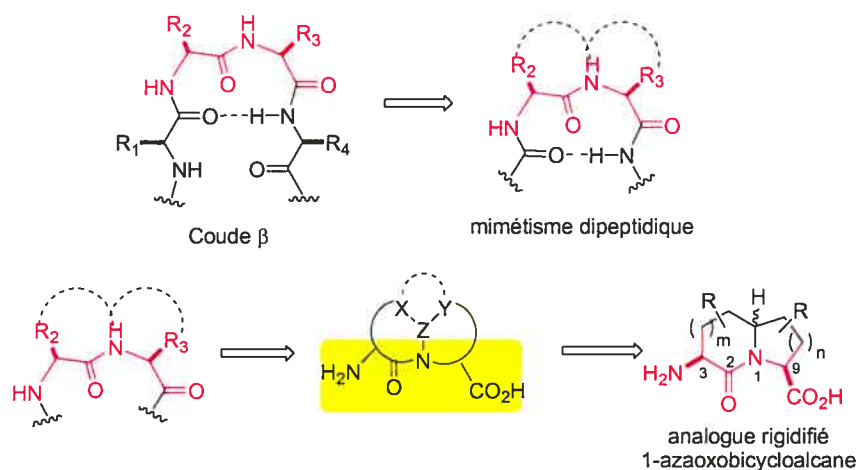
Les principaux problèmes rencontrés par la plupart des inhibiteurs développés jusqu'à présent sont la faible biodisponibilité, le temps de demi-vie trop court et la faible sélectivité par rapport à d'autres protéases à sérine. Il y a donc place à de grandes améliorations et ceci explique pourquoi il y a beaucoup d'activité dans le domaine de la création d'inhibiteurs de la thrombine.⁵

Chapitre II
Design et synthèse d'indolizidinones inhibiteurs
d'enzymes de la coagulation sanguine

II.1 Introduction aux différentes stratégies de synthèse d'indolizidinones

Le peptidomimétisme est une approche qui est caractérisée par la synthèse d'analogues d'acides aminés qui présentent les mêmes effets thérapeutiques que les motifs peptidiques naturels avec l'avantage d'une stabilité métabolique plus accrue.¹⁴ Un exemple très populaire est la rigidification d'un motif dipeptidique pour inclure un coude β (β -turn). Ces derniers peuvent être d'excellents analogues, essentiellement dans l'éventualité où le motif rigidifié mime la conformation bioactive du substrat naturel (ou de la structure de référence). La Figure 2.1 démontre la façon selon laquelle un coude β peut être rigidifié pour mener à la structure générale de type 1-azaobicycloalcane.¹⁵

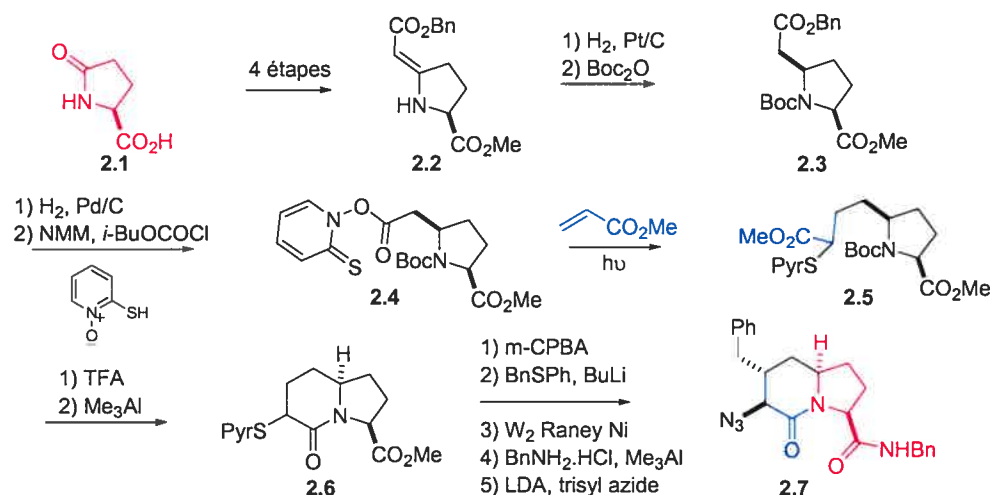
Figure 2.1 Peptidomimétisme de coude β .



Évidemment, ce type de structure peut facilement incorporer différents hétéroatomes ainsi qu'une multitude de substituants à différentes positions sur le système bicyclique. Un survol plutôt spécifique sera élaboré pour les différentes stratégies de synthèse des dérivés 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]nonanes (indolizidinones).

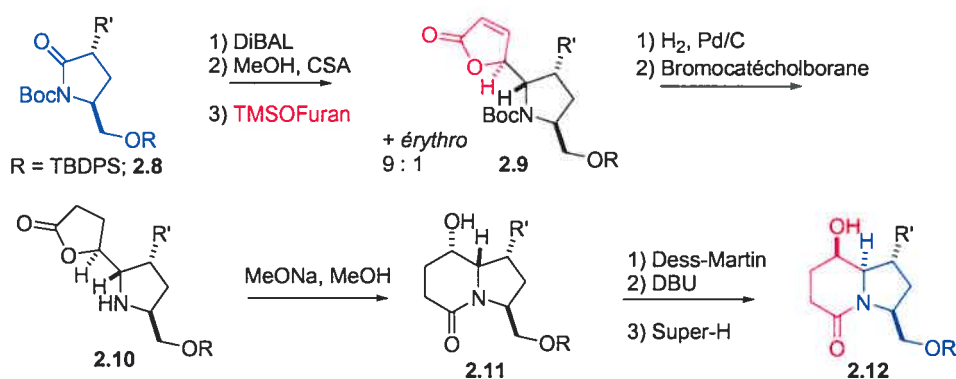
Le groupe du professeur Hanessian¹⁶ a démontré en 1994 une approche radicalaire utilisant les conditions de fragmentation d'un hydroxamate de thiopyridine développées par Barton.¹⁷ Cette approche utilise l'acide pyroglutamique **2.1** comme chiron (précurseur chiral) de départ et conduit à la formation d'une indolizidinone de façon hautement diastéréosélective (Schéma 2.1).

Schéma 2.1 Approche radicalaire de fragmentation de l'hydroxamate de thiopyridine de Hanessian.¹⁶



Cette méthodologie donne la possibilité d'introduire différents groupements par l'exploitation stratégique du groupe thiopyridinyle selon une séquence d'élimination/addition conjuguée suivie d'une alkylation de l'énolate de lactame pour fournir l'indolizidinone hautement fonctionnalisée **2.7**.

Schéma 2.2 Addition de type Mannich vinylogue sur un ion *N*-acyl iminium par Hanessian.¹⁸

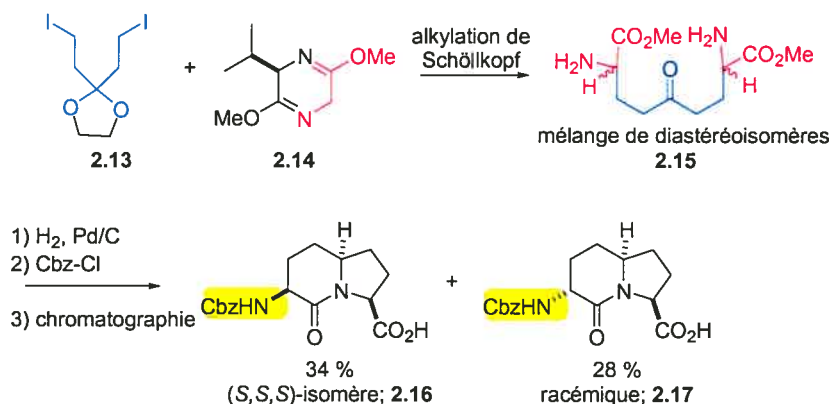


Une seconde approche développée par le groupe Hanessian¹⁸ en 1996 utilisant une addition de type Mannich vinylogue¹⁹ sur un ion *N*-acyl iminium dérivé de l'acide pyroglutamique a permis la formation stéréosélective de l'indolizidinone **2.11** qui peut

être facilement épimérisée pour obtenir l'isomère **2.12** (Schéma 2.2). Cette stratégie peut aussi s'effectuer en présence de substituants (R') sur le cycle pyrrolidine afin d'obtenir une indolizidinone diversifiée.

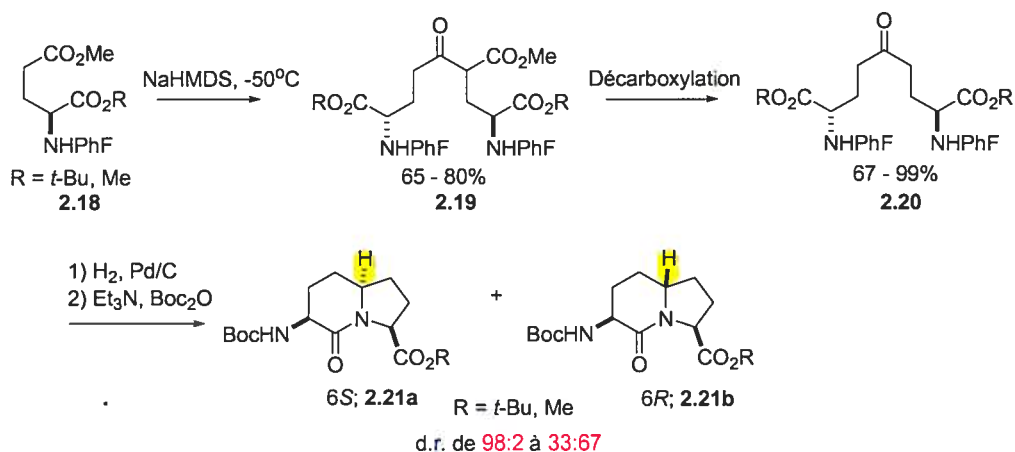
Bien que le choix de la proline ou de l'acide pyroglutamique²⁰ soit justifié comme produit de départ pour la synthèse de motifs indolizidinones, la synthèse développée par Mueller et Revesz²¹ en 1994 repose sur une cyclisation intramoléculaire d'un précurseur acyclique. Après avoir effectué une alkylation de Schöllkopf²² sur le dérivé bis-lactime **2.14** menant à un mélange diastéréoisomérique de la cétone diaminée **2.15**, une amination réductrice conduit à un mélange séparable par chromatographie (au niveau des dérivés carbamates correspondants) des isomères **2.16** et **2.17** (Schéma 2.3).

Schéma 2.3 Méthode par alkylation de Schöllkopf par Mueller et Revesz.²¹



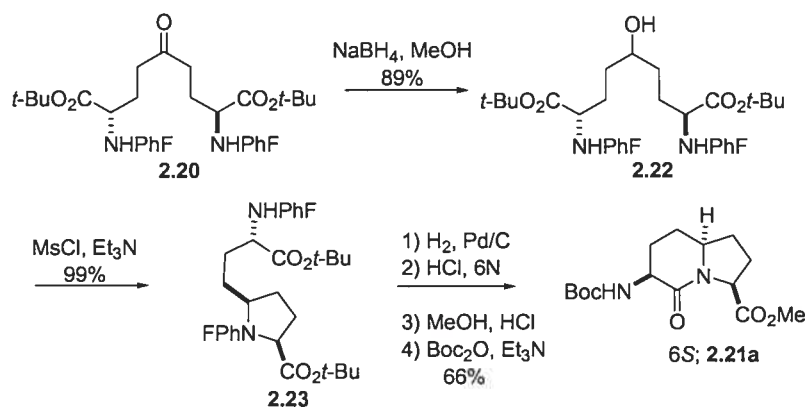
Le groupe du professeur Lubell²³ à l'Université de Montréal a proposé en 1994 une approche en cascade de type condensation de Claisen/amination réductrice/lactamisation. Cette séquence mène aux indolizidinones **2.21a** et **2.21b** dans des rendements de 61% et 41% respectivement (Schéma 2.4).

Schéma 2.4 Condensation de Claisen/amination réductrice/lactamisation de Lubell.²³

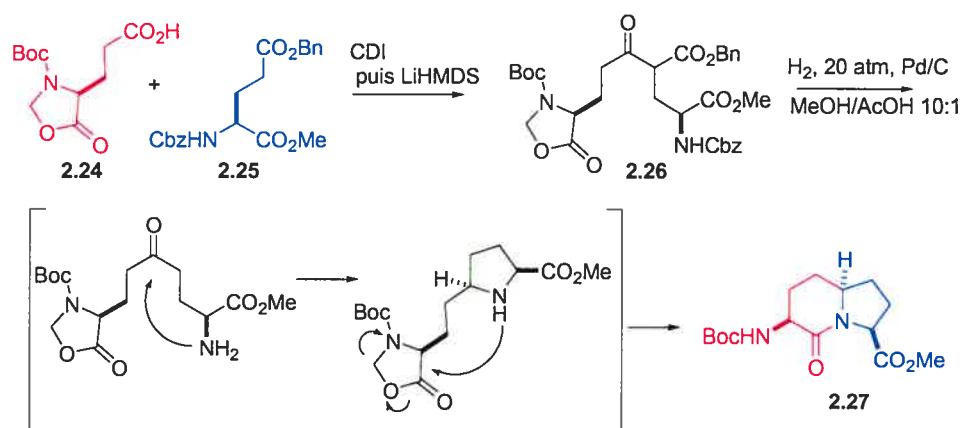


Peu de temps après, le groupe de Lubell a présenté une approche différente faisant intervenir un déplacement de type S_N2 sur un composé symétrique (Schéma 2.5).²⁴ Une hydrogénation diastéréosélective suivie d'une hydrolyse et formation de lactame mènent à l'indolizidinone **2.21a** avec des ratios diastéréoisomériques variant de modeste à excellent.

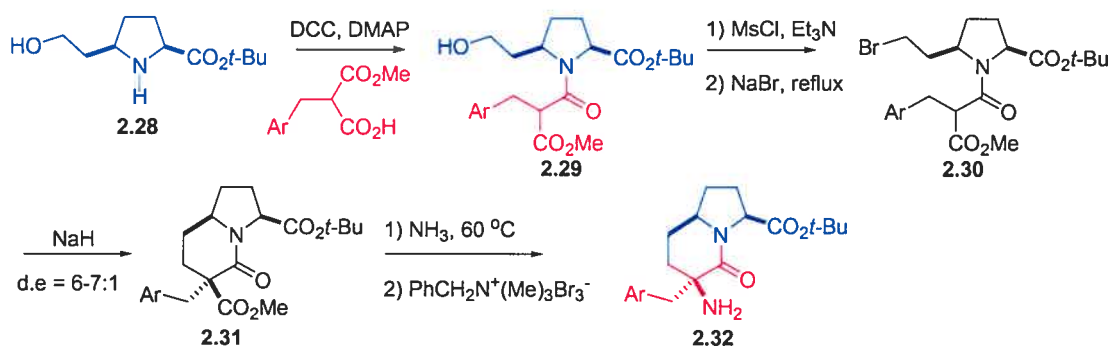
Schéma 2.5 Seconde approche de Lubell utilisant un déplacement S_N2.²⁴



En 1997, Kahn et collaborateurs²⁵ ont publié une approche similaire au professeur Lubell reposant sur une condensation de Claisen suivie d'une amination réductrice diastéréosélective pour mener à seulement un isomère de l'indolizidinone désirée **2.27**. Cette méthodologie tandem est démontrée au Schéma 2.6.

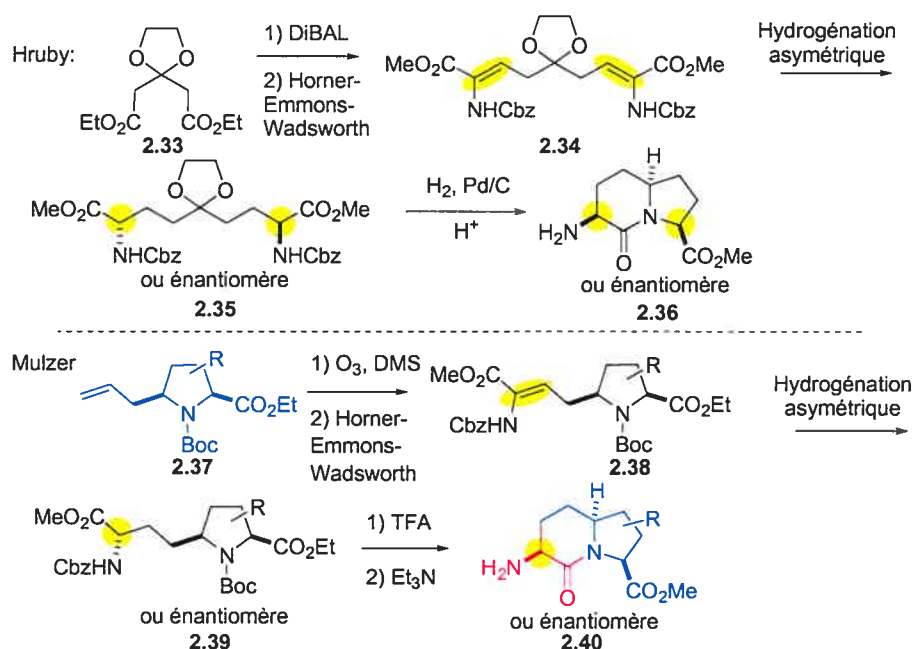
Schéma 2.6 Méthodologie diastéréosélective de Kahn.²⁵

Colombo, Scolastico et collaborateurs²⁶ ont démontré une approche reposant sur une alkylation d'un malonate par un déplacement S_N2. Ainsi, après couplage au DCC de l'amine secondaire **2.28** dérivée de l'acide pyroglutamique avec le mono acide carboxylique du 2-(arylméthyl)malonate, l'alcool primaire est transformé en groupe partant et le déplacement nucléophile est promu en traitant le produit avec l'hydruide de sodium (Schéma 2.7). Par la suite, l'ester méthylique est transformé en amine **2.32** via un réarrangement de Hoffman en deux étapes.

Schéma 2.7 Approche de Colombo et Scolastico par déplacement S_N2.²⁶

Récemment Hruby²⁷ et Mulzer²⁸ ont publié indépendamment une approche utilisant une hydrogénation asymétrique de l'acide aminé déhydrogéné. Cette démarche est illustrée au Schéma 2.8.

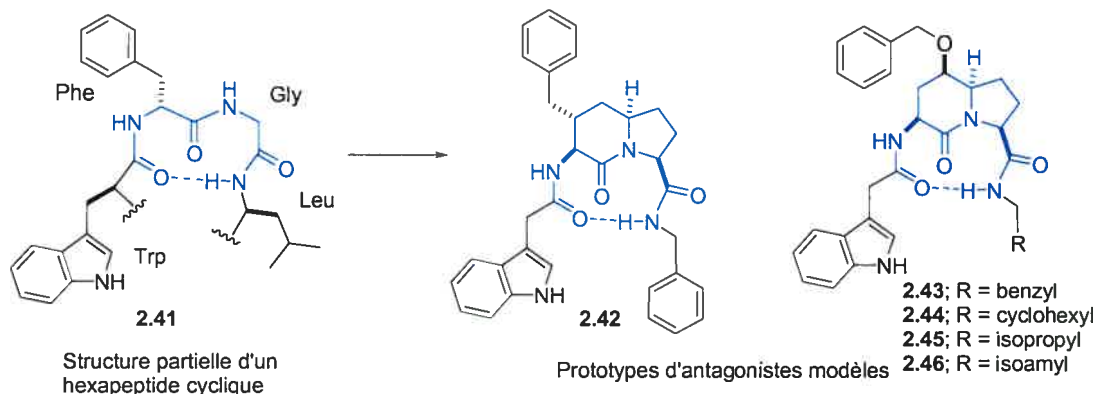
Schéma 2.8 Hydrogénation asymétrique par Hruby²⁷ et Mulzer²⁸.



II.2 Travaux précédents du groupe Hanessian

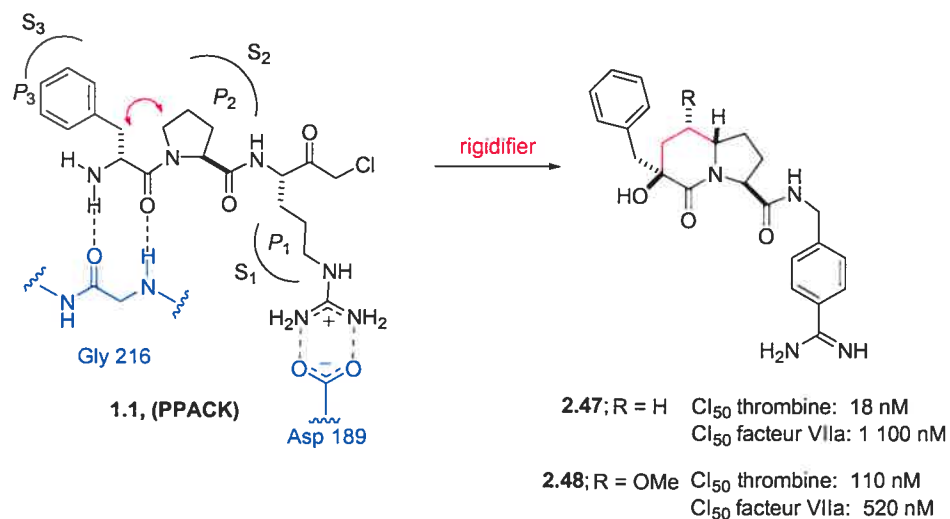
Des travaux antérieurs effectués dans le cadre d'un projet visant la conception et la synthèse d'un antagoniste du récepteur NK-2 de la tachykinin ont mené à l'utilisation d'une indolizidinone comme mimétisme d'un coude β .²¹ L'indolizidinone **2.42** représente un analogue rigide de la conformation tridimensionnelle telle qu'observée dans un hexapeptide cyclique **2.41** (Figure 2.2). La synthèse de cette indolizidinone est basée sur la méthode utilisant la fragmentation radicalaire d'un hydroxamate de thiopyridine tel que discuté plus haut. Les résultats biologiques ont démontré une très bonne sélectivité pour le récepteur NK-2 envers le NK-1, mais avec une affinité modeste. Cette perte d'affinité pour le récepteur NK-2 a été attribuée à la position non-optimale du substituant benzyle (mimétisme du Phe). Ainsi, lors de travaux subséquents, le substituant benzyle a été déplacé et les indolizidinones **2.43-2.46** ont été synthétisées.²⁴ Malheureusement, aucune amélioration de l'activité n'a été observée.

Figure 2.2 Conception et synthèse d'antagonistes du récepteur NK-2 de la tachykinin.^{21,24}



Des travaux récents utilisant le même motif indolizidinone ont mené à la conception d'un inhibiteur puissant de la thrombine **2.47** avec un CI_{50} de 18 nM.²⁹ En effet, en rigidifiant la forme bioactive du PPACK par la formation d'une contrainte au niveau de la rotation du lien peptidique de façon à mimer un coude β , un motif indolizidinone est obtenu (Figure 2.3).

Figure 2.3 Stratégie utilisée pour la conception d'un inhibiteur de la thrombine.²⁹

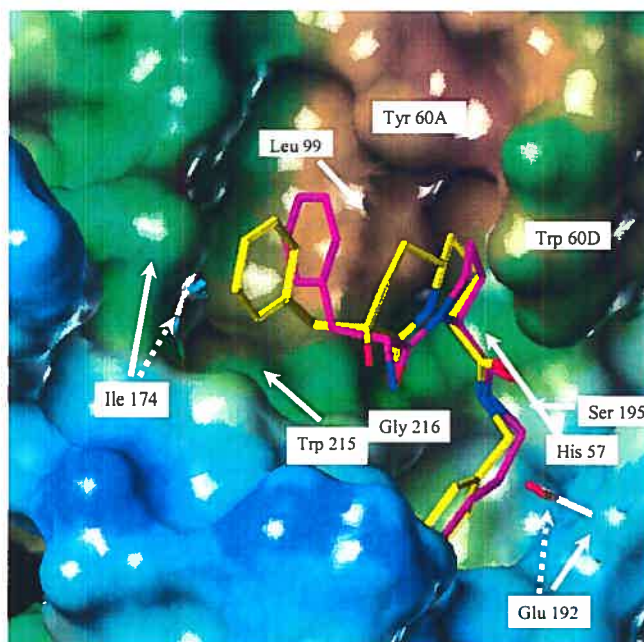


Les composés **2.47** et **2.48** sont des inhibiteurs réversibles de la thrombine puisque la fonctionnalité chlorométhylcétone (ou l'équivalent) n'est pas présente. De plus, l'amine

originellement présente dans la D-Phe est "mimée" par un groupement hydroxyle qui pourra néanmoins participer à une liaison anti-parallèle avec le résidu Gly216.

Le complexe indolizidinone **2.47**-thrombine a été déterminé par rayons X avec une résolution de 1.95 Å. La Figure 2.4 illustre la superposition des structures rayons X de thrombine-**2.47** et PPACK. Bien qu'un bon recouvrement soit observé entre le squelette indolizidinone et PPACK, il semble que certains résidus (principalement Ile174) du site actif de la thrombine se soient déplacés pour accommoder la légère déviation du substituant benzyle en P₃. Un fait intéressant à noter en rapport aux résultats obtenus est le gain en affinité envers le facteur VIIa dans le cas où il y a un substituant méthoxy en position 5 (indolizidinone **2.48**). Cette observation est le point de départ pour l'élaboration de dérivés indolizidinones ayant pour cible le facteur VIIa.

Figure 2.4 Surface de Connolly de la structure rayons X du complexe thrombine-**2.47** (jaune) superposée au PPACK (magenta).²⁹

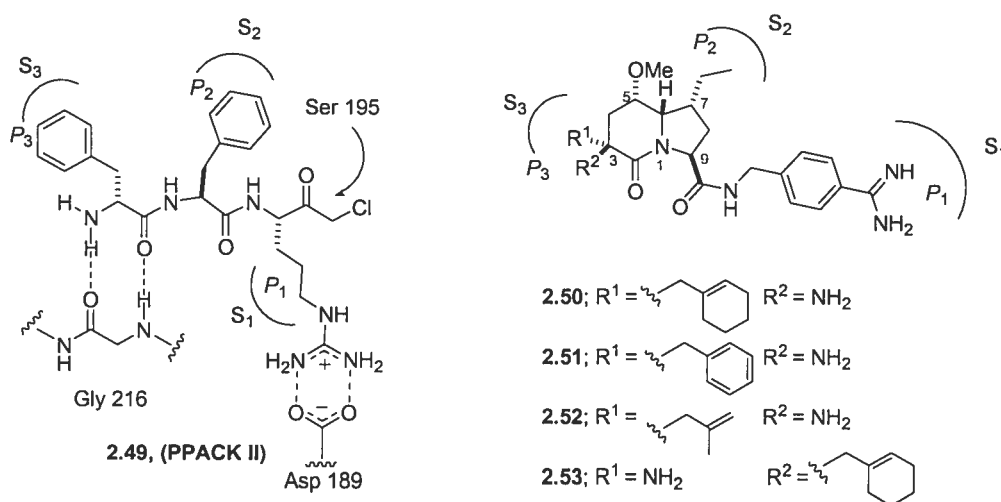


II.3 Modélisation et conception de nouveaux inhibiteurs potentiels du facteur VIIa

Inspiré par les résultats obtenus précédemment, nous avons mis l'emphase sur la conception de nouveaux dérivés d'indolizidinones comportant des substituants de façon à accroître l'activité en faveur du facteur VIIa et d'augmenter la sélectivité envers la thrombine.

Le facteur VIIa³⁰ intervient plus tôt dans la cascade de la coagulation sanguine et agit au niveau de la voie extrinsèque (Figure 1.2). Cette dernière est initiée par la protéolyse du facteur VII en conjonction avec le facteur tissulaire. Le facteur tissulaire est une glycoprotéine membranaire localisée dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le cerveau, le poumon, les parois des vaisseaux sanguins et la placenta. Par conséquent, une blessure mettant en contact le sang avec le tissu déclenche rapidement la voie extrinsèque. En effet, l'addition du facteur tissulaire au système extrinsèque entraîne la formation du caillot en une douzaine de secondes tandis que le système intrinsèque requiert plusieurs minutes pour en arriver au même résultat. Ainsi, une inhibition du facteur VIIa pourrait mener à un meilleur contrôle du phénomène de la coagulation sanguine. L'homologue du PPACK pour le facteur VIIa est le PPACK II qui se différencie par le remplacement de la proline par une phénylalanine en P₂ (Figure 2.5).^{30d}

Figure 2.5 Stratégie de rigidification pour la conception de nouvelles indolizidinones.



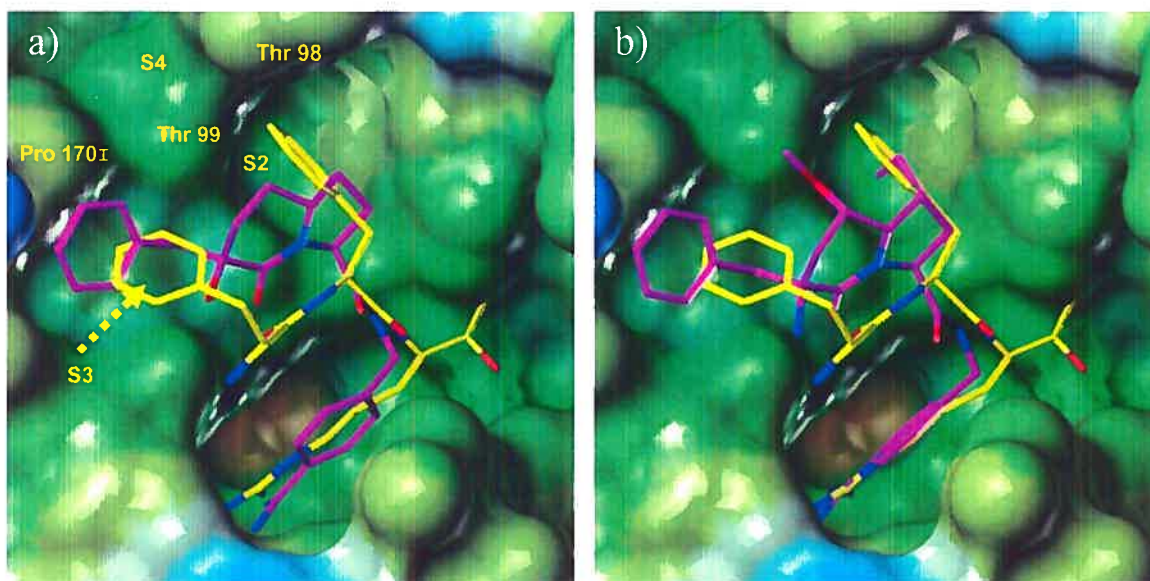
En utilisant une stratégie de rigidification similaire au cas précédent, le tripeptide PPACK II a ainsi été mimé par une structure contrainte de type indolizidinone comme motif central. En tirant profit des résultats observés avec les composés **2.47** et **2.48**, nous avons décidé de conserver le groupement méthoxy en position C-5. Nous avons alors tenté d'optimiser davantage en exploitant la nature du substituant en position C-7.

Les études de modélisation moléculaire effectuées par le Dr. Ingemar Nilsson³¹ à AstraZeneca (Mölndal, Suède) ont démontré que la présence d'un substituant éthyle en position 7 sur le système indolizidinone pourrait être optimale pour favoriser la complémentarité avec la poche S₂ du facteur VIIa. De plus, la substitution du groupe hydroxyle par une amine en position 3 pourrait accroître davantage l'affinité avec l'enzyme. Quelques analogues (**2.50-2.53**) ont été retenus afin d'explorer l'influence des substituants en P₃ ainsi que l'importance de la stéréochimie au carbone 3. Le motif aminométhylbenzamidine en P₁ a été conservé afin de reproduire les interactions ioniques et hydrophobes telles qu'observées avec l'arginine du substrat naturel.

La structure rayons X du facteur VIIa possède une très haute homologie avec la structure de la thrombine. Par contre, certaines différences existent au niveau du site actif.³² Les différences majeures se retrouvent principalement à l'endroit du sous-site S₂. En effet, cette région est légèrement plus ouverte dans le cas du facteur VIIa, menant à une cavité hydrophobe qui se prolonge jusqu'aux environs du sous-site S₃, créant ainsi une nouvelle région S₄. Cette dernière se compose des résidus Thr99, Thr98 et Pro170I. La cavité S₂ est occupée par le résidu L-Phe du PPACK II.

La Figure 2.6 illustre la modélisation effectuée sur le facteur VIIa. Le panneau de gauche montre la superposition de la structure rayons X du complexe facteur VIIa (représentée par une surface de Connolly) et PPACK II (jaune) avec une structure modélisée de l'indolizidinone **2.47** (violet). Le panneau de droite montre la même représentation, mais avec l'indolizidinone **2.51** (violet) modélisée. Le groupement éthyle en position C-7 est ainsi utilisé comme prototype pour occuper le sous-site S₂ du facteur VIIa.

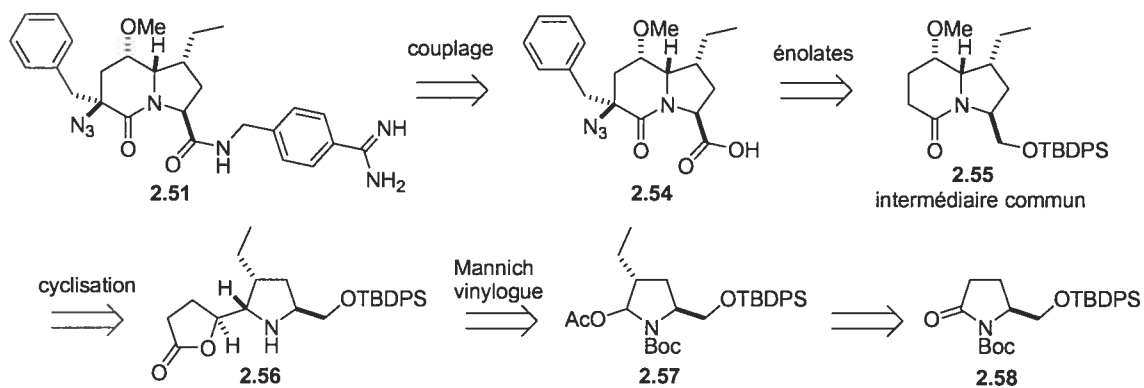
Figure 2.6 Modélisation moléculaire sur le facteur VIIa.³¹



II.4 Approche rétrosynthétique pour la synthèse des indolizidinones

L'approche utilisée pour parvenir à la synthèse des indolizidinones substituées est basée sur la méthodologie développée auparavant dans le groupe tirant profit de l'addition de type Mannich vinylogue sur un ion *N*-acyl iminium. La rétrosynthèse est illustrée à la Figure 2.7.

Figure 2.7 Analyse rétrosynthétique utilisant l'addition de Mannich vinylogue.³¹

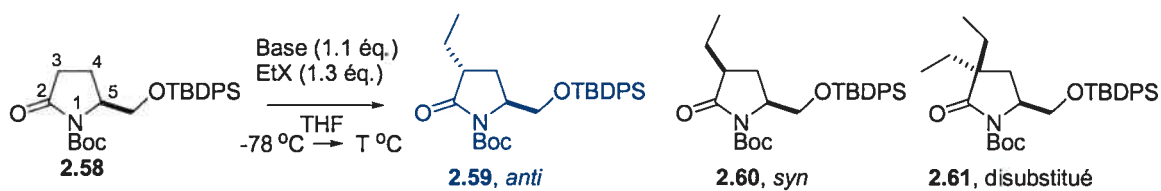


Ainsi, l'indolizidinone **2.51** peut être obtenue par un couplage peptidique entre le dérivé *N*-Cbz de l'aminométhylbenzamidine et l'acide carboxylique **2.54**. Deux réactions d'énolates successives sur la lactame bicyclique **2.55** mènent à l'indolizidinone disubstituée. Cette lactame bicyclique, qui est l'intermédiaire commun pour la synthèse des différents dérivés, est obtenue par une cyclisation impliquant l'expansion de cycle lactone-lactame. La réaction clé est l'addition de type Mannich vinylogue sur l'ion *N*-acyl iminium dérivé de **2.57** qui est obtenu suite à une alkylation diastéréosélective du dérivé **2.58** de l'acide L-pyroglutamique **2.1**.

II.5 Synthèse de l'intermédiaire commun

L'acide L-pyroglutamique **2.1** a été transformé en dérivé *N*-*tert*-butoxycarbamate éther silylé **2.58** par les procédures de Saijo *et al.*^{33a} et de Shin *et al.*^{33b} Ensuite, des études ont été effectuées pour déterminer les conditions optimales d'alkylation de l'énolate de la lactame avec le groupement éthyle.

Les alkylations d'énolates dérivés à partir des acides pyroglutamiques *N*-protégés sont connues et étudiées depuis longtemps.³⁴ De façon générale, l'addition d'un électrophile en position 3 sera contrôlée par l'encombrement stérique généré par le substituant en position 5. La stéréosélectivité observée sera modeste en présence d'un ester méthylique (ou éthylique) tandis que des ratios plus élevés seront obtenus dans le cas d'un éther silylé (TBDPS). De plus, le rendement est généralement associé à la réactivité de l'électrophile. En effet, les électrophiles comme les halogénures allyliques ou benzyliques (dits "activés") donnent de très bons rendements comparativement aux halogénures d'alkyles (à l'exception de l'halogénure de méthyle qui est un très bon électrophile) qui conduisent habituellement à des rendements plus bas.³⁵

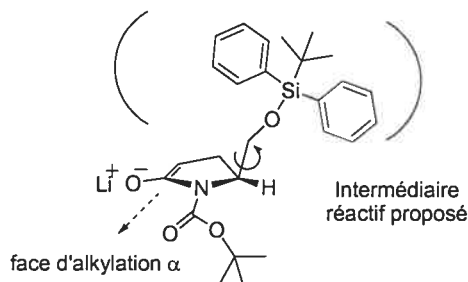
Tableau 2.1 Études des conditions d'alkylation du groupement éthyle.

Entrée	Base	EtX	T °C	Additif	Durée (h)	Ratio (2.59:2.60:2.61)	Rendement isolé (2.59)
1	LiHMDS	EtI	-78 °C	--	4.5	--	0%
2	LiHMDS	EtI	5 °C	--	7	1.1:1:1	25%
3	LiHMDS	EtBr	5 °C	--	7	1.4:1:0.5	9%
4	LiHMDS	EtI	-78 °C	DMPU	5	2.8:1:0.3	18%
5	KHMDS	EtI	-78 °C	DMPU	5	2.6:1:2.2	26%
6	NaHMDS	EtI	-78 °C	DMPU	6	5.3:1:1.5	29%
7	LiHMDS	EtI	-55 °C	DMPU	12	4:1:0.6	50%
8	LiHMDS	EtOTf	-78 °C	--	2	1:0:0	92%

Le Tableau 2.1 résume les résultats en fonction des conditions étudiées pour l'alkylation du groupement éthyle. Aucune réaction n'a été observée avec les conditions utilisant le LiHMDS comme base et l'iodure d'éthyle comme électrophile à -78 °C (entrée 1). Un temps de réaction plus long en laissant le mélange réactionnel atteindre 5 °C a mené à la formation de 25% de produit *anti* isolé avec une absence de sélectivité pour le produit désiré (entrée 2). La substitution de l'iodure d'éthyle par le bromure d'éthyle a confirmé l'hypothèse de la plus faible réactivité de ce dernier (entrée 3). Par la suite, l'ajout de DMPU comme additif (entrée 4) a permis l'obtention du produit *anti* dans un rendement de 18%, en présentant une légère préférence du produit *anti* par rapport aux produits *syn* et disubstitué. Ainsi, le DMPU a été conservé comme additif et des études de l'effet du contre-ion de la base ont été effectuées. Un effet croissant du ratio de la diastéréosélectivité est observé en utilisant le potassium, le lithium et le sodium (entrées 4-6), mais tout en obtenant un rendement sensiblement identique. La combinaison LiHMDS, DMPU et l'iodure d'éthyle à -55 °C pendant 12 heures a mené à l'obtention d'un rendement de 50% du produit *anti* isolé (entrée 7). Finalement l'utilisation d'un meilleur électrophile (entrée 8) a permis de synthétiser le produit *anti* **2.59** de façon exclusive avec un très bon rendement isolé de 92%.

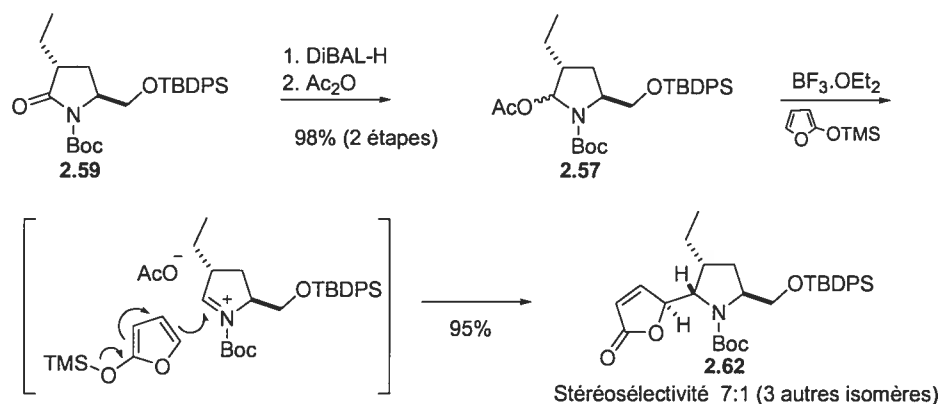
La diastéréosélectivité observée lors de la réaction de l'énolate de lithium avec le triflate d'éthyle peut être généralisée par une addition contrôlée par l'encombrement stérique généré par le groupe éther *tert*-butyldiphénylsilyle (Figure 2.8).

Figure 2.8 Intermédiaire réactionnel proposé pour l'alkylation de l'énolate.



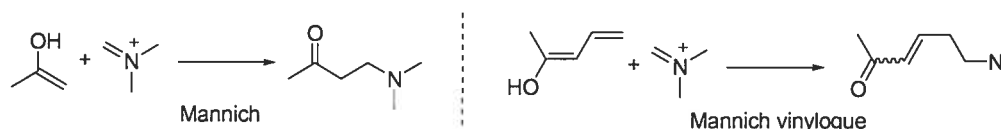
La lactame éthylée **2.59** est ensuite transformée en précurseur **2.57** par une réduction avec l'hydru de diisobutylaluminium suivie de l'acylation de l'hémiaminal obtenu (Schéma 2.9). La réduction de la fonction lactame est facilitée davantage par le caractère plutôt cétonique du carbonyle causé par la présence d'un groupement électroattracteur (*N*-Boc) sur l'amine adjacente. Le buténolide est obtenu suite à l'addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion *N*-acyl iminium généré en présence du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Le produit **2.62** est ainsi obtenu dans un ratio 7:1 en faveur de l'isomère désiré. Cette réaction est très bien documentée et mène à la formation de deux centres asymétriques, générant ainsi un maximum de quatre isomères. On introduit alors quatre carbones à la fois à partir du dérivé du furane.

Schéma 2.9 Synthèse du buténolide **2.62** via la réaction de Mannich vinylogue.



De façon générale, une réaction de Mannich³⁶ implique une addition d'un énol sur le sel d'un ion iminium. Par analogie, une réaction de Mannich vinylogue¹⁹ consiste donc en une addition d'un diénol sur un sel d'un ion iminium (Figure 2.9). Cette réaction est devenue l'une des plus importantes stratégies pour la formation de liens carbone-carbone.¹⁹ La variante vinylogue a gagnée beaucoup d'intérêt grâce à son motif structural présent dans plusieurs produits naturels, mais surtout grâce à la grande polyvalence fonctionnelle de ce motif.

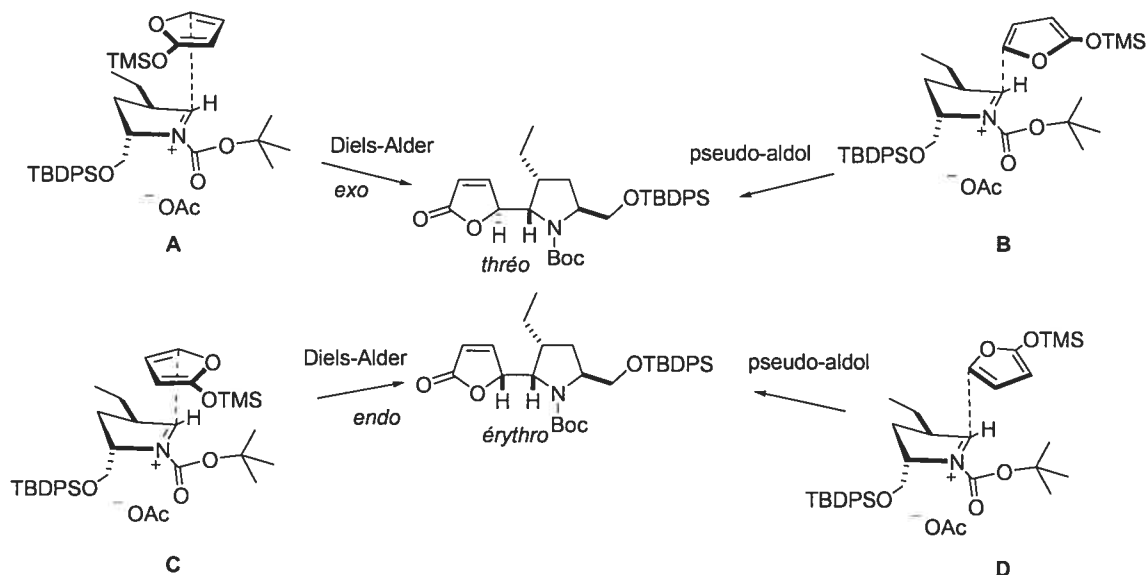
Figure 2.9 Réaction de Mannich et sa variante vinylogue.



Deux centres chiraux sont créés durant la réaction de Mannich vinylogue réalisée avec le triméthylsilyloxyfurane et l'ion *N*-acyl iminium formé à partir de **2.57**. Le centre de la pyrrolidine est contrôlé principalement par l'encombrement stérique généré par le groupe *tert*-butyldiphénylsilyle tandis que le centre sur le buténolide est contrôlé par la préférence d'un état de transition par rapport à un autre. Il existe deux types d'états de transition pour cette réaction, soit l'approche de type Diels-Alder et l'approche de type pseudo-aldol.¹⁹ Chacun de ces états de transition mène soit à la formation du produit *thréo* soit à la formation du produit *érythro*. La Figure 2.10 illustre ces deux approches avec les quatre états de transition possibles.

Le professeur Casiraghi³⁷ est l'une des autorités dans le domaine des additions nucléophiles avec des siloxydiènes. Il soutient que le produit *thréo* est obtenu de façon majoritaire puisque les états de transition **B** et **C** seraient tous deux défavorisés par des contraintes stériques. De plus, la préférence de l'état de transition de type Diels-Alder **A** par rapport à un état de transition de type pseudo-aldol **D** serait avantageée par un recouvrement favorable de l'orbitale de l'iminium avec le système π du siloxydiène.

Figure 2.10 États de transition possibles pour la réaction de Mannich vinylogue.

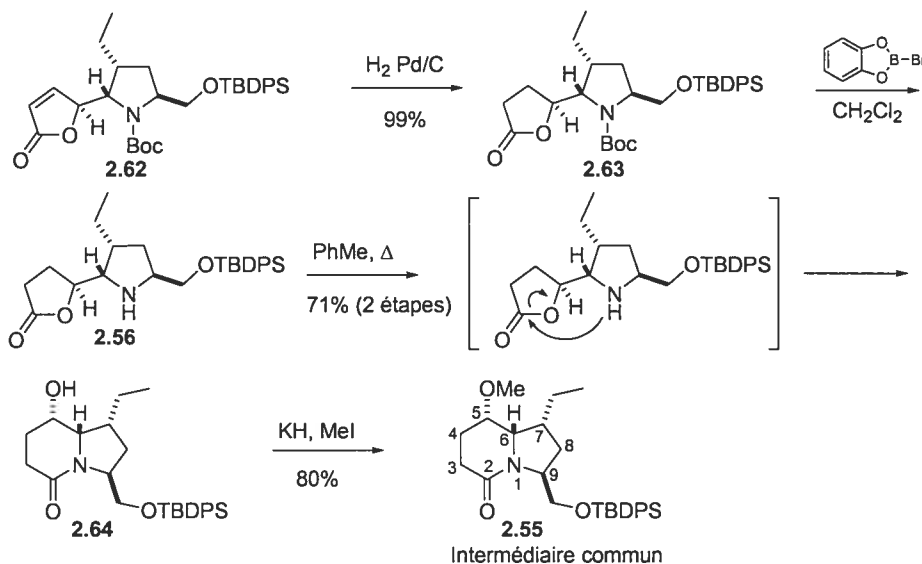


Récemment, le groupe du professeur Martin à l'Université du Texas a effectué des calculs *ab initio* au niveau RHF/3-21G* sur un système similaire.³⁸ Ces études ont déterminé une stabilisation supplémentaire de 0.9 kcal.mol⁻¹ pour l'état de transition de type Diels-Alder **A** menant au produit *threo* par comparaison à l'état de transition de type pseudo-aldol **D** menant au produit *erythro*. L'état de transition de type Diels-Alder **A** est 1.3 kcal.mol⁻¹ plus stable que l'état de transition de type Diels-Alder **C** et 1.8 kcal.mol⁻¹ par rapport au type pseudo-aldol **B** menant au produit *threo*.

Le buténolide **2.62** est ensuite réduit par hydrogénation catalytique et le groupement carbamate de l'amine secondaire **2.63** est enlevé en présence du *B*-bromocatécholborane³⁹ pour mener à l'amine **2.56** (Schéma 2.10). L'utilisation de cet acide de Lewis pour la déprotection du carbamate est justifiée par l'instabilité du groupement *tert*-butyldiphénylesilyle en conditions fortement acides. L'amine est ensuite thermiquement soumise à une expansion de cycle d'une lactone vers une lactame. Cette réaction procède à la température ambiante, mais est grandement accélérée par l'apport d'énergie supplémentaire obtenue par une température plus élevée (reflux de toluène). Cette réaction peut aussi s'effectuer dans des conditions catalytiques en base de type méthanolate de sodium.

Par la suite l'alcool secondaire **2.64** est méthylié en présence de l'hydrure de potassium et de l'iodure de méthyle. Des rendements plus bas ont été obtenus avec l'utilisation de l'hydrure de sodium. Il est à noter qu'il s'agit d'un alcool secondaire pseudo-axial. Cette séquence conduit à l'intermédiaire commun **2.55** qui servira de point de départ pour la synthèse des différents analogues (**2.50-2.53**).

Schéma 2.10 Synthèse de l'intermédiaire commun.

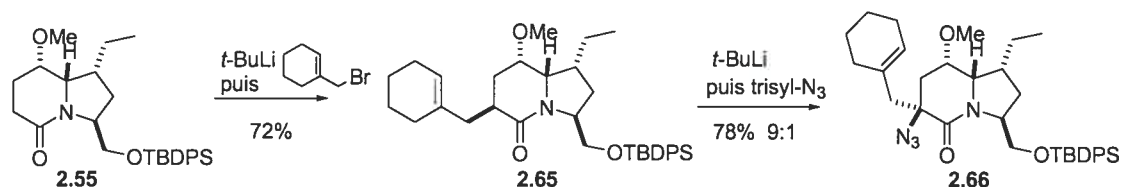


II.6 Synthèse des dérivés cyclohexényméthyle, benzyle et isobutényle

La séquence suivante est la création stéréosélective du centre disubstitué en position 3 afin de synthétiser les différents analogues désirés (voir II.3). La stratégie empruntée repose sur l'alkylation séquentielle des deux substituants via la formation d'un énolate de lithium. Le premier composé synthétisé est le dérivé cyclohexényméthyle. Des études préliminaires ont démontré que la nature de la base utilisée pour les alkylations de l'énolate influence beaucoup le rendement obtenu. L'énolate formé avec le diisopropylamide de lithium (LDA) conduit à un rendement maximal de 50% tandis que l'utilisation du *tert*-butyllithium permet d'obtenir un rendement de 72%. De façon générale, le pK_a d'une lactame est plus haut que le pK_a d'une lactone ($\Delta\text{pK}_a = 3.9-4.5$), d'où la nécessité d'une base plus forte.⁴⁰

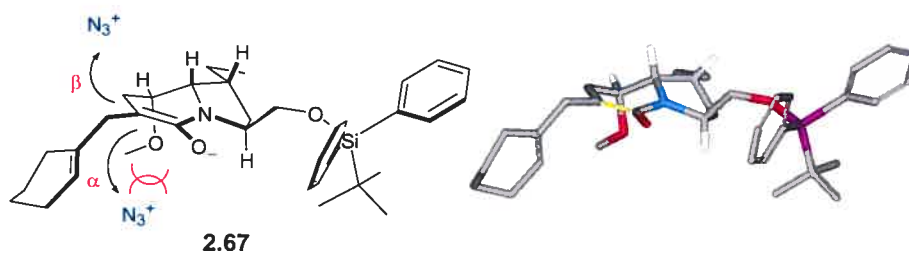
Ainsi, la réaction de la lactame **2.55** avec le *tert*-butyllithium et le bromure de cyclohexényle donne un mélange majoritaire du produit alkyle **2.65** (Schéma 2.11). Ce dernier est traité à nouveau avec le *tert*-butyllithium et l'énolate est alkylé en présence de l'azidure de trisyle, une source d'azidure électrophilique.⁴¹ Un mélange séparable de 9:1 en faveur de l'isomère désiré est obtenu.

Schéma 2.11 Alkylations du dérivé cyclohexényleméthyle.



La stéréosélectivité peut être expliquée par un intermédiaire réactionnel ayant la conformation **2.67** subissant une alkylation par la face β (Figure 2.11). La conformation réactive est caractérisée par la présence du substituant méthoxy en position axiale, défavorisant ainsi par des contraintes stériques l'alkylation par la face α du système bicyclique. La nature de la contre-partie de l'électrophile, le groupement trisyle, permet également d'expliquer la haute sélectivité obtenue.

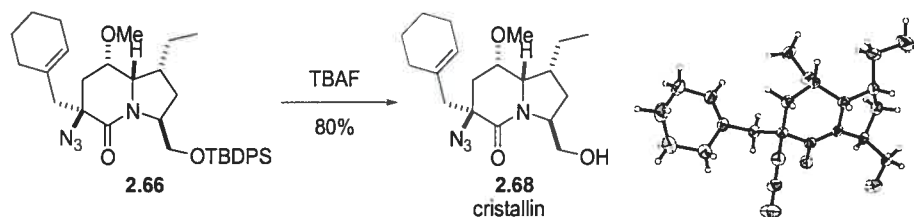
Figure 2.11 Intermédiaire réactionnel proposé pour l'alkylation de l'azidure de trisyle à gauche et représentation tridimensionnelle à droite (simple minimisation, Chem3D).



Le groupement protecteur silylé est clivé par l'action du fluorure de téra-butylammonium générant l'alcool primaire **2.68** sous forme cristalline (Schéma 2.12). Une détermination de structure par rayons X des cristaux obtenus a permis de corroborer la stéréochimie résultante des alkylations d'énolates et par le fait même confirmer l'hypothèse spéculée

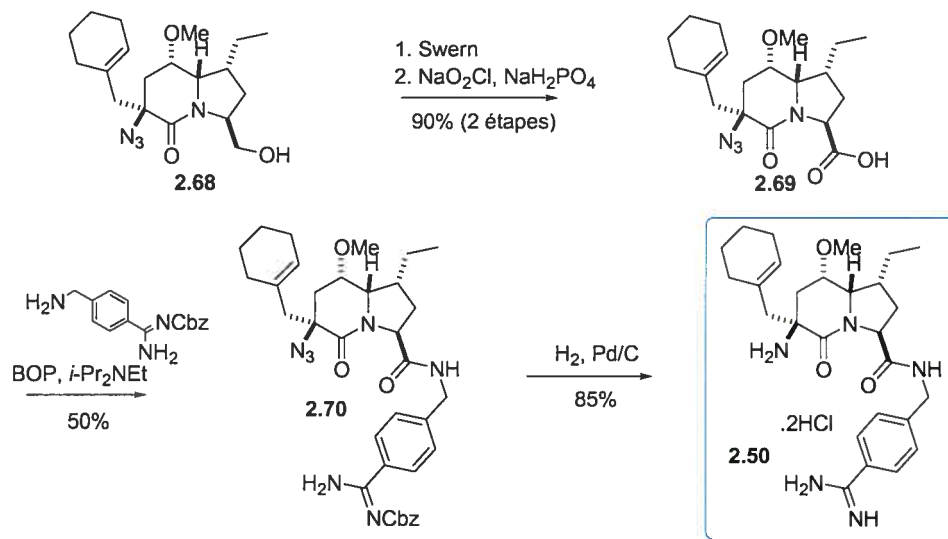
quant à la position axiale du groupe méthoxy en position 5 (bien qu'en solution, la conformation peut être différente).

Schéma 2.12 Déprotection du groupe *tert*-butyldiphénylesilyle.



L'alcool primaire est oxydé en deux étapes à l'acide carboxylique via la réaction de Swern⁴² suivie de l'oxydation de Pinnick⁴³ (Schéma 2.13). Malgré le fait que les conditions d'oxydation ne soient pas compatibles avec une double liaison, il semble que cette dernière ne cause aucun problème lors de cette réaction. Ceci peut probablement être expliqué par une faible réactivité étant donné que cette double liaison est trisubstituée.

Schéma 2.13 Synthèse du dérivé cyclohexényméthyle.

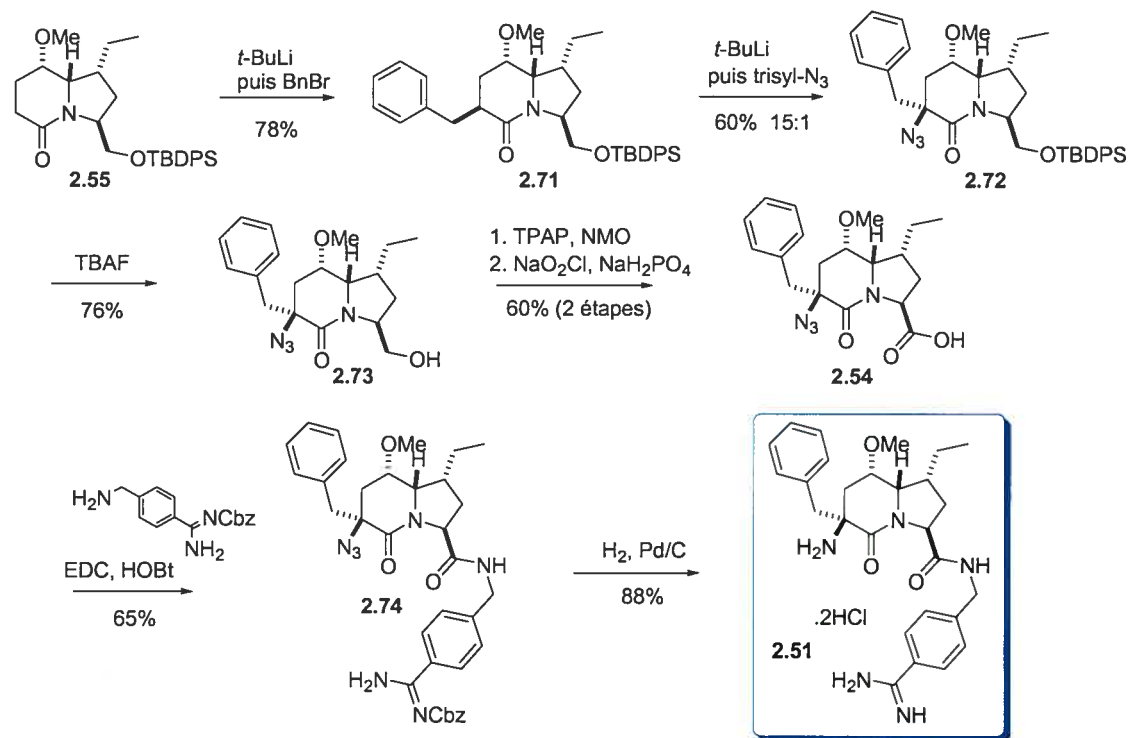


L'acide carboxylique 2.69 obtenu est utilisé pour un couplage peptidique avec le *N*-Cbz aminométhylbenzamidine⁴⁴ pour donner le produit 2.70. Finalement, une hydrogénation catalytique en milieu acide provoque la déprotection du carbamate et la réduction de

l'azidure en amine de façon simultanée pour conduire au dérivé cyclohexényméthyle sous forme de sel chlorhydrate **2.50**. Il est à noter que dans ces conditions, la double liaison du cyclohexényméthyle n'est pas réduite.

Le dérivé benzyle a été synthétisé suivant une séquence similaire au dérivé précédent. L'intermédiaire commun **2.55** est traité avec le *tert*-butyllithium pour former l'énolate qui est alkylé avec le bromure de benzyle conduisant au composé **2.71** (Schéma 2.14). Ensuite, l'énolate du benzyle **2.71** est alkylé avec l'azidure de trisyle pour donner le produit majoritaire **2.72** avec un ratio diastéréoisomérique de 15:1, séparable par chromatographie sur gel de silice. L'alkylation de l'azidure de trisyle a été obtenue avec une meilleure diastéréosélectivité par comparaison avec l'analogue précédent, mais avec un rendement légèrement inférieur. La stéréochimie du centre a été assignée par analogie avec les résultats précédents, c'est-à-dire que le diastéréoisomère majoritaire devrait posséder la configuration *S* désirée.

Schéma 2.14 Synthèse du dérivé benzyle.

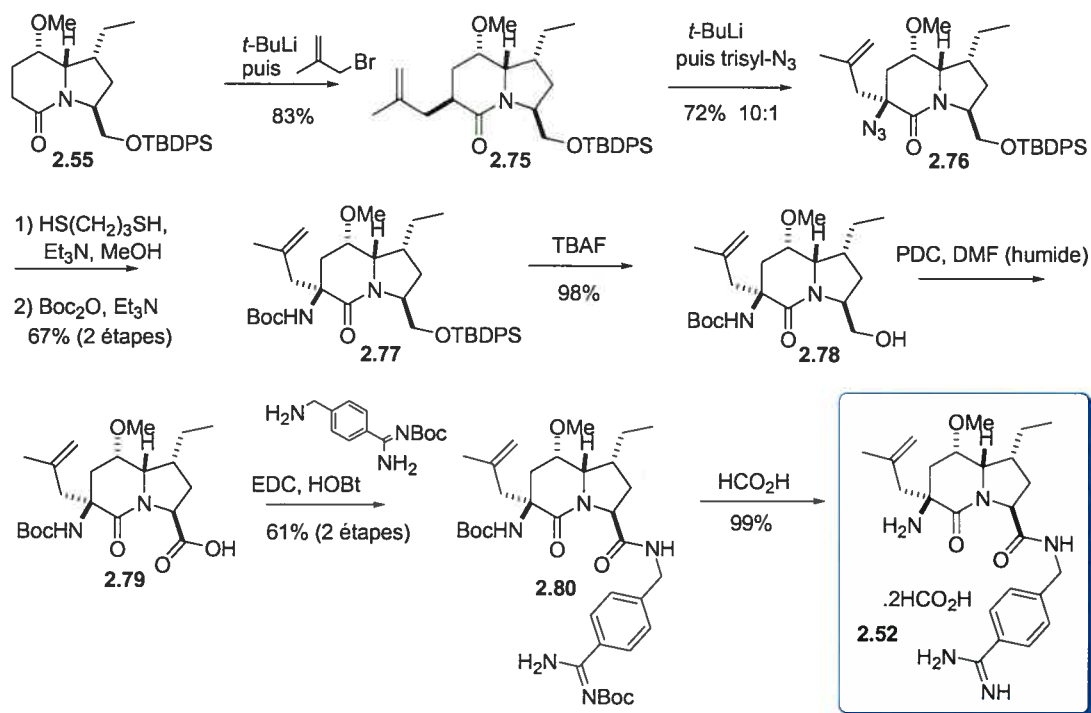


L'alcool primaire **2.73** obtenu suite à la réaction de l'éther silylé **2.72** avec le fluorure de tétrabutylammonium est oxydé en acide carboxylique **2.54** avec une séquence impliquant le réactif de TPAP/NMO⁴⁵ suivi de l'oxydation de Pinnick. Les conditions d'oxydation ont été modifiées puisque la réaction de Swern sur de petites quantités de produits (< 20 mg) n'est pas toujours facile à effectuer du point de vue pratique. Ainsi, les conditions de Ley⁴⁵ ont été utilisées pour l'oxydation en aldéhyde mais malheureusement, un rendement plus bas (par rapport au dérivé cyclohexényle en utilisant les conditions de Swern) a été obtenu. Ceci peut être expliqué par la difficulté à séparer le produit du catalyseur de ruthénium, menant à une perte considérable de produit. L'acide carboxylique **2.54** est ensuite couplé avec le *N*-Cbz aminométhylbenzamidine et la déprotection finale dans les conditions présentées précédemment a donné le dérivé benzyle **2.51** sous forme de sel chlorhydrate.

Le troisième analogue, le dérivé isobutényle, possède une double liaison qui ne résiste pas aux conditions d'hydrogénation catalytique utilisées pendant la dernière étape. Il a donc fallu planifier la voie de synthèse de façon à éviter ces conditions à la toute fin. Le groupe protecteur de la fonction amidine en P₁ a été changé pour un *tert*-butoxycarbonate, lequel pouvant être facilement hydrolysé en conditions acides.

Ainsi, l'intermédiaire commun **2.55** a été alkylé successivement par le bromure de 2-méthylpropène et l'azidure de trisyle dans les conditions habituelles pour obtenir le composé **2.76** avec un ratio de 10:1 séparable par chromatographie sur gel de silice (Schéma 2.15). L'azidure a été réduit en amine en présence du 1,3-propanedithiol⁴⁶ et par la suite l'amine a été protégée sous forme de dérivé *N*-Boc **2.77**. Il est à noter que la réduction de l'azidure dans les conditions de Staudinger n'a donné aucun rendement appréciable de l'amine désirée, probablement dû à l'effet stérique généré par le carbone tétrasubstitué adjacent.

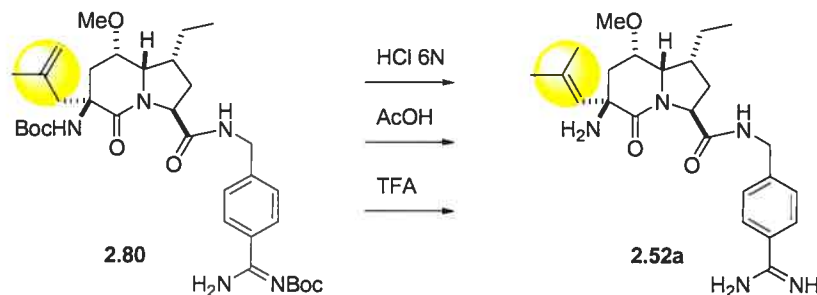
Schéma 2.15 Synthèse du dérivé isobutényle.



La déprotection de l'éther silylé **2.77** et l'oxydation en une étape avec le dichromate de pyridinium dans le DMF humide ont mené à l'acide carboxylique **2.79**. Cette fois-ci, l'oxydation directe de l'alcool primaire a été effectuée dans les conditions PDC dans le DMF humide (non-distillé). Ces conditions conduisent directement à l'acide carboxylique et cette réaction est très pratique autant au point de vue de l'exécution que de l'isolation. De plus, les conditions utilisées précédemment pour la conversion de l'aldéhyde en acide carboxylique ne sont pas compatibles en présence d'une double liaison, telle que présente dans le composé **2.78**.

Le couplage de l'acide **2.79** avec le dérivé *N*-Boc aminométhylbenzamidine et la déprotection finale avec une solution d'acide formique ont mené au dérivé isobutényle **2.52** sous forme de sel d'acide formique. L'utilisation de l'acide chlorhydrique, de l'acide trifluoroacétique ou de l'acide acétique a conduit à l'isomérisation concomitante de la double liaison vers une double liaison trisubstituée (**2.52a**) pendant la déprotection des carbamates (Schéma 2.16). Cette isomérisation n'est pas sans précédent, il est en effet connu qu'une liaison double de ce genre réarrange vers un système plus stable.⁴⁷

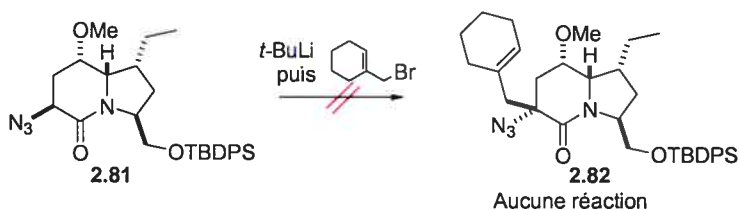
Schéma 2.16 Isomérisation de la double liaison du composé **2.80**.



II.7 Synthèse de l'isomère du dérivé cyclohexényméthyle

Dans le but de valider la nature de la stéréochimie en position 3 requise au site actif de l'enzyme, l'isomère du dérivé cyclohexényméthyle **2.53** a été synthétisé. Puisque la méthode décrite précédemment conduit à la formation d'un mélange de diastéréoisomères dans un ratio de 9:1 à 15:1, il eut été impossible d'utiliser l'isomère mineur pour la synthèse du dérivé épimérique. De plus, une inversion de l'ordre des alkylations n'a pas permis d'y accéder étant donné la faible réactivité du composé azidure **2.81** dans la réaction d'énolate (Schéma 2.17).

Schéma 2.17 Tentative infructueuse d'alkylation du dérivé épimérique en position 3.

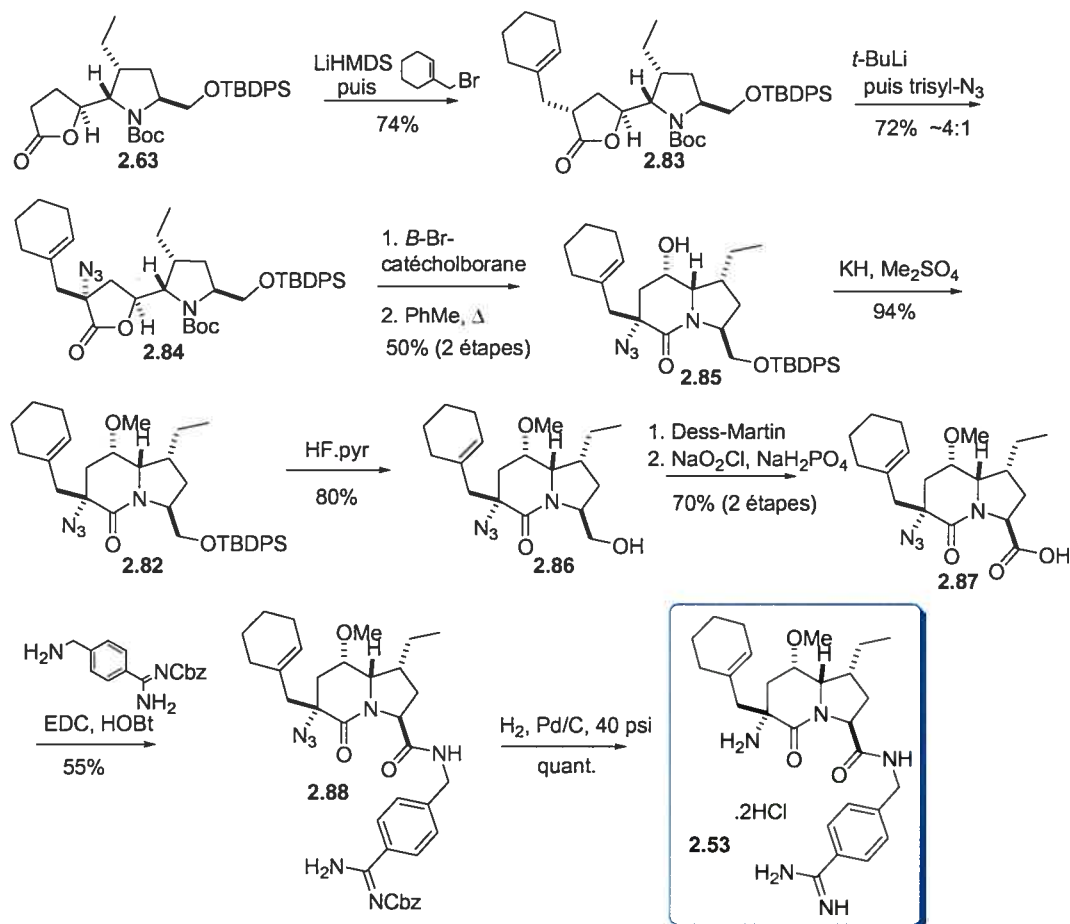


Une nouvelle stratégie a donc été établie en tirant profit de l'intermédiaire obtenu plus tôt pendant la synthèse de l'intermédiaire commun. L'alkylation de l'énolate de la lactone **2.63** avec le LiHMDS et le bromure de cyclohexényméthyle a conduit au dérivé *anti*-**2.83** avec un rendement de 74%. La diastéréosélectivité obtenue peut être expliquée par l'encombrement stérique généré par le cycle pyrrolidine. Les réactions d'alkylations sur

les lactones sont bien connues et conduisent majoritairement aux produits *trans* par rapport au substituant présent.⁴⁸

Ensuite, une seconde réaction de l'énolate formé à partir du *tert*-butyllithium et alkylation avec l'azidure de trisyle, a conduit au mélange diastéréoisomérique de la lactone disubstituée **2.84** dans un ratio d'environ 4:1 (Schéma 2.18).

Schéma 2.18 Synthèse de l'isomère du dérivé cyclohexényméthyle.



Le carbamate **2.84** est clivé avec le *B*-bromocatécholborane et l'amine obtenue est cyclisée pour former l'indolizidinone **2.85** avec un rendement global de 50% sur deux étapes. La disubstitution sur la lactone semble mener à des rendements plus bas lors de la cyclisation vers l'indolizidinone. L'alcool secondaire est par la suite méthylé avec l'hydruure de potassium et le sulfate de diméthyle comme électrophile. L'utilisation de ce

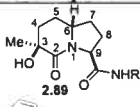
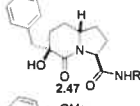
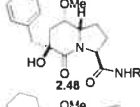
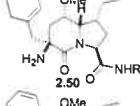
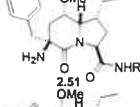
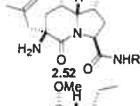
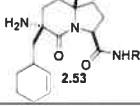
puissant électrophile a été nécessaire probablement dû à la faible réactivité de l'alcoolate de potassium causé par l'encombrement stérique. Un rendement de 94% est ainsi obtenu par comparaison avec < 10% suite à l'utilisation de l'iodure de méthyle.

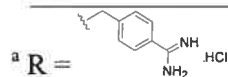
L'éther silylé **2.82** est déprotégé pour libérer l'alcool primaire **2.86** qui est oxydé en deux étapes par les réactions de Dess-Martin⁴⁹ et de Pinnick pour générer l'acide carboxylique **2.87**. Ce dernier est couplé avec le *N*-Cbz aminométhylbenzamidine et finalement, le composé **2.88** est traité dans les conditions d'hydrogénation catalytique à 40 psi pour réduire l'azidure et déprotéger le carbamate de façon simultanée. Tout comme son isomère (**2.50**), la double liaison du cyclohexényméthyle n'est pas affectée par les conditions d'hydrogénation. L'épimère en C-3 du cyclohexényméthyle **2.53** est alors obtenu sous forme de sel chlorhydrate.

II.8 Résultats biologiques

Les tests biologiques sur les analogues synthétisés ont été effectués dans le cadre d'une collaboration avec AstraZeneca, Mölndal. Les résultats d'inhibition pour le facteur VIIa et la thrombine sont énumérés au Tableau 2.2.³¹ Le dérivé benzyle en C-3 (entrée 5) est celui qui démontre la meilleure affinité pour le facteur VIIa en étant quatre fois plus actif que le dérivé isobutényle (entrée 6) et dix fois plus actif que le dérivé cyclohexényméthyle (entrée 4). Dans tous les cas, la sélectivité envers la thrombine n'a pu être améliorée. Le composé épimérique en position 3 (entrée 7) a par ailleurs confirmé la nature du centre stéréogénique en faveur de l'isomère *S* par son manque total d'activité. Le groupement méthoxy en C-5 semble être responsable pour la baisse d'activité envers la thrombine et la légère augmentation de l'affinité pour le facteur VIIa.

Tableau 2.2 Inhibition de la thrombine et du facteur VIIa, mesurée en CI_{50} (μM).³¹

Entrée	Composé ^a	Thrombine	Facteur VIIa
1		0.27	> 10
2		0.018	1.1
3		0.11	0.52
4		0.17	4.6
5		0.21	0.42
6 ^b		0.38	1.6
7		7.2	109



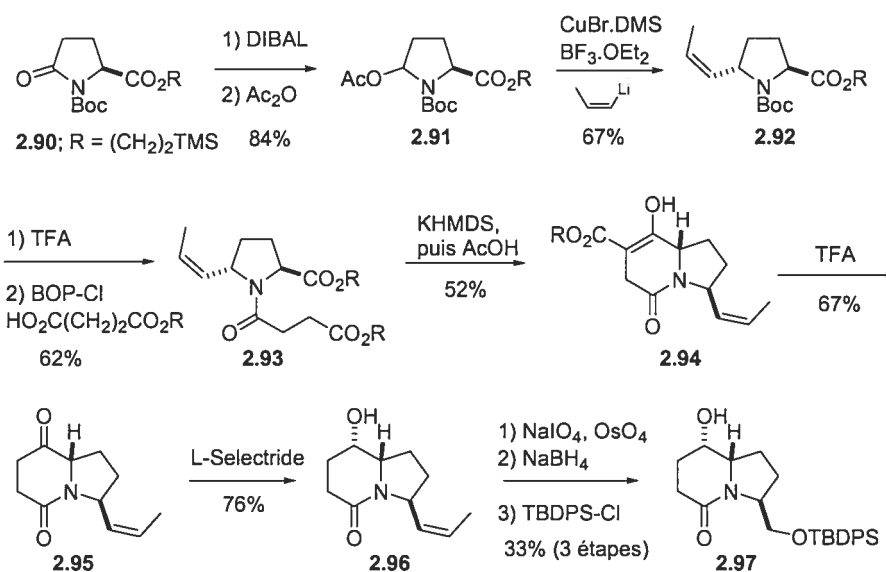
^b Sel de l'acide formique.

Malheureusement, le substituant éthyle en C-7 n'a pas démontré de meilleure sélectivité pour le facteur VIIa par rapport à la thrombine. Cette observation peut être expliquée par une interaction hydrophobique favorable du substituant éthyle dans la poche S_2 de la thrombine et non-optimale pour le facteur VIIa. Cette interaction hydrophobique semble être supérieure à ce qu'il avait été anticipé suite aux études de modélisation moléculaire. L'exploration de différents substituants en C-7 pour favoriser une meilleure complémentarité pourrait éventuellement mener à une optimisation de la sélectivité et de l'affinité pour le facteur VIIa.

II.9 Nouvelles méthodologies de synthèse d'indolizidinones

Pendant le cours de mes travaux, de nouvelles méthodologies de synthèse d'indolizidinones ont été développées dans le groupe. La première approche consiste en une cyclisation intramoléculaire de Dieckmann comme réaction clé. Cette synthèse a été le projet de la stagiaire post-doctorale Dr. Helen Sailes (Schéma 2.19).⁵⁰

Schéma 2.19 Synthèse d'indolizidinone via une cyclisation intramoléculaire de Dieckmann par Dr. Helen Sailes.⁵⁰

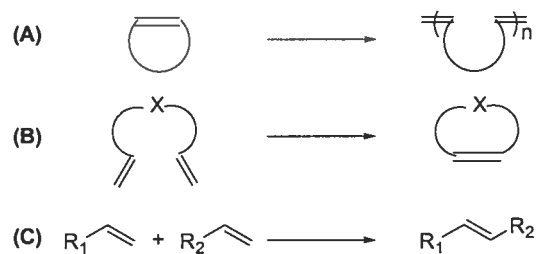


Le dérivé ester silylé **2.90** est transformé en dérivé 5*S*-propényle **2.92** selon une procédure similaire connue.⁵¹ Suite à la déprotection du carbamate par traitement acide, l'amine est couplée avec le succinate de mono triméthylsilyléthyle. Cet intermédiaire **2.93** est le précurseur de la cyclisation intramoléculaire de Dieckmann. La condensation de l'énolate de potassium du composé **2.93** suivie du parachèvement avec l'acide acétique a mené à l'ester β-cétonique **2.94** dans un ratio diastéréoisomérique supérieur à 5:1. La décarboxylation en conditions acides, suivie de la réduction stéréosélective de la cétonne ont conduit à l'indolizidinone **2.96**. Le dérivé propényle a été transformé en éther silylé **2.97** via une séquence de trois étapes impliquant un clivage oxydatif, une réduction et une protection de l'alcool primaire.

La deuxième approche est basée sur la réaction de fermeture de cycle par métathèse entre deux oléfines.⁵² Cette réaction est très versatile à cause de l'accès facile au précurseur bis-oléfine ainsi que sa grande tolérance envers divers groupements fonctionnels.

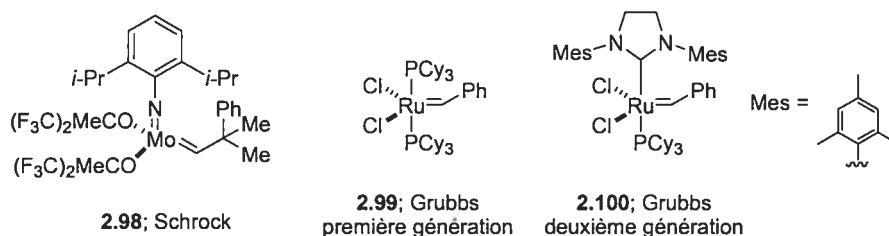
La réaction de métathèse d'oléfine est connue depuis plusieurs années et ce n'est que depuis la fin des années 90 que son application en synthèse organique est devenue un outil sans précédent pour la construction de liens carbone-carbone.⁵² Il existe trois types de réactions impliquant la métathèse d'oléfine: (A) la polymérisation d'ouverture de cycle par métathèse (ROMP); (B) la fermeture de cycle par métathèse (RCM); et (C) la métathèse croisée acyclique entre deux oléfines (CM) (Figure 2.12).

Figure 2.12 Types de réaction de métathèse d'oléfine.⁵²



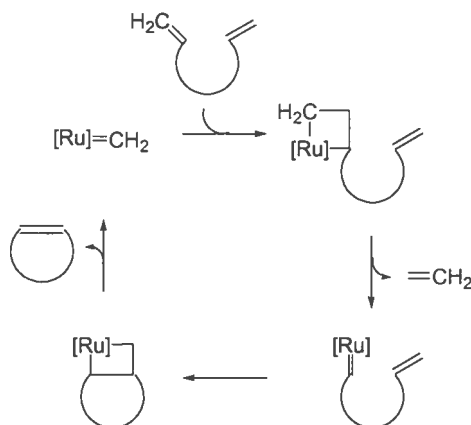
L'émergence de cette réaction est principalement due à la découverte de nouveaux catalyseurs pouvant promouvoir la métathèse de façon très efficace. Les catalyseurs de Schrock⁵³ et de Grubbs⁵⁴ ont été reconnus rapidement étant donné leur facilité d'utilisation et de manipulation (Figure 2.13). Ces catalyseurs à base de carbènes sont hautement réactifs envers un large spectre d'oléfines et sont très résistants aux impuretés, à la présence d'air et d'eau (catalyseurs de Grubbs seulement). Les catalyseurs de Grubbs sont particulièrement compatibles avec beaucoup de groupes fonctionnels et protecteurs.

Figure 2.13 Catalyseurs de Schrock et de Grubbs, première et deuxième génération.



Le catalyseur de Grubbs à base de carbène dihydroimidazolylidène **2.100** récemment introduit comme le catalyseur de deuxième génération a permis d'élargir encore plus le spectre d'application de cette méthodologie.⁵⁵ Ce dernier possède une stabilité accrue à haute température permettant ainsi de parvenir à des réactions avec des oléfines polysubstituées. De plus, la réactivité de ce dernier est largement supérieure à celle du catalyseur de première génération.

Figure 2.14 Cycle catalytique et mécanisme de la réaction de fermeture de cycle par métathèse.⁵²

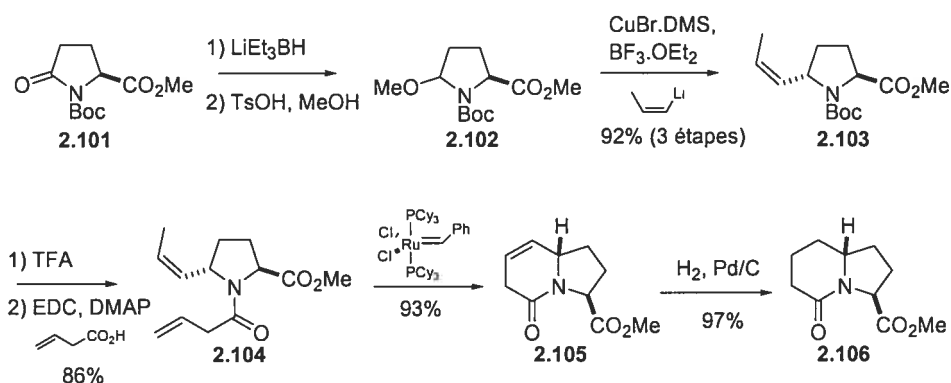


Le mécanisme de la métathèse de fermeture de cycle est caractérisé par la formation de métallocycle entre l'oléfine et le métal du catalyseur (Figure 2.14). Dans le cas où les oléfines ne sont pas substituées, il y a génération d'un équivalent d'éthylène. Dans le cas des catalyseurs de type benzylidène tel que **2.99** et **2.100**, on libère le styrène en premier lieu, ensuite on génère le cycle catalytique avec le méthylène (ruthénium). Ce

mécanisme est tellement efficace que seulement une petite quantité de catalyseur est normalement requise pour obtenir des rendements quasi quantitatifs.

La réaction de fermeture de cycle par métathèse est devenue une stratégie largement exploitée pour la synthèse de composés hétérocycliques.⁵⁶ Le Schéma 2.20 décrit l'approche développée par un étudiant de maîtrise dans le groupe, Alexander Munro, utilisant la réaction de fermeture de cycle par métathèse comme réaction clé pour la synthèse d'indolizidinones.⁵⁰ Ainsi, le dérivé de l'acide pyroglutamique **2.101** est transformé en dérivé 5*S*-propènyle **2.103** via une séquence semblable à celle présentée précédemment. L'hydrolyse du carbamate suivie d'une condensation avec l'acide vinylacétique a fourni le composé bis-oléfine **2.104**. Une cyclisation avec le catalyseur de ruthénium de Grubbs première génération **2.99** suivie d'une hydrogénation catalytique de la double liaison résultante a conduit à l'indolizidinone **2.106** avec de très bons rendements.

Schéma 2.20 Approche par métathèse pour la synthèse d'indolizidinones par Alexander Munro.⁵⁰

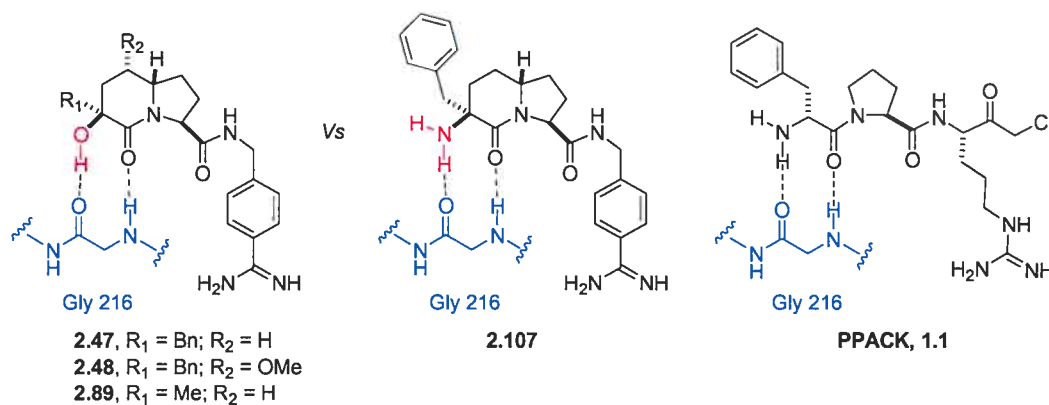


II.10 Synthèse de l'analogue amino indolizidinone comme preuve de concept

Les résultats biologiques précédents n'ont pas pu révéler l'effet de la présence d'une amine en position 3 par comparaison avec les dérivés hydroxy indolizidinones **2.89**, **2.47** et **2.48** (Tableau 2.2). Ainsi, nous avons jugé nécessaire de procéder à la synthèse du

dérivé amino indolizidinone **2.107** (Figure 2.15) afin de valider la preuve de concept de cet inhibiteur comme analogue direct de la D-phénylalanine présente dans le PPACK.

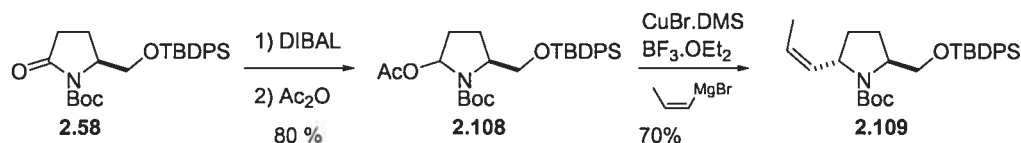
Figure 2.15 Amino indolizidinone comme preuve de concept.



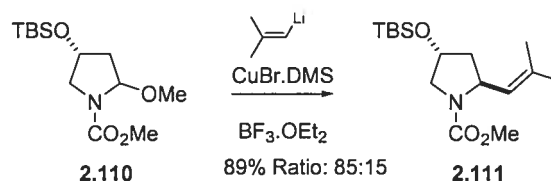
L'hypothèse est basée sur une stabilisation énergétiquement favorable en faveur de l'amine conduisant ainsi à une meilleure affinité avec le carbonyl du résidu glycine 216 du site actif de la thrombine.

La méthodologie empruntée précédemment (addition de Mannich) ne constitue pas une approche très efficace pour la synthèse de ce type d'indolizidinone dénuée de substituant hydroxyle en C-5. La synthèse des indolizidinones **2.47** et **2.89** impliquait une déoxygénation de Barton-McCombie sur un intermédiaire avancé.²⁹

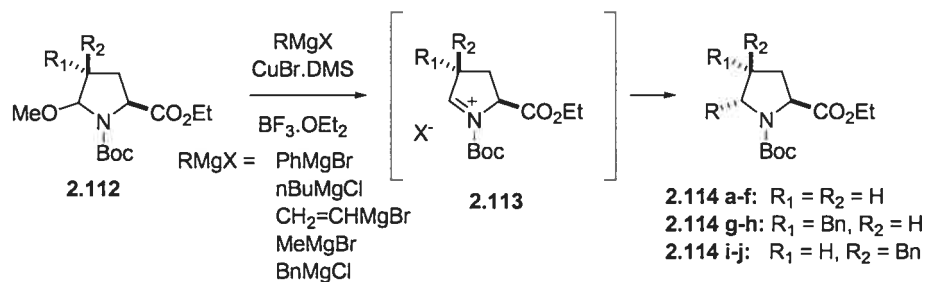
La méthodologie basée sur la fermeture de cycle par métathèse, nouvellement développée par A. Munro, a donc été transposée à la synthèse de l'indolizidinone cible **2.107**. Le dérivé éther silylé de l'acide pyroglutamique **2.58** a servi à nouveau de chiron de départ (Schéma 2.21). Après réduction avec DIBAL et acylation de l'hémiaminal résultant, l'addition de l'organocuiivre conduit à l'intermédiaire 5*S*-propènyle **2.109**. L'addition d'organocuiivre sur un ion *N*-acyl iminium procède de façon hautement stéréosélective. Il est à noter que le propènyle lithien utilisé précédemment a été remplacé par le Grignard correspondant puisque ce dernier est disponible commercialement et ne requiert ainsi aucune préparation. De plus, la génération du lithien à partir du bromure de propènyle ne semble pas être reproductible d'un essai à l'autre.

Schéma 2.21 Addition d'organocuiivre sur l'ion *N*-acyl iminium.

Ce type de réaction est très bien documenté et plusieurs exemples ont été rapportés. Wistrand et Thaning⁵⁷ ont démontré que l'addition pouvait être dirigée par un substituant en position 4 pour mener au produit *trans* avec une bonne sélectivité (Schéma 2.22).

Schéma 2.22 Addition d'organocuiivre par Wistrand et Thaning.⁵⁷

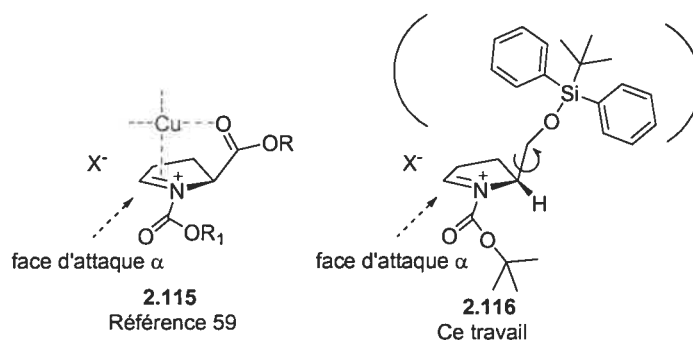
En 1995, Pedregal et collaborateurs⁵⁸ ont démontré que l'addition d'un organocuiivre sur un ion iminium possédant un groupe ester en position 5 procédait toujours avec une stéréosélectivité *anti* à ce dernier. Ils ont aussi observé qu'un substituant en position 4 n'affectait que légèrement la stéréosélectivité observée, favorisant toujours une attaque *anti* au groupe ester en position 5 (Schéma 2.23).

Schéma 2.23 Addition d'organocuiivres par Pedregal et collaborateurs.⁵⁸

Il a été spéculé⁵⁸ que le produit *trans* observé provient de l'attaque du nucléophile sur la face α moins encombrée de l'intermédiaire réactionnel, tel qu'illustré à la Figure 2.16. Puisque dans notre synthèse un éther silylé est utilisé au lieu d'un ester, la complexation

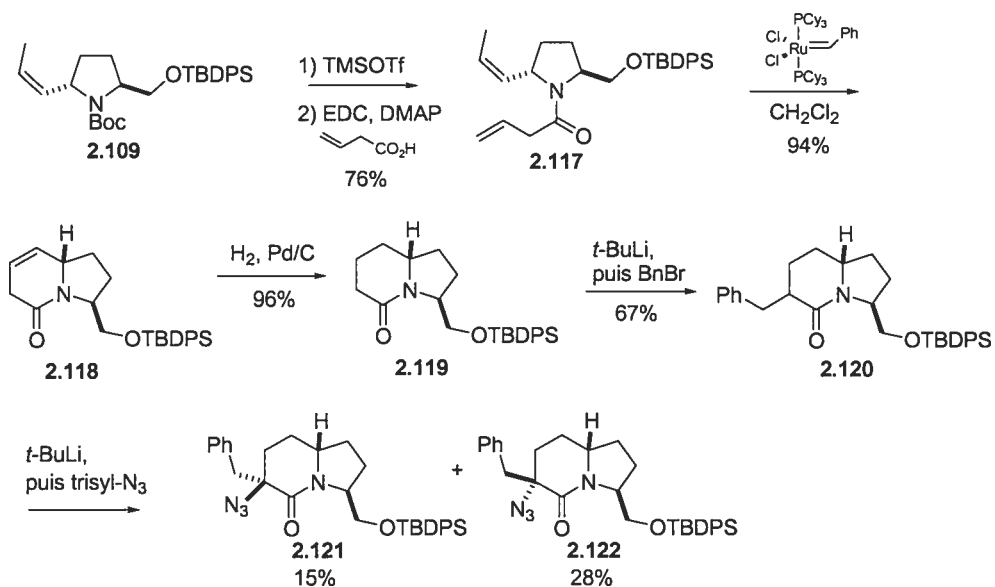
du cuivre avec l'ester n'est donc plus possible. Ainsi, l'éther silylé servira à encombrer considérablement la face β de l'intermédiaire réactionnel pour favoriser l'addition de l'organocuivre par la face α exclusivement.

Figure 2.16 Intermédiaires réactionnels proposés pour l'addition d'organocuivre sur un ion *N*-acyl iminium.⁵⁹



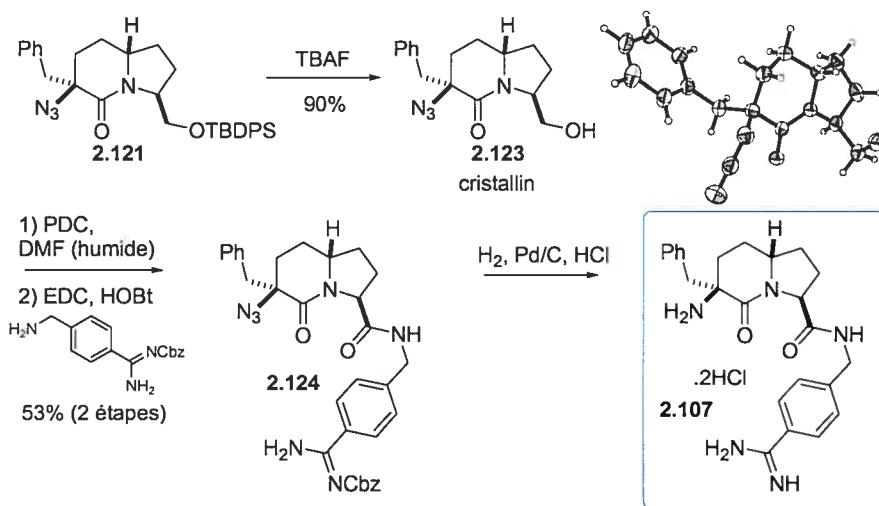
La déprotection du carbamate a nécessité l'utilisation du triflate de triméthylsilyle⁵⁹ étant donné l'instabilité du groupe *tert*-butyldiphénylesilyle dans des conditions acides (Schéma 2.24). Le couplage de l'amine avec l'acide vinylacétique donne le composé bis-oléfine **2.117** qui est cyclisé en présence du catalyseur de Grubbs première génération pour donner l'indolizidinone β,γ -insaturée **2.118**. La double liaison est réduite par hydrogénation catalytique et l'énolate de lithium du composé **2.119** est ensuite alkylé avec le bromure de benzyle pour obtenir le dérivé benzyle **2.120**. L'énolate subséquent est alkylé avec l'azidure de trisyle pour donner un mélange séparable des deux diastéréoisomères **2.121** et **2.122** dans un rendement global de 43%.

Schéma 2.24 Synthèse de l'analogue amino indolizidinone.



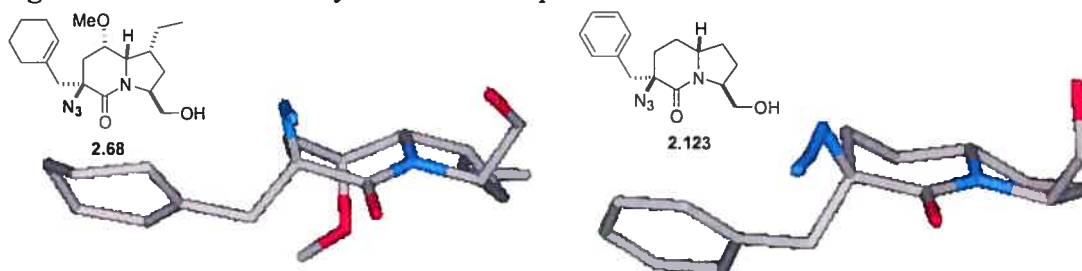
La sélectivité faciale de l'alkylation de l'azidure est renversée par rapport à la stéréochimie obtenue dans le cas des alkylations des dérivés comportant un méthoxy en position 5. L'inversion de la stéréochimie et la faible sélectivité observée peuvent être expliquées par une conformation où la face β du système bicyclique est légèrement plus encombrée dû à la présence de l'éther silylé volumineux et à l'absence des interactions défavorables du groupement méthoxy. De plus, la faible réactivité observée peut être causée par une conformation beaucoup moins réactive de l'énolate de lithium. La stéréochimie absolue au carbone 3 a été déterminée par une analyse cristallographique sur les cristaux obtenus suite à la déprotection de l'éther *tert*-butyldiphénylsilyle (Schéma 2.25).

Schéma 2.25 Fin de la synthèse de l'amino indolizidinone.



La Figure 2.17 illustre une comparaison entre les structures rayons X des composé **2.68** et **2.123**. Ces structures rayons X ne représentent évidemment pas les conformations au niveau de l'énolate pendant les conditions de la réaction, mais permettent toutefois de constater l'influence prépondérante du groupement méthoxy en C-5.

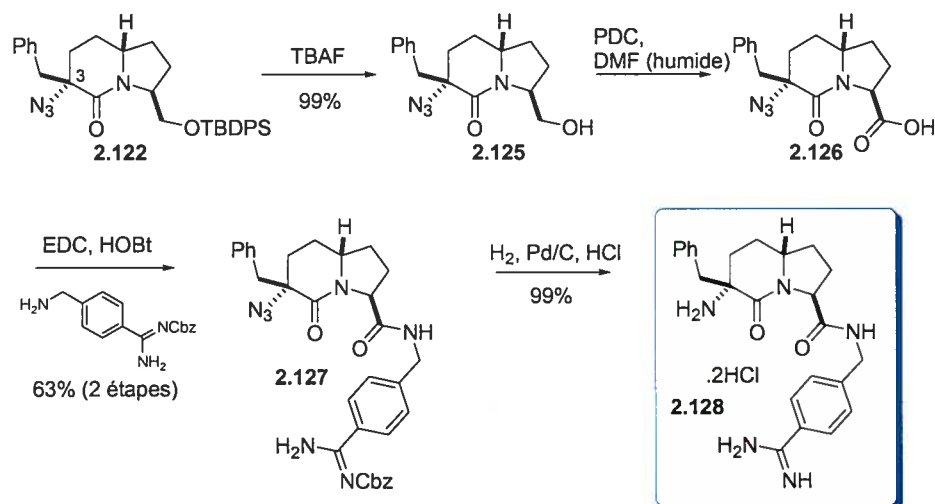
Figure 2.17 Structures rayons X des composés **2.68** et **2.123**.



L'analyse par rayons X de l'alcool primaire **2.123** a permis de confirmer la configuration *S* attribuée à l'isomère minoritaire de l'alkylation de l'azidure. L'oxydation de l'alcool en acide carboxylique et le couplage de ce dernier avec le dérivé *N*-Cbz aminométhylbenzamidine ont conduit au composé **2.124** dans un rendement global de 53%. Une hydrogénation catalytique en conditions acides a permis la déprotection du carbamate et la réduction de l'azidure de façon simultanée pour mener à l'amino indolizidinone **2.107** sous forme de sel chlorhydrate.

L'épimère en position 3 (**2.128**) a aussi été synthétisé à partir du produit majoritaire provenant de l'alkylation de l'azidure suivant une séquence identique (Schéma 2.26).

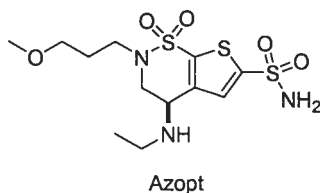
Schéma 2.26 Synthèse de l'épimère en position 3 de l'amino indolizidinone.



II.11 Sultames comme analogues rigides de la proline

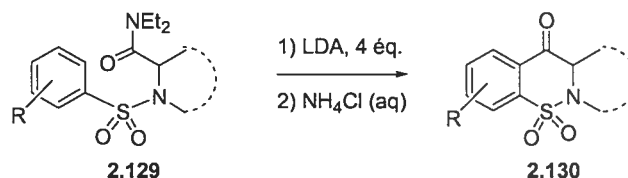
Les sulfonamides sont des entités qui sont connues pour être de très bons isostères de liens amides et leurs utilisations en peptidomimétisme ne fait que s'accroître d'années en années.⁶⁰ De plus, les sulfonamides cycliques (sultames) peuvent être considérées comme analogues fonctionnels des lactames. Leur incorporation dans un motif peptidique peut résulter en une restriction conformationnelle de cette sous-structure de façon similaire aux lactames correspondantes. Malgré le fait que les sulfonamides cycliques n'aient pas d'occurrence dans les produits naturels (au meilleur de notre connaissance), un médicament récemment introduit sur le marché (brinzolamide, Azopt®)⁶¹ pour le traitement de glaucome comporte une telle fonctionnalité comme analogue d'un thiophène bicyclique (Figure 2.18).

Figure 2.18 Médicament comportant une fonctionnalité sultame.

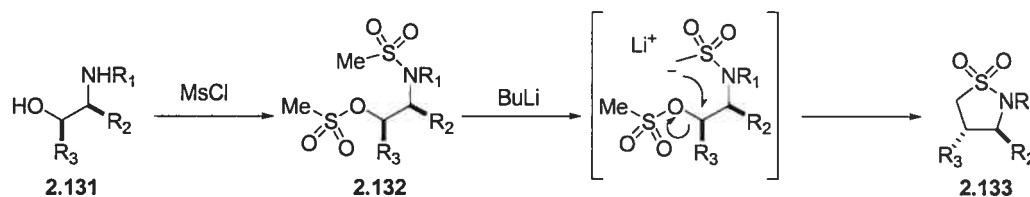


Il existe plusieurs méthodes pour la synthèse de sulfonamides cycliques utilisant différentes approches. Une des méthodes privilégiées pour la formation d'un système bicyclique aromatique comportant une unité sulfonamide consiste en la réaction d'acylation anionique de Friedel-Crafts avec une sulfonamide acyclique telle que démontrée par Snieckus et collaborateurs (Schéma 2.27).⁶² Ainsi, des dérivés benzothiazinones **2.130** peuvent être obtenus suite au traitement de l'amide **2.129** avec le LDA.

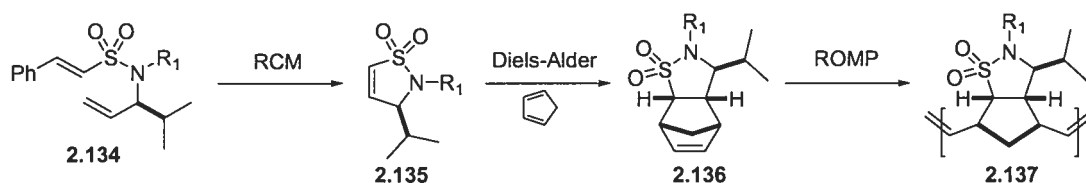
Schéma 2.27 Synthèse de dérivés benzothiazinones par acylation anionique de Friedel-Crafts.⁶²



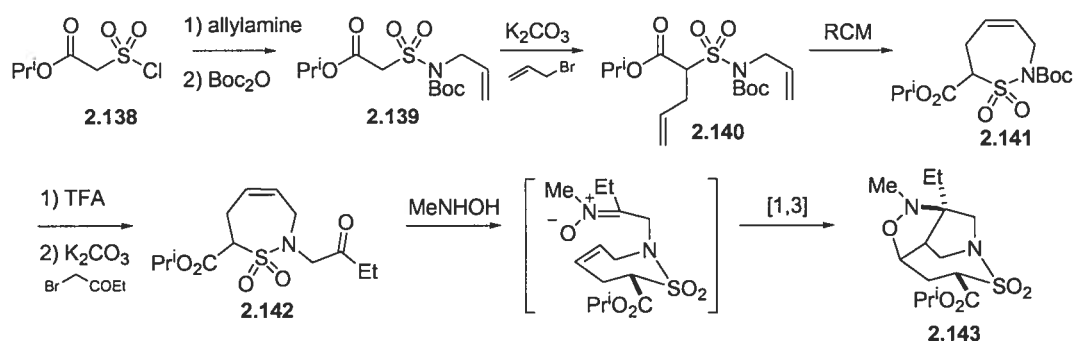
Les substitutions nucléophiles sont aussi des méthodes très largement utilisées pour la synthèse de sulfonamides cycliques. Cooper⁶³ a publié la synthèse de dérivés propane-1,3-sultames **2.133** à partir de 2-amino alcools *N*-substitués **2.131**. L' amino alcool mésylé **2.132** est traité avec du butyllithium pour générer une sultame suite au déplacement nucléophile de l'anion de la sulfonamide sur le mésylate. Cette approche est illustrée au Schéma 2.28.

Schéma 2.28 Synthèse de propane-1,3-sultame par substitution nucléophile.⁶³

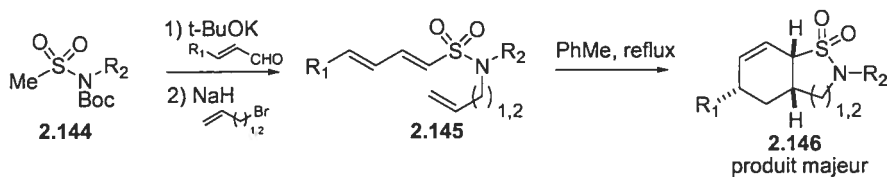
Plusieurs exemples de cyclisations intramoléculaires menant à des sultames utilisent la réaction de fermeture de cycle par métathèse. Hanson et collaborateurs⁶⁴ ont démontré une approche très efficace pour la synthèse de sultames chirales **2.135** (Schéma 2.29). Ces sultames se sont avérées de bons diénophiles dans le cadre de réactions de Diels-Alder en présence du cyclopentadiène. Par la suite, ces adduits **2.136** peuvent être soumis en présence d'une quantité catalytique du catalyseur de Grubbs et ainsi réaliser une réaction de polymérisation par ouverture de cycle. Cette stratégie a permis la synthèse d'oligomères de sulfonamides **2.137**.

Schéma 2.29 Méthodologie de Hanson pour la synthèse de sultames.⁶⁴

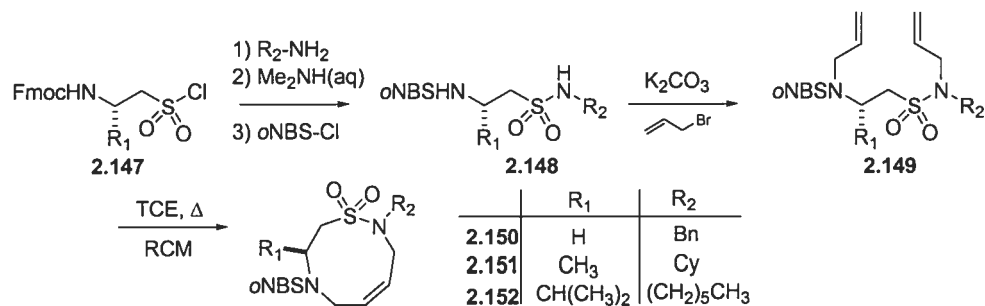
Parallèlement aux travaux de Hanson, les scientifiques de DuPont Pharmaceuticals à San Diego⁶⁵ ont développé une approche similaire basée sur une cyclisation intramoléculaire par RCM d'une sulfonamide acyclique (Schéma 2.30). La sultame **2.141** ainsi obtenue a été utilisée comme motif central pour la synthèse combinatoire d'une petite collection. De plus, dans une publication subséquente, les mêmes auteurs ont démontré que la sultame **2.142** peut être utilisée dans des cycloadditions 1,3-dipolaire pour conduire à des sultames tricycliques pontées **2.143**.⁶⁵

Schéma 2.30 Approche de DuPont utilisant la RCM et cycloaddition 1,3-dipolaire.⁶⁵

La cycloaddition intramoléculaire de Diels-Alder a aussi été utilisée pour la synthèse de sulfonamides cycliques. Tozer et collaborateurs⁶⁶ ont démontré que le diène sulfonamide **2.145** procédait à une cycloaddition de Diels-Alder afin de mener à des sultames bicycliques **2.146** (Schéma 2.31).

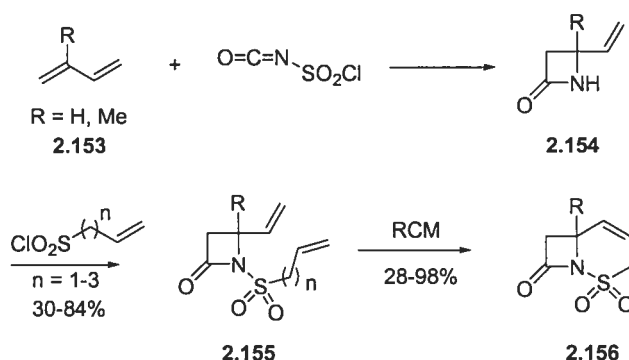
Schéma 2.31 Cycloaddition de Diels-Alder de Tozer.⁶⁶

Tout récemment, Liskamp et Brouwer⁶⁷ ont publié la synthèse de peptidosulfonamides cycliques par la fermeture de cycle par métathèse (Schéma 2.32). Ainsi, à partir de différents chlorures de sulfonyles dérivés d'acides aminés **2.147**, des sulfonamides cycliques à neuf membres **2.150-2.152** ont été obtenues suite à une séquence d'alkylation et de cyclisation.

Schéma 2.32 Peptidosulfonamides cycliques de Liskamp et Brouwer.⁶⁷

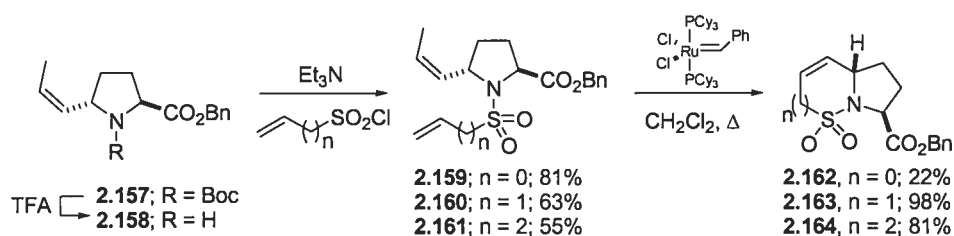
Metz et collaborateurs⁶⁸ ont publié dernièrement une synthèse concise de dérivés β -lactame-sulfonamides hybrides (Schéma 2.33). L'approche consiste en une cycloaddition entre un isocyanate de chlorosulfonyle et un diène (**2.153**) menant aux β -lactames vinyliques **2.154**. Par la suite, l'amide est réagi avec différents chlorures de sulfonyles et les composés di-oléfinés **2.155** sont soumis à une réaction de fermeture de cycle par métathèse pour mener aux hybrides β -lactames-sulfonamides **2.156**.

Schéma 2.33 Synthèse de β -lactame-sulfonamides par Metz et collaborateurs.⁶⁸



Des travaux effectués par la stagiaire Dr. Helen Sailes au sein du groupe Hanessian ont conduit à une méthodologie de synthèse de motifs sulfonamides bicycliques fonctionnalisés énantio-pures.⁶⁹ L'approche utilisée est similaire à celle décrite précédemment pour les indolizidinones basée sur la fermeture de cycle par métathèse. La méthode a permis de synthétiser différentes grandeurs de cycles, soit les sultames 5-5, 6-5 et 7-5 (Schéma 2.34).

Schéma 2.34 Synthèse de sultames par métathèse de fermeture de cycle.⁶⁹



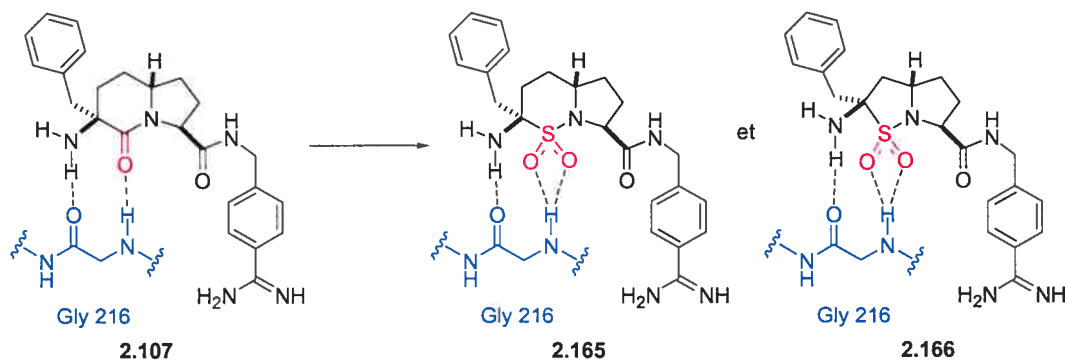
Le dérivé 5*S*-propènyle **2.158** est condensé avec le chlorure de sulfonyle correspondant pour donner les sulfonamides **2.159-2.160** avec des rendements variant de bon à acceptable. Les composés bis-oléfines sont par la suite cyclisés en présence du catalyseur de Grubbs première génération pour conduire aux sultames 5,5 (**2.162**), 6,5 (**2.163**) et 7,5 (**2.164**). Malgré un temps de réaction plus long et une quantité supérieure de catalyseur, la sulfonamide bicyclique **2.162** n'a pu être obtenue qu'avec un rendement modeste de 22%.

II.12 Synthèse des dérivés sultames comme inhibiteurs de la thrombine

Avec la méthodologie déjà établie (développée par Dr. H. Sailes), nous avons envisagé la synthèse de sultames comme inhibiteurs potentiels de la thrombine. Le remplacement de la fonction lactame par une sulfonamide conduit à des analogues directs d'indolizidinones (Figure 2.19).

La synthèse de la sultame **2.166** a été entreprise en premier. Nous n'étions pas convaincu de la possibilité de procéder aux alkylations en position α de la sulfonamide puisqu'il n'existe que très peu d'exemples de ce type d'alkylation homologue aux énolates.

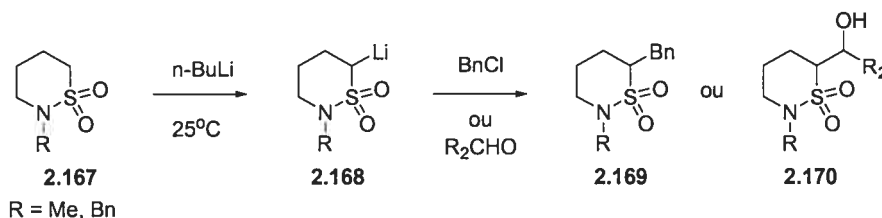
Figure 2.19 Sultames comme inhibiteurs potentiels de la thrombine.



Bien que ce type d'alkylation sur les sulfonamides ne soit pas très répandu, voici tout de même quelques exemples dans lesquels il a été possible de fonctionnaliser la position α de la sulfonamide.

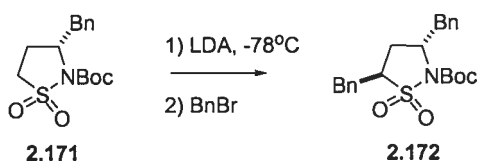
Déjà en 1975, Kaiser et collaborateurs⁷⁰ ont démontré qu'il est possible de former le dérivé α -lithien d'un sulfonamide cyclique suite au traitement de **2.167** avec *n*-BuLi à 25 °C. Cet intermédiaire **2.168** peut être ensuite alkylé avec différents électrophiles pour conduire aux produits **2.169-2.170** (Schéma 2.35).

Schéma 2.35 Alkylations de sulfonamides cycliques par Kaiser et collaborateurs.⁷⁰



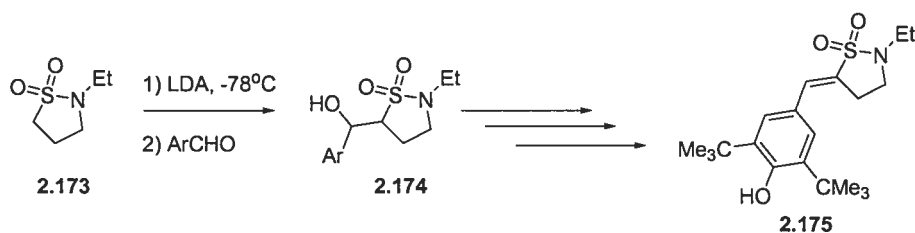
Plus récemment, les scientifiques de Glaxo Wellcome et Vertex Pharmaceuticals⁷¹ ont démontré lors de la synthèse de nouveaux inhibiteurs de la protéase VIH que des sulfonamides cycliques à cinq membres **2.171** peuvent être alkylés (Schéma 2.36). Malheureusement, aucun détail concernant la diastéréosélectivité et le rendement n'est discuté, bien qu'il semble que le produit *trans* **2.172** ait été obtenu majoritairement.

Schéma 2.36 Synthèse d'inhibiteurs de la protéase VIH par Glaxo Wellcome et Vertex Pharmaceuticals.⁷¹



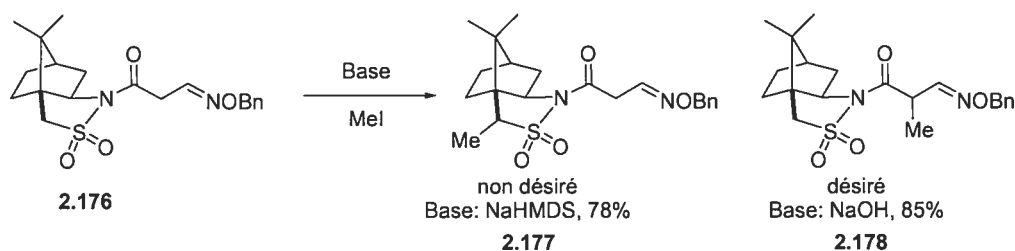
Des alkylations sur des sultams à cinq membres ont aussi été rapportées lors de la synthèse de nouveaux agents anti-arthritiques.⁷² L'anion de la sultame **2.173** est alors réagi avec différents aldéhydes aromatiques pour mener éventuellement aux produits insaturés suite à une réaction d'élimination (Schéma 2.37).

Schéma 2.37 Synthèse de nouveaux agents anti-arthritiques.⁷²



Les alkylations sur des produits polycycliques sont plus rares. Toutefois, ces dernières semblent réalisables puisque Naito et collaborateurs⁷³ ont observé, en 2003, une réaction secondaire lors de la synthèse d'acides β -aminés. Ainsi, l'alkylation stéréosélective du composé 2.176 en utilisant une base forte a conduit exclusivement au produit d'alkylation en α de la sulfonamide sur l'auxiliaire d'Oppolzer 2.177 (Schéma 2.38). En modifiant la base utilisée, le produit d'alkylation désiré 2.178 a néanmoins pu être obtenu.

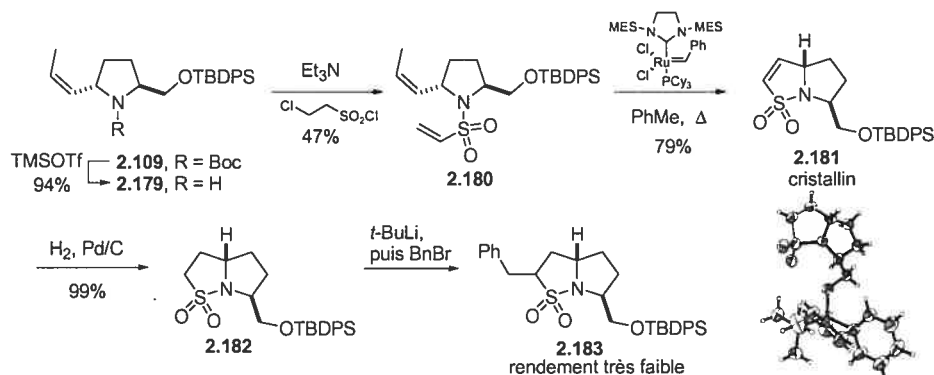
Schéma 2.38 Alkylations stéréosélectives par Naito et collaborateurs.⁷³



Nous avons ainsi commencé la synthèse à partir du dérivé 5*S*-propényle silylé 2.109 décrit précédemment. L'amine 2.179 obtenue après déprotection est traitée avec une solution créée *in situ* de chlorure d'éthènesulfonyle (Schéma 2.39). Le composé bis-oléfine 2.180 est ensuite cyclisé en présence du catalyseur de Grubbs deuxième génération pour donner la sultame 2.181 avec un bon rendement. Il est à noter que la différence de rendement observé par rapport à celui mentionné pour l'obtention du composé 2.162 (Schéma 2.34) est probablement dû à la meilleure stabilité du catalyseur de deuxième génération à une température plus élevée (reflux de toluène vs reflux de dichlorométhane). Une analyse rayons X sur la sultame a permis de confirmer sans ambiguïté la structure ainsi que la stéréochimie relative.

La double liaison du cycle est réduite par hydrogénation catalytique et la sultame **2.182** est soumise à une réaction d'alkylation en présence de *tert*-butyllithium et du bromure de benzyle. Malheureusement, de très faibles rendements ont été obtenus et la synthèse de l'analogue sultame **2.166** a été abandonnée.

Schéma 2.39 Synthèse de la sultame 5,5.

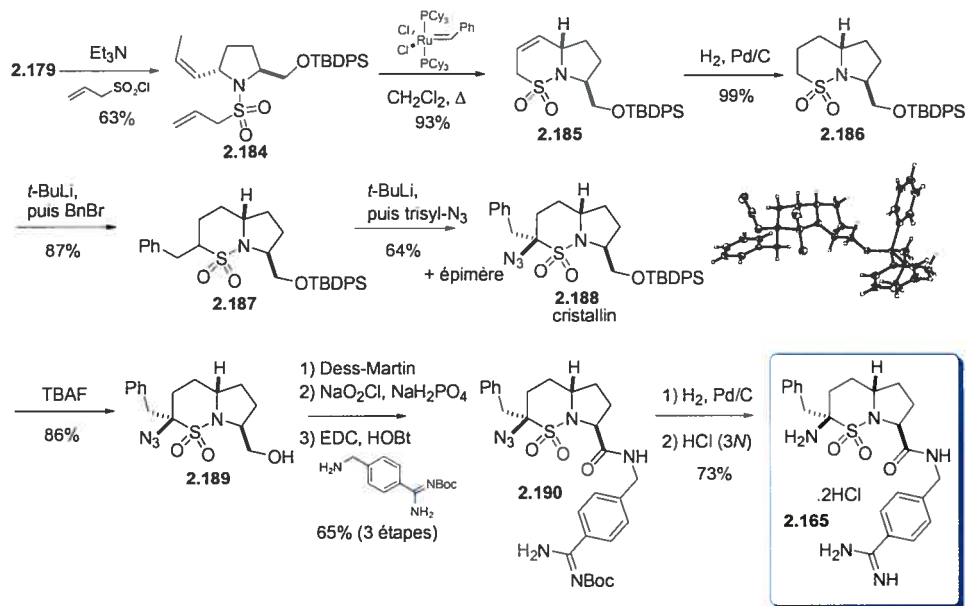


De façon similaire, la synthèse de la sultame **2.165** a été initiée avec l'amine **2.179** qui a été réagi avec le chlorure de propènesulfonyl pour donner la sulfonamide **2.184** (Schéma 2.40). Le dérivé bis-oléfine a été cyclisé en sultame **2.185** avec le catalyseur de Grubbs première génération. La double liaison a été hydrogénée subséquentement par hydrogénation catalytique pour donner la sultame **2.186** avec un rendement de 92%.

L'anion de la sulfonamide a été alkylé avec le bromure de benzyle pour donner un mélange diastéréoisomérique du produit **2.187** avec un très bon rendement. Ce rendement peut être expliqué par une baisse de la tension de cycle résultant en une meilleure réactivité de l'anion sulfonamide du cycle à six chaînons par rapport à l'analogue possédant un cycle à cinq chaînons (**2.182**). L'azidure a été alkylé en suivant la même procédure et un mélange séparable de la sultame **2.188** et de son épimère en position 3 a été obtenu dans un ratio de 1.7:1 et un rendement total de 64%. La faible diastéréosélectivité observée peut être expliquée par l'absence d'interactions défavorisantes telles qu'observées avec le groupement méthoxy axial lors des alkylations sur les analogues **2.65**, **2.71** et **2.75**. Ainsi, les deux faces d'alkylations sont accessibles

et seulement une faible préférence pour la face d'alkylation β est observée. La stéréochimie du nouveau centre chiral tétrasubstitué a été confirmée par analyse rayons X de l'isomère majoritaire.

Schéma 2.40 Synthèse de la sultame 6,5.



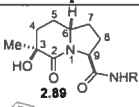
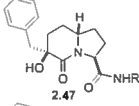
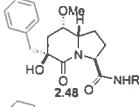
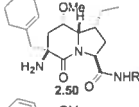
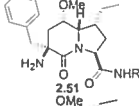
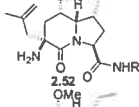
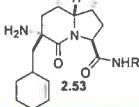
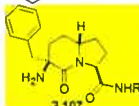
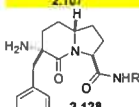
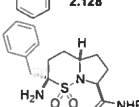
Après la déprotection de l'éther silylé avec le fluorure de tétrabutylammonium, l'alcool primaire **2.189** est oxydé en acide carboxylique via une séquence en deux étapes impliquant les réactions de Dess-Martin et de Pinnick. L'acide carboxylique est couplé avec le dérivé *N*-Boc aminométhylbenzamidine pour mener à l'intermédiaire **2.190**. La réduction de l'azidure en condition d'hydrogénation catalytique suivie de la déprotection du *tert*-butoxycarbamate en conditions acides ont mené à la sultame 6,5 sous forme de sel chlorhydrate **2.165**.

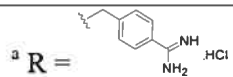
II.13 Résultats biologiques II

Les tests biologiques des trois derniers analogues synthétisés ont été effectués et les résultats figurent au Tableau 2.3. La simple modification du groupe hydroxyle en amine (entrée 2 vs 8) a permis d'augmenter l'activité envers la thrombine d'un facteur d'environ

quatre tandis que l'isomère en position 3 (entrée 9) démontre bien, encore une fois, l'importance de la chiralité *S*. La sultame correspondante (entrée 10) n'a malheureusement pas donné les résultats escomptés puisqu'aucune amélioration de l'affinité n'a été observée.

Tableau 2.3 Inhibition de la thrombine, mesurée en CI_{50} (μM).^{29,31,50,69}

Entrée	Composé ^a	Thrombine
1	 2.89	0.27
2	 2.47	0.018
3	 2.48	0.11
4	 2.50	0.17
5	 2.51	0.21
6 ^b	 2.52	0.38
7	 2.53	7.2
8	 2.107	0.0047
9	 2.128	2.55
10	 2.165	0.494

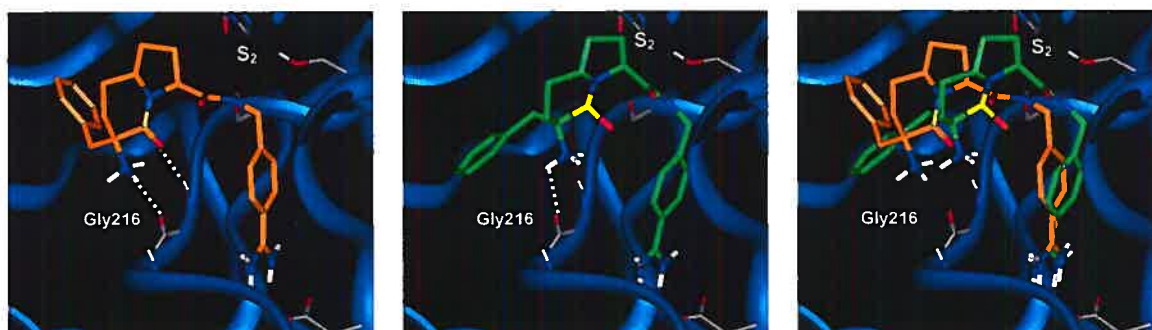


^b Sel de l'acide formique.

La géométrie plutôt tétraogonale du sulfoxyde,^{74,75} comparée à l'hybridation trigonale du carbonyle, conduit probablement à une mauvaise orientation des oxygènes, ce qui résulte

en une liaison hydrogène plus difficile avec le résidu Gly 216 du site actif de la thrombine. La Figure 2.20 montre les résultats de *docking* pour l'indolizidinone **2.107** et la sultame **2.165** avec la thrombine. Il est possible de remarquer que dans le cas de la sultame, le pont hydrogène avec le résidu Gly 216 n'est pas reproduit, ce qui est causé par le décalage de l'inhibiteur vers la région S_2 . De plus, dans un article publié en 1998, Gennari et Potenza⁷⁵ ont démontré par des études physico-chimiques que les oxygènes des sulfonamides sont largement inférieurs comme accepteurs de ponts hydrogènes comparés à l'oxygène d'un amide correspondant.

Figure 2.20 Résultats de *docking* (AutoDock) montrant l'indolizidinone **2.107** (orange) et la sultame **2.165** (vert) dans le site actif de la thrombine.



II.14 Conclusion

Dans la première partie du travail, des indolizidinones hautement fonctionnalisées ont été synthétisées en utilisant la méthodologie de l'addition de type Mannich vinylogue sur un ion *N*-acyl iminium. Ces dérivés sont issus suite à la conception rationnelle basée sur les résultats précédents et visaient le facteur VIIa comme cible biologique. Bien que les résultats biologiques aient démontré une meilleure affinité envers le facteur VIIa, aucune amélioration de la sélectivité envers la thrombine n'a été observée. Par la suite, l'analogue 3-amino indolizidinone et 3-amino sultame ont été synthétisés en employant une méthodologie de fermeture de cycle par métathèse. Ces derniers dérivés ont été testés et le dérivé 3-amino indolizidinone s'est avéré un puissant inhibiteur de la thrombine.

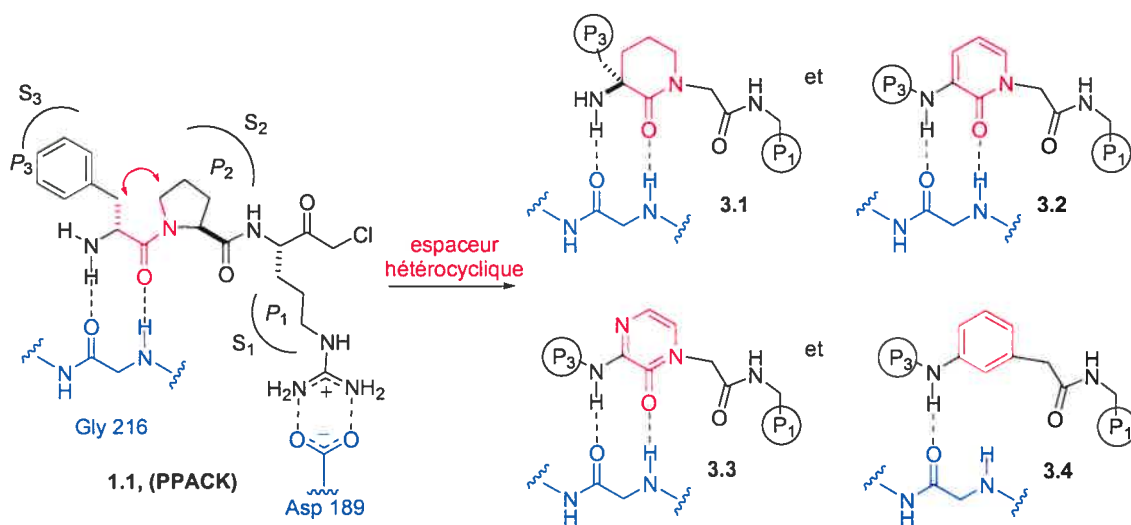
Chapitre III
Composés hétérocycliques achiraux comme inhibiteurs
de la thrombine

III.1 Exemples de composés hétérocycliques inhibiteurs de la thrombine

Au cours du chapitre précédent, des inhibiteurs potentiels de la thrombine basés sur la structure rigide de type indolizidinone ont été présentés. Bien que certains de ces derniers aient démontré une bonne affinité envers la thrombine, il n'en demeure pas moins que ces types de structures soient inadéquats pour le développement commercial de nouveaux anticoagulants. La complexité de la molécule ainsi que la présence de plusieurs centres chiraux (non dérivés directement d'un acide aminé) font en sorte que le développement d'un tel composé ne serait pas profitable au point de vue des coûts de synthèse. Il est alors préférable de cibler des structures hétérocycliques achirales comme inhibiteurs d'enzymes.

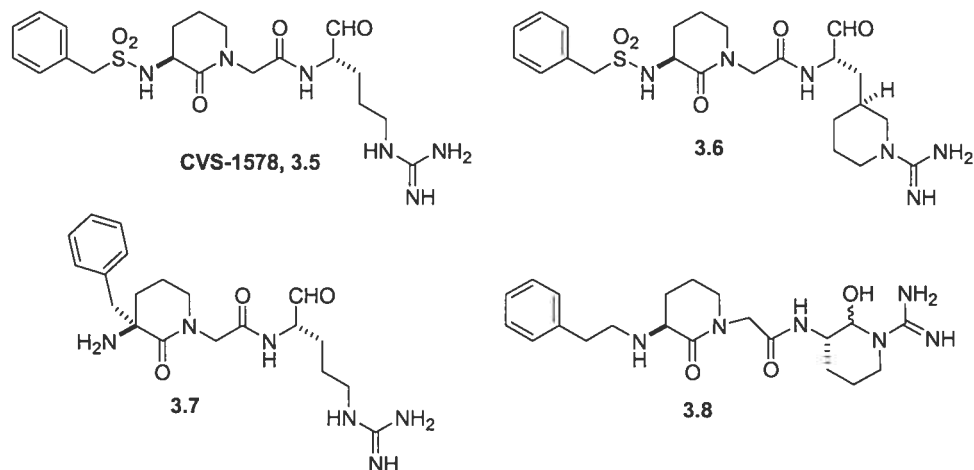
La structure cristalline de PPACK demeure un choix judicieux comme structure de départ pour la conception de nouveaux inhibiteurs hétérocycliques. Ainsi, la rigidification de la proline permet d'obtenir une δ -lactame monocyclique (3.1), une pyridone (3.2) ou une pyrazinone (3.3) comme analogue du motif en P₂ (Figure 3.1). Ce motif hétérocyclique peut même se simplifier davantage pour mener à un analogue phénylique (3.4).

Figure 3.1 Analogues hétérocycliques du PPACK.



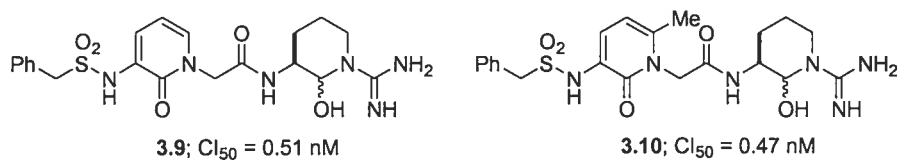
Ces types d'analogues ont été rapidement utilisés pour la conception et la synthèse de nouveaux inhibiteurs potentiels de la thrombine. La compagnie pharmaceutique Corvas a publié en 1996⁷⁶ la synthèse du dérivé lactame **3.5** en utilisant l'approche de la lactame de Freidinger. Quelques optimisations ont mené aux composés **3.6-3.8** avec des affinités de l'ordre de quelques nM (Figure 3.2).

Figure 3.2 Analogues lactames par Corvas.⁷⁶



Par la suite, Corvas⁷⁷ a utilisé le motif pyridone afin de remplacer la lactame en introduisant ainsi de la rigidité et par le fait même supprimer le centre chiral du motif central de la molécule. Cette approche a mené à des inhibiteurs puissants de la thrombine avec des CI_{50} de 0.5 nM (Figure 3.3).

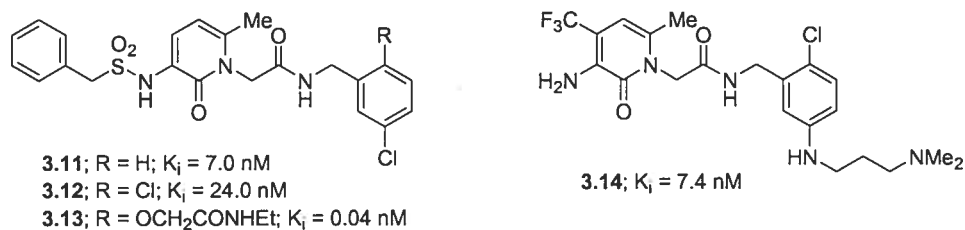
Figure 3.3 Analogues pyridones par Corvas.⁷⁷



Le motif pyridone est un motif versatile et facile à synthétiser. Ce même motif a d'ailleurs été l'objet d'études par Merck⁷⁸ et de puissants inhibiteurs de la thrombine ont été obtenus (Figure 3.4). En se basant sur la structure de PPACK et en substituant le motif basique en P_1 par un groupement chlorophényle hydrophobe, une inhibition de la

thrombine de l'ordre de quelques picomolaires (40 pM) a été possible pour le composé **3.13**.

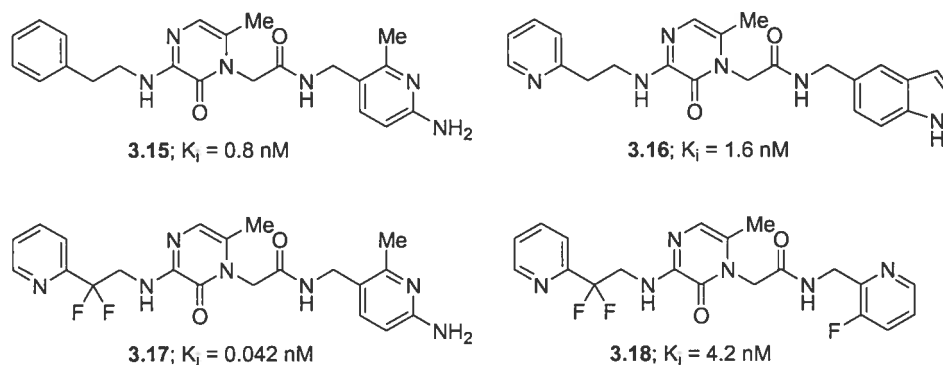
Figure 3.4 Analogues pyridones par Merck.⁷⁸



Suite à des études de modélisation moléculaire et de relations structure/activité (SAR), une optimisation supplémentaire au niveau de l'affinité, de la sélectivité et de la biodisponibilité a pu être accomplie. Ces travaux ont mené à la conclusion que le groupement en P₃ pouvait être négligé et que la présence d'un substituant stabilisant sur le système pyridone tel qu'un trifluorométhyle était suffisant pour atteindre une inhibition de 7.4 nM (**3.14**).⁷⁸

Merck s'est également intéressé à l'utilisation d'un motif pyrazinone⁷⁸ pour mimer la conformation bioactive du substrat naturel de la thrombine. Ainsi, des composés analogues aux pyridones ont été synthétisés et des constantes d'inhibitions de l'ordre de quelques nanomolaires ont été obtenues (Figure 3.5).

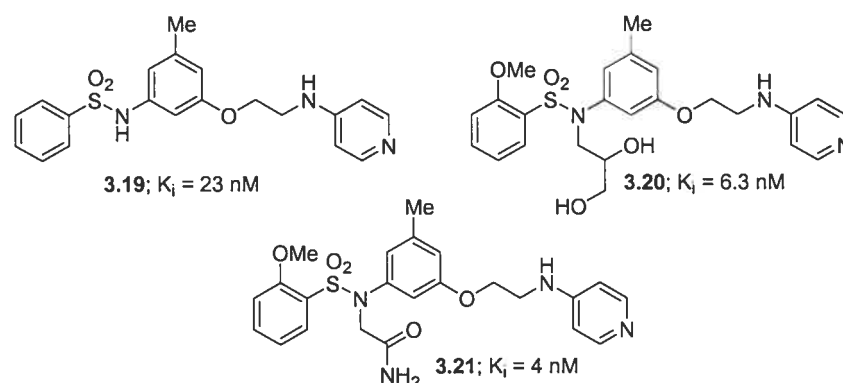
Figure 3.5 Analogues pyrazinones par Merck.⁷⁸



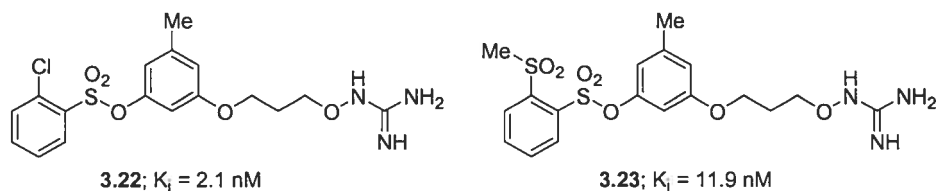
Le remplacement des hydrogènes en position benzylique sur le substituant en P₃ par des fluors a permis d'obtenir un analogue pyrazinone **3.17** possédant un K_i de 42 pM. L'utilisation du fluoropyridine en P₃ (**3.18**) au lieu du méthyl aminopyridine (**3.17**) a conduit à un inhibiteur moins puissant d'un facteur de 100, mais a néanmoins permis d'améliorer grandement les propriétés physiques du composé.

Mis à part les hétérocycles pyridones et pyrazinones, les analogues phényliques ont aussi été utilisés comme inhibiteurs potentiels de la thrombine. Bien que le motif phénylique soit dépourvu de la fonctionnalité requise pour compléter le pont hydrogène antiparallèle avec le résidu Gly216 (**3.4**), il n'en demeure pas moins qu'il soit adéquat pour atteindre un niveau d'inhibition de l'ordre des nanomolaires. Boehringer-Mannheim⁷⁹ a rapporté la découverte de composés phényliques possédant une affinité pour la thrombine basés sur la structure de PPACK (Figure 3.6). Ces composés ont également démontré une bonne biodisponibilité puisque le groupement aminopyridine en P₁ est protoné au pH physiologique (pK_a ~9.2).

Figure 3.6 Analogues phényliques par Boehringer-Mannheim.⁷⁹



La compagnie américaine 3-Dimensional Pharmaceuticals a aussi publié la découverte d'analogues phényliques similaires.⁸⁰ Des groupements amidines ont été préférés en P₁ et les composés ont démontré des affinités de l'ordre de quelques nanomolaires (Figure 3.7).

Figure 3.7 Analogues phényliques par 3-D Pharmaceuticals.⁸⁰

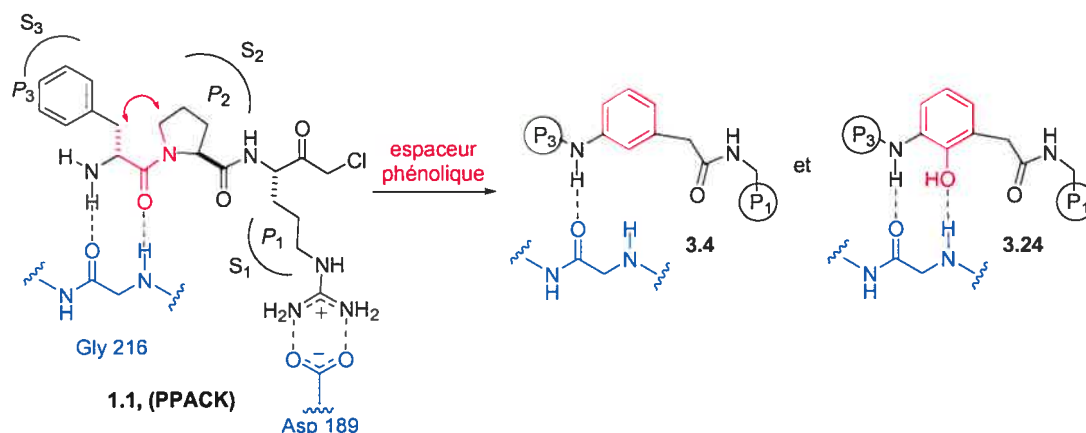
III.2 Conception de nouveaux hétérocycles inhibiteurs de la thrombine

Le projet impliquant la conception et la synthèse de nouveaux inhibiteurs potentiels de la thrombine basés sur des motifs hétérocycliques fait partie d'une collaboration avec la compagnie AstraZeneca située à Mölndal en Suède.⁸¹ Le projet a débuté par l'ambition de découvrir de nouveaux analogues hétérocycliques achiraux possédant une bonne affinité envers la thrombine et une bonne biodisponibilité. Les composés doivent être facile à synthétiser et ne doivent pas comporter de centres chiraux. Une approche de synthèse en parallèle doit être applicable et la possibilité d'incorporer de la diversité facilement doit être aussi tenue en compte.

Il a été démontré précédemment que des analogues hétérocycliques achiraux sont de très bons inhibiteurs de la thrombine, mais la plupart de ceux-ci souffrent d'une mauvaise biodisponibilité. Cette propriété est essentielle à l'obtention d'un composé actif oralement. Bien que des motifs pyridones, pyrazinones et phényliques aient été utilisés depuis longtemps par différentes compagnies pharmaceutiques, aucune de celles-ci n'a utilisé le motif phénolique comme motif central en P₂.

En considérant le motif phénylique et en lui rajoutant un groupement hydroxyle de façon à compléter le pont hydrogène antiparallèle avec le résidu Gly216, il est possible de concevoir un motif phénolique prototype **3.24** (Figure 3.8).

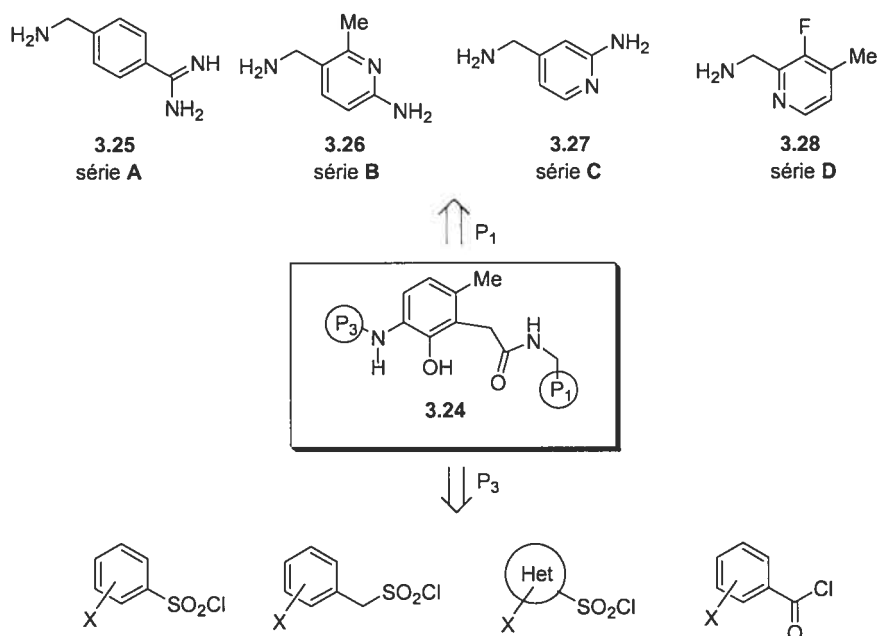
Figure 3.8 Motif phénolique prototype comme inhibiteur de la thrombine.



Des études de *docking* chez AstraZeneca à Mölndal ont permis de sélectionner les meilleures combinaisons du motif phénolique avec différents sulfonamides et amides en P₃ et différentes amines basiques en P₁ (Figure 3.9). Ainsi, un échantillonnage virtuel des combinaisons possibles entre le motif phénolique et plusieurs chlorures de sulfonyles et chlorures d'acyles en conjonction avec quatre différentes amines (**3.25-3.28**) a conduit à l'identification de plusieurs inhibiteurs potentiels de la thrombine. Selon le score attribué par les études de *docking*, seulement les 25 meilleurs composés ont été retenus pour la synthèse et l'évaluation de l'activité biologique dans notre groupe à l'Université de Montréal.

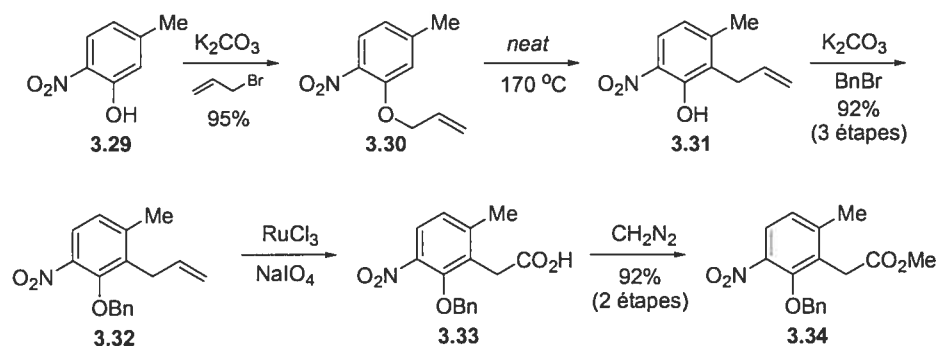
Les 25 composés ont été divisés en quatre différentes séries selon le substituant en P₁. La première série (**A**) se compose de quinze analogues et fait l'utilisation de l'aminométhylbenzamidine **3.25** tandis que la deuxième série (**B**) comporte cinq analogues arborant le 2-amino-5-aminométhyl-4-méthyl pyridine **3.26**. Les troisième (**C**) et quatrième (**D**) séries font l'utilisation du 2-amino-4-aminométhyl pyridine **3.27** et du 2-aminométhyl-3-fluoro-4-méthyl pyridine **3.28** respectivement, et ne totalisent que cinq dérivés conjointement.

Figure 3.9 Stratégie de synthèse des quatre séries de composés phénoliques.

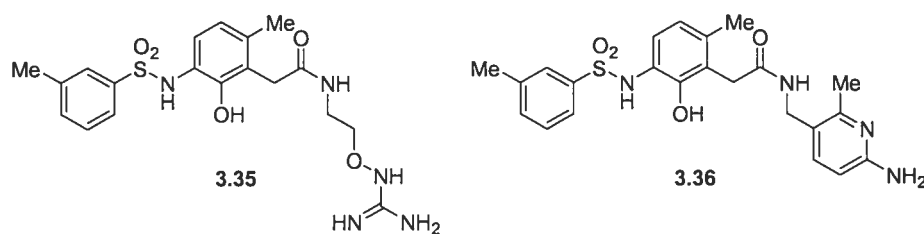


III.3 Synthèse du motif phénolique en P₂

La synthèse du motif phénolique en P₂ repose sur une approche pouvant mener à la diversification orthogonale de la molécule au cours de la synthèse des différents analogues. La synthèse du motif en P₂ débute avec le produit commercial 2-nitro-5-méthyl phénol (Schéma 3.1). Ainsi, le phénol **3.29** est alkylé avec le bromure d'allyle et le carbonate de potassium pour conduire à l'éther allylique **3.30** correspondant. Ce dernier est soumis à un réarrangement ortho Claisen⁸² pour mener au phénol **3.31**, résultat de la migration du substituant allyle en position ortho. L'éther benzylique **3.32** est ensuite obtenu suite au traitement du phénol **3.31** avec le bromure de benzyle et le carbonate de potassium dans un rendement global de 92% pour les trois étapes.

Schéma 3.1 Synthèse du motif phénolique.⁸¹

Le substituant allyle **3.32** est par la suite converti en acide **3.33** par un clivage oxydatif avec le chlorure de ruthénium et le periodate de sodium. L'acide carboxylique ainsi obtenu est estérifié avec le diazométhane pour mener à l'ester **3.34**. Ce dernier intermédiaire représente le squelette central qui sera utilisé pour la synthèse des différents analogues.

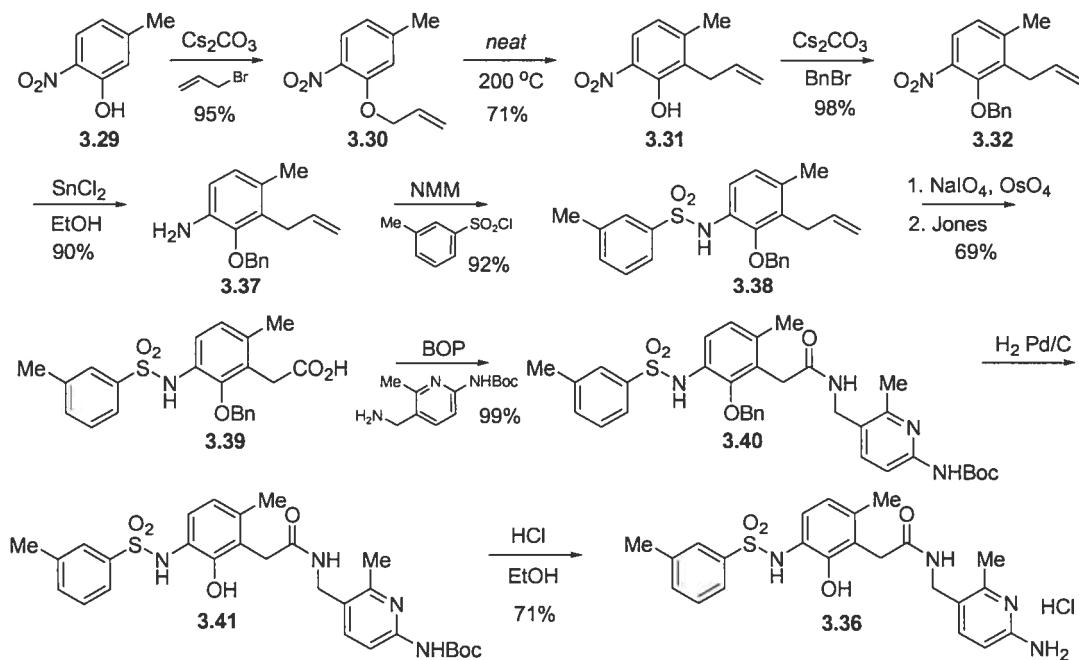
Figure 3.10 Analogues phénoliques par 3-D Pharmaceuticals.⁸³

Des analogues phénoliques ont aussi été rapportés pendant le cours de nos travaux par la compagnie 3-Dimensional Pharmaceuticals. Ces composés, communiqués par l'entremise de différents brevets,⁸³ exhibent des activités inhibitrices de la thrombine variant de 0.0028 à 20 μ M (Figure 3.10). Malheureusement, très peu de détails concernant les analogues ont été précisés dans les brevets, mis à part quelques exemples représentatifs (**3.35-3.36**).

Toutefois, la synthèse générale du composé **3.36** a été rapportée et est décrite au Schéma 3.2. Bien que la voie synthétique de 3-D pharmaceuticals ressemble étrangement à notre

voie, il est à noter que le brevet a été découvert quelques mois après que notre synthèse du motif phénolique ait été accomplie.

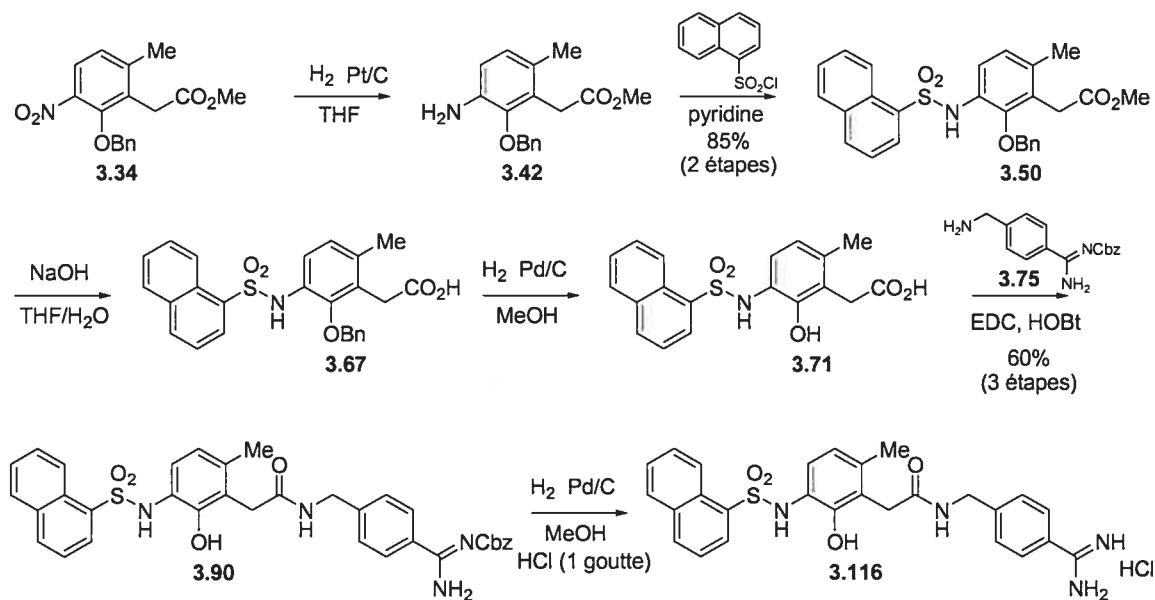
Schéma 3.2 Voie synthétique du motif phénolique par 3-D pharmaceuticals.⁸³



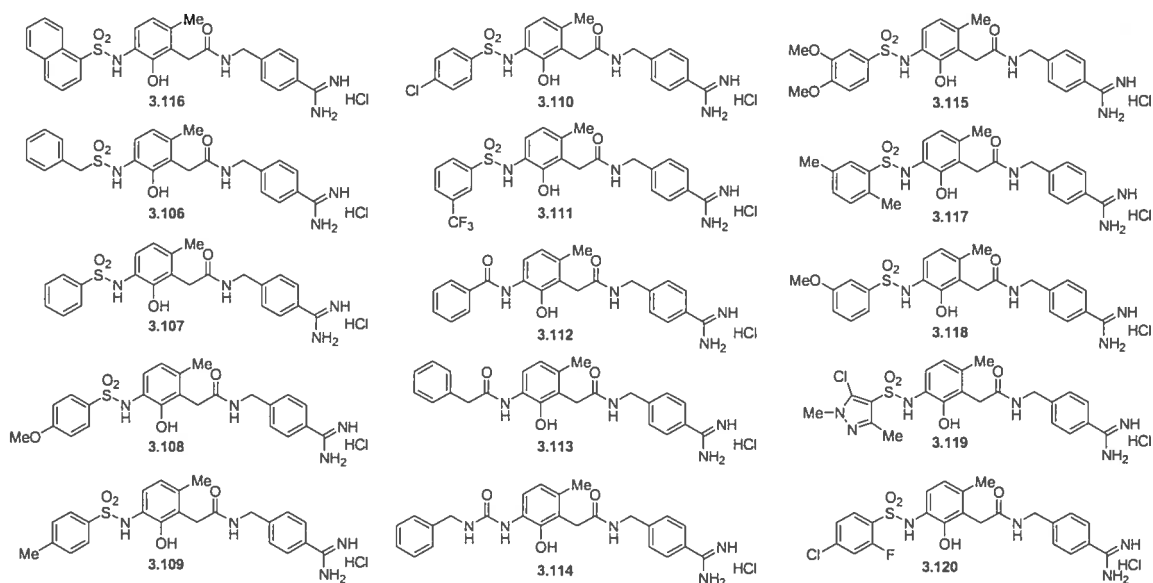
III.4 Synthèse de la série A

La synthèse de la collection d'analogues phénoliques a été entreprise en débutant avec la première série (A) de composés qui utilisent l'aminométhylbenzamidine 3.25 en position P₁. Le Schéma 3.3 illustre un exemple représentatif de la synthèse des quinze dérivés arylsulfonamides de cette voie.

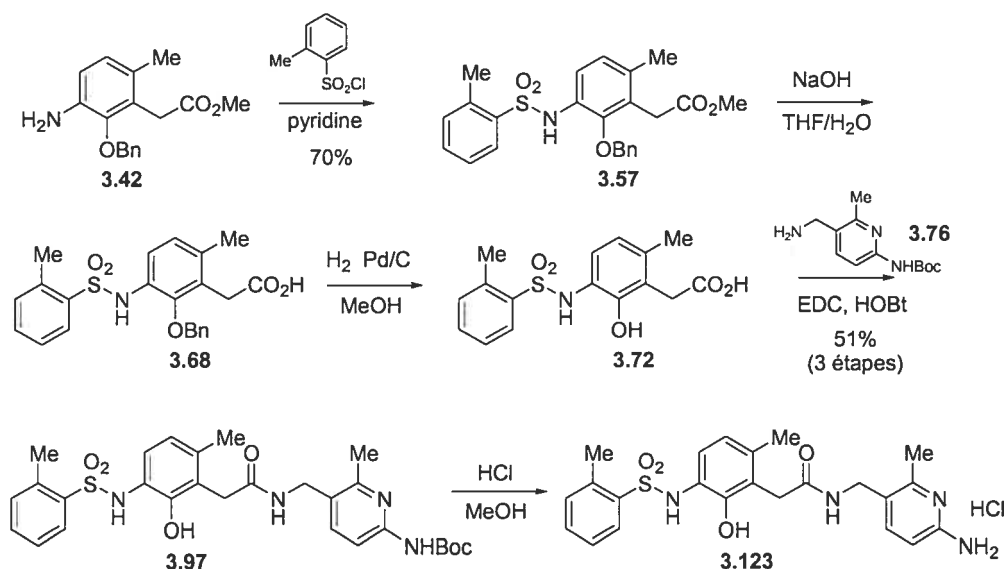
Schéma 3.3 Synthèse du dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.116**.⁸¹



Le substituant nitro est réduit par hydrogénation catalytique chémosélective pour mener à l'amine **3.42** tout en conservant l'éther benzylique intact. Cette amine est réagie avec le chlorure de 1-naphthylsulfonyl pour conduire au dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.50** dans un rendement global de 85% sur deux étapes. L'ester est ensuite hydrolysé avec l'hydroxyde de sodium pour donner l'acide **3.67**. Des études préliminaires ont démontré que lorsque le couplage entre l'acide carboxylique et l'amine **3.75** était effectué en présence de l'éther benzylique, des rendements plus bas étaient observés. Ainsi, une hydrogénéolyse avec palladium sur charbon a permis de déprotéger l'éther benzylique **3.67** et a conduit au phénol **3.71**. Un couplage de l'acide carboxylique **3.71** avec l'amine **3.75** dans les conditions EDC-HOBT a mené au dérivé **3.90** dans un rendement global de 60% sur trois étapes. Ce dernier a été déprotéger par hydrogénéolyse en présence d'une quantité catalytique de palladium dans le méthanol légèrement acidifié pour conduire à l'obtention du dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.116** sous forme de sel chlorhydrate. Cette séquence réactionnelle a été appliquée pour la synthèse des quatorze autres dérivés de cette série et les dérivés obtenus sont illustrés à la Figure 3.11.

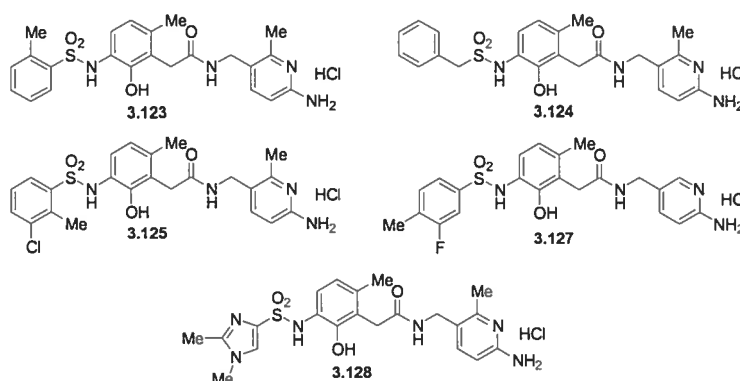
Figure 3.11 Analogues phénoliques de la série A.⁸¹**III.5 Synthèse de la série B**

La synthèse de la série **B** consiste en l'utilisation d'une même séquence réactionnelle impliquant la conversion de l'intermédiaire **3.34** en dérivé sulfonamide **3.50**. Le Schéma 3.4 démontre la synthèse représentative du dérivé 2-méthylphényl sulfonamide **3.123**.

Schéma 3.4 Synthèse du dérivé 2-méthylphényl sulfonamide **3.123**.⁸¹

Ainsi, l'amine **3.42** est réagie avec le chlorure de 2-méthylbenzènesulfonyle pour conduire au composé sulfonamide **3.57** avec un rendement de 70%. Par la suite, une hydrolyse basique suivie d'une hydrogénolyse de l'éther benzylique permet d'obtenir l'intermédiaire **3.72**. Un couplage impliquant l'acide carboxylique **3.72** avec l'amine **3.76** conduit au dérivé **3.97** avec un rendement global de 51% pour les trois étapes. La déprotection finale du carbamate se fait en milieu acide en présence de l'acide chlorhydrique dans le méthanol pour mener au dérivé 2-méthylphényl sulfonamide **3.123** sous forme de sel chlorhydrique. La Figure 3.12 montre les cinq membres de cette série qui ont été synthétisés utilisant une séquence similaire.

Figure 3.12 Analogues phénoliques de la série **B**.⁸¹

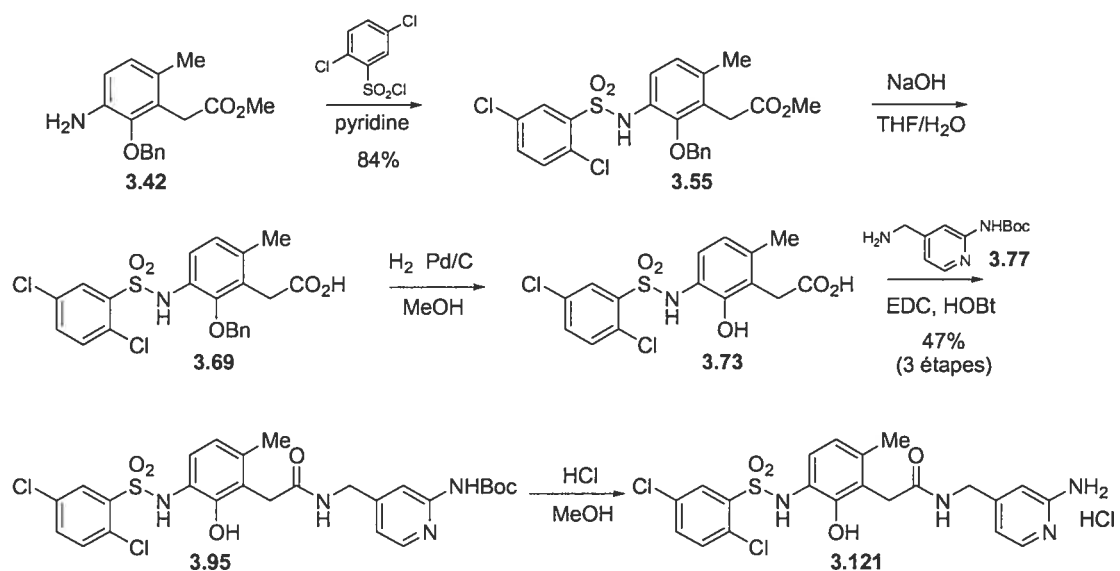


III.6 Synthèse des séries C et D

La synthèse des analogues de la série **C** repose sur la même stratégie, en utilisant le motif 2-amino-4-aminométhyl pyridine **3.27**. Un exemple de la synthèse du dérivé 2,5-dichloro-phényl sulfonamide **3.121** est discuté au Schéma 3.5 L'amine **3.42** est réagie avec le chlorure de 2,5-dichloro-benzènesulfonyle pour donner le composé **3.55** dans un rendement de 84%. Par la suite, la séquence impliquant l'hydrolyse de l'ester suivie de l'hydrogénolyse de l'éther benzylique conduit au dérivé phénol **3.73**. Le couplage de l'acide carboxylique avec l'amine **3.77** donne le composé **3.95** qui est ensuite hydrolysé

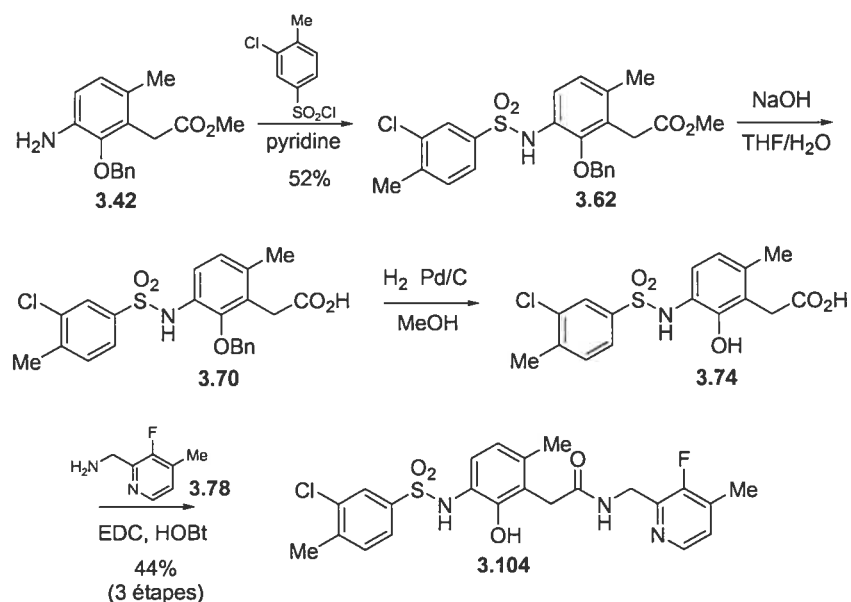
en conditions acides pour donner le dérivé 2,5-dichloro-phénylsulfonamide **3.121** sous forme de sel chlorhydrate.

Schéma 3.5 Synthèse du dérivé 2,5-dichloro-phényl sulfonamide **3.121**.⁸¹



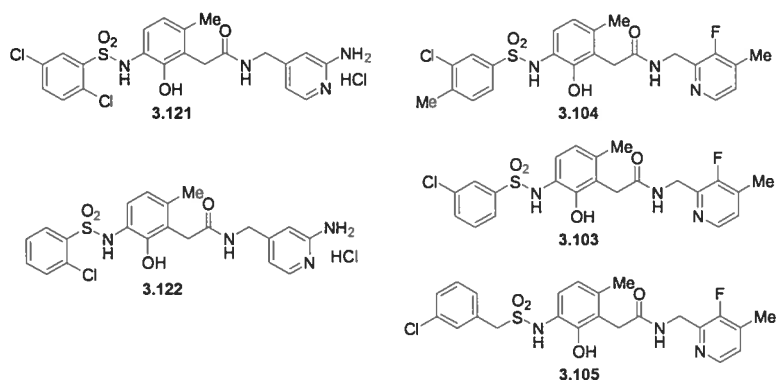
La série **D** fait l'utilisation du motif 2-aminométhyl-3-fluoro-4-méthyl pyridine **3.28**. Puisque ce motif ne comporte pas de substituant amine sur la pyridine, aucun groupement protecteur n'est utilisé, ce qui résulte en une étape de moins au niveau de la synthèse. Ainsi, l'amine **3.42** est réagie dans les conditions habituelles pour générer le sulfonamide **3.62** désiré dans un rendement de 52% (Schéma 3.6). Par la suite, l'acide carboxylique **3.74** obtenu suite à la séquence hydrolyse/hydrogénolyse a été couplé avec le 2-aminométhyl-3-fluoro-4-méthyl pyridine **3.78** pour donner le dérivé 3-chloro-4-méthyl-phényl sulfonamide **3.104** avec un rendement global de 44% sur les trois étapes.

Schéma 3.6 Synthèse du dérivé 3-chloro-4-méthyl-phényl sulfonamide **3.104**.⁸¹



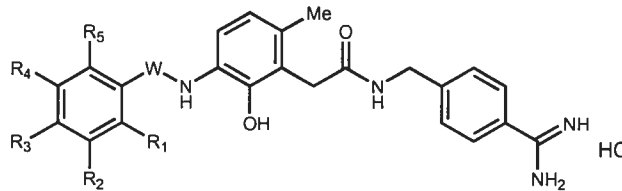
La série **C** comporte seulement deux analogues tandis que la série **D** en comporte trois. Ces analogues sont illustrés à la Figure 3.13.

Figure 3.13 Analogues des séries **C** (gauche) et **D** (droite).⁸¹

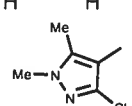


III.7 Évaluation biologique des analogues phénoliques

Les 25 analogues phénoliques ont été testés pour leur activité inhibitrice envers la thrombine ainsi que la trypsine. Les résultats sont énumérés dans les tableaux suivants, selon la série correspondante.

Tableau 3.1 Activités biologiques pour les analogues de la série A.⁸¹


Entrée	Composé	W	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Thrombine	Trypsine
1	3.116	SO ₂	CH=CH-CH=CH	H	H	H	H	0.017	1.143
2	3.117	SO ₂	Me	H	H	Me	H	0.025	0.113
3	3.120	SO ₂	F	H	Cl	H	H	0.082	0.683
4	3.118	SO ₂	H	OMe	H	H	H	0.016	0.278
5	3.115	SO ₂	H	OMe	OMe	H	H	0.039	0.342
6	3.108	SO ₂	H	H	OMe	H	H	0.050	0.909
7	3.107	SO ₂	H	H	H	H	H	0.097	0.599
8	3.111	SO ₂	H	CF ₃	H	H	H	0.121	2.786
9	3.109	SO ₂	H	H	Me	H	H	0.254	1.124
10	3.110	SO ₂	H	H	Cl	H	H	0.131	0.939
11	3.106	SO ₂ CH ₂	H	H	H	H	H	0.185	3.082
12	3.113	COCH ₂	H	H	H	H	H	4.683	4.033
13	3.112	CO	H	H	H	H	H	1.917	---
14	3.114	CONHCH ₂	H	H	H	H	H	2.449	2.744
15	3.119	SO ₂						0.036	1.055



En consultant le Tableau 3.1 qui résume les activités biologiques pour les analogues de la série A, il est possible de remarquer que sept analogues sulfonamides mono et disubstitués démontrent des CI_{50} envers la thrombine variant de 16 à 80 nM. De même, on observe une très bonne sélectivité pour la thrombine envers la trypsine (Tableau 3.1, entrées 1-6). Malheureusement, aucune relation structure/activité (SAR) évidente n'a pu être extraite à partir de ces résultats. Néanmoins, certaines tendances semblent ressortir. L'analogue benzylsulfonamide semble moins actif que le phénylsulfonamide correspondant (Tableau 3.1, entrées 7 et 11). De plus, l'incorporation d'amides et d'urées semble nuire à l'inhibition de la thrombine (Tableau 3.1, entrées 12-14).

Bien que les activités biologiques des analogues de cette série ne puissent pas être corrélées directement en fonction de la nature ou de la position des substituants sur le cycle aromatique en P₃, il est important de remarquer le degré de sélectivité atteint envers la trypsine pour certains composés (Tableau 3.1, entrées 1, 6, 8, 11 et 15). Dans le cas du dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.116**, il est même possible d'observer une sélectivité d'un facteur de 100 tout en ayant un CI₅₀ de 17 nM pour la thrombine (Tableau 3.1, entrée 1).

Des études de modélisation moléculaire utilisant le programme de *docking* AutoDock (effectuées dans notre groupe) ont permis de visualiser les interactions avec le site actif de la thrombine. La Figure 3.14 illustre les résultats de la modélisation du composé 1-naphthyl sulfonamide **3.116** dans le site actif de la thrombine ainsi que la superposition de ce dernier avec la structure de référence, PPACK 1.1. La présence des interactions clés avec l'enzyme permet de confirmer l'activité biologique observée pour cet analogue phénolique.

Figure 3.14 Modélisation moléculaire (AutoDock) du dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.116** (gauche) et superposition avec PPACK 1.1 (droite).

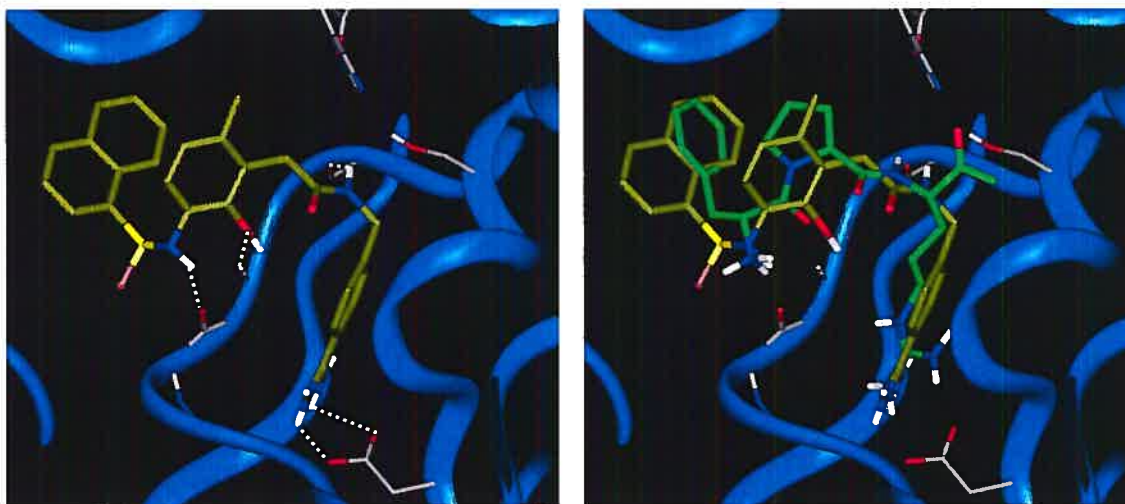
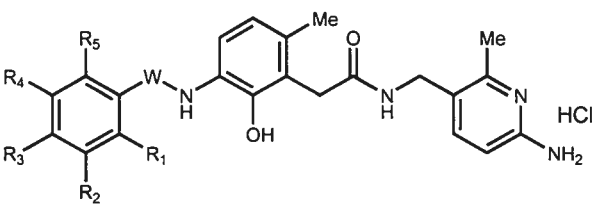
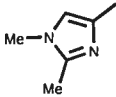
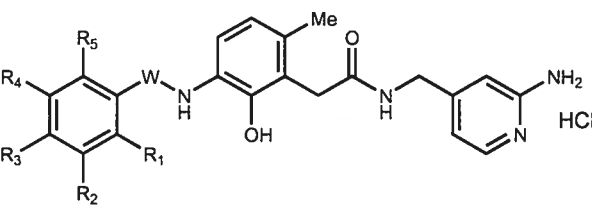


Tableau 3.2 Activités biologiques pour les analogues de la série **B**.⁸¹


Entrée	Composé	W	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	CI ₅₀ (μM)	
								Thrombine	Trypsine
1	3.125	SO ₂	Me	Cl	H	H	H	0.190	---
2	3.123	SO ₂	Me	H	H	H	H	0.263	> 44.4
3	3.127	SO ₂	H	F	Me	H	H	0.594	---
4	3.124	SO ₂ CH ₂	H	H	H	H	H	0.571	> 44.4
5	3.128	SO ₂						0.548	> 44.4

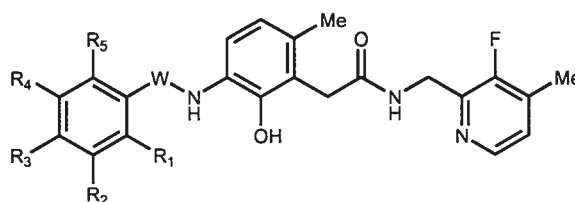
Le Tableau 3.2 résume les activités biologiques pour les analogues de la série **B**. Il est possible de remarquer que cette série comporte beaucoup moins de composés hautement actifs en comparaison avec la série précédente. Toutefois, les cinq dérivés synthétisés au sein de cette série possèdent des CI₅₀ de quelques centaines de nanomolaires, le meilleur étant le dérivé 2-méthyl-3-chloro-phényl sulfonamide **3.125** avec un CI₅₀ de 190 nM (Tableau 3.2, entrée 1). Bien que certains analogues n'aient pas été évalués envers la trypsine, trois dérivés démontrent toutefois une sélectivité absolue pour la thrombine (Tableau 3.2, entrées 2, 4 et 5).

Tableau 3.3 Activités biologiques pour les analogues de la série **C**.⁸¹


Entrée	Composé	W	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ (μM)	
								Thrombine	Trypsine
1	3.121	SO ₂	Cl	H	H	Cl	H	1.020	> 44.4
2	3.122	SO ₂	Cl	H	H	H	H	3.033	> 44.4

Les résultats des tests biologiques pour les deux analogues de la série **C** sont montrés au Tableau 3.3. Les résultats obtenus, qui se situent au niveau de l'ordre du micromolaire, ont clairement justifié la décision de ne pas poursuivre avec la synthèse d'analogues supplémentaires au sein de cette série. Les résultats des tests biologiques pour les analogues de la série **D** ont également justifié cette même observation (Tableau 3.4). En effet, des CI_{50} variant entre 13.9 et 19.9 μM ont été observés (Tableau 3.4, entrées 1-3). Cette série constitue de loin la série la moins active pour ces types d'analogues phénoliques inhibiteurs de la thrombine.

Tableau 3.4 Activités biologiques pour les analogues de la série **D**.⁸¹



Entrée	Composé	W	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	CI ₅₀ (μM)	
								Thrombine	Trypsine
1	3.104	SO ₂	H	Cl	Me	H	H	19.9	> 44.4
2	3.103	SO ₂	H	Cl	H	H	H	13.9	> 44.4
3	3.105	SO ₂ CH ₂	H	Cl	H	H	H	14.6	> 44.4

III.8 Conclusion

En conclusion, nous avons démontré la découverte d'un nouveau motif central pour le remplacement du substituant P₂ contenu dans le substrat de référence PPACK. Le motif phénolique arborant différents groupements arylsulfonamides en position P₃ en conjonction avec l'aminométhylbenzamide **3.25** s'est avéré un choix judicieux pour l'obtention de nouveaux inhibiteurs puissants de la thrombine, possédant une sélectivité d'un facteur d'environ 100 envers la trypsine (dérivé 1-naphthyl sulfonamide **3.116**). Ce projet, en collaboration avec AstraZeneca, a par la suite conduit à la découverte de deux autres nouveaux motifs hétérocycliques en P₂ et plusieurs analogues dérivés de ces motifs ont été synthétisés. Presque la majorité de ces derniers ont démontrés des CI_{50}

dans l'ordre de quelques nanomolaires et certains possèdent même des activités biologiques sous-nanomolaires. Conséquemment, ce projet a été repris par les chimistes suédois et le projet est continuellement en cours dans leurs laboratoires. Les résultats pertinents devraient être rendus publiques par différents brevets⁸⁴ et par le biais de communications prochaines.⁸⁴

Chapitre IV

**Utilisation de la modélisation moléculaire pour la
conception d'inhibiteurs de MPMs et de β -sécrétase**

IV.1 La maladie d'Alzheimer

C'est le neurologue Allemand Aloïs Alzheimer, en 1901, qui a été le premier à diagnostiquer une patiente atteinte de troubles mentaux qui ne pouvaient être expliqués par la médecine de l'époque.⁸⁵ En 1906, il décrit pour la première fois le processus de cette maladie dégénérative du cerveau.⁸⁶ Il observe au microscope que le cerveau démontre la présence de plaques séniles et une dégénérescence neurofibrillaire au niveau du cortex cérébral.

Figure 4.1 Aloïs Alzheimer (1862-1915).



Ce n'est qu'en 1912 que le nom de "maladie d'Alzheimer" est employé par l'Allemand Emil Kraepelin dans son traité de psychiatrie.⁸⁷ Cette nouvelle maladie est définie comme démence, rare et dégénérative.

Quinze ans plus tard, Divry montre que le Rouge Congo peut colorer les plaques cérébrales comme certaines substances amyloïdes.⁸⁸ Le nom de plaques amyloïdes est alors donné à ces plaques présentes chez les patients atteints de cette maladie. Vers les années 60, Kidd observe que la dégénérescence neurofibrillaire est caractérisée par des filaments disposés en plaques hélicoïdales.⁸⁹

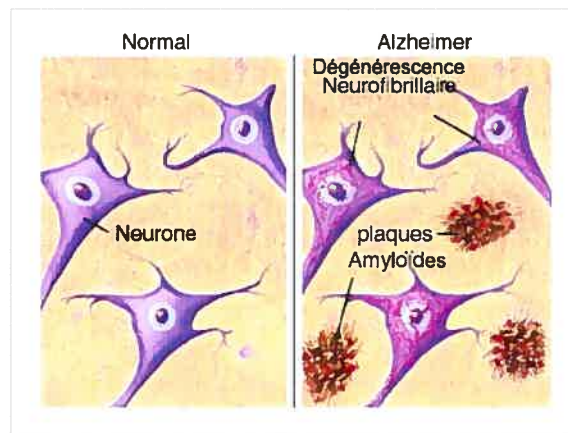
Il a fallu attendre jusqu'à vers la fin du XX^e siècle avant d'avoir de meilleures connaissances sur la maladie d'Alzheimer. En 1984, Georges Glenner identifie le peptide amyloïde A β , le principal constituant des protéines amyloïdes.⁹⁰

La maladie d'Alzheimer est la forme la plus courante de démence. Selon une étude effectuée par la Société d'Alzheimer du Canada⁹¹ en 2001, plus de 364 000 Canadiens âgés de plus de 65 ans étaient atteints de cette maladie (ou démences connexes). Ce

chiffre était de 10 000 en 1991, ce qui représente une augmentation d'un facteur de 36. Par ailleurs, d'ici 2031, on évalue que plus de 750 000 Canadiens seront atteints de la maladie d'Alzheimer et de démences connexes. Avec une population de plus en plus vieillissante, il devient primordial d'établir des méthodes de dépistage et des traitements efficaces.

La maladie d'Alzheimer est une maladie dégénérative qui provoque des lésions au cerveau. Les cellules du cerveau rétrécissent ou disparaissent, et sont remplacées par des taches denses de forme irrégulière qu'on appelle des plaques amyloïdes. Un autre indicateur de la maladie est la présence de dégénérescences neurofibrillaires dans les cellules du cerveau. Ces dernières étouffent éventuellement les cellules saines du cerveau (Figure 4.2).

Figure 4.2 Plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires.



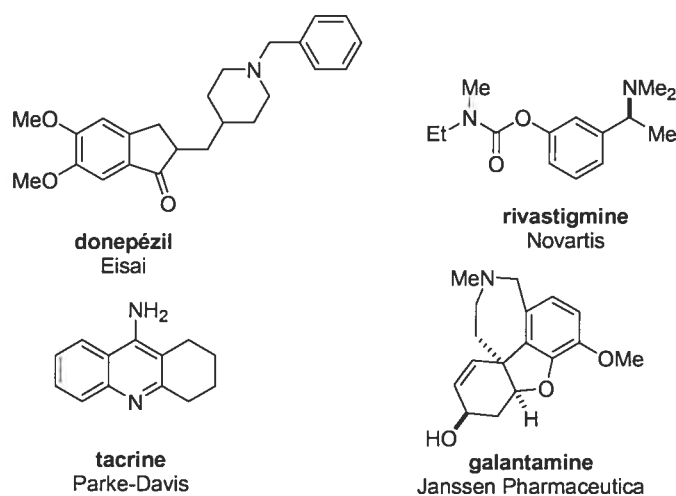
Les plaques amyloïdes sont des lésions extracellulaires qui résultent de l'agrégation d'un peptide appelé $A\beta$.⁹² Ce peptide constitué de 40 à 42 acides aminés est le produit de clivage d'une protéine précurseur nommée APP (*amyloid peptide precursor*). Les dégénérescences neurofibrillaires sont quant à elles des lésions intraneurales dont le constituant majeur est la protéine Tau. Cette protéine est synthétisée par un gène situé sur le chromosome 17. Elle est anormalement phosphorylée et son accumulation entraîne la mort neuronale et la désorganisation du tissu nerveux.

Une controverse oppose les scientifiques au sujet des deux protéines responsables de la maladie d'Alzheimer A β et Tau. Certains estiment que les dépôts amyloïdes sont à l'origine de la maladie tandis que d'autres soutiennent qu'ils ne sont que des marqueurs précoces de la maladie. En effet, l'accumulation du peptide A β est observée bien avant l'apparition de la démence. Mais pour les défenseurs de cette hypothèse, puisqu'il s'agit d'un événement précoce, il n'est pas anormal de retrouver cette protéine.

IV.2 Les traitements et domaines de recherche actuels

On peut considérer six domaines de recherche pour le traitement de la maladie d'Alzheimer: les anticholinestérasiques, les œstrogènes, les anti-inflammatoires, les régénérateurs, les antioxydants et les anti-amyloïdes.⁹³ Les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ont des niveaux faibles d'acétylcholine. Les anticholinestérasiques ou inhibiteurs de la cholinestérase bloquent l'activité de l'acétylcholinestérase, une enzyme qui dégrade naturellement l'acétylcholine. Deux de ces substances sont encore à l'étude, le donepézil et la rivastigmine, deux autres sont administrées aux malades, la tacrine et la galantamine (Figure 4.3).

Figure 4.3 Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.



Outre ces inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, les recherches actuelles se poursuivent dans le domaine des antioxydants. La vitamine E et le Ginkgo biloba pourraient avoir des effets positifs chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer.

Un domaine de recherche qui est très populaire présentement est le domaine des anti-amyloïdes. Effectivement, plusieurs groupes effectuent des recherches pour la découverte d'un moyen efficace pour freiner la déposition des ces plaques amyloïdes jugées responsables de la maladie d'Alzheimer.

Certains scientifiques travaillent désormais sur l'élaboration d'un vaccin contre la maladie d'Alzheimer. La base de ce procédé est de produire des anticorps contre les protéines amyloïdes. Certains autres croient en la possibilité d'inhiber directement une des enzymes responsable de la formation de ces plaques, la β -sécrétase (BACE1, β -APP Cleaving Enzyme).

IV.3 La β -sécrétase comme cible biologique

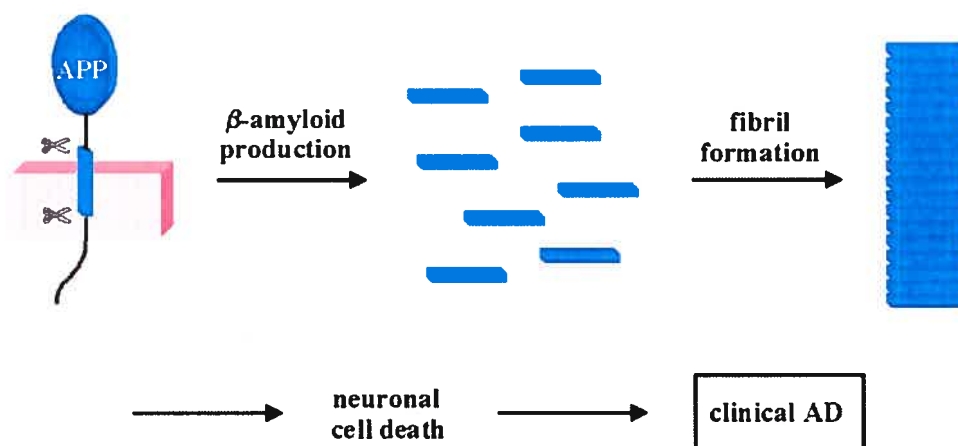
La synthèse du peptide $A\beta$ et son agrégation sont l'élément central de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.⁹⁴ Des phénomènes similaires sont d'ailleurs impliqués dans d'autres pathologies neurodégénératives: maladie de Creutzfeld-Jacob (prion), maladie de Parkinson (α -synucléine) et maladie de Huntington (huntingtine). Le constituant principal des plaques amyloïdes est la protéine amyloïde- β , tandis que les dégénérescences neurofibrillaires sont composées de filaments microtubulaires associés à la protéine Tau.

Des analyses pathologiques ont démontré que les dégénérescences neurofibrillaires comportant la protéine Tau sont observés dans plusieurs autres maladies contrairement à la présence de la protéine $A\beta$ dans les plaques amyloïdes qui est unique à la maladie d'Alzheimer. De plus, l'identification des gènes associés à la maladie d'Alzheimer démontre clairement qu'un dérèglement dans le processus protéolytique qui produit la

protéine $A\beta$ est une cause directe de cette maladie. Ainsi, l'inhibition de la protéase responsable de la formation de cette protéine $A\beta$ est une approche raisonnable pour le traitement ou la prévention de la maladie d'Alzheimer.

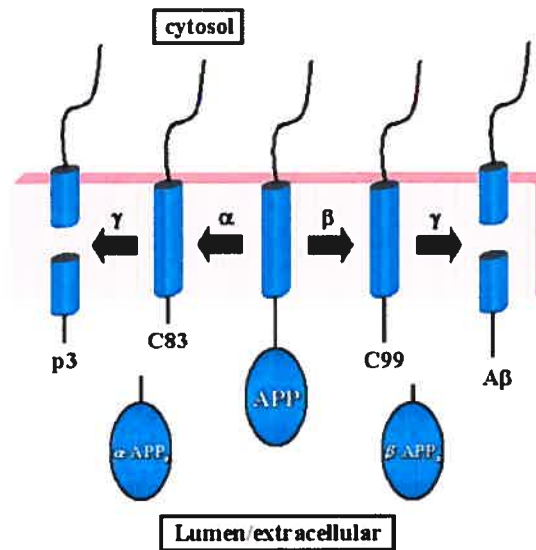
L'hypothèse basée sur la déposition des plaques amyloïdes se résume en une production anormale de la protéine amyloïde- β et la formation d'agrégat sous forme de fibrilles menant à la mort cellulaire des neurones et éventuellement à la progression de la maladie d'Alzheimer (Figure 4.4)

Figure 4.4 Hypothèse de la déposition des plaques amyloïdes.



Plusieurs sécrétases agissent au niveau du processus protéolytique du précurseur de la protéine amyloïde- β (APP). La Figure 4.5 démontre le rôle de chacune de ces sécrétases. Ainsi, la β -sécrétase coupe le précurseur APP de façon à générer un fragment C99 qui sera à son tour clivé à nouveau par la γ -sécrétase en deux nouveaux fragments, dont l'un étant la protéine amyloïde- β . D'autre part, si le APP est excisé par la α -sécrétase, un fragment plus petit est obtenu (C83) et l'action de la γ -sécrétase génère alors le fragment p3, non-associé à la progression de la maladie d'Alzheimer.

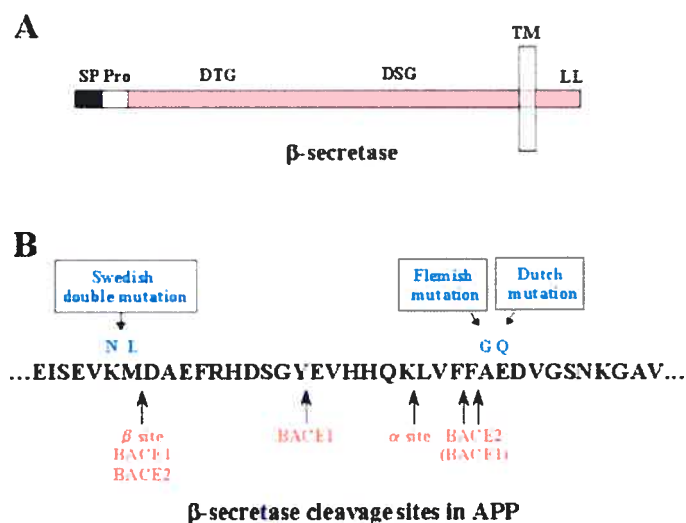
Figure 4.5 Processus protéolytique du précurseur la protéine amyloïde- β .



Étant donné que la protéine $A\beta$ est le principal constituant des plaques amyloïdes, le contrôle de sa formation constitue une approche thérapeutique intéressante. De plus, puisque la γ -sécrétase intervient à différents endroits dans ce même processus, la β -sécrétase demeure la cible de choix pour l'élaboration d'une stratégie d'inhibition et/ou de régulation.

La β -sécrétase génère le fragment N-terminal du $A\beta$ en clivant approximativement 30 résidus de l'APP. Des observations suggèrent que cette enzyme est une protéine liée à la membrane (*membrane-bound protease*). La β -sécrétase coupe à la séquence EVKM*DAEF (l'étoile dénote le site de clivage) tel qu'illustré à la Figure 4.6. Toutefois, une double mutation de KM vers NL adjacent au site de clivage cause une augmentation de la production de $A\beta$ et est appelée la mutation double suédoise (*Swedish double mutation*). Il est à noter que la α -sécrétase effectue son clivage au site- α , situé à un endroit plus éloigné du site- β .

Figure 4.6 Structure de la β -sécrétase et séquence de APP démontrant les sites de clivages.



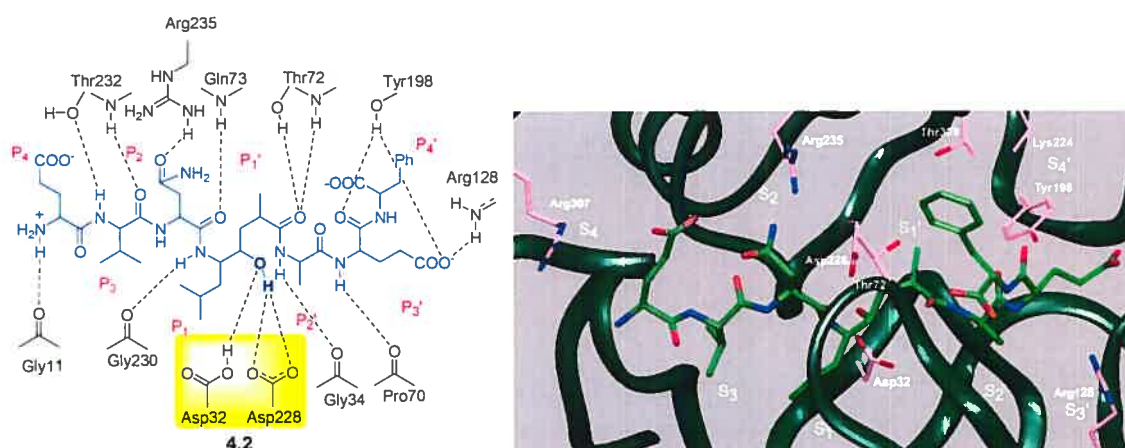
Au cours des dernières années, quatre différentes compagnies pharmaceutiques et un laboratoire académique ont indépendamment publié l'identification de la β -sécrétase comme une nouvelle protéase aspartique liée à une membrane.

L'équipe à Amgen⁹⁵ a utilisé une stratégie d'expression de clonage tandis que les scientifiques de Elan Pharmaceuticals⁹⁶ ont utilisé une méthode biochimique classique en développant un inhibiteur analogue au substrat adéquat pour la technique de chromatographie d'affinité. Les chercheurs chez Pharmacia & Upjohn⁹⁷ ont pour leur part utilisé une approche génomique afin d'identifier la protéase aspartique. Une collaboration entre SmithKline Beecham Pharmaceuticals et l'Université de Oklahoma⁹⁸ a mené au clonage et à la purification de la β -sécrétase identifiée préalablement suite à une recherche dans la base de données EST (*expressed sequence tag*).

Toutes ces stratégies ont conduit à la découverte et la caractérisation de la β -sécrétase (aussi appelée β -site APP-cleaving enzyme ou BACE, BACE1, asp2, memapsin2 par les différents groupes de recherches) comme étant une nouvelle protéase aspartique de 510 acides aminés comportant un seul domaine transmembranaire situé près du terminal-C.

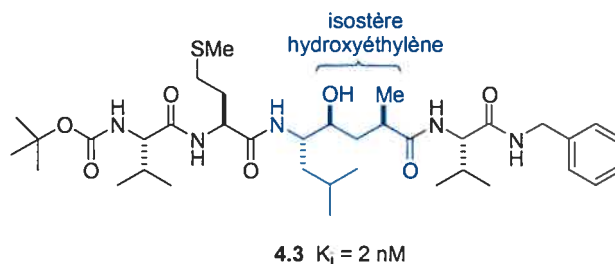
La représentation schématique tridimensionnelle de la β -sécrétase est démontrée en vue stéréoscopique à la Figure 4.8. De façon générale, le site actif de l'enzyme est beaucoup plus ouvert et accessible par comparaison avec la pepsine. Bien que la majorité des interactions de type pont-hydrogènes entre l'enzyme et l'inhibiteur soient hautement conservés tels qu'observés pour les protéases de la même famille, les sous-sites S_2 et S_4 sont relativement plus hydrophiles et ouvert aux molécules de solvant. La Figure 4.9 illustre les interactions de l'inhibiteur 4.2 avec les résidus du site actif de la β -sécrétase. Bref, la détermination de la structure cristalline de la β -sécrétase est un point culminant dans la recherche de nouvelles thérapies contre la maladie d'Alzheimer.

Figure 4.9 Interactions entre la β -sécrétase et l'inhibiteur 4.2 (gauche) et structure rayons X de l'inhibiteur dans le site actif (droite).



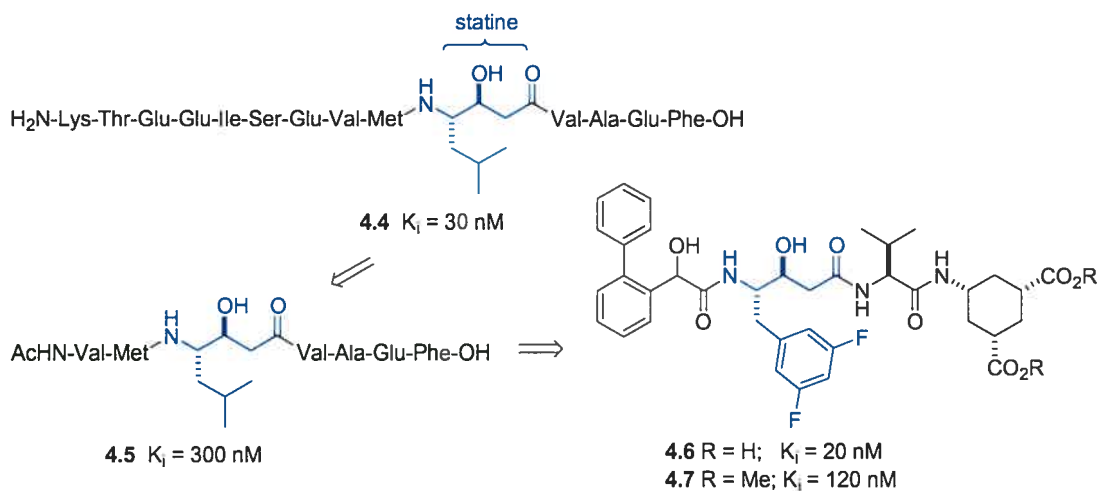
Suite à la détermination de la structure de la β -sécrétase, Ghosh et Tang¹⁰¹ ont publié une série de nouveaux composés basés sur la structure des inhibiteurs 4.1 et 4.2. En variant méthodiquement les acides aminés et en tronquant progressivement la longueur du pseudo-peptide, ils ont réussi à obtenir des inhibiteurs potentiels de faible masse moléculaire, un exemple est illustré à la Figure 4.10.

Figure 4.10 Inhibiteur de la β -sécrétase par Ghosh et Tang.¹⁰¹



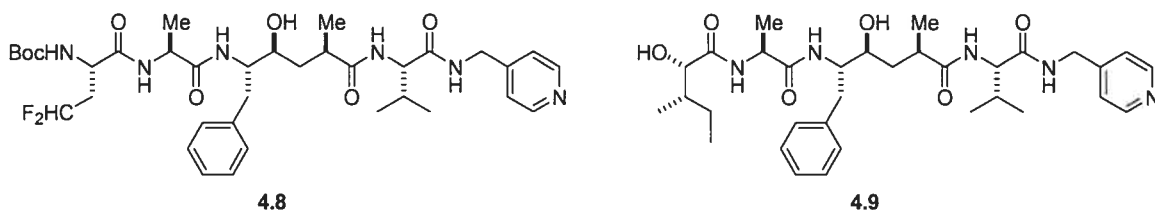
Elan Pharmaceuticals¹⁰² a par ailleurs publié le développement d'inhibiteurs de la β -sécrétase perméables à la membrane démontrant une baisse de la production de la protéine amyloïde ($A\beta$) chez les cellules embryonniques reinales (HEK). Ces inhibiteurs sont caractérisés par l'utilisation de l'isostère statine au niveau du site de clivage du substrat (Figure 4.11).

Figure 4.11 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Elan Pharmaceuticals.¹⁰²



Eli Lilly and Company¹⁰³ a publié la synthèse de peptidomimétiques basés sur l'isostère statine et hydroxyéthylène. Une étude exhaustive de relations structure-activités (SAR) a conduit aux composés **4.8** et **4.9** possédant des CI_{50} de 45 nM et 35 nM respectivement (Figure 4.12).

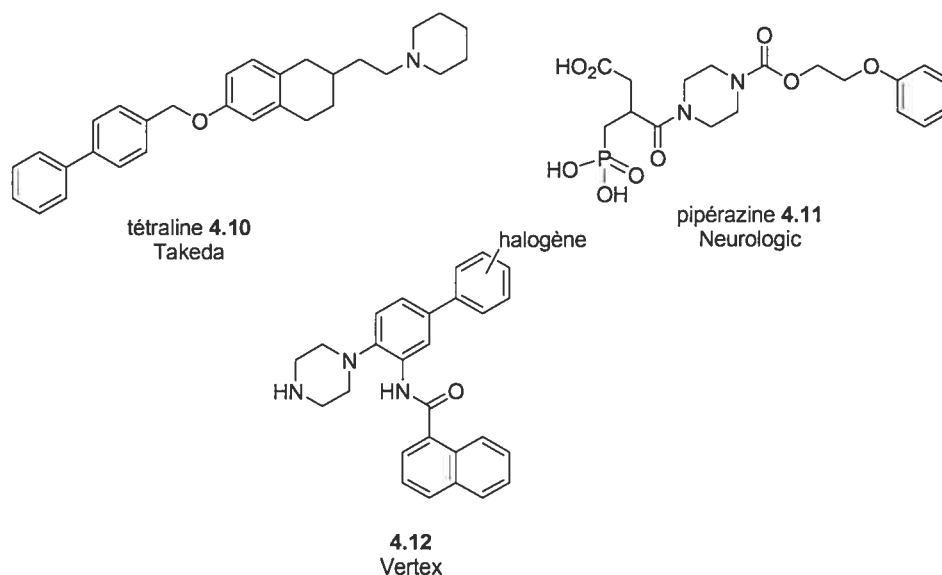
Figure 4.12 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Eli Lilly and Company.¹⁰³



Afin d'atteindre l'emplacement de l'enzyme au cerveau, les inhibiteurs doivent être perméables à la membrane de celui-ci. Ainsi, les inhibiteurs comportant trop de liaisons peptidiques et possédant une masse moléculaire très élevée (>500) ont peu de chance de se rendre à l'endroit du site actif de la β -sécrétase. Donc, un des plus gros défis dans la conception et la synthèse d'inhibiteurs de la β -sécrétase est la découverte de molécules actives non-peptidiques.

En 2001, Takeda¹⁰⁴ a rapporté, par l'entremise d'un brevet, des inhibiteurs de type tétralines substituées exhibant des CI_{50} de l'ordre de quelques micromolaires (Figure 4.13). Récemment, la compagnie Neurologic¹⁰⁵ a de son côté breveté la synthèse et l'activité biologique d'analogues de pipérazines substituées (aucun CI_{50} ou K_i n'a été discuté dans le brevet).

Figure 4.13 Inhibiteurs de la β -sécrétase par Takeda,¹⁰⁴ Neurologic¹⁰⁵ et Vertex.¹⁰⁶



Vers la fin des années 2002, Vertex¹⁰⁶ a publié une série d'inhibiteurs de la β -sécrétase provenant d'une étude par pharmacophore en 3D. La conception et l'optimisation des inhibiteurs obtenus a mené à l'obtention du composé **4.10** possédant un $K_i < 3 \mu\text{M}$.

Plusieurs autres travaux effectués par différentes compagnies ont été communiqués par l'entremise de brevets durant les deux dernières années.¹⁰⁷ Ces brevets ne seront pas discutés en détails vu leur complexité et leur accessibilité limitée.

Ce bref survol démontre bien que la β -sécrétase est une cible très convoitée pour l'élaboration d'une thérapie pour la maladie d'Alzheimer. Malgré la découverte de plusieurs molécules inhibitrices de la β -sécrétase ayant des K_i en dessous de 10 nM, il n'en demeure pas moins que ces molécules ne possèdent pas les prérequis nécessaires pour le développement d'éventuels nouveaux médicaments. Ceci reflète bien la situation actuelle et constitue en soit un des gros défis du domaine pharmaceutique, d'où l'intérêt du développement de nouveaux outils (modélisation moléculaire) et la recherche de nouvelles molécules actives de faibles masses moléculaires.

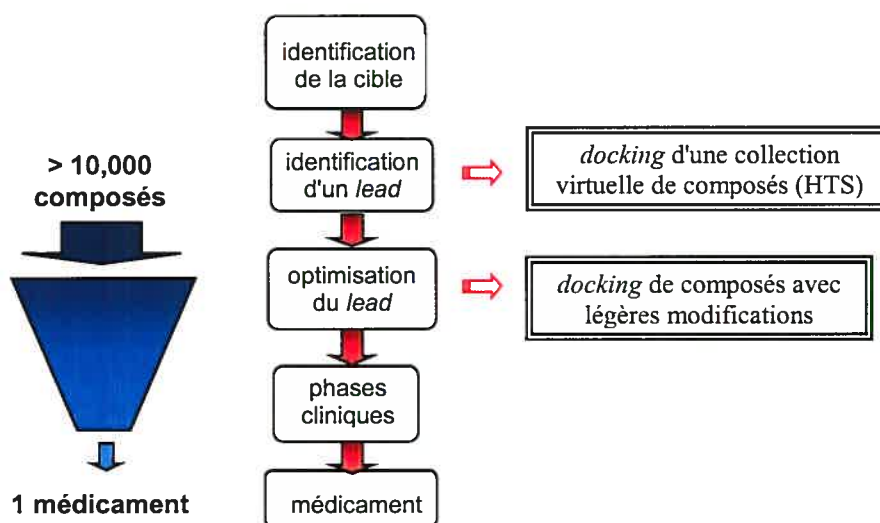
IV.5 La modélisation moléculaire en chimie médicinale et les méthodes de *docking*

Appuyée par les développements technologiques récents et par l'augmentation d'information structurale disponible, la modélisation moléculaire a réussi à s'instaurer et être considérée comme un outil de plus en plus fiable pour la conception de nouveaux composés en chimie médicinale.¹⁰⁸ Un des aspects de la modélisation moléculaire est la conception de nouveaux composés basée sur une structure de protéine donnée (*structure-based design*). Ce type de stratégie s'applique lorsque la cible (le récepteur ou l'enzyme) est connue et ses coordonnées cartésiennes sont disponibles soit grâce à une analyse de diffractions des rayons X de cristaux ou par études de spectroscopie RMN en solution.

Plusieurs programmes informatiques utilisant différentes stratégies et algorithmes sont actuellement disponibles pour permettre l'identification de nouveaux composés. Le *docking* automatisé (*automated docking*) est une stratégie de plus en plus populaire qui a déjà démontré son efficacité pour l'identification de nouveaux composés biologiquement actifs.¹⁰⁹

L'utilisation de la modélisation moléculaire en chimie médicinale peut grandement accélérer le processus de la découverte et du développement de nouveaux médicaments. Lorsque son utilisation est applicable et justifiée, le *docking* peut intervenir à deux niveaux (Figure 4.14).

Figure 4.14 Implication du *docking* lors du développement d'un nouveau médicament.



Premièrement, le *docking* d'une collection virtuelle (*virtual library*) peut en effet substituer un criblage haut débit (*HTS*) coûteux et fastidieux dans l'identification d'une tête de série (*lead*). Deuxièmement, lorsqu'un composé tête de série est identifié, le *docking* peut servir à prioriser la synthèse de quelques analogues dont les structures chimiques et les propriétés physico-chimiques ont été modifiées. Dans les deux cas, l'utilisation du *docking* constitue principalement un outil servant à réduire la quantité de composés à synthétiser tout en augmentant les chances de succès ainsi que de réduire le temps passé au laboratoire et les résidus de synthèse ("chimie verte").

Le *docking* est une méthode utilisée pour prédire la structure du complexe formé entre deux ou plusieurs molécules. Le cas le plus intéressant en chimie médicinale est l'interaction protéine-ligand. Un ligand est une molécule qui se lie au site actif de la protéine (ou du récepteur) de façon à perturber l'activité naturelle de la macromolécule. Il existe plusieurs conformations/orientations/déplacements possibles pour la liaison du ligand au site actif et ces dernières sont communément appelées modes de liaison ou poses.

Emil Fischer¹¹⁰ a introduit la théorie du complexe clef/serrure pour illustrer schématiquement le principe du mode de liaison d'un ligand dans le site actif d'une enzyme. Le ligand, guidé par les interactions complémentaires avec le site actif de l'enzyme, ira se loger selon une conformation bien définie, comme démontré à la Figure 4.15.

Figure 4.15 Théorie du complexe clef/serrure de Emil Fischer.¹¹⁰

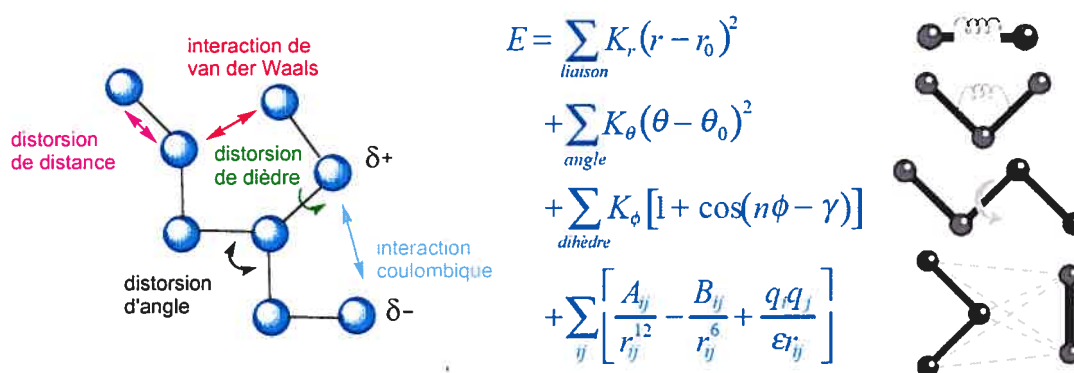


Depuis quelques années, la méthode la plus précise pour effectuer des calculs en modélisation moléculaire est l'utilisation de la mécanique quantique par approximations de l'équation de Schrödinger. Par contre, en considérant des systèmes de plusieurs atomes, comme un complexe ligand-protéine, cette technique devient inefficace et beaucoup trop lourde en temps de calculs. L'approche qui est communément utilisée se concentre principalement sur la mécanique classique basée sur la caractérisation des forces du système étudié.

La mécanique moléculaire décrit l'énergie potentielle d'une molécule par une simple fonction mathématique qui représente les forces entre les particules. La mécanique

moléculaire est basée sur l'additivité de ces forces. Les interactions observées entre deux molécules sont donc les conséquences de ces forces. L'énergie est ainsi calculée en fonction des distorsions à partir d'un idéal pour les distances et les angles, en plus des interactions de van der Waals, électrostatiques et ponts hydrogène. La Figure 4.16 illustre les interactions entre particules pour une molécule hypothétique ainsi que l'équation de l'énergie potentielle.

Figure 4.16 Interactions entre particules pour une molécule hypothétique et représentation des forces contribuant à la fonction d'énergie potentielle.



La mécanique moléculaire considère fixes les électrons des atomes en se basant sur la théorie de l'approximation de Bohn-Oppenheimer. Ainsi, la géométrie d'une molécule peut être approximée en prenant la somme des forces entre les particules de la molécule. Les interactions liantes sont décrites comme des ressorts et les interactions non-liantes sont représentées par les interactions de van der Waals, électrostatiques et ponts hydrogène. Les paramètres définissant ces ressorts sont déterminés par des méthodes expérimentales ou par mécanique quantique. La géométrie de la molécule à l'étude est ensuite optimisée en cherchant le minimum en énergie. Les champs de forces (ensemble de ces paramètres et équations) sont généralement utilisés pour générer des prédictions relativement précises à des systèmes complexes par l'intrapolation et l'extrapolation à partir d'un système expérimental simplifié (transférabilité). Il existe différentes classes de champ de forces et un bref survol est présenté dans les prochains paragraphes.

La première classe comprend les champs de forces classiques, incluant AMBER, OPLS-AA, CHARMM, CVFF et MM2. Le champ de forces AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*)¹¹¹ est principalement utilisé pour la simulation de macromolécules biologiques comme les protéines et les acides nucléiques. OPLS-AA (*Optimized Potentials for Liquid Simulations*)¹¹² est un champ de force développé par Jorgensen à Yale et est idéal pour la modélisation des molécules organiques et des macromolécules en solution. CHARMM (*Chemistry at Harvard Macromolecule Mechanics*)¹¹³ comprend plusieurs fonctions d'énergie paramétrisées pour les simulations de protéines, de lipides et d'acides nucléiques. CVFF (*Consistent Valence Force Field*)¹¹⁴ possède des paramètres provenant de structures à l'état cristallin et gazeux. Ce champ de forces est communément utilisé pour les molécules organiques. Finalement, MM2¹¹⁵ est un champ de forces généralement utilisé pour traiter des molécules organiques simples comme des hydrocarbures et des groupes fonctionnels simples avec hétéroatomes.

La deuxième classe est la seconde génération de champ de forces qui inclut CFF, COMPASS et MM3. Le champ de forces CFF (*Consistent Force Field*)¹¹⁶ est plus complexe que AMBER et inclut des paramètres pour des groupes fonctionnels plus divers. CFF repose sur l'utilisation de la mécanique quantique pour déterminer les paramètres des fonctions d'énergie et possède l'avantage de couvrir un large nombre de composés de façon très précise. COMPASS (*Condensed-phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies*)¹¹⁷ est un autre modèle utilisant les méthodes *ab initio*, ressemblant beaucoup à CFF pour la façon de déterminer les paramètres par mécanique quantique. Le champ de forces MM3¹¹⁸ est une version améliorée du MM2 qui inclut une polarisation du lien C-H et des paramètres pour les petits cycles (à 3-4-5 chaînons).

Finalement, il existe des modèles de champ de forces généralisés qui ne sont pas contenus dans les deux classes discutées précédemment. Ces derniers ne sont pas aussi précis que ceux discutés précédemment, mais sont basés sur des paramètres atomiques et des règles pour une détermination explicite des paramètres. Ils peuvent être utilisés pour

des systèmes qui ne sont pas bien représentés par les autres champs de forces. ESFF (*Extensible Systematic Force Field*)¹¹⁹ est utilisé pour les systèmes organiques et inorganiques. UFF (*Universal Force Field*)¹²⁰ couvre la totalité du tableau périodique et est moins précis, mais permet néanmoins une application pour les systèmes qui ne sont pas couverts par les autres champs de forces.

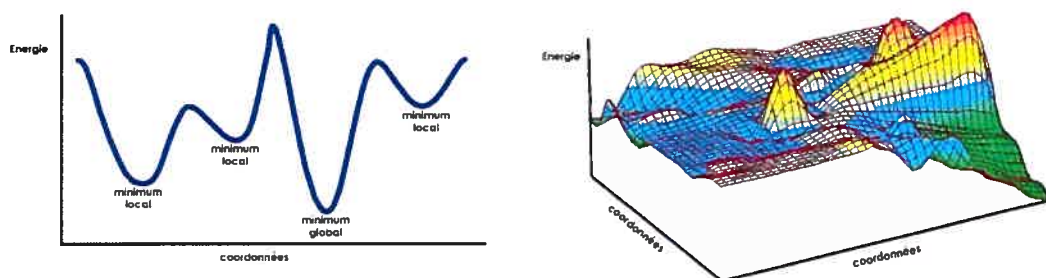
IV.6 Introduction aux méthodes de *docking*

Le *docking* se divise en deux étapes. La première étape consiste en la génération de plusieurs conformations du ligand (algorithme de recherche conformationnelle) afin de trouver les meilleures interactions possibles avec le site actif de la macromolécule (échantillonnage des poses). La deuxième étape permet de déterminer la meilleure pose en lui attribuant un score relatif. Si les deux étapes sont effectuées de façon optimale, le modèle résultant doit représenter le complexe ligand-macromolécule. Ainsi, cet outil permet d'identifier et de rejeter les molécules qui n'auraient pas l'affinité requise (score) pour la macromolécule ciblée ou un mode de liaison inhabituel (pose).

Une recherche conformationnelle rigoureuse par un algorithme mathématique tenterait de considérer tous les modes de liaison possibles des deux molécules. Toutefois, cette stratégie est en pratique impossible à envisager puisque le nombre de conformations possibles augmente de façon exponentielle avec le nombre de degrés de liberté des deux molécules. En effet, en considérant un site actif d'une protéine avec volume moyen de 10^3 \AA^3 et un ligand possédant quatre torsions, il faudrait considérer $6 \cdot 10^{14}$ configurations possibles si on effectuait une recherche en variant les angles avec un pas de 10° et un mouvement de translation de 0.5 \AA . De plus, en considérant un temps moyen de calcul de dix modes de liaison (poses) par secondes deux millions d'années par ligand seraient nécessaires. Ainsi, en pratique, seulement un nombre minimal de conformations doit être échantillonné tout en s'assurant d'obtenir une pose se rapprochant le plus près possible du minimum global du système. Afin d'éviter de rester

piégé dans un minimum local (Figure 4.17), plusieurs algorithmes de recherche ont été développés et un bref survol est présenté.

Figure 4.17 Représentation schématique d'une hypersurface d'énergie potentielle d'un complexe ligand-macromolécule en représentation 2D et 3D.



Monte Carlo. Les méthodes de Monte Carlo consistent en des simulations expérimentales de problèmes mathématiques dans lesquelles des nombres aléatoires sont utilisés pour trouver une solution. Cette stratégie occupe une place spéciale dans l'histoire de la modélisation moléculaire puisqu'elle fut la technique utilisée pour effectuer la première simulation par ordinateur.¹²¹ Cette procédure est une méthode stochastique (au hasard) qui consiste à générer un enchaînement de configurations obtenues par mouvements aléatoires du système. Ces mouvements sont alors acceptés ou refusés selon les critères établis par une distribution de Boltzmann. Afin de converger vers le minimum du système, il faut générer un très grand nombre de conformations. L'algorithme de Metropolis¹²² est souvent utilisé comme critère d'acceptation. Les méthodes Monte Carlo jouent un rôle important en docking moléculaire et plusieurs programmes utilisent cet algorithme, tels que Glide,¹²³ ProDock,¹²⁴ ICM,¹²⁵ MCDOCK¹²⁶ et QXP.¹²⁷

Algorithmes génétiques. Les algorithmes génétiques et les méthodes de programmation évolutives comptent parmi les plus efficaces pour résoudre les problèmes de *docking* et pour la résolution de problèmes complexes en général. L'idée essentielle derrière ce type d'algorithme est l'évolution d'une population de solutions possibles (basée sur la théorie de Darwin) via des opérateurs génétiques (mutations, croisements et migrations) vers

une population finale, en optimisant constamment une fonction de la valeur d'adaptation (*fitness*). Le processus débute avec le codage des variables (gènes), plus précisément les degrés de libertés de la molécule, dans un chromosome. Ensuite, une population initiale de poses est créée de façon aléatoire et les opérateurs génétiques sont appliqués de sorte à créer une nouvelle population. Cette nouvelle population est alors évaluée et rangée en utilisant des règles de probabilités (*survival of the fittest*). Les membres de cette dernière population sont soit rejetés ou conservés selon leur chance de survie. À la fin de la procédure, toute la population converge vers une solution unique: le minimum global du système est ainsi obtenu. Les programmes utilisant ce type de technique sont GOLD,¹²⁸ AutoDock,¹²⁹ DIVALI¹³⁰ et DARWIN.¹³¹

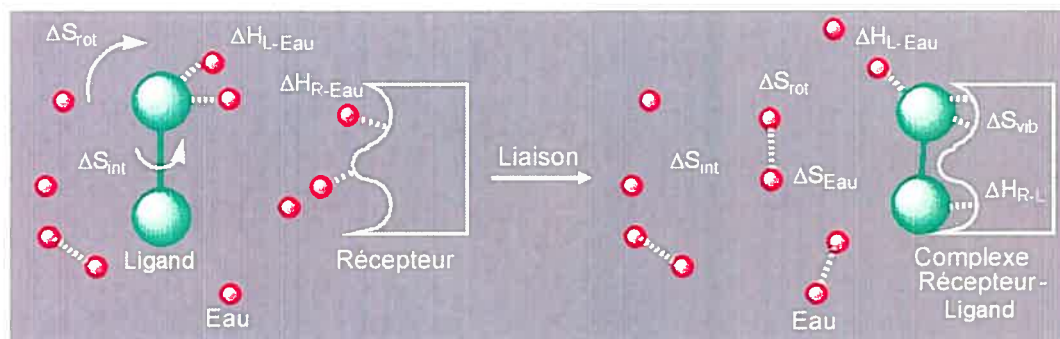
Méthodes fragmentaires. Les méthodes fragmentaires considèrent un ligand en divisant ce dernier en plusieurs fragments. Chacun de ces fragments est alors placé individuellement dans le site de liaison. Les divers fragments sont alors reliés ensemble pour reconstruire la molécule. Le fragment de base doit contenir les interactions prédominantes avec le récepteur afin d'obtenir des résultats optimaux. Pour cela, tous les fragments sont successivement utilisés comme point de départ (construction fragmentaire incrémentée). Des programmes bien connus utilisant cette approche sont FlexX,¹³² FLOG¹³³ et DOCK.¹³⁴

Autres méthodes. Plusieurs autres méthodes existent pour la recherche conformationnelle telles que les méthodes: dynamique moléculaire, complémentaire de points (*Point complementary*), géométrie de distance (*Distance geometry*), recherche Tabu (*Tabu search*) et recherches systématiques (*Systematic searches*). Ces dernières ne seront pas discutées en détail puisque leur application n'est limitée qu'à quelques exemples.

La recherche conformationnelle ne représente que la première étape du processus de *docking*. La deuxième étape est aussi importante puisque c'est grâce à l'évaluation et au classement de chaque pose que les conformations générées sont triées afin d'extraire la meilleure conformation représentant le mode de liaison. C'est majoritairement l'étape de

l'évaluation qui présente encore des faiblesses dans les programmes de *docking* disponibles. Les fonctions d'évaluation se doivent de "prédire" l'énergie libre du processus de liaison qui est un processus complexe (Figure 4.18). Les fonctions disponibles reposent essentiellement sur l'additivité de termes (interactions, solvation/désolvation, entropie, etc...). Il existe trois grandes classes de fonctions d'évaluation.

Figure 4.18 Processus de liaison entre un ligand et un récepteur.



Fonction d'évaluation basée sur un champ de forces. Ce type de fonction est caractérisé par l'utilisation de champs de forces de la mécanique moléculaire classique. L'approximation sur laquelle se basent ces fonctions est que l'énergie libre de liaison en solution peut être substituée par l'enthalpie de liaison en phase gazeuse. Des termes de solvation et d'entropie sont parfois rajoutés à ces fonctions.

$$\Delta G_{liaison} \approx \Delta H_{liaison}$$

Parmi cette catégorie on retrouve les fonctions AutoDock,¹²⁹ G-Score¹²⁸ et D-Score.¹³⁴

Fonction d'évaluation empirique. Cette classe de fonctions d'évaluation considère l'énergie libre de liaison comme une somme des interactions localisées.

$$\Delta G_{liaison} \approx \sum \Delta G_i f_i(r)$$

Où f_i est une fonction des coordonnées et ΔG_i est un coefficient. La fonction est divisée en plusieurs termes qui incluent chacune des interactions tels que pont hydrogène, interaction ionique, interaction électrostatique, solvation, entropie, etc... Ces fonctions

sont développées à partir de données expérimentales. Les fonctions LigScore,¹³⁵ PLP,¹³⁶ LUDI,¹³⁷ F-Score,¹³² Chem-Score¹³⁸ et X-Score¹³⁹ se retrouvent dans cette catégorie.

Fonction d'évaluation basée sur la connaissance. Ces fonctions sont basées sur des analyses statistiques de plusieurs complexes ligand/protéine provenant de la PDB. L'hypothèse de Boltzmann convertit les fréquences de trouver un atome du ligand à une distance spécifique d'un autre atome de la protéine en une énergie d'interaction. Ainsi, les interactions susceptibles de se retrouver plus fréquemment seront considérées comme attractives (stabilisantes) tandis que les interactions moins susceptibles d'être observées seront considérées comme repulsives (déstabilisantes).

$$E_{ij} = -kT \ln(p_{ijk}) + kT \ln(z)$$

Où l'énergie E_{ij} est déterminée par la probabilité de la densité p_{ijk} . Les fonctions PMF¹⁴⁰ et DrugScore¹⁴¹ sont classées dans cette catégorie.

Plusieurs études comparatives ont été effectuées pour évaluer ces fonctions dans leur habileté à reproduire les affinités de liaison.¹⁴² Dépendamment des classes d'enzyme étudiées, certaines fonctions sont plus performantes que d'autres. De plus, il a été démontré à quelques reprises que l'utilisation d'une combinaison de deux ou plusieurs fonctions (*consensus*) peut contribuer à en améliorer son efficacité et sa prédictivité.¹⁴³

IV.7 Étude comparative de programmes de *docking* et application à la conception de nouveaux inhibiteurs des MPMs

Les métalloprotéases à zinc font partie d'une classe spécifique de protéases. Parmi celles-ci, on retrouve la carboxypeptidase A (CPA) et la thermolysin (TLN) qui ont été intensivement étudiées tant sur le point de vue structurel que mécanistique.¹⁴⁴ Dans la classe des métalloprotéases à zinc, on retrouve une sous-classe nommée métalloprotéase de matrice, les MPMs, aussi appelées "matrixines". Plus de 20 différentes MPMs ont été identifiées à ce jour.¹⁴⁴ Le Tableau 4.1 donne une description de ces enzymes ainsi que leurs principaux substrats.

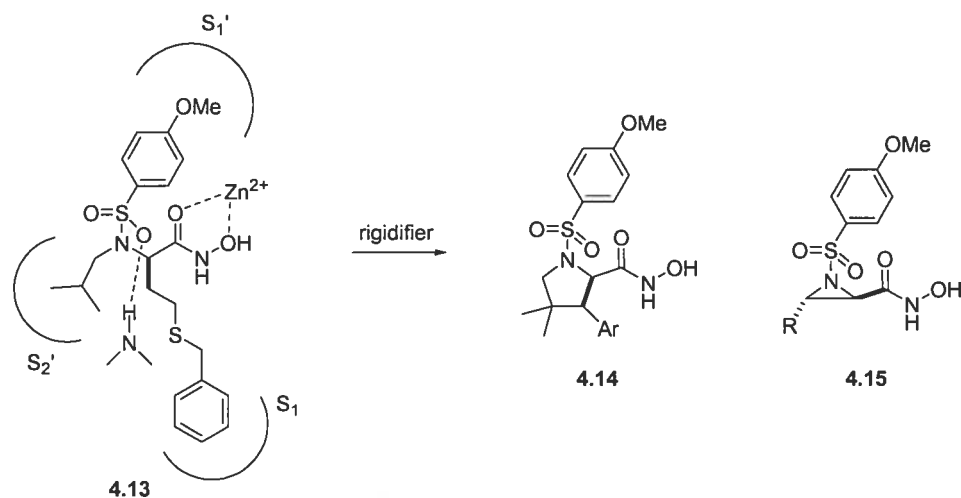
Tableau 4.1 Les différentes métalloprotéases de matrice et leurs substrats respectifs.¹⁴⁴

MPM No.	Enzyme	Substrat principal
MPM -1	Collagénase fibroblaste	Collagènes fibrillaires et nonfibrillaires, gélatines
MPM -2	72 kDa gélatinase (gélatinase A)	Membrane de base et collagène nonfibrillaire, fibronectine, élastine
MPM -3	Stromélysine-1	Protéoglycan, laminine, fibronectine, collagène
MPM -7	Matrilysin (PUMP)	Fibronectin, gélatines, protéoglycan, pro-MPM-1
MPM -8	Collagénase neutrophile	Collagènes fibrillaires
MPM -9	92 kDa gélatinase (gélatinase B)	Membrane de base, collagènes, gélatines
MPM -10	Stromélysine-2	Fibronectine, collagène, gélatines, pro-MPM-1
MPM -11	Stromélysine-3	Serpine
MPM -12	Métalloélastase	Elastine
MPM -13	Collagénase-3	Collagènes fibrillaires, gélatines
MPM -14	Membrane-type-1 (MT-1-MPM)	Pro-72 kDa gélatinase
MPM -15	Membrane-type-2 (MT-2-MPM)	Non déterminé
MPM -16	Membrane-type-3 (MT-3-MPM)	Pro-72 kDa gélatinase
MPM -17	Membrane-type-4 (MT-4-MPM)	Non déterminé
MPM -18	Collagénase-4 (xenopus MPM)	Non déterminé
MPM -19	Nouvelle MPM (RASI 1)	Gélatine
MPM -20	Enamélysine	Amélogénine (dentine), gélatine
MPM -21	MPM identifiée sur chromosome 1	Non déterminé
MPM -22	MPM identifiée sur chromosome 1	Non déterminé
MPM -23	À partir d'ovaire humain cDNA	Non déterminé

Les MPMs sont des enzymes qui exhibent une activité protéolytique envers presque tous les constituants de la matrice cellulaire. Ces enzymes sont des exopeptidases, c'est à dire qu'elles catalysent l'hydrolyse d'un peptide du côté C-terminal. Elles sont impliquées dans la dégradation et la reconstruction des protéines présentes dans les tissus du corps humain. Le dysfonctionnement d'une de ces MPMs résulte souvent en une dégradation tissulaire trop importante. Plusieurs d'entre-elles sont alors responsables de maladies telles que la sclérose en plaques, l'arthrite, la fibrose kystique ainsi que plusieurs autres maladies inflammatoires. Étant donné la très grande variété de maladies liées à ces enzymes, elles sont rapidement devenues des cibles de choix pour la synthèse d'agents thérapeutiques.

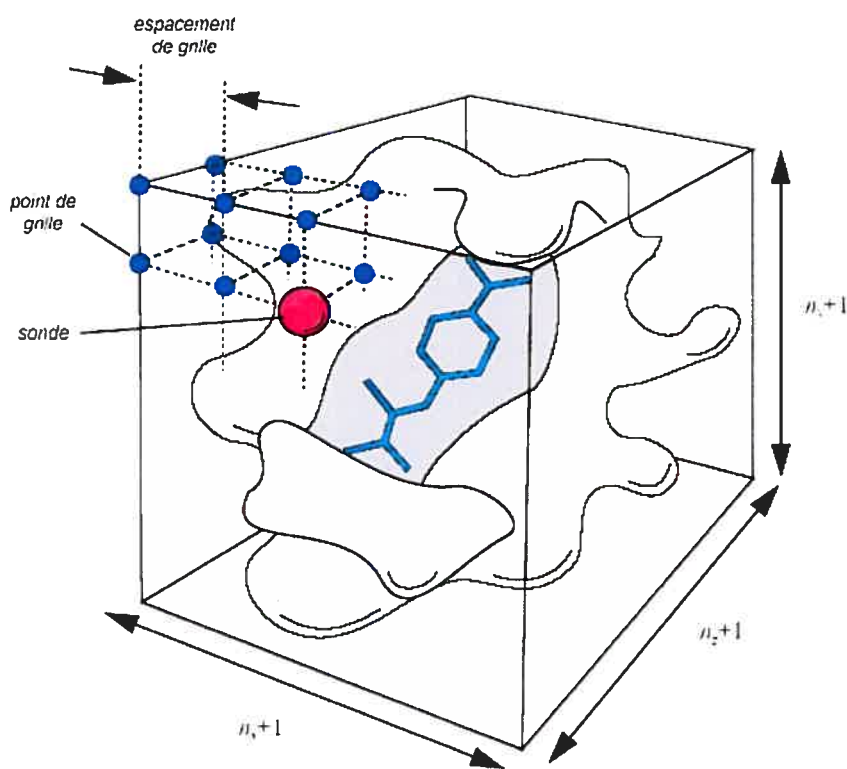
Des travaux antérieurs du groupe Hanessian¹⁴⁵ ont mené à la découverte d'un inhibiteur possédant un large spectre d'activité enzymatique envers les MPMs. Cette molécule acyclique **4.13** (Figure 4.19) a par la suite été l'objet d'une étude plus approfondie par l'étude de relations structure-activité (SAR) en modifiant méthodiquement la nature des groupements fonctionnels.¹⁴⁶

Figure 4.19 Conception de nouveaux analogues rigidifiés.



Il a été démontré que le fait de rigidifier une molécule dans sa conformation bioactive conduit souvent à des composés plus sélectifs et plus actifs pour une cible donnée. Dans un premier temps, des dérivés cyclohexényles,¹⁴⁷ cyclopropyles¹⁴⁷ ainsi que tétrahydrofuryles¹⁴⁸ ont été conçus et synthétisés. Leur conception était basée sur des considérations bidimensionnelles essentiellement. Malgré la présence des groupements fonctionnels nécessaires à la liaison sur ces composés rigides, aucun n'a démontré de potentielle inhibition. Des études de dynamique moléculaire ont pu expliquer que dans le cas des dérivés tétrahydrofuranes, la conformation adoptée par la molécule dans le site actif ne conduisait pas à des interactions optimales. Nous nous sommes donc intéressés à l'utilisation de la modélisation moléculaire pour la conception de nouveaux inhibiteurs. En utilisant une stratégie de rigidification de la molécule acyclique **4.13**, nous avons créé de nouveaux motifs pyrrolidines **4.14** et aziridines **4.15** (Figure 4.19). Ces derniers ont été conçus en prenant compte de l'accessibilité synthétique et ils ont été modélisés avant d'être synthétisés.

Figure 4.20 Grille utilisée par le programme GRID.¹⁴⁹



Tout d'abord, les sites actifs des différentes MPMs ont été analysés avec l'aide du programme GRID.¹⁴⁹ Le programme GRID est une procédure informatique pour la détermination de sites d'interactions dans un site de liaison. Les positions favorables d'interactions sont explorées et les interactions avec la macromolécule sont évaluées. Différentes sondes sont ainsi déplacées sur une grille. Ces sondes incluent l'eau, le groupe méthylique, l'azote d'amine, l'oxygène de carboxyle, l'hydroxyle et plusieurs autres. Des contours d'isosurfaces sont ensuite calculés pour chacune des sondes choisies et représentés sur la macromolécule pour en visualiser les positions favorables de ces sondes (Figure 4.20).

Une recherche dans la base de données de protéines Brookhaven (PDB)¹⁵⁰ nous permet d'obtenir plusieurs structures tridimensionnelles des MPMs. Parmi ces dernières, 36 complexes ligand-enzyme ont été retenus selon leur diversité et résolution, et analysés visuellement.¹⁵¹ Pour exemple, les structures cristallines de six MPMs ont été

superposées et seulement de petites variations ont été observées dans leur représentation de type ruban tel qu'illustré dans la Figure 4.21a. Bien que différentes mutations de résidus d'acide aminés soient apparentes d'une MPM à une autre, leurs positions relatives semblent être très similaires.

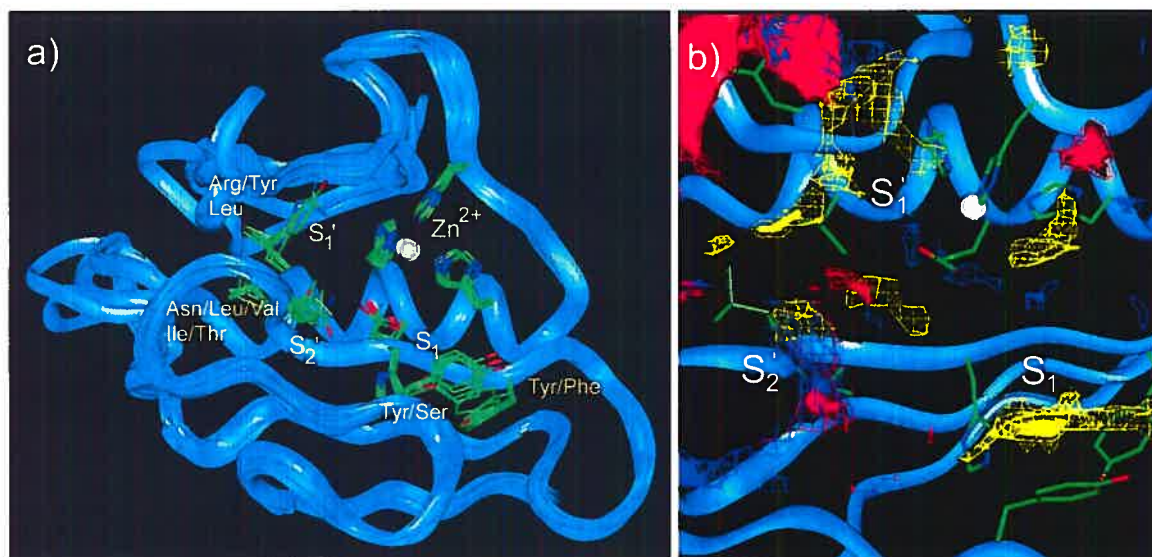
Une analyse minutieuse des superpositions démontre qu'une sélectivité pourrait être obtenue pour les MPM-2, MPM-3, MPM-8 et MPM-13 envers les MPM-1 et MPM-9 en prenant avantage de la différence en profondeur des sous-sites S_1' (Tableau 4.2). Par exemple, la présence d'une arginine dans MPM-1 réduit la profondeur du sous-site formé dans MPM-3. En effet, cette observation a d'ailleurs été exploitée afin de mener à des inhibiteurs sélectifs.¹⁵²

Tableau 4.2 Résidus observés dans différents sous-sites des MPMs.

Sous-site	MPM-1	MPM-2	MPM-3	MPM-8	MPM-9	MPM-13
S_1	Ser ¹⁷² /Phe ¹⁸⁵	Tyr ¹⁵⁵ /Phe ¹⁶⁸	Tyr ¹⁵⁵ /Tyr ¹⁶⁸	Ser ¹⁵¹ /Phe ¹⁶⁴	Tyr ¹⁷² /Phe ¹⁸⁵	Tyr ¹⁷⁶ /Phe ¹⁸⁹
S_1'	Arg ²¹⁴	Leu ¹⁹⁷	Leu ¹⁹⁷	Leu ¹⁹³	Tyr ²¹⁴	Leu ²¹⁸
S_2'	Asn ¹⁸⁰	Leu ¹⁶³	Val ¹⁶³	Ile ¹⁵⁹	Thr ¹⁸⁰	Leu ¹⁸⁴

Une étude utilisant le programme GRID sur le site actif d'une MPM-3 nous a permis de visualiser une région hautement hydrophobe en S_1 (Tyr155/Tyr168). De plus, les régions idéales pour les oxygènes de sulfonamides ainsi que pour les amides NH sont représentés dans la Figure 4.21b. Cette étude structurale nous permet de cartographier les différentes MPMs afin de pouvoir les discerner entre-elles et ainsi développer de nouveaux inhibiteurs sélectifs.

Figure 4.21 a) Superposition de six différentes MPMs; b) Analyse GRID d'une MPM-3 démontrant les zones hydrophobes (jaune), les zones favorables aux oxygènes de sulfonamide (rouge) et azote d'amide (bleu).



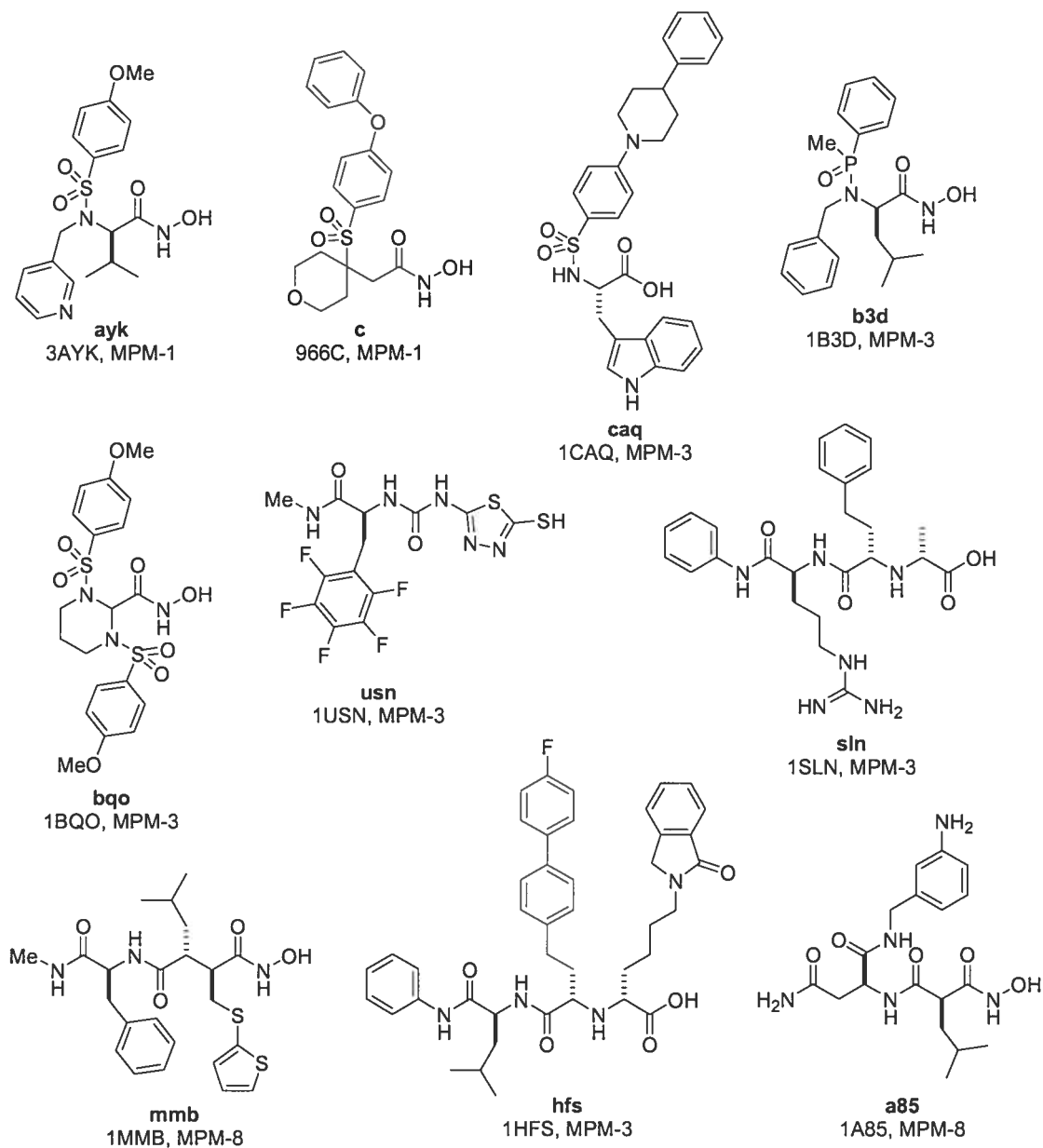
Plusieurs programmes de *docking* existent mais bien que certains aient prouvé à maintes reprises leur efficacité, il est toujours préférable de s'assurer que le programme est adéquat pour l'enzyme ou le récepteur étudié. Si le programme réussit à reproduire la conformation d'un certain nombre de ligands telle qu'observée dans une structure cristalline, il est jugé prédictif pour la macromolécule étudiée.

Dans le cadre de ce projet¹⁵¹ visant la découverte de nouveaux inhibiteurs des métalloprotéases de matrice, nous avons sélectionné les programmes de *docking* automatisés DOCK et AutoDock. Le programme DOCK utilise une méthode fragmentaire par reconstruction incrémentale. L'algorithme débute par l'identification d'une ancre rigide qui sera placée dans le site actif de la macromolécule en utilisant une procédure d'appariement de sphères (représentant le site actif). Le ligand est ensuite reconstruit fragments par fragments. À chaque étape de la reconstruction, un certain nombre de conformations partielles sont évaluées et sélectionnées pour l'étape suivante. Les conformations sont évaluées en utilisant des fonctions d'évaluation d'énergie, de contact et de faisabilité chimique. La fonction d'évaluation inclut les termes de van der Waals et électrostatique calculés selon le champ de forces AMBER.

Le programme AutoDock explore l'espace conformationnel du ligand en utilisant l'algorithme génétique "Lamarckien" (LGA) qui est une méthode hybride d'un algorithme génétique traditionnel (GA) et d'une recherche locale adaptative. Dans cette approche, le ligand est représenté sous forme d'un chromosome constitué de plusieurs valeurs (gènes) correspondant à la position (coordonnées cartésiennes), l'orientation (quatre quaternions) et la conformation (une valeur pour chacune des torsions). Le protocole commence par la création aléatoire d'une population initiale d'individus (poses) suivie de l'évolution obtenue par un nombre déterminé de générations constituées des étapes suivantes: sélection des "parents", croisements (*cross-over*), mutation, élitisme (facteur important d'amélioration) et évaluation de la valeur d'adaptation (*fitness*). Une optimisation de certains "enfants" est effectuée à la fin de chaque cycle. Ensuite, les poses optimales sont évaluées en utilisant la fonction d'évaluation basée sur l'énergie. Cette dernière inclut les termes de van der Waals de courte distance, les interactions électrostatiques, les pertes d'entropie suite à la liaison du ligand, les ponts hydrogènes et la solvation. Les "enfants" ou les "parents" survivront en fonction de leur score.

Ensuite, nous avons évalué la capacité des programmes DOCK et AutoDock à reproduire la conformation et le mode de liaison d'un inhibiteur donné tel qu'observé dans le complexe co-cristallisé de différentes MPMs. Les structures illustrées à la Figure 4.22 ont été sélectionnées selon des critères de diversité de fonctions chimiques et de flexibilité.

Figure 4.22 Inhibiteurs sélectionnés pour l'étude comparative, code PDB et MPM respective.¹⁵¹



Pour chacune des dix structures, le ligand a été retiré du site actif de l'enzyme et repositionné à l'aide des programmes DOCK et AutoDock. Les modes de liaison obtenus ont été par la suite comparés aux structures rayons X originales et une valeur de rmsd (*root mean square deviation*) a été calculée. Un rmsd permet de chiffrer la différence

entre les poses modélisées et observées dans la structure cristalline. Ainsi, rmsd = 0: parfait; < 2: raisonnable; > 2 < 3: moyen; > 3: nul.

Au cours du protocole de *docking* du programme DOCK, deux types de recherches sont effectués. Tout d'abord une recherche conformationnelle est réalisée sur le ligand suivie d'une recherche d'orientation de ce dernier dans le site actif de l'enzyme. Il existe deux options pour traiter la flexibilité du ligand pendant la recherche conformationnelle, appelées recherche simultanée (*simultaneous search*) et la méthode d'ancre multiple (*multiple anchor*). Ensuite, deux options sont disponibles pour la recherche d'orientations tels que l'appariement automatisé (*automated matching*) et la recherche aléatoire (*random search*).

Des essais initiaux utilisant l'option de recherche conformationnelle simultanée ont mené à des rmsd au-delà de 6 Å par rapport aux structures cristallographiques correspondantes. Par contre, la méthode d'ancre multiple qui considère les ligands comme un série de fragments a donné de bien meilleurs résultats. Les deux méthodes de recherche d'orientation de concert avec la méthode d'ancre multiple ont été utilisées et les résultats sont montrés dans le Tableau 4.3.

Tableau 4.3 Valeurs de rmsd et valeurs d'énergie de la pose présentant le meilleur score pour l'étude avec DOCK.

Structures	rmsd (Å) et valeurs d'énergie (kcal.mol ⁻¹)					
	"appariement simultanée"			"recherche aléatoire"		
b3d	1.24 (-25.4)	1.30 (-22.5)	1.22 (-24.0)	0.77 (-24.2)	0.53 (-17.4)	1.22 (-21.9)
c	0.66 (-32.9)	0.62 (-39.2)	5.81 (-26.6)	8.21 (-28.8)	7.72 (-28.2)	8.76 (-26.5)
a85	4.49 (-36.0)	6.46 (-38.4)	4.61 (-36.7)	6.54 (-38.6)	6.49 (-36.1)	4.61 (-33.8)
bqo	10.30 (-37.2)	7.29 (-40.7)	12.8 (-38.6)	9.32 (-46.3)	7.36 (-46.6)	9.02 (-45.4)
caq	1.10 (-46.6)	0.68 (-49.6)	2.10 (-46.3)	1.63 (-46.3)	1.25 (-47.0)	1.51 (-47.5)
ayk^a	1.97 (-37.8)	2.10 (-33.9)	2.17 (-39.4)	2.11 (-36.7)	2.19 (-37.3)	2.12 (-40.2)
mmb	6.02 (-26.4)	3.12 (-27.1)	2.76 (-26.2)	6.48 (-26.6)	2.96 (-25.4)	3.11 (-25.7)
sln	6.74 (-40.8)	7.09 (-38.4)	1.72 (-39.3)	9.67 (-42.3)	1.78 (-41.0)	1.47 (-39.3)
usn	0.74 (-35.7)	2.29 (-31.9)	1.58 (-33.7)	1.50 (-33.2)	2.18 (-35.2)	1.60 (-32.5)
hfs	2.51 (-35.2)	1.86 (-35.2)	0.95 (-41.2)	3.62 (-34.3)	10.12 (-33.5)	2.54 (-42.9)

a. Structure rmn.

Chaque simulation a été effectuée en triplicat afin de s'assurer de la reproductibilité. De façon générale, plus le rmsd est petit, plus la solution modélisée est proche de celle observée dans la structure de référence. DOCK a été en mesure de prédire correctement le mode de liaison de six des dix inhibiteurs étudiés avec la méthode d'appariement simultanée. Ainsi les structures **b3d**, **c**, **ayk**, **usn**, **caq**, et **hfs** ont été reproduites avec un rmsd inférieur à 2 Å. Aucune différence majeure n'a été observée entre les deux méthodes utilisées par comparaison au rmsd calculé. Par contre, l'évaluation de la valeur

de l'énergie n'a pas été trouvée représentative d'une méthode à l'autre. Les quatre structures pour lesquelles DOCK n'a pas réussi à reproduire le bon mode de liaison sont **mmb**, **a85**, **bqo** et **sln** (Figure 4.23). Dans certains cas, la molécule possède une mauvaise conformation des groupements en périphérie ou tout simplement le mode de liaison est complètement inversé. DOCK a néanmoins été en mesure de reproduire correctement le mode de liaison de **hfs**, le ligand possédant le nombre le plus élevé de torsions (18 torsions) du jeu d'inhibiteurs choisi.

La deuxième partie de l'étude comparative consistait à tester la fiabilité du *docking* de ces dix inhibiteurs par le programme AutoDock. Ce dernier possède deux algorithmes différents de recherche conformationnelle et d'orientation du ligand dans le site actif de la macromolécule. Le recuit simulé (*simulated annealing*) est l'algorithme original du programme AutoDock 2.4 reconnu pour être efficace avec des ligands comportant un maximum de dix degrés de liberté internes (torsions). Le *docking* de **hfs** et **sln** a confirmé ce point ($rmsd > 3$). Notre étude s'est donc limitée à l'utilisation de l'algorithme génétique, récemment introduit dans la dernière version du programme (3.0.5) et qui est reconnu pour être beaucoup plus efficace et performant. Ainsi, les systèmes ont été modélisés en utilisant l'algorithme génétique Lamarckien. Les simulations ont été répétées trois fois pour s'assurer de la reproductibilité et les résultats sont montrés dans le Tableau 4.4.

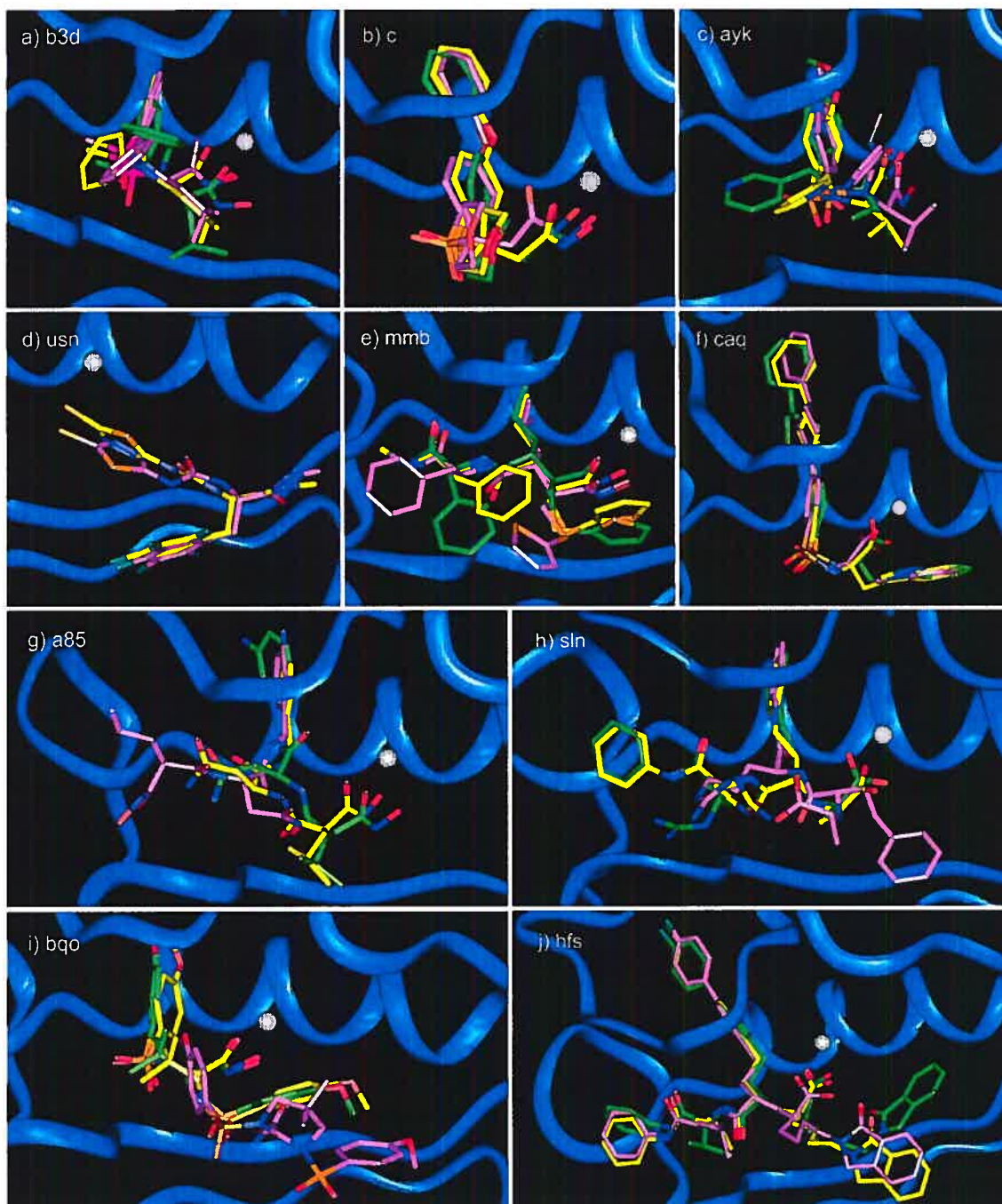
Comparativement au programme DOCK, AutoDock a réussi à reproduire les neuf structures avec un $rmsd$ inférieur à 2 Å, et plus d'un quart de ces derniers avec un $rmsd$ inférieur à 1 Å. De plus, dans chacun des cas, la valeur des énergies est constante entre les trois calculs. Bien que le $rmsd$ de **ayk** et **a85** soit légèrement plus élevé comparé aux autres complexes, la bonne conformation a néanmoins été observée (Figure 4.23). Il est à noter que **ayk** représente un ensemble de structures *rmn*. Toutefois, AutoDock n'a pu reproduire la bonne conformation de **hfs** qu'une seule fois sur les trois simulations effectuées. Ceci peut être expliqué par un manque de convergence lié à la très haute flexibilité du ligand.

Tableau 4.4 Valeurs de rmsd et valeurs d'énergie pour l'étude avec AutoDock.

Structures	rmsd (Å) et valeurs d'énergie (kcal.mol ⁻¹)		
b3d	1.38 (-11.2)	0.83 (-11.2)	0.90 (-10.9)
c	0.70 (-2.7)	0.55 (-2.6)	0.64 (-2.7)
a85	1.14 (-13.8)	1.37 (-14.2)	1.94 (-13.9)
bqo	0.78 (+3.6)	1.19 (+4.0)	0.97 (+3.7)
caq	0.64 (-10.5)	0.73 (-10.6)	2.47 (-10.5)
ayk^a	2.93 (-6.0)	2.12 (-6.1)	1.80 (-5.8)
mmb	1.04 (-12.7)	1.02 (-12.8)	1.39 (-12.7)
sln	1.51 (-15.1)	1.68 (-15.2)	1.65 (-15.1)
usn	--	--	--
hfs	1.10 (-17.9)	1.88 (-18.0)	1.65 (-18.3)

a. Structure rmm.

Figure 4.23 Complexes MPM/inhibiteur: structure cristallographique (jaune), structures proposées par AutoDock (vert) et DOCK (rose); **usn** n'est pas montré pour AutoDock.



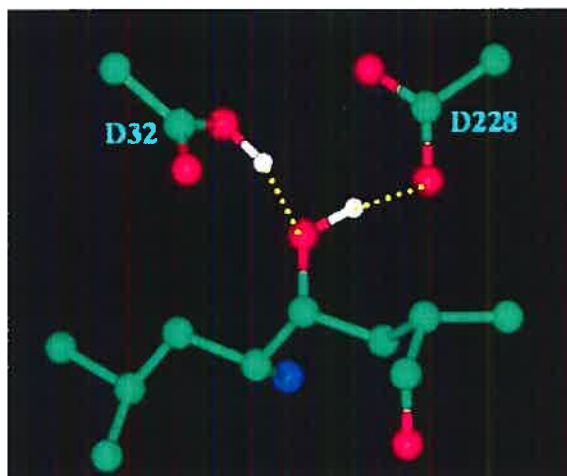
Cette étude comparative a clairement démontré l'efficacité et la reproductibilité du programme AutoDock avec les MPMs.¹⁵³ Nous pouvons alors procéder à l'étude des modes de liaison des dérivés pyrrolidines et aziridines avec une certaine confiance sur les prédictions d'AutoDock. Ainsi, plusieurs dérivés aziridines et pyrrolidines ont été conçus par modifications des différents groupes fonctionnels et la collection virtuelle a été modélisée avec le programme AutoDock. Cette méthodologie a permis de limiter la synthèse à quelques analogues seulement et dans les deux séries, de nouveaux inhibiteurs actifs ont été obtenus.¹⁵⁴

IV.8 Étude de *docking* d'inhibiteurs de la β -sécrétase

La β -sécrétase fait partie de la classe des protéases aspartiques. Les résidus de la diade catalytique sont par conséquent des acides aspartiques. Il est connu et accepté par la communauté scientifique que l'un des deux résidus carboxylates est protonné sous la forme d'acide aspartique et l'autre déprotonné sous la forme d'un carboxylate.¹⁵⁵ Lorsque modélisé, le choix de l'état de protonation n'est pas une décision triviale. En effet, les structures PDB ne donnent aucune information sur l'état de protonation.

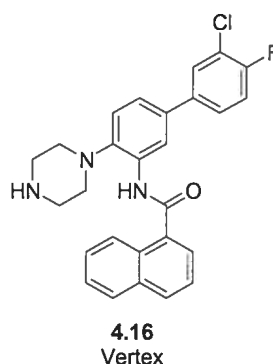
En 2003, Park et Lee¹⁵⁶ ont rapporté l'étude de l'état de protonation du site actif de la β -sécrétase par dynamique moléculaire. En se basant sur la structure cristalline du complexe β -sécrétase et OM99-2 (4.2), ils ont effectué une dynamique moléculaire de 1.2 ns sur chacun des deux états de protonation possibles. Leur étude a mené à la conclusion que le résidu chargé était Asp228 et que le résidu Asp32 était porteur du proton (Figure 4.24).

Figure 4.24 État de protonation de la β -sécrétase proposé par Park et Lee.¹⁵⁶



Afin de valider leur résultat, des études de *docking* ont été effectuées avec le programme DOCK. Ainsi, l'inhibiteur **4.16** (Figure 4.25) a été placé par DOCK dans les deux structures différentes (de par leur état de protonation) de la β -sécrétase et les résultats obtenus ont validé le modèle de protonation proposé. En plus de suggérer un état de protonation du site actif de la β -sécrétase, ce travail représente la première utilisation de programme de *docking* autre qu'une simple minimisation ou Monte Carlo pour positionner le ligand.

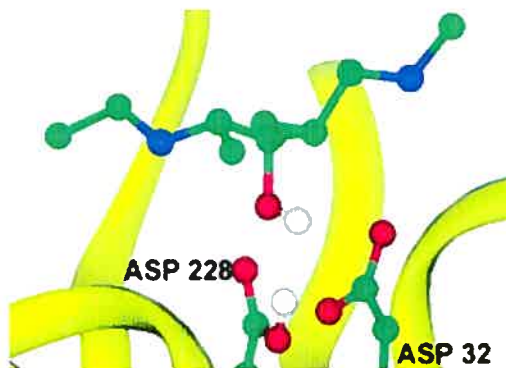
Figure 4.25 Composé de Vertex utilisé en *docking* pour valider l'état de protonation.



Un an plus tard, Rajamani et Reynolds¹⁵⁷ ont à leur tour présenté leur travail sur l'état de protonation du site actif de l'enzyme. Contrairement à l'étude précédente, les scientifiques de Johnson & Johnson Pharmaceuticals ont utilisé la mécanique quantique. Ainsi, des calculs utilisant la méthode "*linear-scaling quantum mechanical*" avec la

méthode semi-empirique AM1 ont mené à la conclusion que le résidu chargé était Asp32 tandis que celui portant le proton était Asp228 (Figure 4.26).

Figure 4.26 État de protonation de la β -sécrétase proposé par Rajamani et Reynolds.¹⁵⁷



Dans le but de prédire les constantes d'affinité de liaison des inhibiteurs de la β -sécrétase, Tounge et Reynolds¹⁵⁸ ont appliqué la méthode de l'interaction linéaire de l'énergie (*Linear Interaction Energy*, LIE). Cette méthode, développée par Åqvist et collaborateurs,¹⁵⁹ est considérée comme un bon compromis entre l'exactitude et la vitesse de calculs.

LIE repose sur l'approximation de l'énergie libre de liaison à partir des deux extrémités du cycle thermodynamique de la liaison du ligand au site actif de la macromolécule. Deux simulations sont alors effectuées: dynamique moléculaire du ligand seul en solution et dynamique moléculaire du complexe ligand/macromolécule en solution. L'énergie libre de liaison $\Delta G_{\text{liaison}}$ est ainsi dérivée à partir de l'équation suivante:

$$\Delta G_{\text{liaison}} = \alpha \langle \Delta U_{\text{vdw}} \rangle + 0.5 \langle \Delta U_{\text{elect}} \rangle$$

Où ΔU représente la différence d'énergie entre les états lié et non-lié du ligand.

Plusieurs variantes de cette méthode ont émergé depuis la publication originale par Åqvist; l'introduction d'un deuxième coefficient β et l'addition d'un troisième terme pour tenir compte de la solvatation. L'équation, telle que proposée par Jorgensen,¹⁶⁰ est la suivante:

$$\Delta G_{\text{liaison}} = \alpha \langle \Delta U_{\text{vdw}} \rangle + \beta \langle \Delta U_{\text{elect}} \rangle + \gamma \Delta SASA$$

Où $\Delta SASA$ représente la différence entre l'aire de la surface accessible au solvant (*solvent accessible surface area*).

Toungue et Reynolds¹⁵⁸ ont utilisé une collection de douze ligands inhibiteurs de la β -sécrétase synthétisés par Ghosh et collaborateurs⁹⁹⁻¹⁰¹ dont l'activité biologique était connue. Les douze ligands ont été positionnés dans le site actif de l'enzyme par analogie avec le mode de liaison de OM99-2 et minimisation de l'énergie. Par la suite, une régression linéaire des valeurs d'énergie obtenues a mené à l'équation suivante:

$$\Delta G_{liaison} = 0.239\langle\Delta U_{vdw}\rangle + 0.042\langle\Delta U_{elect}\rangle - 2.422\Delta cav$$

Où Δcav remplace le terme $\Delta SASA$ puisque le modèle de solvation en continuum a été utilisé.

En utilisant cette équation, les auteurs obtiennent un rmsd de 1.101 kcal.mol⁻¹ suite à la comparaison avec les activités biologiques des ligands étudiés.

Récemment, Rajamani et Reynolds¹⁶¹ ont publié une version améliorée de leur modèle toujours en utilisant la méthode LIE. Sans toutefois changer leur procédure pour la préparation des conformations des douze ligands, ils ont modifié l'équation en supprimant le troisième terme et en le substituant par une constante:

$$\Delta G_{liaison} = 0.33\langle\Delta U_{vdw}\rangle + 0.016\langle\Delta U_{elect}\rangle + 10.93$$

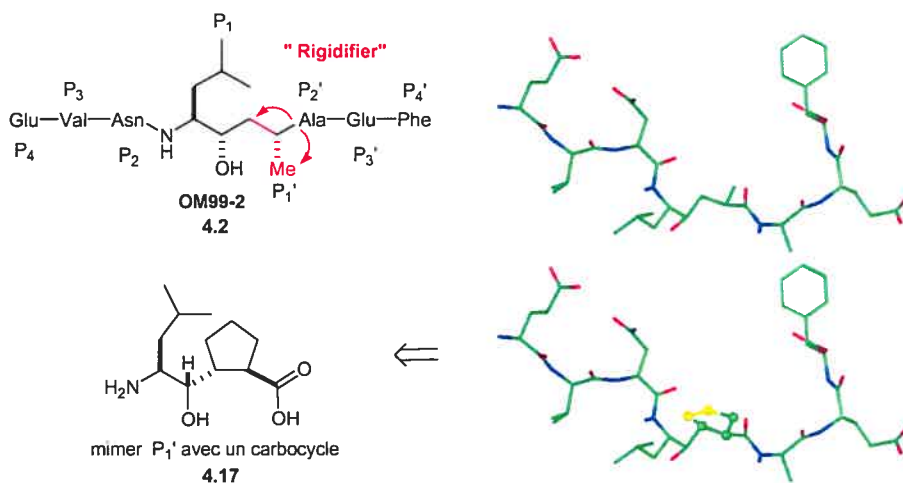
À partir de cette équation, ils ont été en mesure de classer par ordre croissant d'activité une série de cinq inhibiteurs synthétisés par leur groupe. Ils ont été en mesure de classer correctement les composés 1, 2 et 5 tandis que les composés en position 3 et 4 ont été inversés (leur activité biologique n'étant pas très différente).

IV.9 Docking flexible d'inhibiteurs dans la β -sécrétase flexible

Le projet de synthèse de nouveaux inhibiteurs de la β -sécrétase est une collaboration avec la compagnie pharmaceutique Novartis située en Suisse. Ce projet¹⁶² a pour but la

conception de nouveaux inhibiteurs potentiels rigidifiés basés sur la molécule OM99-2 de Tang et collaborateurs.⁹⁹⁻¹⁰¹ L'idée principale est de rigidifier la structure au niveau de l'isostère hydroxyéthylène de façon à obtenir un carbocycle **4.17** tel qu'illustré à la Figure 4.27.

Figure 4.27 Rigidification de l'isostère par un carbocycle.



Dans l'optique d'utiliser la modélisation moléculaire pour la conception de nouveaux analogues rigides de la β -sécrétase, nous avons tout d'abord évalué l'efficacité des programmes de *docking* disponibles. Les programmes AutoDock, DOCK, FlexX et Glide ont été évalués pour leur capacité à reproduire le mode de liaison de OM99-2 tel qu'observé dans la structure cristalline. Le haut niveau de flexibilité de ce ligand (29 torsions) explique l'échec de ces programmes. Une difficulté particulière est associée à l'interaction du groupement hydroxyle du ligand avec les aspartates au site catalytique. En effet, cette interaction n'est reproduite que très difficilement par la mécanique classique. Nous nous sommes alors tourné vers le développement d'un nouveau protocole pour le *docking* de ligands hautement flexibles.

Le *docking* d'inhibiteurs de la β -sécrétase se résume souvent à une simple minimisation dans la majorité des travaux rapportés à ce jour (*c.f.* travaux discutés précédemment). L'utilisation d'une simple minimisation d'un ligand préalablement positionné dans un mode de liaison similaire à celui observé conduit généralement à des résultats

acceptables. Par contre, si le ligand modélisé diffère trop de la structure générale du ligand de référence, cette méthode ne permet pas d'en prédire le mode de liaison.

Dans l'éventualité où les ligands à étudier sont structurellement différents de la structure de référence OM99-2, une recherche conformationnelle complète doit alors être considérée. Nous avons ainsi choisi d'utiliser un algorithme génétique pour effectuer cette tâche. Ce travail de développement a été effectué en collaboration avec le Professeur Nicolas Moitessier à l'Université McGill. D'ailleurs, la majorité du travail a été effectuée conjointement. L'algorithme génétique a été adapté à partir des travaux publiés sur la dihydroxylation asymétrique.¹⁶³

L'algorithme génétique a tout d'abord été optimisé de façon à reproduire le mode de liaison de OM99-2 tel qu'observé dans la structure cristalline avec la β -sécrétase. Cette optimisation a été effectuée en conservant l'enzyme rigide. La technique consiste à coder le ligand sous forme de gènes et de faire "évoluer" la population initiale afin de générer une solution finale correspondant au mode de liaison optimal. Il y a ainsi une évolution en mode continu, c'est-à-dire le remplacement des parents par les enfants avant la fin de la génération.

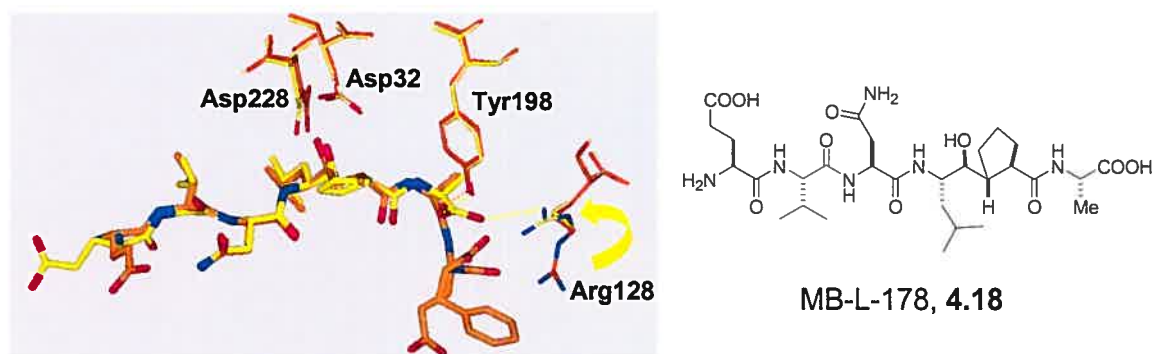
La majorité des programmes de *docking* disponibles considèrent l'enzyme rigide et utilisent le concept de complexe clef/serrure tel que discuté plus tôt dans ce chapitre. Cette stratégie s'est avérée adéquate pour la plupart des systèmes étudiés jusqu'à présent. En effet, en comparant plusieurs structures cristallines entre-elles, il est possible de s'apercevoir que les structures tridimensionnelles ne diffèrent pas beaucoup. De plus, cette approximation est souvent nécessaire afin de permettre l'exécution des calculs dans un temps raisonnable. En 1958, Daniel Koshland a introduit le concept de l'adaptation induite.¹⁶⁴ Ce nouveau concept soutient l'idée que le site actif de l'enzyme s'adapte à l'approche du ligand pour adopter une conformation différente de son état initial. Ce phénomène suggère non seulement que le site actif s'adapte à l'arrivée d'un ligand, mais aussi que le site actif s'adapte en fonction du ligand. Ainsi, pour deux ligands différents, le site actif n'adoptera pas exactement la même conformation. Certaines enzymes sont

plus flexibles que d'autres au niveau du site actif et possèdent ainsi une capacité unique de s'adapter à différents ligands selon des conformations différentes.¹⁶⁵

Plusieurs stratégies ont été développées pour tenir compte de ce phénomène.¹⁶⁶ Une méthode largement utilisée est le *docking* en parallèle d'un seul ligand dans un ensemble de conformations de la macromolécule. Ces ensembles conformationnels peuvent être générés par dynamique moléculaire, par regroupement de structures cristallines, par structures moyennes obtenues par rnm ou à partir de collections pré-définies de rotamères de chaînes latérales. D'autres méthodes comme la perturbation d'énergie libre et la construction incrémentale par complémentarité sont aussi utilisées.

Au début de nos travaux de modélisation, nous avons eu l'opportunité d'obtenir une structure rayons X d'un inhibiteur co-cristallisé avec la β -sécrétase (Figure 4.28).¹⁶⁷ L'étude approfondie du complexe de la β -sécrétase et du composé **4.18** nous a permis d'observer une certaine flexibilité au niveau du site actif de l'enzyme.¹⁶⁸ En effet, certains résidus semblent avoir bougé (par rapport à leurs positions respectives dans le complexe 1FKN) pour accommoder le nouvel inhibiteur.

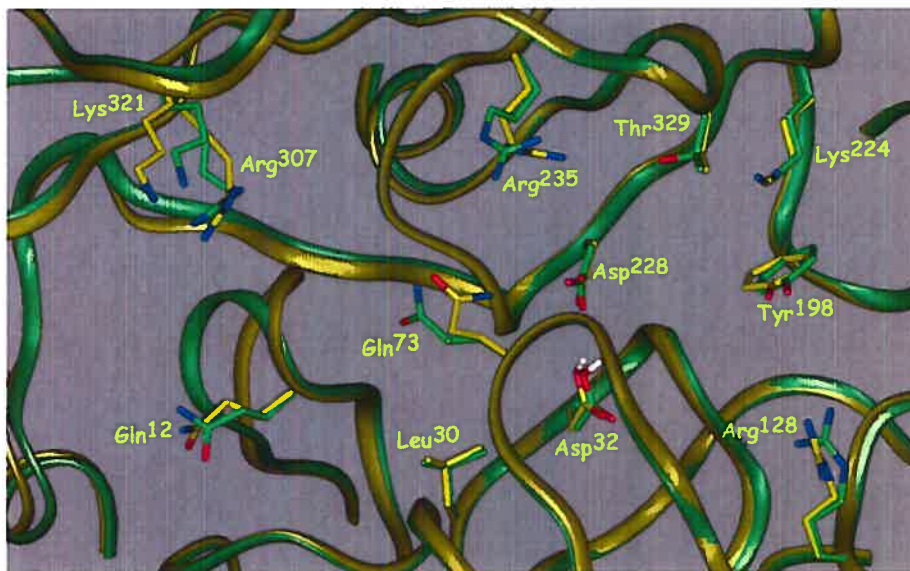
Figure 4.28 Superposition des structures cristallines du composé **4.18** (jaune) et de OM99-2 (orange).



Nous avons alors superposé les six structures cristallines disponibles et avons observé diverses variations structurelles au niveau des conformations des chaînes latérales du site actif de l'enzyme. Le site actif de la β -sécrétase comporte cinq résidus flexibles (Arg128, Arg235, Arg307, Lys224, Lys321). De plus, il a été rapporté que les résidus Arg et Lys

étaient généralement flexibles.¹⁶⁹ La superposition de deux structures représentatives est montrée dans la Figure 4.29.

Figure 4.29 Superposition de deux structures rayons X représentatives.



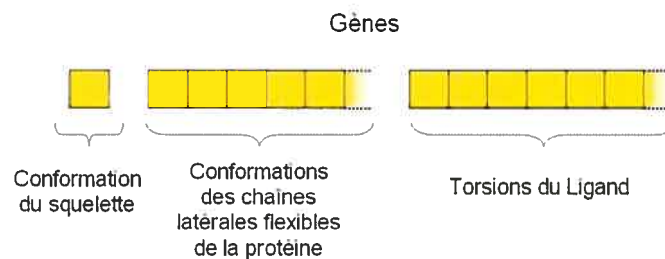
Nous avons ainsi décidé d'introduire la flexibilité de l'enzyme dans notre protocole de *docking* afin de simuler l'adaptation induite de la protéine à l'approche du ligand. Nous avons extrait les six structures cristallines disponibles de la β -sécrétase dans la PDB; deux dimères de Tang (OM99-2¹⁰⁰ et OM00-3¹⁷⁰), un monomère de American Home Product (AHP)¹⁷¹ et un monomère de Novartis (MB-L-178).¹⁶⁷

Les chaînes latérales démontrant une flexibilité non-négligeable ont été considérées comme flexibles et des gènes supplémentaires codant pour les conformations du site actif ont été incorporés aux chromosomes. Un gène code pour la conformation du squelette et dix-neuf gènes codent pour les conformations des chaînes latérales. Cette approche peut être apparentée aux méthodes déjà existantes, mais elle diffère de par la considération de la flexibilité du squelette. De plus, cette stratégie est différente des autres méthodes puisque la structure finale du site actif est constamment optimisée au cours du *docking* et ne provient pas d'une collection de structures initiales. En effet, le squelette peut adopter une des six conformations et chacune des dix-neuf chaînes

latérales flexibles peut adopter six conformations différentes. Il est aussi à noter que les tentatives précédentes laissant les chaînes latérales complètement flexibles (sans contrainte) n'ont mené à aucun résultat concluant.

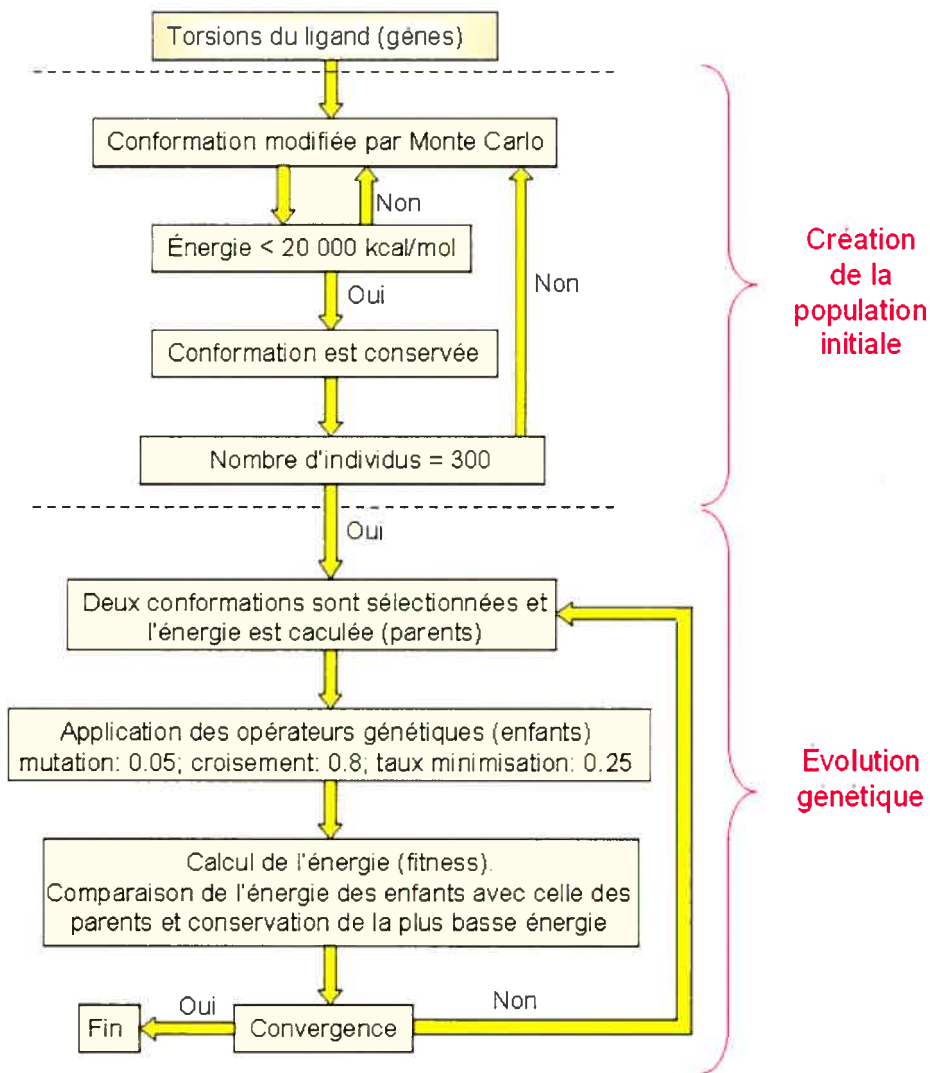
Ainsi, le complexe de Michaelis est codé comme un chromosome et optimisé selon l'algorithme génétique développé auparavant. Une partie du chromosome code pour le mode de liaison du ligand (orientation, translation, conformation) et l'autre partie code pour le squelette et les chaînes latérales de la protéine. Chaque torsion du ligand devient un gène et l'ensemble de la protéine flexible est codé par une série d'autres gènes (Figure 4.30).

Figure 4.30 Représentation schématique du chromosome.



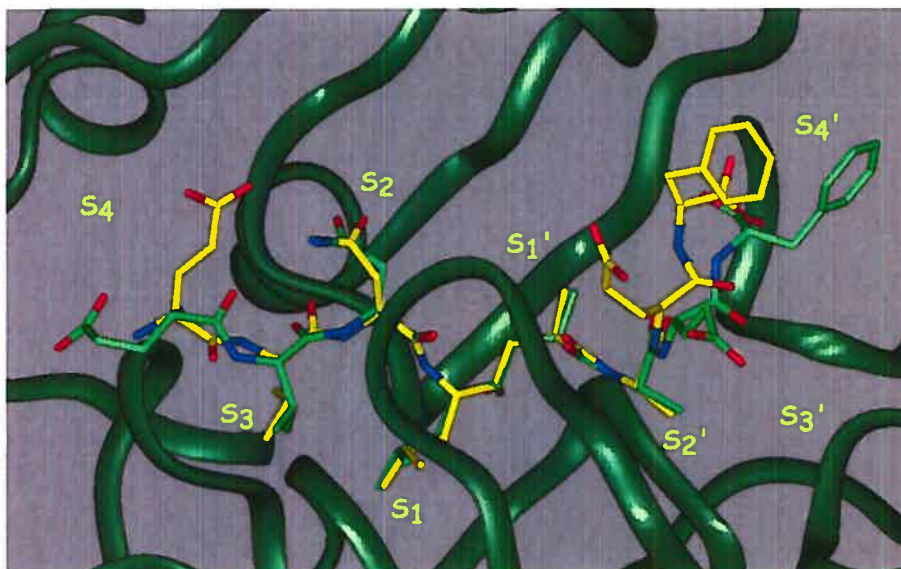
La population initiale est créée selon une rotation aléatoire des torsions du ligand (Monte Carlo) en conservant le groupement hydroxyle fixe (ancree), suivie d'une minimisation rapide. Pour les complexes, chacune des six structures est choisie pour le 1/6 de la population initiale. Seules les structures avec une énergie potentielle inférieure à une valeur limite sont conservées. Ensuite, deux parents sont choisis à partir de la population initiale et deux enfants sont produits suite à l'application des opérateurs génétiques (mutation, croisement). Les enfants sont archivés si l'énergie potentielle est inférieure à celle des parents, sinon les parents sont conservés. Le protocole est ensuite réitéré jusqu'à ce que la convergence soit atteinte, c'est à dire lorsque plus de 80% de la population est constituée par une conformation unique. Le protocole est illustré à la Figure 4.31.

Figure 4.31 Charte illustrant le fonctionnement de l'algorithme génétique.



Les paramètres (population initiale, croisement, mutation, taux de minimisation, critère d'acceptation de l'énergie, etc...) ont été optimisés de façon à reproduire le mode de liaison de OM99-2 dans la β -sécrétase tel qu'observé dans la structure rayons X. Ainsi, en utilisant le groupement hydroxyle comme point d'ancrage afin d'améliorer la qualité de la population initiale, il a été possible de reproduire le mode de liaison de OM99-2 de façon satisfaisante. La Figure 4.32 illustre la superposition de OM99-2 modélisé et la structure cristalline.

Figure 4.32 Superposition de OM99-2 modélisé (vert) avec la structure rayons X (jaune).

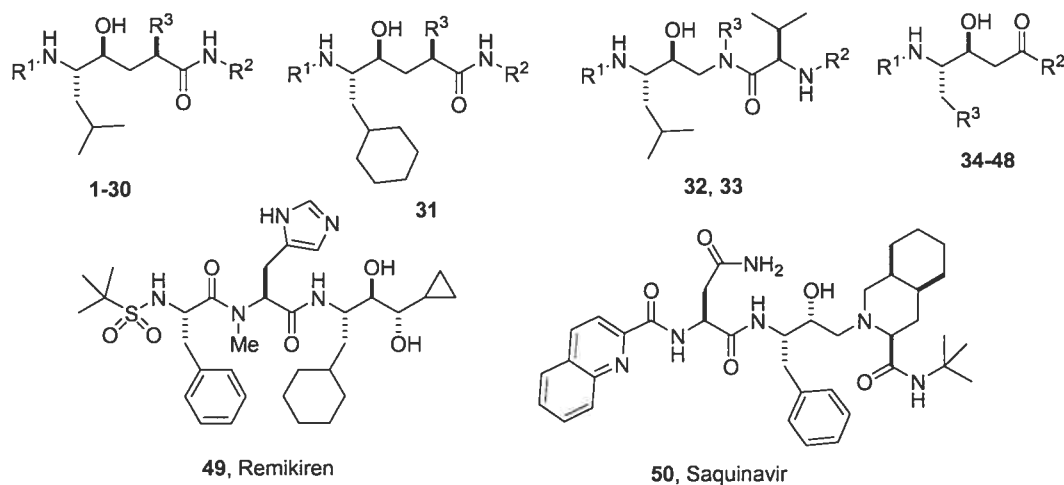


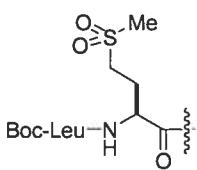
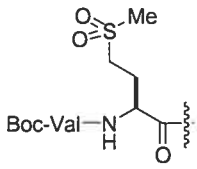
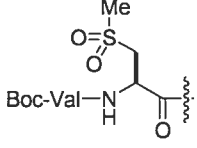
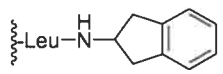
L'introduction de la flexibilité nous a permis d'améliorer grandement la prédiction et l'efficacité de notre protocole de *docking*. Il a été possible de reproduire les complexes inhibiteurs/enzymes tels qu'observés dans leur structure cristalline respective. En effet, dans la majorité des cas, le rmsd trouvé était inférieur au rmsd initial. Cette haute convergence obtenue avec ces inhibiteurs très flexibles démontre clairement l'efficacité de la méthode développée.

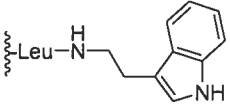
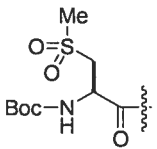
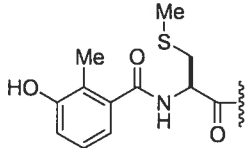
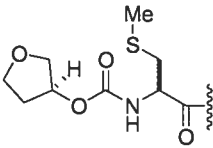
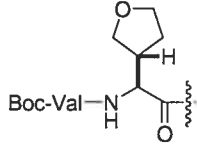
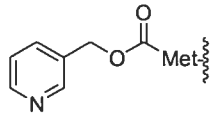
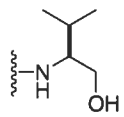
IV.10 Développement d'une nouvelle fonction d'évaluation (*scoring function*)

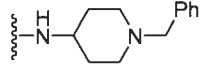
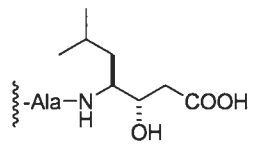
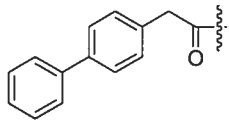
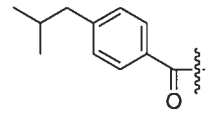
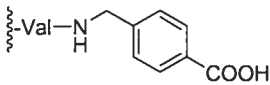
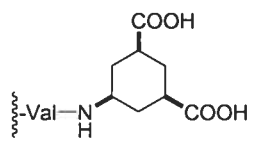
À ce moment, nous avons un protocole efficace pour le *docking* de molécules hautement flexibles dans une enzyme flexible. L'étape suivante a été d'élaborer une fonction d'évaluation afin de pouvoir prédire et ranger les nouvelles molécules entre-elles. Nous avons ainsi réuni une collection de 50 inhibiteurs de la β -sécrétase dont l'activité biologique était connue. Parmi ces 50 inhibiteurs, 22 sont chargés et 28 sont neutres. Cette collection constitue le jeu nécessaire au développement de la fonction (*training set*) et est montré au Tableau 4.5.

Tableau 4.5 Collection de 50 inhibiteurs de la β -sécrétase (*training set*).^{100,101,102,170,172,173,174,175}



Composé	R ¹	R ²	R ³	Activité (K _i , nM)
1 (OM00-3)	H-Glu-Leu-Asp-	-Val-Glu-Phe-OH	-Me	0.31
2 (OM99-2)	H-Glu-Val-Asn-	-Ala-Glu-Phe-OH	-Me	1.5-9.6
3 (OM99-1)	H-Val-Asn-	-Ala-Glu-Phe-OH	-Me	36-68
4	Boc-Val-Met-	-Val-NHBn	-Me	2.5
5	Boc-Val-Met-	-Val-NHBn	-CH ₂ CH ₂ OH	3.9
6		-Val-NHBn	-Me	4.0
7	Boc-Val-Asn-	-Val-NHBn	-Me	5.9
8		-Val-NHBn	-Me	8.0
9		-Val-NHBn	-Me	9.4
10	Ac-Val-Met-	-Ala-Glu-Phe-OH	-iPr	20
11	Boc-Val-Met-		-Me	21

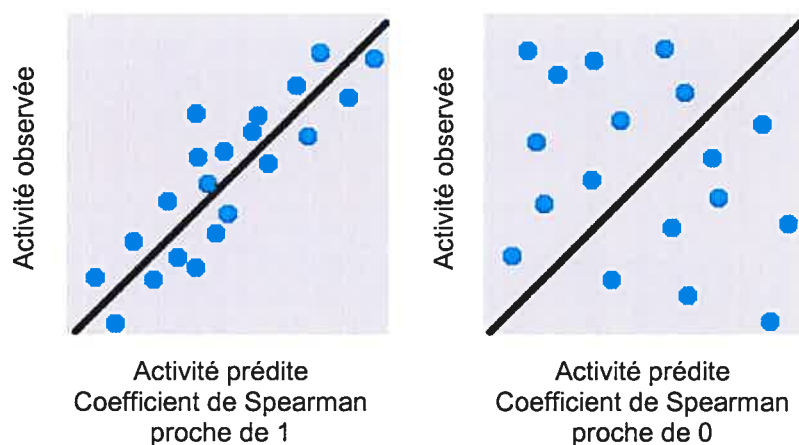
Composé	R ¹	R ²	R ³	Activité (K _i , nM)
12	Boc-Val-Met-		-Me	40
13	Boc-Val-Cys(Me)-	-Val-NHBn	-Me	50.1
14	Boc-Val-Asn-	-Ala-NHBn	-Me	61.4
15	Boc-Val-Met-	-Val-NHBn	-CH ₂ CONH ₂	106
16	Boc-Val-Asn-	-Val-NHBn	- <i>n</i> -Pr	112.2
17		-Val-NHBn	-Me	1 129
18		-Val-NHBn	- <i>n</i> -Pr	1 341
19		-Val-NHBn	- <i>n</i> -Pr	1 696.6
20		-Ala-NHBn	-Me	2 777.8
21	Boc-Asn-	-Val-NHBn	-Me	3 134
22	Boc-Met-	-Val-NHBn	-Me	5 808
23	Boc-Asn-	-Ala-NHBn	-Me	22 423
24	Boc-Val-Met-	-Val-NHBn	- <i>i</i> -Bu	10 491
25	Boc-	-Ala-Met-NHBn	-Me	430 940
26	Boc-Asn-	-Val-NHBn	-All	29 403
27		-Val-NHBn	-Me	1 400 000
28	Boc-Val-Met-		-Me	36 484.1
29	Boc-	-Ala-NHBn	-Me	3 738 100

Composé	R ¹	R ²	R ³	Activité (K _i , nM)
30	Boc-Val-Met-		- <i>i</i> -Bu	AI ^a
31	H-Glu-Val-Asn-	-Ala-Glu-Phe-OH	C(Me) ₂ OH	49
32	Boc-Val-Met-	-Val-Cbz	-Me	15 460 000
33	Boc-Val-	-Val-Cbz	-Me	AI ^a
34	H-Glu-Val-Asn-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	40
35	Ac-Val-Met-	-Ala-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	5 000
36	Ac-Val-Asn	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	500
37	Ac-Val-Met-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	-Ph	500
38	Ac-Val-Met-	-Val-Ala-Glu-OH	- <i>i</i> -Pr	1 000
39	Ac-Val-Met-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>c</i> -Hex	5 000
40	H-Val-Asn-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	9 000
41	Ac-Val-Met-	- <i>t</i> -Leu-Ala-Glu-Ala-OH	- <i>i</i> -Pr	20 000
42 (Pepstatin)	Iva-Val-Val-		- <i>i</i> -Pr	80 000
43	PhCH ₂ C(O)-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	130 000
44	PhCH(<i>R</i>)-OH-	-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	17 000
45		-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	56 000
46		-Val-Ala-Glu-Phe-OH	- <i>i</i> -Pr	28 000
47	Boc-Val-Met-		- <i>i</i> -Pr	4 000
48	Boc-Val-Met-		- <i>i</i> -Pr	300
49	(Remikiren)			> 100 000
50	(Saquinavir)			> 100 000

^a Aucune inhibition

Chacun des ligands de cette collection a été modélisé suivant notre protocole de *docking* et un survol des fonctions d'évaluation déjà existantes a été réalisé. Nous avons testé neuf fonctions d'évaluation connues; LUDI, PLP1, PLP2, PMF, LigScore1, LigScore2, D-Score, G-Score et ChemScore. En plus de ces fonctions, deux champs de forces ont été évalués; CFF91 et AMBER94. L'efficacité des fonctions d'évaluation a été mesurée avec l'utilisation du coefficient de Spearman.¹⁷⁶ Ce coefficient est un outil mathématique pour évaluer l'habileté d'une fonction à prédire le classement de données, par exemple, les composés dans un ordre croissant d'activité. Un coefficient de 1 indique un classement parfait tandis qu'un coefficient de 0 indique un classement complètement aléatoire (Figure 4.33).

Figure 4.33 Exemple général de représentation du coefficient de Spearman.



Le Tableau 4.6 résume les coefficients de Spearman obtenus pour chacune des fonctions d'évaluation ainsi que des champs de forces pour les conformations modélisées des composés du *training set*.

Tableau 4.6 Coefficients de Spearman pour le classement du *training set*.

Entrée	Fonction d'évaluation	<i>Docking</i> protéine rigide	<i>Docking</i> protéine flexible
1	PLP2	0.75	0.64
2	PLP1	0.68	0.62
3	LUDI	0.47	0.37
4	PMF	0.21	0.29
5	D-Score	0.04	0.61
6	G-Score	0.29	0.20
7	Chem-Score	0.20	0.17
8	LigScore2	0.71	0.47
9	LigScore1	0.41	0.06
10	Champ Forces ^a	0.48 ^c	0.51 ^d
11	Champ Forces vdW ^a	0.36 ^c	0.54 ^d
12	Champ Forces Elec ^a	0.39 ^c	0.41 ^d
13	Champ Forces ^b	0.55 ^c	0.57 ^d
14	Champ Forces vdW ^b	0.45 ^c	0.69 ^d
15	Champ Forces Elec ^b	0.42 ^c	0.40 ^d
16	RankScore	0.68	0.80

^a interaction intermoléculaire, cutoff = 15 Å, ^b interaction intermoléculaire avec résidus du site actif seulement (avec au moins un atome à 5 Å du ligand), ^c CFF91, ^d AMBER94.

Il est possible de remarquer que dans le cas du *docking* rigide, les fonctions d'évaluation PLP2 et LigScore2 semblent être les plus précises avec des coefficients plus élevés que 0.7. Une étude plus approfondie de chacune des fonctions d'évaluation démontre l'importance des ponts hydrogène (tels que calculés par LUDI, éq. 1) et des interactions de van der Waals (telles qu'évaluées par les champs de forces, éq. 2). La nécessité d'une fonction plus prédictive nous a invité à développer une nouvelle fonction capable de classer les composés selon leur activité biologique.

$$\Delta G_{liaison} = \Delta G_0 + \Delta G_{hb} \sum_{hb} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{ionique} \sum_{ionique} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{lipo} |A_{lipo}| + \Delta G_{ROT} N_{ROT} \quad (\text{éq. 1})$$

$$E_{interaction} = \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_i \sum_j \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} + \sum_i \sum_j \frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \quad (\text{éq. 2})$$

Où $\Delta G_{\text{liaison}}$ décrit l'énergie libre de liaison et $E_{\text{interaction}}$ représente l'énergie totale de l'interaction entre les deux molécules.

La fonction d'évaluation doit savoir à la fois discriminer entre plusieurs molécules différentes (classement selon l'activité) et discriminer entre plusieurs conformères (choix de la meilleure pose). Les contributions d'entropie et de désolvation sont sensiblement les mêmes pour deux conformères de la même molécule, mais différents pour deux molécules différentes. Nous avons donc tenté de mettre plus d'emphase sur ces facteurs lors du développement de notre nouvelle fonction d'évaluation dénommée RankScore.

Nous avons développé une fonction d'évaluation qui évalue les différentes contributions de l'énergie libre de liaison des ligands (éq. 4). La fonction hybride proposée comprend une évaluation empirique du changement de l'entropie (similaire à LUDI), une évaluation empirique des ponts hydrogène (similaire à LUDI), une évaluation des contributions électrostatiques et de van der Waals (basée sur les champs de forces) et finalement une contribution de la solvation (similaire à LIE, éq. 3). Ce dernier terme a été jugé nécessaire pour compenser la désolvation des composés hautement chargés.

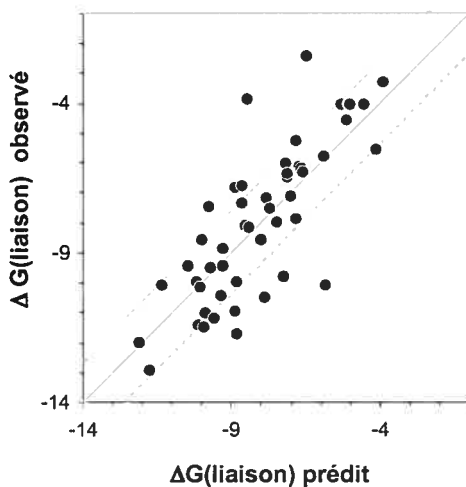
$$\Delta G_{\text{liaison}} = \alpha_{\text{vdw}} \Delta U_{\text{liaison}}^{\text{vdw}} + \beta_{\text{elec}} \Delta U_{\text{liaison}}^{\text{elec}} + \gamma_{\text{solv}} \Delta G_{\text{liaison}}^{\text{solv}} \quad (\text{éq. 3})$$

$$\Delta G_{\text{liaison}} = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{ROT}} N_{\text{ROT}} + \Delta G_{\text{hb}} \sum_{\text{hb}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \alpha_{\text{vdw}} E_{\text{liaison}}^{\text{vdw}} + \beta_{\text{elec}} E_{\text{liaison}}^{\text{elec}} + \gamma_{\text{solv}} \Delta G_{\text{solv}} \quad (\text{éq. 4})$$

Lorsqu'un large éventail de composés démontrant différentes lipophilies est modélisé, la contribution de la désolvation lors de la liaison est un facteur non-négligeable. Afin d'évaluer cette contribution, la différence entre la solvation de l'état initial non-lié et du complexe est calculée. Six modèles de solvation ont été exploités. Par contre, aucun de ces derniers n'a démontré un apport bénéfique au pouvoir prédictif de la fonction. Le terme de solvation a par conséquent été retiré de la fonction d'évaluation. Cette observation a d'ailleurs été discutée dans un travail similaire par Reynolds et collaborateurs.¹⁶¹

La majorité des fonctions d'évaluation imposent une pénalité par torsion libre du ligand, mais aucune pénalité n'est appliquée à l'entropie de l'enzyme. En effet, lors de la liaison du ligand au site actif de la macromolécule, il y a habituellement une pénalité d'environ $0.3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ par torsion évaluée pour compenser la perte d'entropie du ligand. Nous avons donc identifié les chaînes latérales du site actif qui semblent être les plus flexibles; Arg128, Arg235, Arg307, Lys224 et Lys321. La mobilité de ces chaînes latérales est modulée principalement par la présence d'un inhibiteur. La longueur variable des inhibiteurs modélisés affecte donc un nombre variable de chaînes latérales. Plus le ligand est lié solidement au site actif, plus les chaînes latérales seront figées. Ceci est par ailleurs l'une des explications les plus courantes pour le phénomène de la compensation enthalpie-entropie chez les protéines.¹¹¹ Pour tenir en compte ce phénomène, un coefficient a été introduit avec un poids différent selon la flexibilité de la chaîne latérale. L'interaction calculée entre les inhibiteurs et les chaînes latérales de Arg et Lys aura donc un poids atténué. L'ajout de ce terme a grandement amélioré l'efficacité de la fonction d'évaluation pour estimer l'activité biologique des composés (Figure 4.34).

Figure 4.34 Énergies de liaison prédites vs énergies de liaison observées.



L'application de la fonction d'évaluation Rankscore au *training set* de 50 composés nous a permis d'obtenir, suite à une régression linéaire multiple, un rmsd de 2.14 et 1.59 kcal.mol^{-1} pour le *docking* rigide et flexible respectivement. Lorsque les trois points les

plus éloignés de la courbe sont retranchés, le rmsd chute à 1.19 kcal.mol⁻¹. Les coefficients Spearman pour RankScore sont de 0.68 et 0.80 pour chacun des *docking* respectifs. De plus, le coefficient de Spearman est 0.87 sans les trois points hors courbe. Ces valeurs indiquent clairement la nette supériorité de la fonction d'évaluation par comparaison avec les autres fonctions évaluées. La forme détaillée de RankScore est représentée à l'équation 5.

$$\Delta G_{\text{liaison}} = \Delta G_0 + 0.14N_{\text{ROT}} + \sum \text{coefficient} [(0.26U_{\text{vdW}}^{\text{nh-prot}} + 0.035U_{\text{elec}}^{\text{nh-prot}} + 0.80f_{\text{hb}}(\Delta r, \Delta \alpha)] \quad (\text{éq. 5})$$

Où le coefficient est: 0.8 (Tyr, Asn); 0.6 (Arg, Lys); 1 (autrement).

Les coefficients attribués suite à la régression linéaire multiple peuvent être corrélés aux valeurs expérimentales. En effet, les coefficients associés aux contributions de van der Waals (0.26) et électrostatiques (0.035) sont similaires à ceux utilisés par Reynolds et collaborateurs¹⁶¹ (0.204-0.239 et 0.014-0.060). De plus, nous obtenons une valeur de 0.8 kcal.mol⁻¹ pour un pont hydrogène qui correspond de très près à la valeur rapportée de 1.1 kcal.mol⁻¹.¹⁷⁷ Ces corrélations illustrent bien la qualité et l'efficacité de notre protocole comparé aux méthodes plus rigoureuses en temps de calculs.

L'erreur théorique (rmsd < 2 kcal.mol⁻¹) se situe dans une gamme d'erreur expérimentale raisonnable, compte tenu de la vitesse et de la simplicité de l'application du protocole. Les trois principaux composés se situant hors courbe sont identifiés comme étant les composés **12**, **27** et **32**. Dans le cas du composé **32**, une inspection visuelle a révélé que le groupement phényle du ligand n'est pas bien toléré par l'enzyme et l'absence d'un terme pour évaluer la tension intramoléculaire du ligand peut expliquer en partie cet échec. Les deux autres composés contiennent des groupements hétérocycliques aminés et l'état de protonation de ces groupements peut être grandement influencé par le pKa local dans le site actif. Un protocole de *docking* ne peut que difficilement traiter ce phénomène.

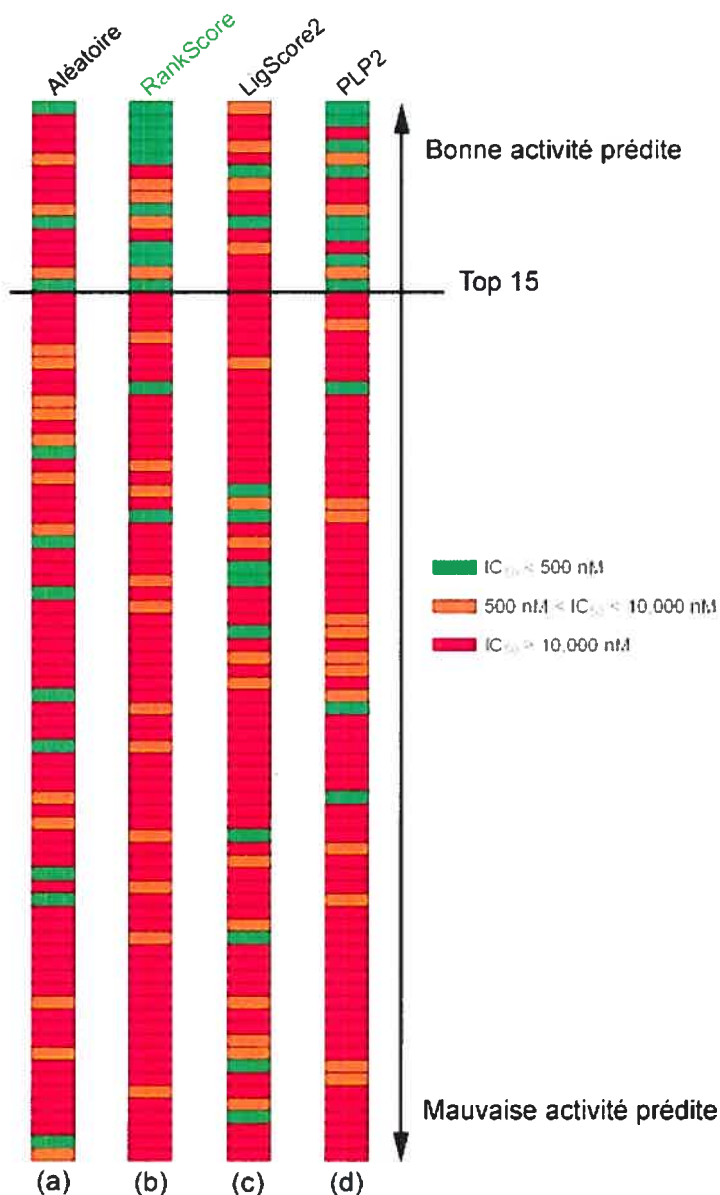
IV.11 Validation du protocole de *docking* et de la fonction d'évaluation

Dans une situation idéale, un outil de modélisation utilisé en criblage virtuel (*virtual screening*) devrait être en mesure d'extraire les composés les plus actifs d'une grande collection virtuelle. Plus concrètement, cet outil informatique devrait réussir à leur assigner les meilleures positions lors du classement des activités biologiques. Ainsi, un chimiste pourrait se servir de cet outil pour réduire considérablement la tâche de travail de synthèse tout en s'assurant d'accroître sa chance d'obtenir des molécules bioactives.

Dans le but de valider notre protocole de *docking* et notre fonction d'évaluation, nous avons sélectionné une collection de composés pour validation (*testing set*) représentant 80 molécules dont l'activité biologique était connue.^{167,178} Ces composés ont été synthétisés au sein du groupe Hanessian et les tests biologiques ont été effectués dans le cadre de la collaboration avec la compagnie pharmaceutique Novartis. Le choix de cette collection de composés s'est basé sur la diversité des molécules tel que des macrocycles, des hétérocycles et des pseudo-peptides de différentes tailles. Parmi ces molécules, un huitième (dix composés) de la collection exhibe des CI_{50} en dessous de 500 nM.

Tous les composés ont été placés dans l'enzyme utilisant le protocole de *docking* avec l'enzyme flexible et les conformations obtenues ont été évaluées avec la fonction d'évaluation RankScore. Les scores utilisant les fonctions PLP2 et LigScore2 ont aussi été évalués, ces deux dernières ayant obtenu des bons résultats lors de l'étude précédente (coefficient de Spearman de 0.64-0.75 et 0.47-0.71 respectivement). La Figure 4.35 montre des histogrammes représentant le classement des molécules selon leur activité prédites. Un classement aléatoire a également été effectué pour fins de comparaison.

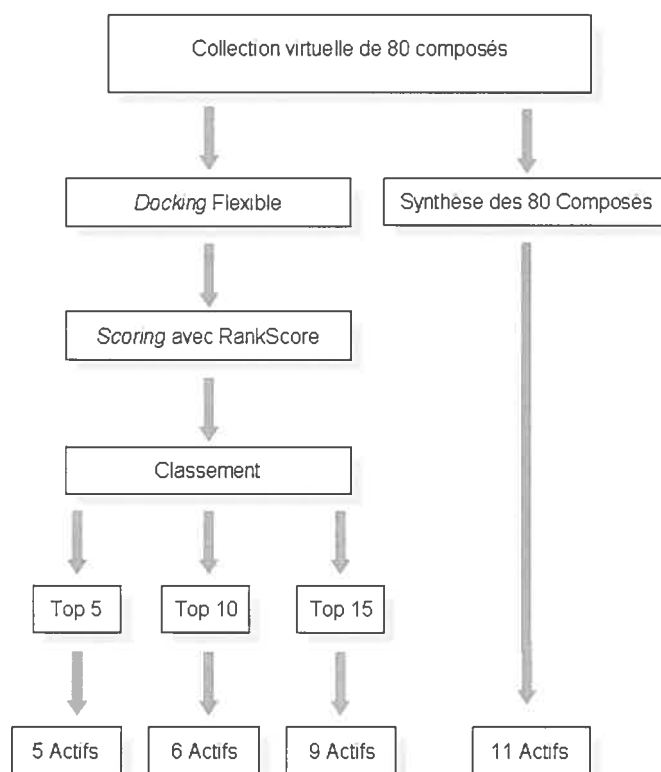
Figure 4.35 Distribution du classement de la collection (*testing set*) (a) de façon aléatoire; (b) avec RankScore; (c) avec LigScore2; (d) avec PLP2.



En observant la Figure 4.35, il est clair que les fonctions RankScore et PLP2 enrichissent grandement le haut du classement en composés actifs par comparaison à un classement aléatoire. Toutefois, LigScore2 semble incapable de discriminer les molécules actives et inactives de cette collection. En effet, les résultats obtenus avec LigScore2 ne conduit à aucun enrichissement par rapport au classement aléatoire.

Plusieurs raisons peuvent expliquer le manque de performance de RankScore pour deux composés possédant des CI_{50} en dessous de 500 nM (rangs 23 et 33). Il se peut que l'évaluation ait été effectuée sur une mauvaise conformation du ligand reliée à un mauvais *docking* ou tout simplement que la recherche conformationnelle de l'enzyme (limitée par les six structures de départ) n'ait pas mené à la conformation idéale pour ce ligand en particulier. En effet, il serait probablement possible d'observer de nouvelles conformations des chaînes latérales lors de la résolution de nouveaux complexes cristallins. Ce problème pourrait être facilement résolu par des simulations utilisant la dynamique moléculaire ou en considérant des structures obtenues par spectroscopie RMN.

Figure 4.36 Charte illustrant l'utilisation du protocole pour validation.



Le protocole ainsi développé consistant en une nouvelle méthode de *docking* et une fonction d'évaluation basée sur les champs de forces représente un outil informatique utile pour le chimiste médicinal. En utilisant la collection précédente comme exemple,

un chimiste a conçu 80 composés susceptibles d'être des inhibiteurs potentiels de la β -sécrétase. Deux situations se présentent (Figure 4.36).

La première consiste en la synthèse systématique des 80 composés et de l'évaluation de l'activité biologique. Après plusieurs semaines de travail de synthèse, le chimiste aura identifié onze molécules actives ($CI_{50} < 500$ nM). La deuxième situation consiste en l'utilisation de la modélisation moléculaire et de l'application du protocole développé pour extraire, après seulement quelques heures de calculs, une plus petite collection de composés qui est enrichie par rapport à la collection de référence. En effet, ce même chimiste ne synthétise alors que les 15 premiers composés du classement et il aura ainsi obtenu neuf des onze molécules actives ($CI_{50} < 500$ nM). Il est évident que le temps requis pour la synthèse de quinze molécules (plus la modélisation) est considérablement plus court que la synthèse des 80 composés. Cet exemple illustre bien l'application pratique du protocole développé pour la conception d'inhibiteurs potentiels de la β -sécrétase.

IV.12 Conclusion

Dans la première partie du chapitre, une étude comparative sur différents programmes de *docking* a été effectuée. Cette étude a permis de déterminer l'habileté de AutoDock à reproduire les conformations bioactives d'inhibiteurs de MPMs telle qu'observées dans leurs structures cristallines respectives. Ce travail a mené à la conception de nouveaux inhibiteurs sélectifs des MPMs. Dans la deuxième partie du chapitre, un nouveau protocole pour le *docking* et le *scoring* d'inhibiteurs de la β -sécrétase a été développé. Le protocole de *docking*, qui utilise un algorithme génétique, permet ainsi de reproduire adéquatement les modes de liaison d'inhibiteurs très flexibles dans une enzyme flexible. Ensuite, une nouvelle fonction d'évaluation a été développée pour ranger les composés selon leur activité biologique. Ce protocole a mené à la conception de puissants inhibiteurs de la β -sécrétase^{167,178} et l'efficacité de ce dernier a été confirmée après validation des activités biologiques.

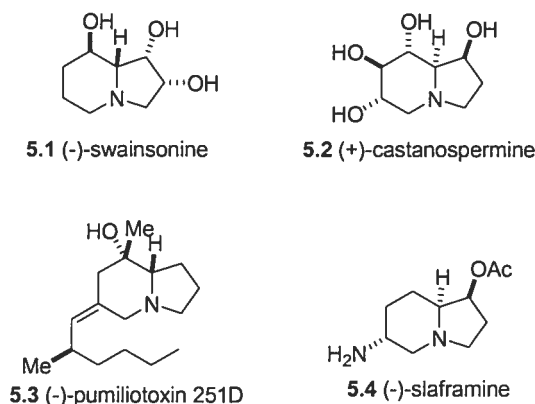
Chapitre V

Approches vers la synthèse totale de la cyclizidine

V.1 Indolizidines

Les indolizidines sont des hétérocycles qui appartiennent à la grande classe des alcaloïdes. Elles sont caractérisées par leur structure générale 1-*aza*-bicyclo[4.3.0]octane et plus de 170 indolizidines différentes sont connues à ce jour.¹⁷⁹ La majorité de ces indolizidines sont isolées à partir de plantes et de microorganismes. La plupart de ces dernières exhibent une activité biologique qui se traduit par une inhibition de certaines glycosidases. En effet, la forme protonée d'une indolizidine fait la mimique de l'intermédiaire cationique du substituant glycosyle lors de l'hydrolyse de l'unité saccharide. Puisque les glycosidases sont impliquées dans plusieurs processus biologiques importants, un intérêt particulier a été développé pour cette classe d'alcaloïdes comme agents antiviraux. En effet, les deux indolizidines les plus intensivement étudiées sont la (-)-swainsonine (**5.1**) ainsi que la (+)-castanospermine (**5.2**) (Figure 5.1). D'ailleurs, d'énormes efforts synthétiques sont constamment déployés afin de parvenir à des synthèses efficaces d'indolizidines naturelles et de nouveaux analogues.¹⁸⁰

Figure 5.1 Quelques exemples d'indolizidines.

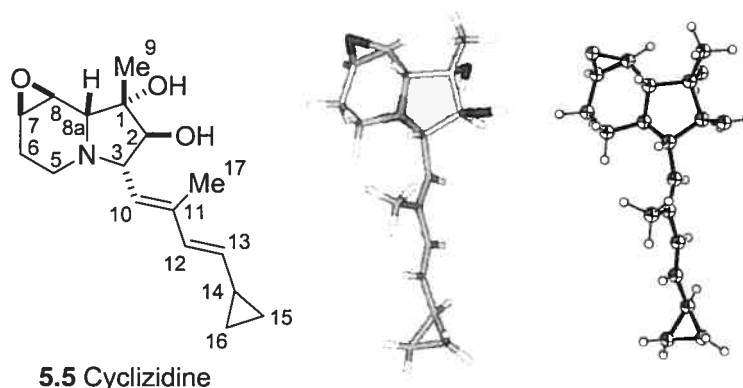


V.2 Isolation et identification de la cyclizidine

La cyclizidine est un alcaloïde qui a été découvert au début des années 80 par Poyser et collaborateurs.¹⁸¹ Cet alcaloïde provient de la fermentation d'une nouvelle espèce

Streptomyces NCIB 11649, isolée à partir d'un échantillon de sol avoisinant de haies près de Stretford, Greater Manchester, UK. Ce nouvel alcaloïde démontre une faible activité anti-fongique contre *Botrytis allii*.¹⁸¹

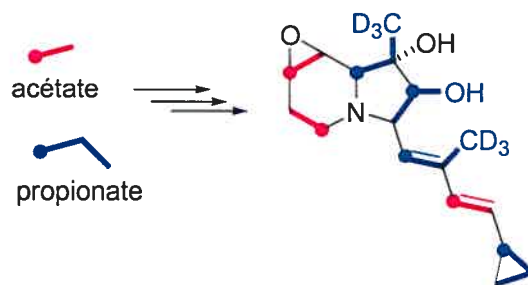
Figure 5.2 Structure rayons X de la cyclizidine.¹⁸¹



La structure de la cyclizidine (**5.5**) a été déterminée par spectroscopie RMN ainsi que par analyse rayons X (Figure 5.2).¹⁸¹ La structure est représentée par une indolizidine possédant une chaîne latérale inhabituelle. En effet, la présence de cycle cyclopropane mono-substitué dans les produits naturels n'est limitée qu'à quelques exemples seulement.¹⁸² La cyclizidine possède aussi un époxyde aux carbones C7-C8 ainsi qu'un diol aux carbones C1 et C2. L'alcool tertiaire en C1 est de configuration *anti* par rapport à l'alcool secondaire en C2. Bien que la stéréochimie relative ait été établie,¹⁸¹ la stéréochimie absolue de la cyclizidine n'est toujours pas connue. D'ailleurs, à notre connaissance, aucune synthèse totale de la cyclizidine n'a été rapportée à ce jour.

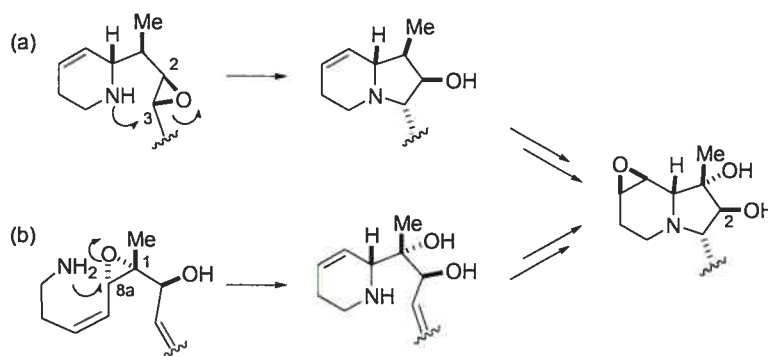
Les travaux effectués par le groupe de Leeper¹⁸³ se concentrent sur l'étude de la voie biosynthétique de la cyclizidine. Il est connu que les indolizidines simples sont habituellement obtenues à partir de la lysine qui est le précurseur du cycle pipéridine. Par contre, des expériences d'incorporation de sous-unités enrichies en ¹³C ont permis de démontrer que la cyclizidine provenait plutôt d'un arrangement d'unités acétates et propionates tel qu'illustré à la Figure 5.3.

Figure 5.3 Unités acétates et propionates incorporées dans la cyclizidine.¹⁸³



Au cours d'études subséquentes, Leeper¹⁸³ a élaboré une voie biosynthétique pour la cyclizidine qui implique deux mécanismes hypothétiques pour la synthèse du système bicyclique (Figure 5.4).

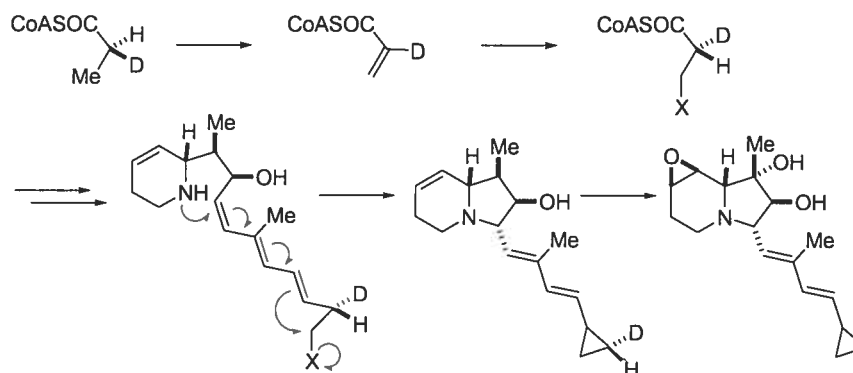
Figure 5.4 Mécanismes hypothétiques pour la biosynthèse de la cyclizidine.¹⁸³



Finalement, suite à plusieurs expériences d'incorporation d'unités enrichies en isotopes ^{13}C et ^2H , le mécanisme probable pour la synthèse des cycles à cinq et à trois chaînons de la cyclizidine est illustrée à la Figure 5.5.

Leeper en conclut alors que cette voie est la plus probable compte tenu des évidences expérimentales disponibles. Le mécanisme permet aussi d'expliquer pourquoi les doubles liaisons de la chaîne latérale se situent à l'intérieur d'une unité acétate-propionate plutôt qu'à la jonction de celles-ci. De plus, Leeper demeure prudent et mentionne que des expériences plus poussées sont nécessaires pour l'élucidation irrévocable du mécanisme biosynthétique.

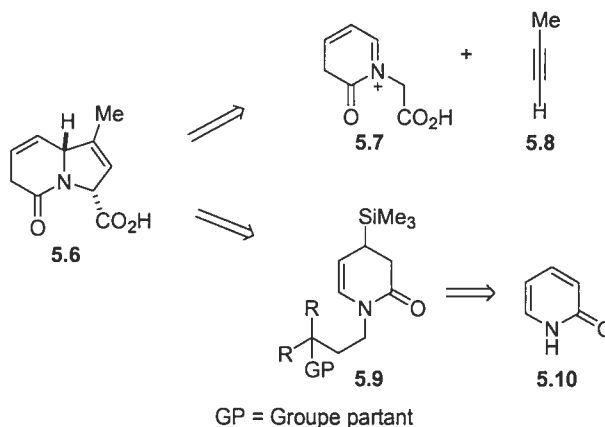
Figure 5.5 Mécanisme probable pour la biosynthèse des cycles à cinq et à trois chaînons de la cyclizidine.¹⁸³



V.3 Approches synthétiques vers la cyclizidine

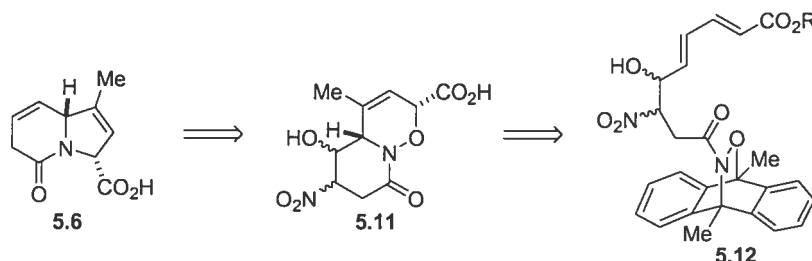
Bien qu'aucune synthèse totale de la cyclizidine n'ait été rapportée à ce jour, des travaux de thèse portant sur le développement de différentes approches synthétiques ont été effectués à l'Université de Leeds, UK.¹⁸⁴ L'auteur de la thèse rapporte trois différentes approches pour la synthèse de l'indolizidinone **5.6** (Figure 5.6). La première approche consiste en une cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'acétylène **5.8** et le dipole dérivé de la pyridone **5.7**. La deuxième approche repose sur une cyclisation intramoléculaire de l'allylsilane **5.9** obtenue par silylation réductrice de la pyridone **5.10**. Malheureusement, ces deux approches n'ont pas permis l'obtention de l'indolizidinone **5.6** désirée.

Figure 5.6 Cycloaddition 1,3-dipolaire et silylation réductrice par Haigh.¹⁸⁴



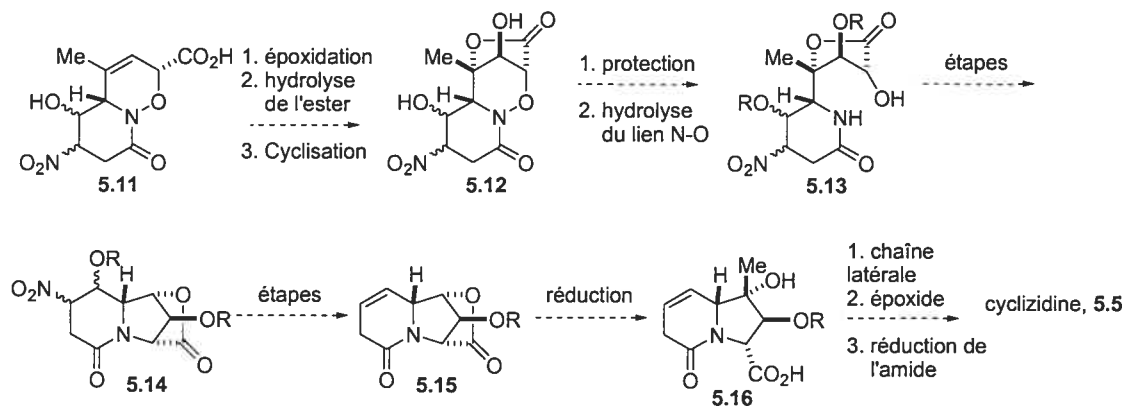
La troisième approche tire profit d'une cycloaddition intramoléculaire de type hétéro Diels-Alder avec un diéophile acyl nitroso **5.12** (Figure 5.7). Cette stratégie a conduit à l'obtention du composé bicyclique **5.11** dans un rendement de 48%.

Figure 5.7 Approche hétéro Diels-Alder par Haigh.¹⁸⁴



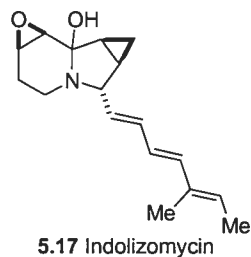
Cet intermédiaire (**5.11**) représente le composé le plus avancé au sein de ces travaux. La voie proposée pour compléter la synthèse de la cyclizidine est illustrée au Schéma 5.1.

Schéma 5.1 Voie proposée pour compléter la synthèse de la cyclizidine par Haigh.¹⁸⁴

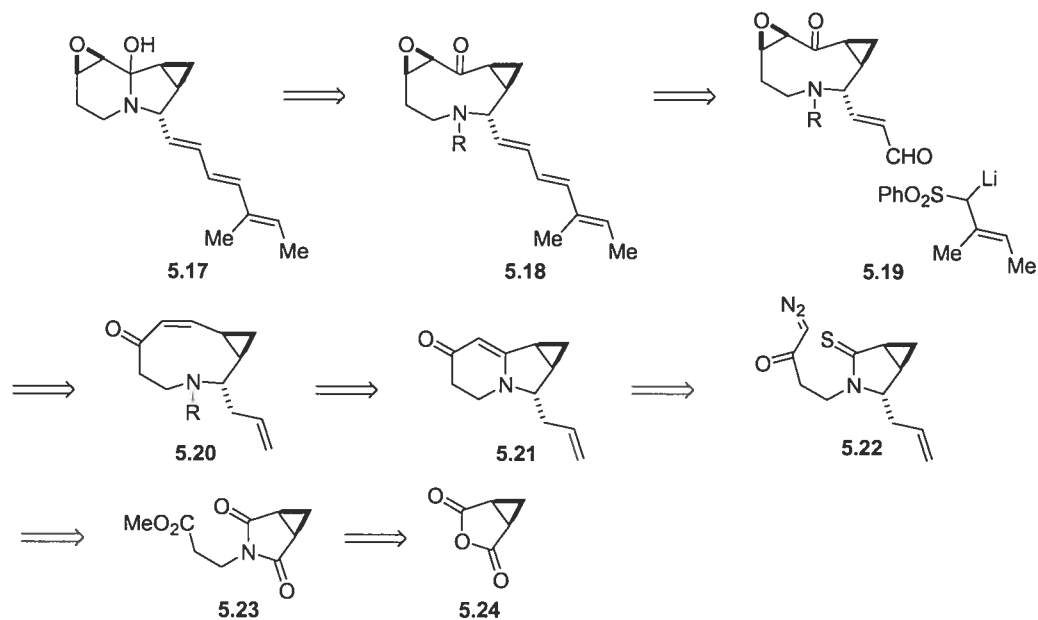


V.4 Synthèse totale d'une indolizidine apparentée

D'autres efforts synthétiques déployés vers la synthèse d'une indolizidine similaire sont ceux de Danishefsky et collaborateurs.¹⁸⁵ L'indolizomycine est produit à partir de souches mutantes obtenues suite à une fusion de protoplastes entre des souches inactives de *Streptomyces*.¹⁸⁶

Figure 5.8 Structure de l'indolizomycin.

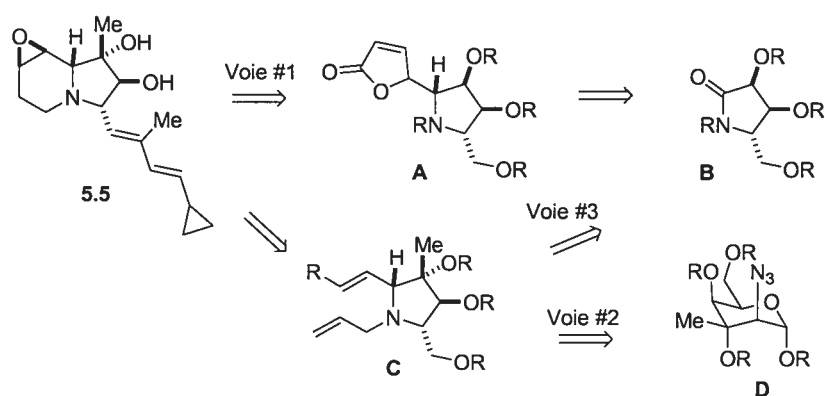
La structure de l'indolizomycin **5.17** s'apparente à celle de la cyclizidine par le squelette indolizidine et les fonctionnalités similaires (Figure 5.8). Néanmoins, cet alcaloïde ne comporte pas de chaîne latérale arborant un cyclopropane, mais plutôt une unité triène conjuguée. La synthèse totale a été accomplie¹⁸⁵ et l'approche rétrosynthétique est illustrée à la Figure 5.9.

Figure 5.9 Approche rétrosynthétique de l'indolizomycin par Danishefsky.¹⁸⁵

V.5 Différentes voies synthétiques pour la synthèse de la cyclizidine

Dans le but d'entreprendre la synthèse totale de la cyclizidine afin de confirmer sa structure ainsi que de déterminer sa stéréochimie absolue, plusieurs voies synthétiques ont été élaborées envers le squelette de base. Trois voies synthétiques majeures ont été retenues et sont illustrées à la Figure 5.10.

Figure 5.10 Trois voies synthétiques pour la synthèse du squelette de base de la cyclizidine.



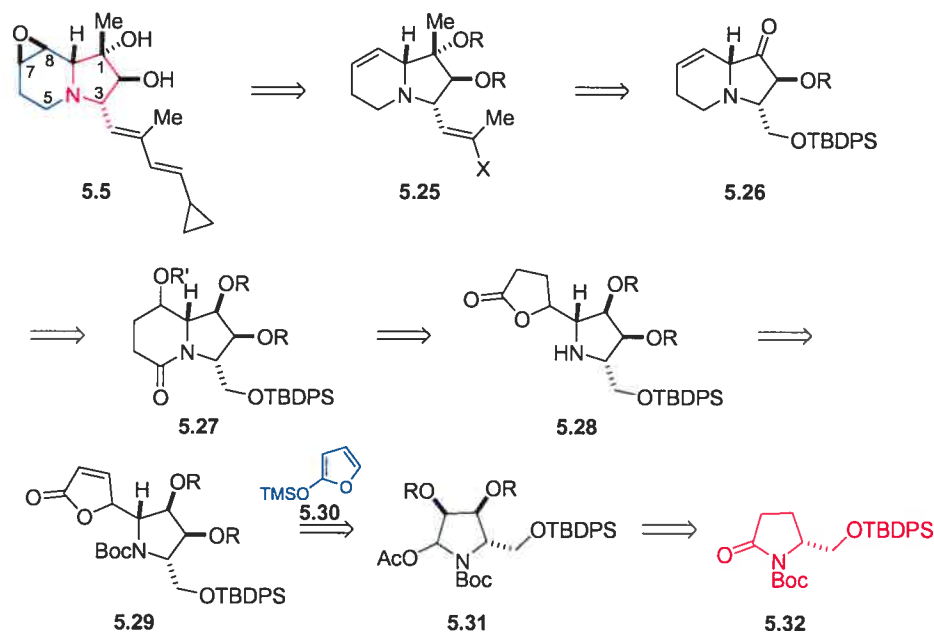
La première voie consiste en une addition de Mannich vinylogue sur un dérivé de l'acide pyroglutamique **B** permettant l'obtention du précurseur **A** du système indolizidinone. La deuxième voie implique plutôt l'utilisation d'un analogue du D-glucose **D** qui est transformé en pyrrolidine **C** et subséquemment cyclisée par une réaction de RCM en système indolizidine. Finalement, la troisième approche compose aussi avec une réaction de RCM mais à partir d'un composé bis-oléfine **C** dérivé de l'acide pyroglutamique **B**. Les trois voies sont discutées plus en détails au cours des sections suivantes.

V.6 Première approche: réaction de Mannich vinylogue

La première approche consiste en la réaction de Mannich vinylogue¹⁹ d'un dérivé triméthylsilyloxyfurane **5.30** sur un ion *N*-acyl iminium dérivé de **5.31**, provenant d'un analogue dihydroxylé de l'acide pyroglutamique **5.32** (Figure 5.11). Cette stratégie est

bien connue au sein du groupe et a déjà été utilisée précédemment lors de la synthèse d'indolizidinones inhibiteurs de la thrombine et du facteur VIIa (chapitre II).³¹

Figure 5.11 Analyse rétrosynthétique pour l'approche de la réaction de Mannich vinylogue.

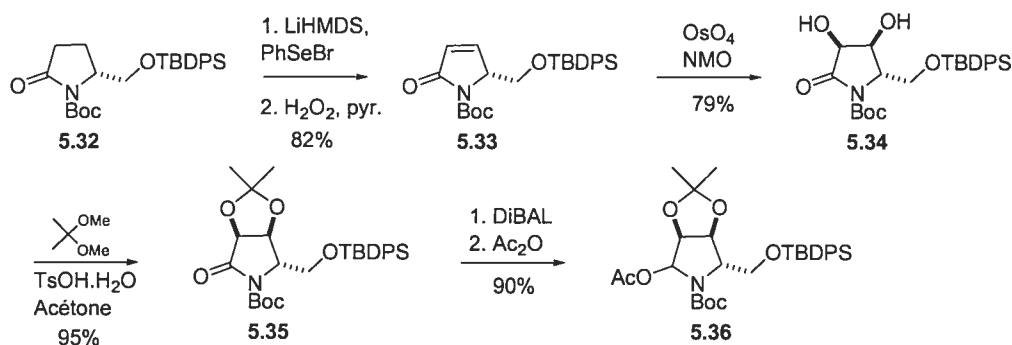


Ainsi, le système bicyclique serait obtenu suite à une expansion de cycle d'une lactone **5.28** vers une lactame **5.27**. Bien entendu, cette fonction lactame en C5 devra être réduite pour générer l'indolizidine. De plus, l'alcool secondaire issu de cette expansion devra à son tour être éliminé de façon régiosélective afin de conduire à l'insaturation nécessaire à la formation de l'époxide en C7-C8. L'introduction du méthyle en C1 pourra se faire via une addition stéréosélective d'un Grignard méthylique sur la cétone correspondante, soit le dérivé **5.26**.

La synthèse débute avec le dérivé *N*-*tert*-butylcarbamate éther silylé **5.32**, obtenu à partir de l'acide D-pyroglytamique selon les procédures de Saijo *et al.*^{33a} et de Shin *et al.*^{33b} Une insaturation est par la suite introduite via la chimie du sélénium pour donner la lactame insaturée **5.33**. Une dihydroxylation diastéréosélective¹⁸⁷ à partir du dérivé insaturé **5.33** conduit au diol **5.34** dans un rendement global de 65% à partir de **5.32** (Schéma 5.2). La stéréosélectivité faciale exclusive obtenue est contrôlée par

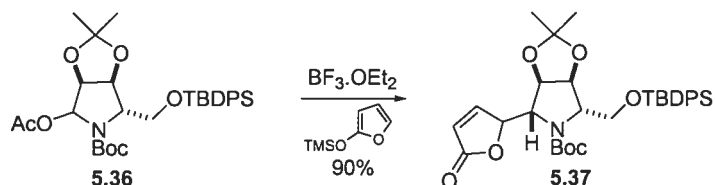
l'encombrement stérique menant à une dihydroxylation *anti* par rapport à l'éther silylé. Le diol ainsi obtenu est protégé sous forme d'acétal cyclique **5.35** en présence du diméthoxypropane et d'une quantité catalytique de l'acide *p*-toluènesulfonique. Ce dernier est ensuite réduit avec l'hydruure du diisobutylaluminium pour conduire à l'hémiacétal qui est subséquemment acylé pour générer le précurseur de l'ion *N*-acyl iminium **5.36**.

Schéma 5.2 Synthèse du dérivé hémiacétal précurseur à la réaction de Mannich vinylogue.



La réaction clé de cette approche repose sur l'addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion *N*-acyl iminium dérivé de **5.36** (Schéma 5.3) via une réaction de Mannich vinylogue. Ainsi, en traitant l'hémiacétal **5.36** avec l'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ à basse température, l'addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion *N*-acyl iminium conduit au buténolide **5.37** dans un rendement de 90%.

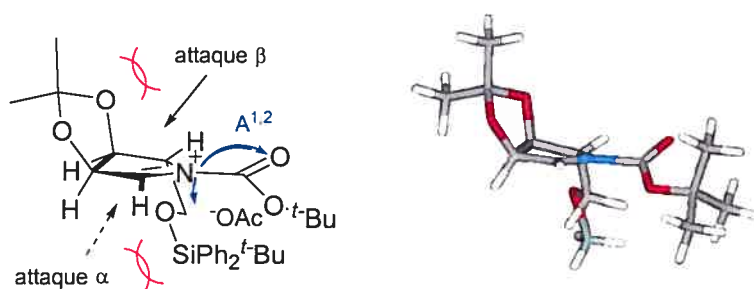
Schéma 5.3 Addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion *N*-acyl iminium dérivé de **5.36**.



La diastéréosélectivité résultante au niveau du cycle pyrrolidine est de 1.7:1 en faveur de l'isomère désiré **5.37** (déterminée par analyse rayons X du dérivé **5.39**, *vide infra*). Le

centre asymétrique au niveau de la lactone est également obtenu sous forme de mélange dans un ratio indéterminé. Par contre, la stéréochimie de ce centre n'est pas importante puisque cet alcool secondaire sera éliminé plus tard dans la synthèse. La diastéréosélectivité observée peut être expliquée en considérant le modèle tridimensionnel tel qu'illustré à la Figure 5.12.

Figure 5.12 Représentation tridimensionnelle du modèle proposé de l'intermédiaire réactif pour l'addition du triméthylsilyloxyfurane sur l'ion *N*-acyl iminium obtenu par simple minimisation (Chem3D).

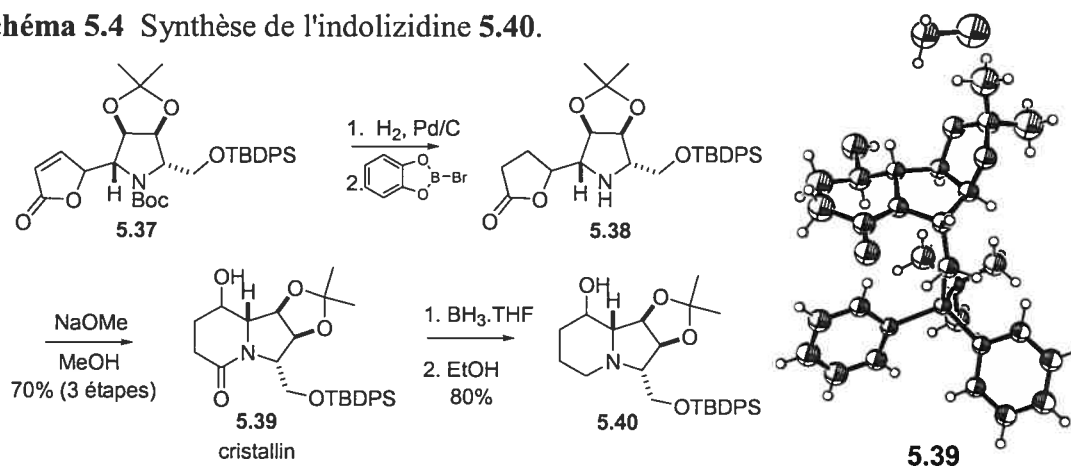


Afin de minimiser la tension allylique-1,2 entre le *tert*-butylcarbamate (Boc) et le substituant CH₂OTBDPS, ce dernier doit adopter une position axiale. Ainsi, l'encombrement stérique généré par l'éther silylé bloque la face d'attaque α tandis que la conformation tridimensionnelle imposée par le système bicyclique bloque la face d'attaque β . La faible discrimination énergétique entre ces deux interactions jumelée à la taille du nucléophile (triméthylsilyloxyfurane) réduit la diastéréosélectivité de la réaction. Toutefois, une légère préférence est observée pour la face d'attaque β (ratio 1.7:1).

Le buténolide **5.37** obtenu est ensuite transformé en indolizidinone en suivant un protocole similaire utilisé précédemment (Schéma 5.4). Ainsi, la double liaison conjuguée de la lactone est réduite par hydrogénation catalytique sur palladium et le groupement protecteur de l'amine est hydrolysé par l'action du *B*-bromocatécholborane³⁹ pour mener à l'amine **5.38**. La cyclisation intramoléculaire est induite par une quantité catalytique du méthanolate de sodium pour conduire à un mélange diastéréoisomérique de l'indolizidinone cristalline **5.39**. Une analyse cristallographique aux rayons X sur l'un

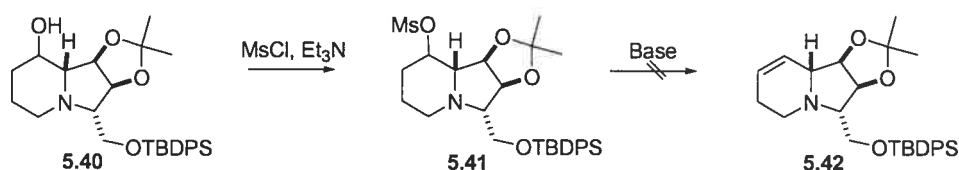
des diastéréoisomères (au niveau de l'alcool secondaire) a permis de confirmer la stéréochimie relative des autres centres stéréogéniques du composé **5.39**.

Schéma 5.4 Synthèse de l'indolizidine **5.40**.



La fonction lactame est par la suite réduite avec borane pour mener à l'indolizidine correspondante **5.40** dans un rendement de 80%. L'alcool secondaire sur l'indolizidine **5.40** doit être éliminé afin d'obtenir l'insaturation nécessaire à l'introduction ultérieure de l'époxide de la cyclizidine. Pour ce faire, l'alcool secondaire a été transformé en mésylate **5.41**, mais malheureusement, aucun produit d'élimination n'a été observé lors du traitement du mésylate **5.41** avec différents types de bases (telles que DBU, Et₃N et pyridine) (Schéma 5.5).

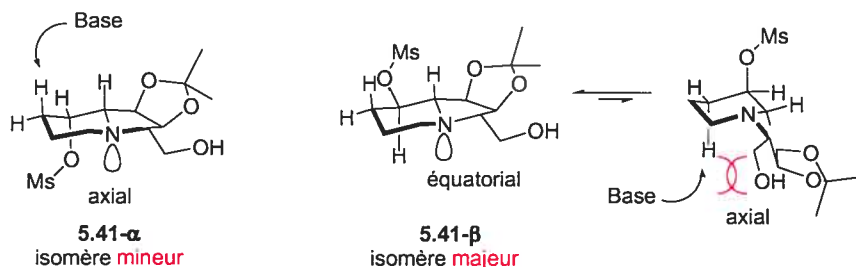
Schéma 5.5 Élimination de l'alcool secondaire.



Dans le but de parvenir à une élimination du mésylate **5.41**, ce dernier doit adopter une position axiale afin de pouvoir procéder via une élimination *trans*-diaxiale. Dans le cas de l'isomère α , la configuration du mésylate est déjà en position axiale au niveau du conformère de plus basse énergie (Figure 5.13). Néanmoins, cet isomère existe dans un rapport minoritaire par rapport au diastéréoisomère β . Ainsi, dans le cas de l'isomère β ,

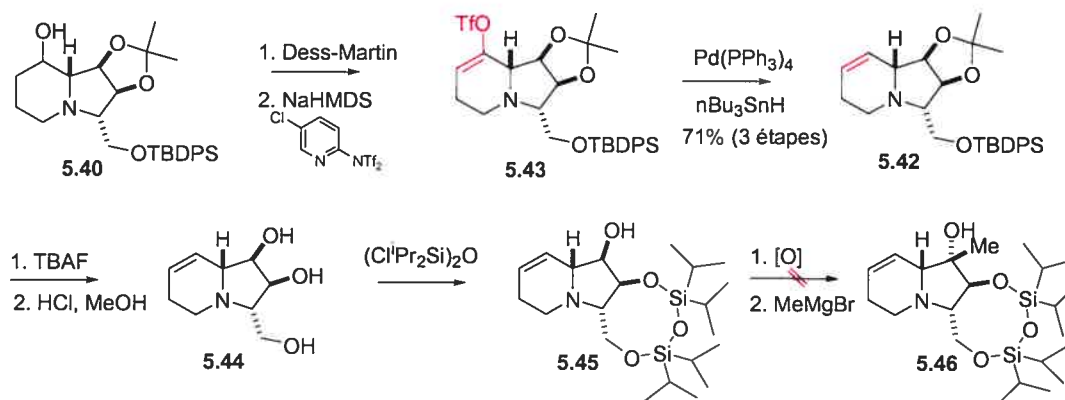
ce dernier occupe une position équatoriale au niveau du conformère de plus basse énergie et son équilibre vers la position axiale est thermodynamiquement défavorisé. La configuration où le mésylate est en position équatoriale est prédominante et par conséquent non-productive pour l'élimination.

Figure 5.13 Représentation tridimensionnelle pour l'élimination du mésylate **5.41** (certains groupements ont été omis pour clarté).



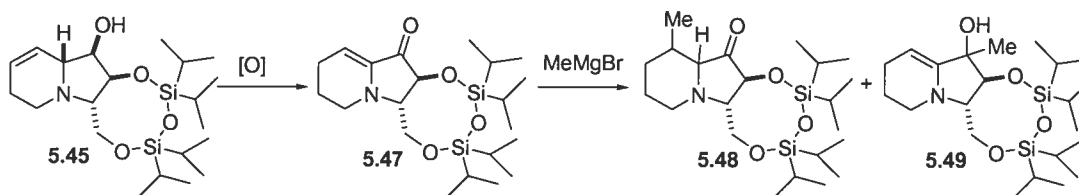
Pour contourner ce problème, l'alcool a été oxydé en cétone et l'énol triflate **5.43** a été généré avec le réactif de Comins¹⁸⁸ (Schéma 5.6). Un couplage de Stille¹⁸⁹ a permis d'obtenir l'insaturation désirée tel que **5.42** dans un rendement global de 71%. Ainsi, l'étape suivante consiste en l'addition stéréosélective d'un Grignard méthylique pour générer l'alcool tertiaire en C1. Pour ce faire, il suffit de sélectivement protéger le diol-1,3 *anti* afin de libérer l'alcool secondaire désiré pour la séquence oxydation-addition sur la cétone. Ainsi, l'éther silylé **5.42** est déprotégé avec le fluorure de tétrabutylammonium et le triol **5.44** est obtenu par traitement de l'acétal avec l'acide chlorhydrique.

Schéma 5.6 Élaboration du système bicyclique.



Une protection 1,3-sélective du triol **5.44** est possible en utilisant le 1,3-dichloro-1,1,3,3-tétraisopropyldisiloxane.¹⁹⁰ L'alcool secondaire **5.45** est alors obtenu et il est maintenant possible de procéder à la séquence d'oxydation-addition pour instaurer le centre tétrasubstitué de l'indolizidine. Malheureusement, l'oxydation de l'alcool secondaire en C1 suivie de l'addition du Grignard méthylique n'a pas conduit au produit **5.46**. Il semble que lors de l'oxydation, il y ait eu migration de la double liaison conduisant à un système α,β -insaturé résultant en une perte de la stéréochimie du système bicyclique (Schéma 5.7). De plus, l'addition du Grignard sur ce système a mené à un mélange de produits résultants des attaques de façon 1,4 sur l'énone (**5.48**) et de façon 1,2 sur la cétone (**5.49**). Cette voie a donc été abandonnée compte tenu du nombre d'étapes requis pour atteindre le système bicyclique. Une nouvelle approche a néanmoins permis de converger vers un même intermédiaire via une stratégie plus efficace (voir troisième approche à la section V.8).

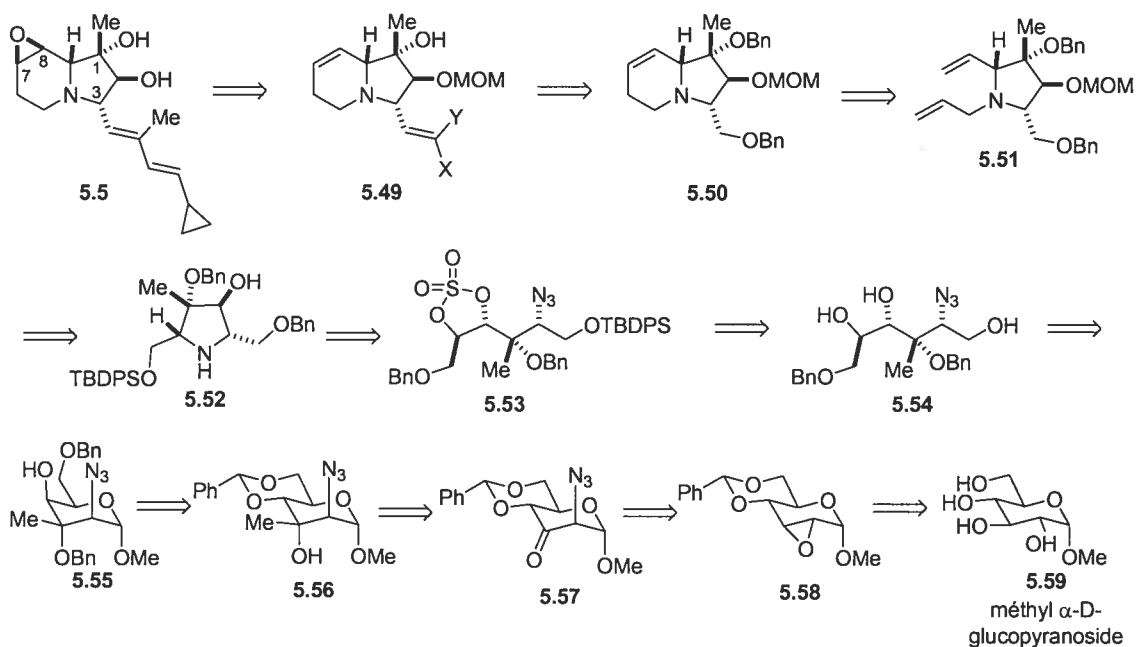
Schéma 5.7 Oxydation et addition du Grignard méthylique sur la cétone **5.47**.



V.7 Deuxième approche: RCM à partir du D-glucose

La deuxième approche, illustrée à la Figure 5.14, consiste en une synthèse complètement différente basée sur l'utilisation du D-glucose comme source de précurseur chiral (chiron). Cette voie synthétique est effectuée conjointement avec le Dr. Jayakumar S. Warriar. La synthèse au-delà de l'intermédiaire **5.55** est toutefois le travail exclusif du Dr. Warriar. Le méthyl α -D-glucopyranoside **5.59** subit une série de transformations permettant l'obtention du système bicyclique de la cyclizidine (**5.50**) via une réaction de fermeture de cycle par métathèse.

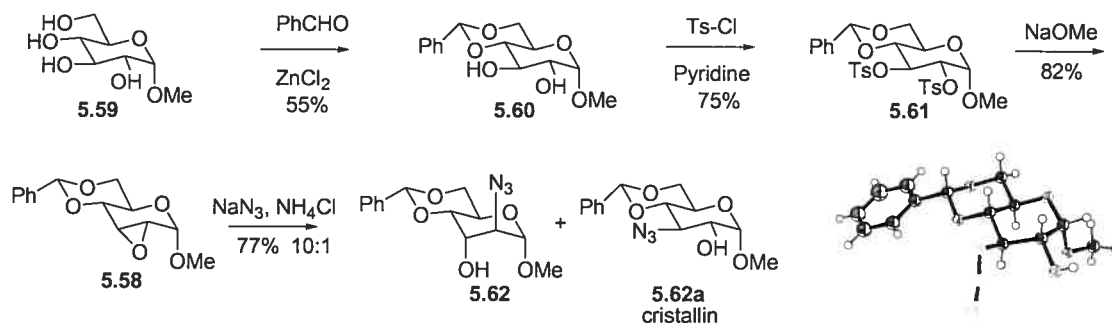
Figure 5.14 Deuxième approche: voie du méthyl α -D-glucopyranoside.



La construction du cycle pyrrolidine **5.52** repose sur une cyclisation de l'amine via l'ouverture d'un sulfate cyclique¹⁹¹ **5.53**. Cette approche a pour avantage l'introduction stéréosélective du méthyle via une addition d'un Grignard méthylique sur la cétone **5.57** pour donner l'alcool tertiaire **5.56**. Finalement, la cétone **5.57** provient d'une ouverture régiospécifique de l'époxide par l'azidure de sodium sur le dérivé connu méthyl 2,3-anhydro-4,6-*O*-benzylidène- α -D-alloside **5.58**.¹⁹²

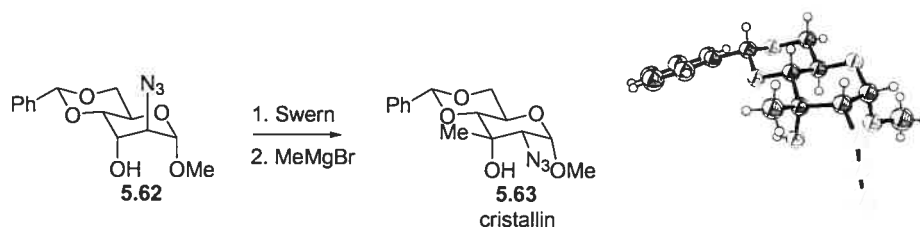
La synthèse débute ainsi avec le méthyl α -D-glucopyranoside **5.59** (Schéma 5.8) qui est converti en benzylidène **5.60**.¹⁹³ L'époxide **5.58** est ensuite obtenu suite au traitement basique du dérivé bis-tosylé **5.61**.¹⁹² Une attaque *trans*-diaxiale de l'azidure de sodium en présence du chlorure d'ammonium dans le 2-méthoxyéthanol à reflux conduit au composé azido-alcool **5.62** dans un ratio de 10:1 en faveur du régioisomère désiré. Cette réaction est connue et rapportée par Guthrie et Murphy.¹⁹² Une analyse cristallographique sur l'isomère minoritaire a confirmé la structure du composé **5.62** (Guthrie et Murphy rapportent aussi la présence de ce produit mineur).

Schéma 5.8 Synthèse du composé azido-alcool **5.62**.



La séquence suivante implique l'introduction stéréosélective du méthyle via une addition d'un Grignard méthylique sur la cétone dérivée à partir du composé **5.62**. L'alcool secondaire est oxydé dans les conditions de Swern et une addition subséquente du Grignard méthylique donne un produit qui a subi une épimérisation en C2 (Schéma 5.9). L'épimérisation a été constatée suite à une analyse cristallographique du composé **5.63** et a probablement été causée par les conditions fortement basiques lors de l'oxydation de Swern ou simplement lors de l'addition du Grignard méthylique. Cette épimérisation en C2 a d'ailleurs été observée par Scharf et collaborateurs¹⁹⁴ lors de l'oxydation d'un carbohydrate similaire. Il s'agit évidemment d'un passage du groupe azidure axial en son épimère équatorial.

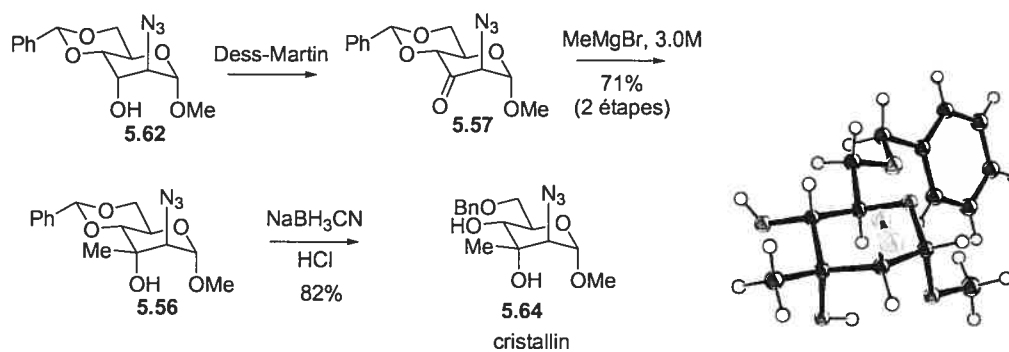
Schéma 5.9 Épimérisation de l'azidure lors de la séquence d'addition du méthyle.



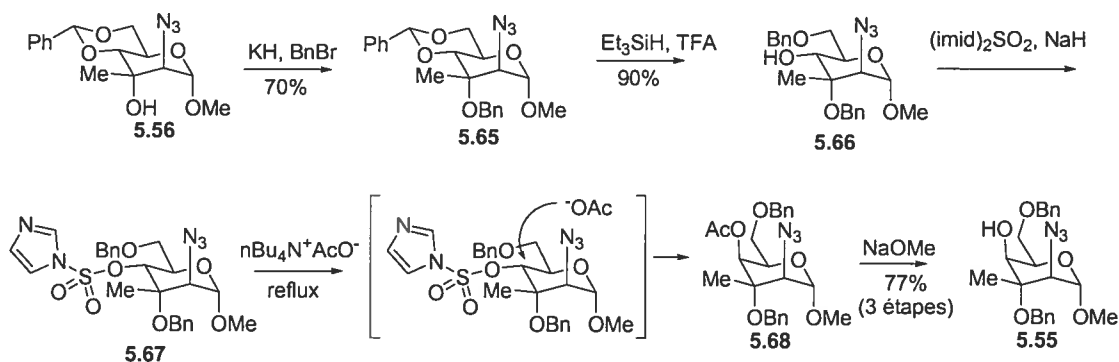
Puisque les conditions d'oxydation de Swern ont été utilisées, il a été suggéré que l'épimérisation devait procéder principalement durant cette réaction. Ainsi, dans le but d'éviter l'épimérisation de l'azidure lors de la réaction d'oxydation, le réactif de Dess-Martin a été utilisé et la cétone **5.57** a été obtenue (Schéma 5.10). Une addition du Grignard méthylique sur la cétone conduit au composé **5.56**, sans épimérisation. Il est à

noter que si l'addition du Grignard se fait dans des conditions diluées, il est possible d'observer une quantité non-négligeable de l'épimère **5.63**. En effet, lorsque la réaction d'addition du Grignard méthylique est effectuée avec une dilution d'environ 0.2M, l'épimérisation en C2 est observée. Le benzylidène a été partiellement déprotégé pour mener à la protection chémosélective de l'alcool primaire et conduire ainsi au composé éther benzylique cristallin **5.64**. Une analyse cristallographique sur ce composé a permis de confirmer sa structure ainsi que sa stéréochimie relative.

Schéma 5.10 Addition du Grignard méthylique et confirmation de la structure par analyse rayons X.



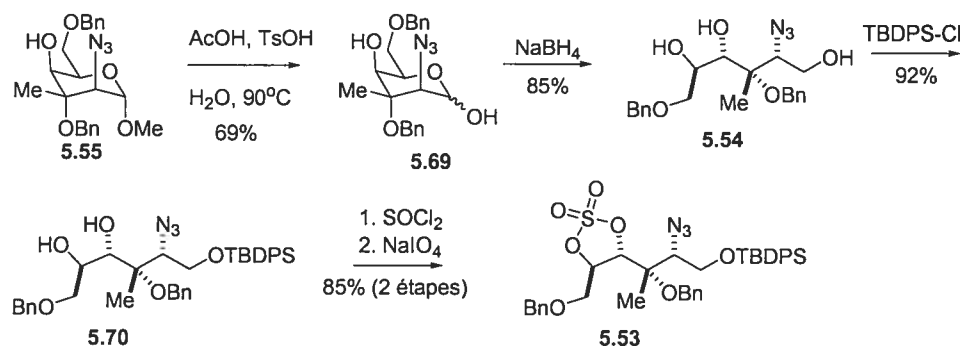
L'alcool en C4 du dérivé **5.64** doit être inversé afin de posséder la bonne configuration telle qu'observée dans le produit naturel. Suite à des études préliminaires, il a été observé que l'alcool tertiaire en C3 devait être protégé afin d'empêcher la décomposition du produit lors de la séquence d'inversion. Ainsi, l'éther benzylique **5.65** est obtenu en traitant l'alcool tertiaire **5.56** avec l'hydruire de potassium et le bromure de benzyle (Schéma 5.11).

Schéma 5.11 Inversion de l'alcool en C4.

Le benzylidène a été partiellement déprotégé avec une procédure différente de celle décrite précédemment pour la conversion de **5.56** vers **5.64**. Ainsi, l'ouverture partielle a été réalisée avec l'utilisation de triéthylsilane et de l'acide trifluoroacétique¹⁹⁵ et le dérivé **5.66** est obtenu. Une séquence d'oxydation-réduction n'a pas permis d'obtenir la configuration inverse de l'alcool, ainsi une séquence impliquant une réaction $\text{S}_{\text{N}}2$ a été privilégiée. L'alcool en C4 du composé **5.66** a été converti en imidazolate¹⁹⁶ **5.67** et un déplacement de type $\text{S}_{\text{N}}2$ avec l'acétate de tétrabutylammonium a permis d'introduire l'acétate en position axiale. Cet acétate **5.68** a été hydrolysé avec le méthanolate de sodium pour finalement conduire au dérivé épimérique en C4 **5.55** dans un rendement global de 77% à partir de **5.66**.

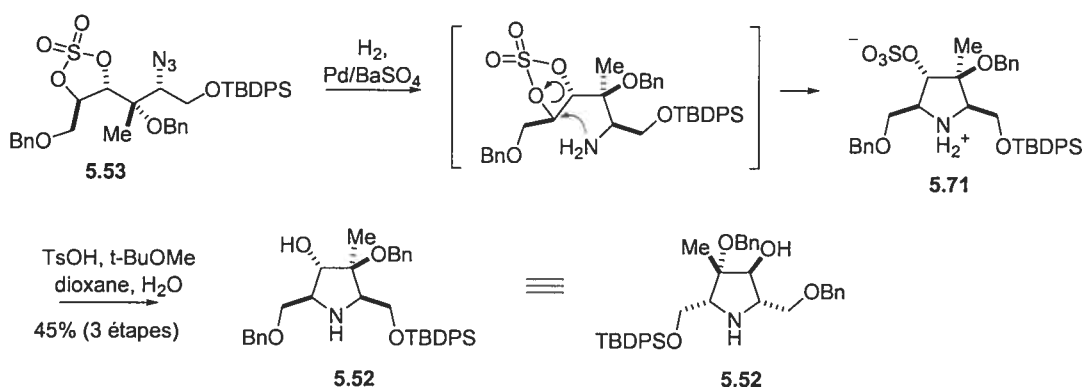
Le composé **5.55** est ensuite hydrolysé en conditions acides pour mener à l'hémiacétal **5.69** qui est subséquemment réduit pour conduire au triol correspondant **5.54** (Schéma 5.12). L'alcool primaire est chémosélectivement protégé sous forme d'éther silylé **5.70** avec le chlorure de *tert*-butyldiphénylesilyle.¹⁹⁷ Le diol **5.70** est ensuite réagi avec le chlorure de thionyle et ce dernier est oxydé avec le periodate de sodium pour générer le sulfate cyclique¹⁹¹ **5.53** dans un rendement global de 85%.

Schéma 5.12 Synthèse du sulfate cyclique **5.53**.

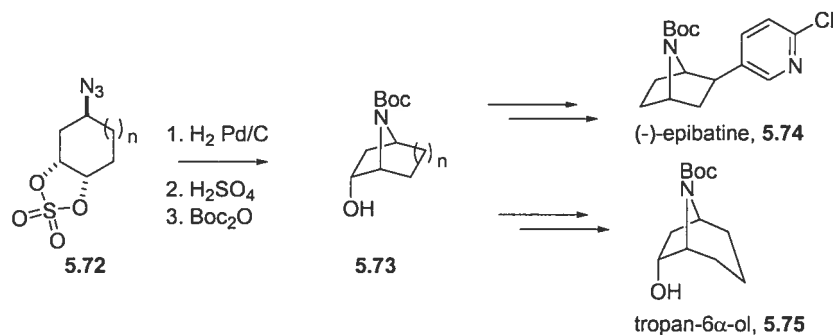


Il a été envisagé que la réduction de l'azidure puisse provoquer la cyclisation spontanée de l'amine sur le sulfate cyclique afin de générer la pyrrolidine polysubstituée (Schéma 5.13). L'azidure **5.53** a donc été soumis à des conditions d'hydrogénation catalytique sur palladium empoisonné au sulfate de baryum afin de réduire sa réactivité dans le but de préserver les groupements protecteurs éthers benzyliques. Une cyclisation spontanée a été initiée et l'intermédiaire zwitterionique **5.71** a été obtenu. Une hydrolyse du sulfate en conditions acides a permis d'obtenir la pyrrolidine **5.52** dans un rendement global de 45% à partir du sulfate cyclique **5.53**.

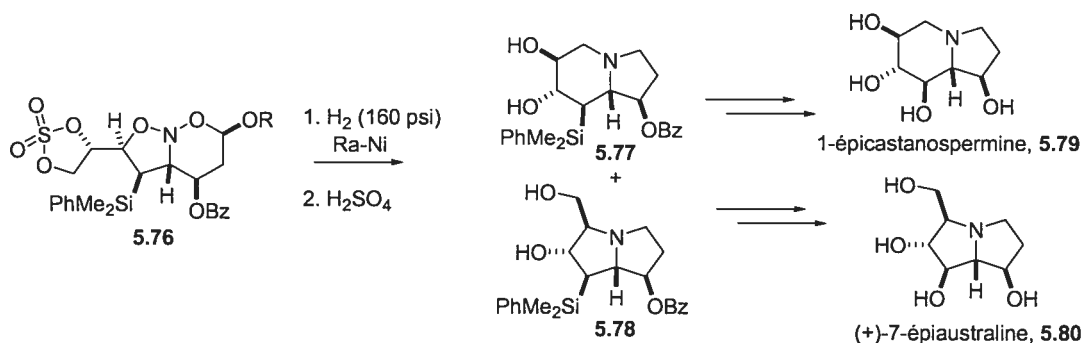
Schéma 5.13 Cyclisation de l'amine sur le sulfate cyclique.



Il n'existe que très peu d'exemples de ce type de cyclisation impliquant une attaque intramoléculaire d'une amine sur un sulfate cyclique. Parmi ceux-ci, il y a les travaux de Pollini et collaborateurs¹⁹⁸ traitant de la synthèse de dérivés azabicyclo[X.X.1]alcane (Schéma 5.14).

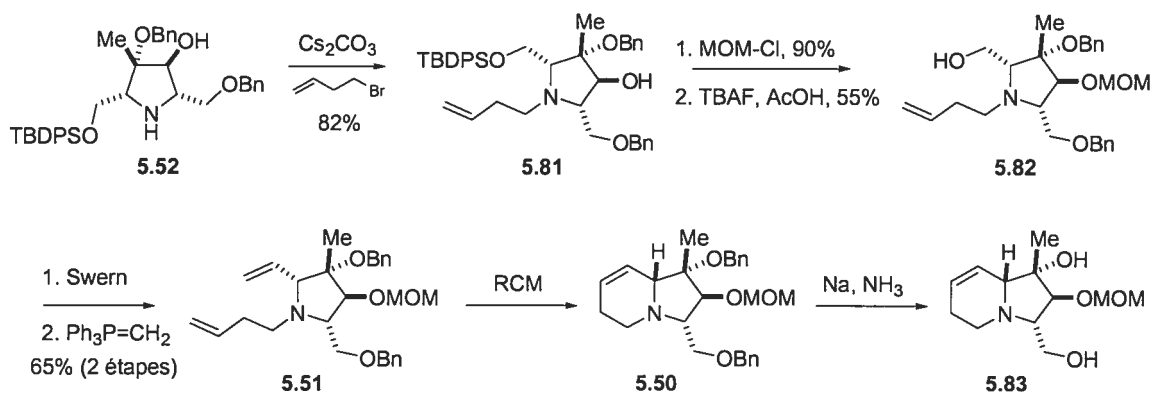
Schéma 5.14 Cyclisation intramoléculaire par Pollini et collaborateurs.¹⁹⁸

D'autres travaux basés sur ce type de cyclisation ont été rapportés par Denmark et collaborateurs¹⁹⁹ lors de la synthèse de composés indolizidines. En effet, la réaction clé pour la construction du système indolizidine de la 1-épicastranospermine consiste en une cyclisation d'une amine sur un sulfate cyclique (Schéma 5.15).

Schéma 5.15 Synthèse de systèmes bicycliques par Denmark et collaborateurs.¹⁹⁹

La pyrrolidine polysubstituée 5.52 doit maintenant être transformée en système bicyclique indolizidine 5.50 (Schéma 5.16). Pour ce faire, une réaction de fermeture de cycle par métathèse a été planifiée et le précurseur bis-oléfine 5.51 doit être synthétisé. Ainsi, la pyrrolidine 5.52 a été alkylée avec le bromure de butényle en présence du carbonate de césium pour donner l'amine tertiaire 5.70. L'alcool secondaire a été protégé sous forme d'acétal et l'éther silylé a été subséquemment déprotégé avec le fluorure de tétrabutylammonium pour conduire à l'alcool primaire 5.82.

Schéma 5.16 Formation du système bicyclique par fermeture de cycle par métathèse.

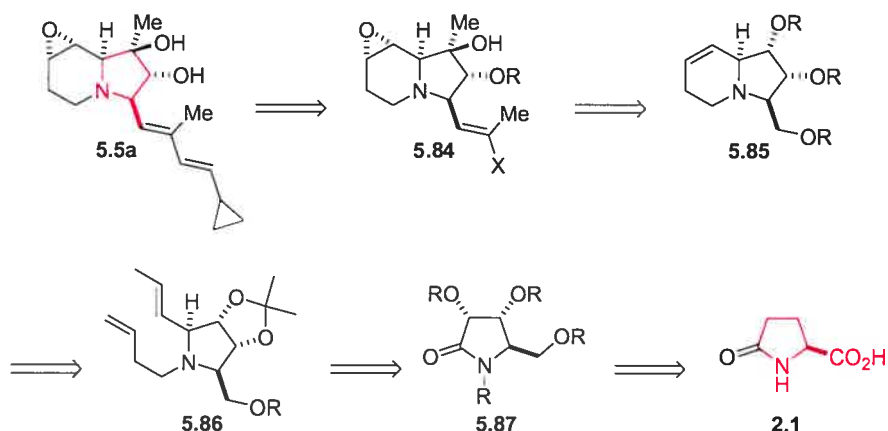


L'alcool primaire **5.82** est oxydé dans les conditions de Swern et l'aldéhyde correspondant est réagi avec le réactif de Wittig pour mener au composé bis-oléfine **5.51** dans un rendement global de 65%. La réaction de fermeture de cycle par métathèse avec le catalyseur de Grubbs première génération **2.99** permet l'obtention du système bicyclique indolizidine **5.50**. Par la suite, les deux éthers benzyliques peuvent être déprotégés sous les conditions réductrices de Birch pour conduire au diol **5.83**. Ce dernier composé représente l'intermédiaire le plus avancé au sein de cette approche qui est toujours en cours d'investigation.

V.8 Troisième approche: RCM à partir de l'acide pyroglutamique

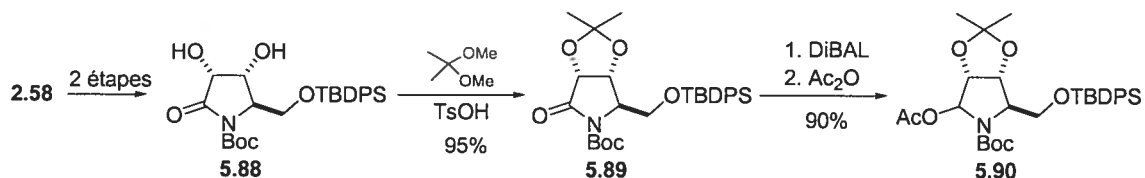
Finalement, la troisième approche repose sur une stratégie similaire à la précédente tirant profit de la réaction de fermeture de cycle par métathèse. Cette approche a tout d'abord été développée de façon à converger avec la première approche afin d'éviter l'addition de Mannich vinylogue. Ainsi, le système bicyclique **5.85** est obtenu à partir de la pyrrolidine substituée **5.86**, laquelle issue par transformations stéréosélectives de l'acide pyroglutamique (Figure 5.15). Cette approche devrait donc mener à l'énantiomère de la cyclizidine **5.5a** puisque l'acide pyroglutamique naturel **2.1** en constitue le chiron de départ. Ceci est fait délibérément, puisque la configuration absolue de la cyclizidine n'est pas connue.

Figure 5.15 Analyse rétrosynthétique pour l'approche de l'indolizidine **5.85** par RCM.

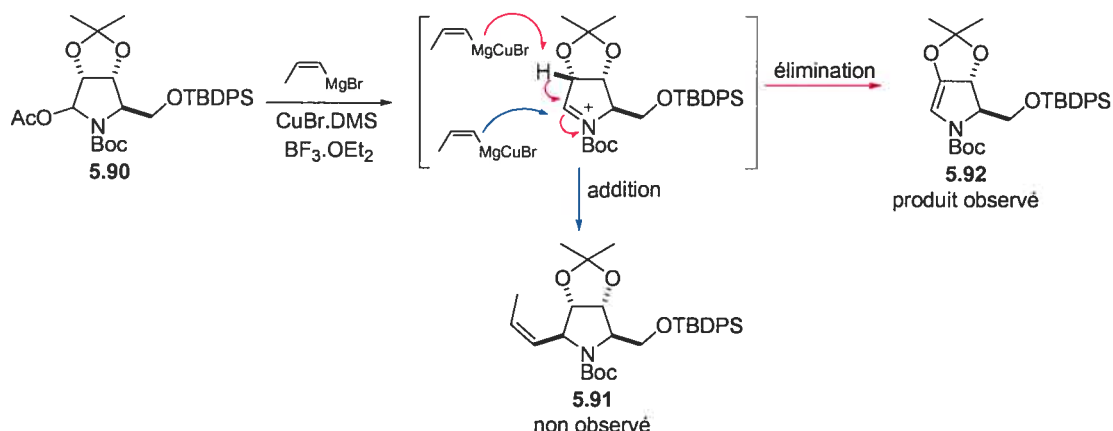


La synthèse débute alors à partir du dérivé éther silylé **2.58** utilisé précédemment (Schéma 5.17). Ainsi, une séquence similaire à celle discutée au Schéma 5.1 impliquant la formation de l'acétal cyclique **5.89** suivie de la réduction et de l'acylation de l'hémiaminal correspondant permet d'obtenir l'hémiacétal **5.90**.

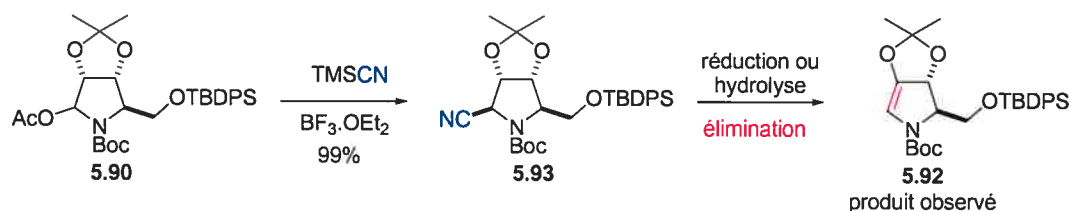
Schéma 5.17 Synthèse de l'hémiacétal **5.90** dérivé de l'acide L-pyroglutamique.



La stratégie envisagée consiste en l'addition d'un substituant vinylique, pouvant constituer l'une des deux oléfines nécessaires à la réaction de fermeture de cycle par métathèse. Ainsi, une addition d'un organo-cuivre sur l'ion *N*-acyl iminium dérivé de l'hémiacétal **5.90** devrait en principe conduire au dérivé propényle **5.91** (Schéma 5.18). Cette réaction a déjà été utilisée lors d'une approche semblable pour la synthèse d'un dérivé amino-indolizidinone⁵⁰ au chapitre II. Toutefois, l'addition de l'organo-cuivre dérivé du bromure de propénylmagnésium ne conduit pas au produit désiré **5.91**, mais au produit d'élimination ène-carbamate **5.92**. L'acidité du proton en position adjacente à l'ion *N*-acyl iminium peut expliquer le comportement indésirable observé en présence d'un organo-cuivre légèrement basique.

Schéma 5.18 Addition d'un organo-cuivre sur l'ion *N*-acyl iminium.

Afin de contourner ce problème d'élimination, une autre stratégie utilisant l'addition du substituant nitrile pouvant être subséquemment converti en oléfine a été envisagée. L'addition du cyanure de triméthylsilyle sur les ions *N*-acyl iminium est bien documentée.²⁰⁰ Ainsi, l'addition du TMSCN sur l'ion *N*-acyl iminium dérivé de l'hémiacétal **5.90** permet d'obtenir le dérivé nitrile **5.93** dans un rendement quasi quantitatif (Schéma 5.19). Malheureusement, toutes tentatives de réduction ou d'hydrolyse du nitrile pour une transformation en équivalent oléfinique ont conduit au produit d'élimination **5.92**. Ceci peut être expliqué par l'expulsion du nitrile comme bon groupe partant menant à la formation de l'ion *N*-acyl iminium suivie de l'élimination indésirée ou par une β -élimination directe.

Schéma 5.19 Addition du TMSCN sur l'ion *N*-acyl iminium.

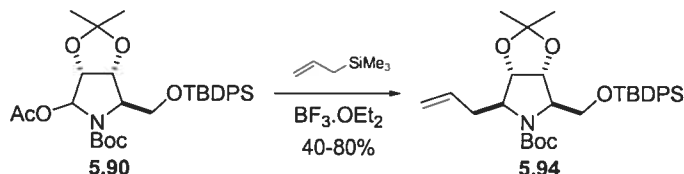
Conditions de réductions: DIBAL, NaBH₄

Conditions d'hydrolyse: HCl, KOH

Néanmoins, en sachant que le TMSCN permet d'obtenir le produit d'addition sans observer le sous-produit d'élimination, nous avons donc imaginé que

l'allyltriméthylsilane devrait adopter un comportement semblable. En effet, lorsque l'ion *N*-acyl iminium dérivé de **5.90** est formé en présence de l'allyltriméthylsilane, le produit majeur obtenu est l'allyle **5.94** (Schéma 5.20).

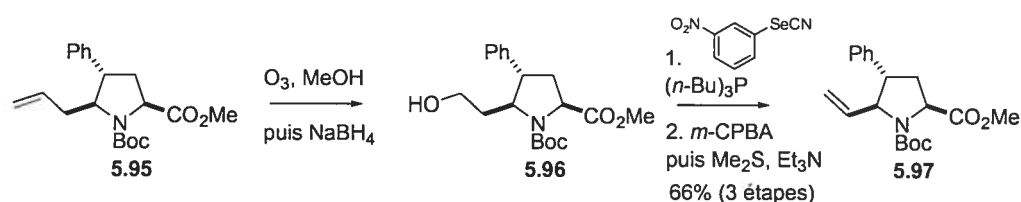
Schéma 5.20 Addition de l'allyltriméthylsilane sur l'ion *N*-acyl iminium.



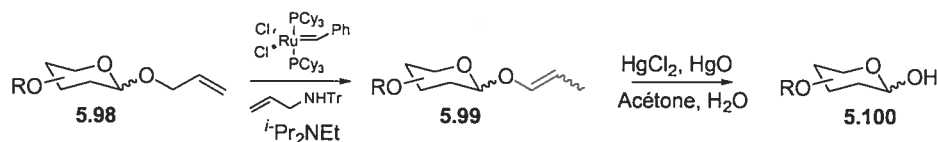
La diastéréosélectivité observée peut s'expliquer en considérant un intermédiaire réactif tel qu'illustré à la Figure 5.12 (en considérant l'énantiomère). Puisque le nucléophile est relativement plus petit que le triméthylsilyloxyfurane, la discrimination entre les deux faces d'attaques est principalement contrôlée par l'encombrement stérique généré par l'acétal cyclique, menant à un produit *syn* par rapport à l'éther silylé. Il est à noter que lorsque cette réaction est effectuée sur de grosses quantités (> 2.5 g), la réaction d'élimination demeure toujours un processus compétitif à la réaction d'addition.

En ayant la possibilité d'obtenir le dérivé allylique **5.94**, il a maintenant fallu penser à une façon de convertir ce dernier en analogue vinylique. En effet, un substituant vinylique est nécessaire pour la réaction de fermeture de cycle par métathèse afin de générer la double liaison au bon endroit au niveau de l'indolizidine correspondante.

La transformation d'un substituant allyle en substituant vinyle implique généralement une séquence réactionnelle de trois étapes consécutives. Moeller et collaborateurs²⁰¹ ont rapporté cette transformation sur un composé similaire (Schéma 5.21). Ainsi, une ozonolyse de la double liaison suivie de la réduction de l'ozonide avec le borohydrure de sodium permet d'obtenir l'alcool primaire **5.96**. Une déshydratation en deux étapes suivant le protocole de Grieco²⁰² conduit au dérivé vinyle **5.97** dans un rendement global de 66% à partir de **5.95**.

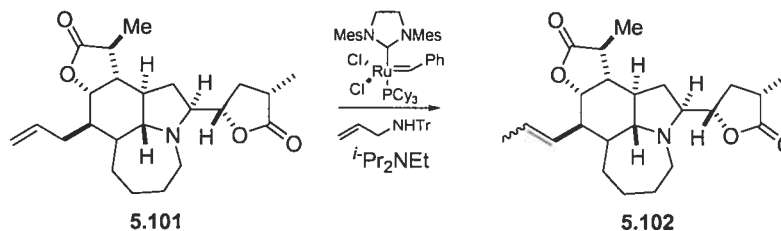
Schéma 5.21 Conversion de l'allyle en vinyle par Moeller.²⁰¹

Néanmoins, il existe des méthodes plus directes et plus efficaces pour obtenir l'équivalent vinylique impliquant une isomérisation de la double liaison. En effet, une nouvelle isomérisation des glycosides de *O*-allyle **5.98** en glycosides de prop-2-ènyle **5.99** a été observée par Roy et collaborateurs²⁰³ lors d'une réaction impliquant le catalyseur de Grubbs première génération **2.99** en présence de *N,N*-diisopropyléthylamine et de la *N*-allyltritylamine à reflux dans le toluène (Schéma 5.22). Ainsi, le produit d'isomérisation a été obtenu au lieu du produit attendu de la réaction de métathèse croisée entre deux oléfines.

Schéma 5.22 Nouvelle procédure pour la déprotection d'éthers allyliques par Roy et collaborateurs.²⁰³

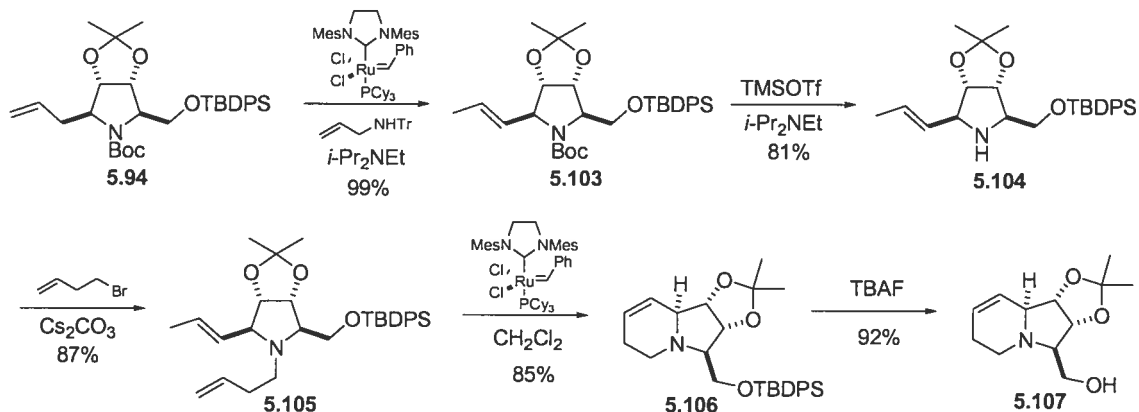
Cette nouvelle procédure a été récemment utilisée par Wipf et collaborateurs²⁰⁴ lors de la synthèse totale de la (-)-tuberostemonine (Schéma 5.23). Le dérivé allyle **5.101** a été isomérisé en dérivé propènyle **5.102** dans les conditions décrites précédemment, utilisant le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100**.

Schéma 5.23 Isomérisation d'un dérivé allyle en dérivé propènyle lors de la synthèse de la (-)-tuberostemonine par Wipf et collaborateurs.²⁰⁴



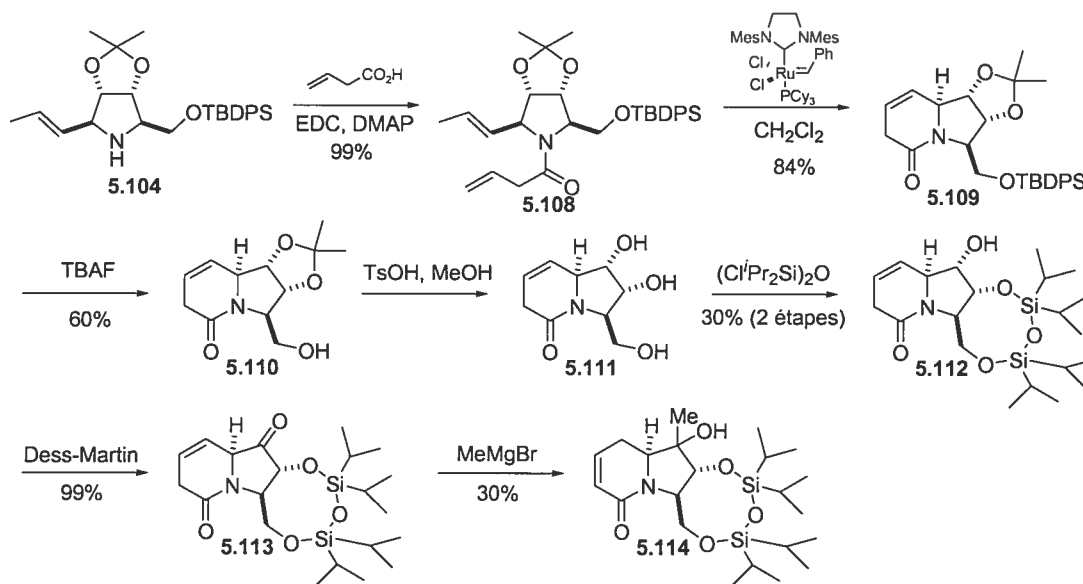
Ainsi, le groupement allyle du composé **5.94** a été isomérisé en propènyle **5.103** dans les conditions réactionnelles de Roy et collaborateurs²⁰³ en utilisant le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (Schéma 5.24). Par la suite, le carbamate **5.103** a été déprotégé avec le triflate de triméthylsilyle et l'amine **5.104** obtenue a été alkylée avec le bromure de butényle pour conduire au diène **5.105**. Le diène est alors soumis à la réaction de fermeture de cycle par métathèse en utilisant le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100**. L'indolizidine **5.106** est alors obtenue dans un très bon rendement et il a été possible de corroborer avec l'énantiomère **5.42** synthétisé précédemment. L'éther silylé a par la suite été déprotégé avec le fluorure de tétrabutylammonium pour mener à l'alcool primaire **5.107**. Bien que cette voie représente une alternative à la première approche, il n'en demeure pas moins que l'impasse rencontrée lors de l'introduction du méthyle au niveau de l'alcool tertiaire de la pyrrolidine n'est toujours pas résolue.

Schéma 5.24 Synthèse de l'indolizidine **5.107**.



Dans le but d'accroître la stabilité de l'indolizidine **5.45** (Schéma 5.7) et d'en faciliter sa manipulation du côté pratique, nous avons considéré la synthèse de l'indolizidinone équivalente **5.112** (Schéma 5.25). La fonction lactame pouvant éventuellement être réduite pour conduire à l'indolizidine correspondante.

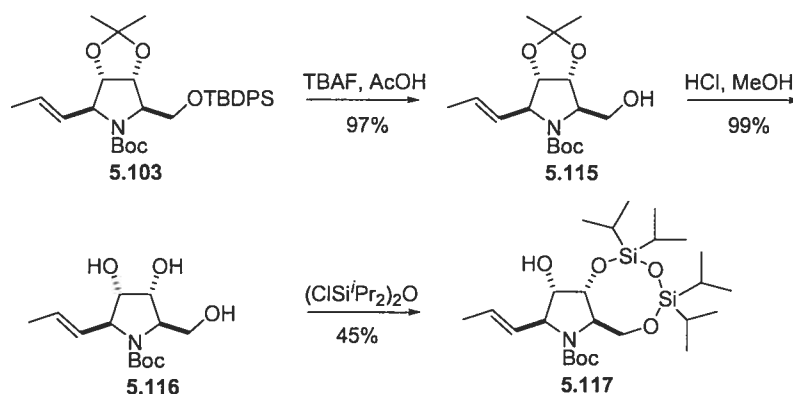
Schéma 5.25 Voie synthétique de l'indolizidinone.



Ainsi, l'amine **5.104** est réagie avec l'acide vinylacétique dans une réaction de couplage pour conduire à l'amide **5.108**. Le diène est alors cyclisé avec le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** pour conduire à l'indolizidinone insaturée **5.109**. L'alcool primaire a été déprotégé avec TBAF et l'acétal hydrolysé en conditions acides méthanoliques pour conduire au triol **5.111**. Une protection sélective du diol-1,3 *anti* est effectuée avec le 1,3-dichloro-1,1,3,3-tétraisopropyldisiloxane menant à l'alcool secondaire **5.112**. Par la suite, la séquence oxydation-addition du Grignard méthylique n'a malheureusement pas conduit au produit désiré. Le produit isolé a été identifié (par RMN) comme étant le résultat d'une addition du méthyle sur la cétone, mais avec une migration concomitante de la double liaison vers un système conjugué. De plus, ce produit a été isolé avec un rendement de seulement 30%, laissant croire à une décomposition majoritaire dans les conditions réactionnelles.

Étant donné les tentatives infructueuses précédentes lors de l'introduction du méthyle au niveau de l'alcool tertiaire, nous avons modifié à nouveau l'approche synthétique de façon à permettre l'introduction de ce méthyle plus tôt dans la synthèse. Ainsi, la nouvelle stratégie consiste à tirer profit de la protection sélective du diol-1,3 plus tôt dans la synthèse, c'est-à-dire au niveau de la pyrrolidine **5.117** (Schéma 5.26).

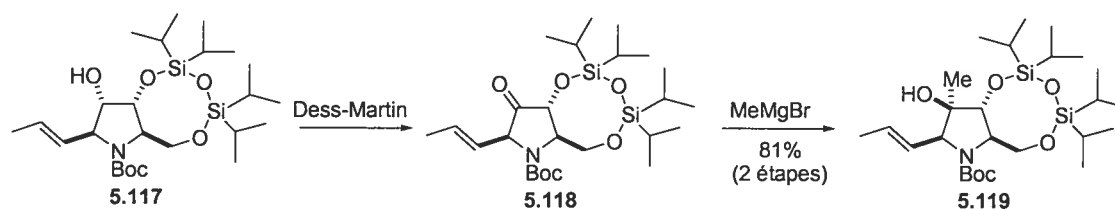
Schéma 5.26 Protection sélective menant à l'alcool secondaire **5.117**.



L'intermédiaire **5.103** obtenu précédemment est alors déprotégé avec le fluorure de tétrabutylammonium en présence d'acide acétique pour conduire à l'alcool primaire **5.115**. L'acétal est ensuite hydrolysé en conditions acides pour mener au triol **5.116**. Une protection sélective du diol-1,3 *anti* permet d'obtenir le dérivé silylé **5.117**.

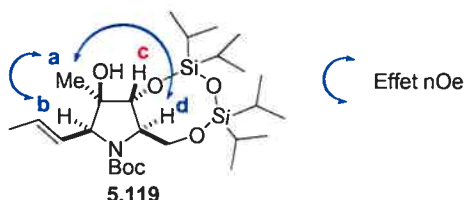
Ce dernier est ensuite oxydé avec le periodinane de Dess-Martin pour générer la cétone correspondante **5.118** (Schéma 5.27). Une addition hautement diastéréosélective d'un Grignard méthylique sur la cétone mène à l'alcool tertiaire **5.119** dans un rendement global de 81% sur deux étapes.

Schéma 5.27 Séquence d'oxydation-addition menant au dérivé **5.119**.



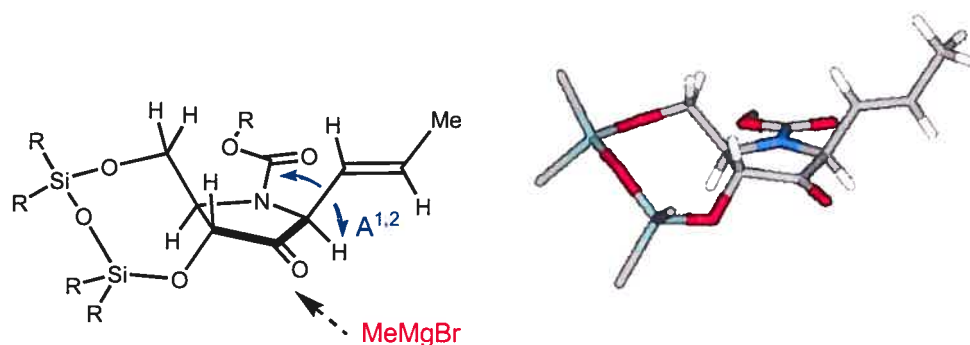
La stéréochimie du centre nouvellement formé a été confirmée par spectroscopie rmn bidimensionnelle. Il a été possible d'observer un couplage entre les protons a-b et a-d tandis qu'aucun couplage n'est observé entre les protons a-c (Figure 5.16).

Figure 5.16 Confirmation de la stéréochimie du composé **5.119** par rmn.



La sélectivité observée peut être expliquée par une attaque dirigée par la forme tridimensionnelle de la cétone **5.118**. Afin de minimiser la tension allylique-1,2 entre le *N*-Boc et le substituant propényle, ce dernier doit adopter une conformation telle que représentée à la Figure 5.17. De cette façon, la face d'attaque supérieure est relativement plus encombrée et l'attaque du Grignard méthylique se fait exclusivement par la face inférieure, menant au composé **5.119**.

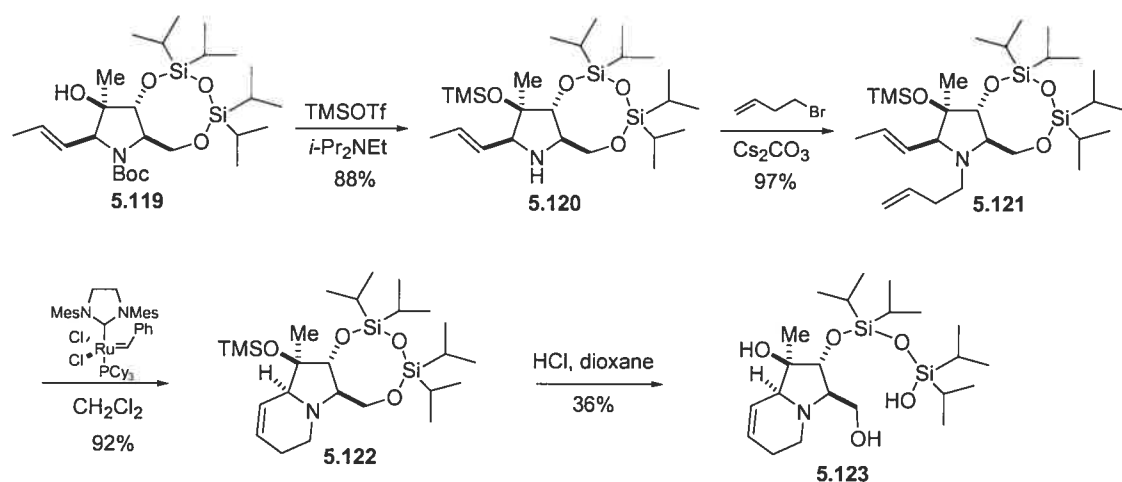
Figure 5.17 Intermédiaire réactif proposé pour l'attaque du Grignard méthylique sur la cétone **5.118** (certains groupes ont été omis pour clarté, structure obtenue par simple minimisation, Chem3D).



Le groupement protecteur de l'amine est ensuite hydrolysé avec le triflate de triméthylsilyle et le *N,N*-diisopropyléthylamine, ce qui effectue une silylation concomitante de l'alcool tertiaire dans ces conditions (Schéma 5.28). L'amine **5.120** est

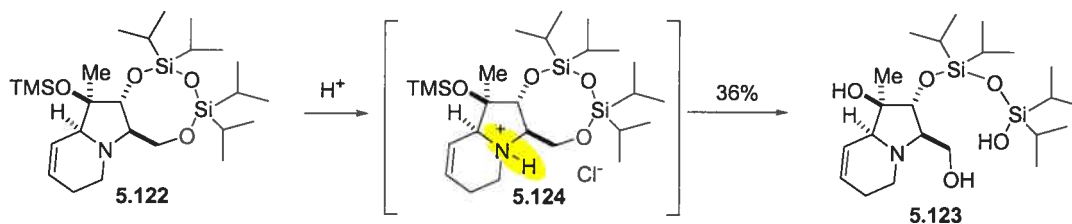
par la suite alkylée avec le bromure de butène en présence du carbonate de césium pour mener au diène **5.121** dans un rendement de 85% sur deux étapes.

Schéma 5.28 Construction du système indolizidine tricyclique par RCM.



Le diène est réagi en présence d'une quantité catalytique du catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** pour effectuer la réaction de fermeture de cycle par métathèse et ainsi conduire à l'obtention de l'indolizidine tricyclique **5.122**. Malheureusement, la basicité de l'amine tertiaire du composé **5.122** semble nuire à la réaction d'hydrolyse partielle du groupement silylé et ne permet la synthèse de l'alcool primaire dans un rendement de 36%.

Figure 5.18 Protonation de l'amine tertiaire au cours de la réaction d'hydrolyse partielle de l'éther silylé **5.122**.

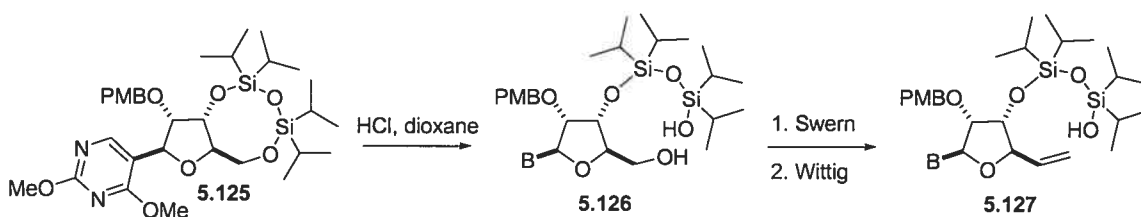


Puisque l'amine est substituée par trois groupements alkyles, elle doit se protoner rapidement en milieu acide, générant une répulsion de charge qui se traduit en une

réaction d'hydrolyse partielle de l'éther silylé beaucoup plus difficile. Cette explication est illustrée à la Figure 5.18.

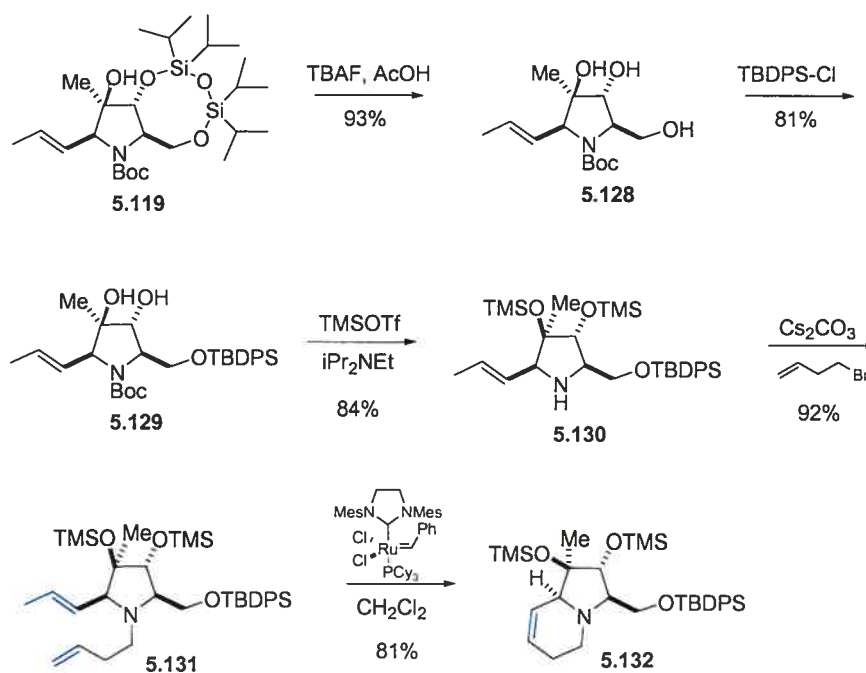
L'ouverture sélective d'un disiloxane est connue²⁰⁵ et son application en synthèse totale a été rapportée récemment par Hanessian et collaborateurs.²⁰⁶ En effet, il a été possible d'effectuer une hydrolyse sélective du composé **5.125** avec une solution diluée d'acide chlorhydrique dans le dioxane, menant à l'alcool primaire **5.126** (Schéma 5.29). Par la suite, une séquence impliquant une oxydation suivie d'une réaction de Wittig a conduit à l'oléfine **5.127**.

Schéma 5.29 Hydrolyse sélective d'un disiloxane similaire par Hanessian et collaborateurs.²⁰⁶



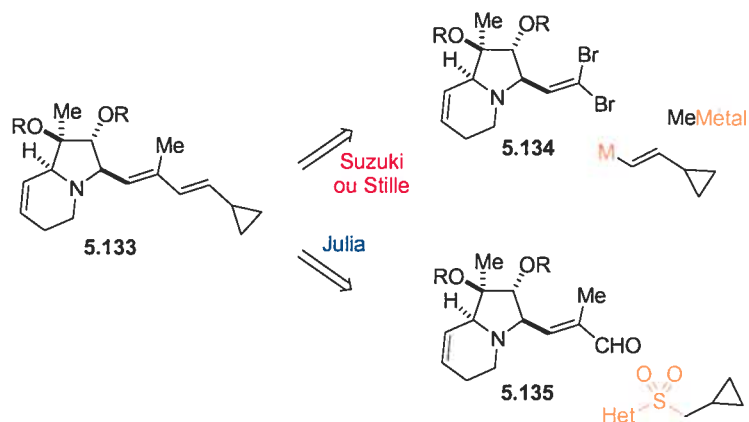
Une stratégie alternative impliquant la déprotection du disiloxane et une protection orthogonale du triol pourraient permettre d'outrepasser la difficulté rencontrée précédemment. Ainsi, le disiloxane **5.119** est déprotégé en présence du fluorure de tétrabutylammonium et de l'acide acétique pour donner le triol **5.128** (Schéma 5.30). L'alcool primaire est ensuite chémosélectivement protégé avec le chlorure de *tert*-butyldiphénylsilane et le diol **5.129** est alors obtenu. L'amine est libérée par hydrolyse avec le triflate de triméthylsilyle puis est ensuite alkylée avec le bromure de butényle et le carbonate de césium pour obtenir le diène **5.131** dans un rendement global de 77% à partir du carbamate **5.128**. Les alcools secondaire et tertiaire sont tous deux silylés de façon concomitante lors des conditions de déprotection du carbamate. Le diène est cyclisé avec le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** pour donner l'indolizidine **5.132** avec un rendement de 81%.

Schéma 5.30 Synthèse alternative pour obtenir l'indolizidine 5.132.



Puisque la synthèse nous permet d'obtenir efficacement l'indolizidine 5.132, il faut maintenant considérer une stratégie pour installer la chaîne latérale de façon adéquate. Deux approches totalement différentes ont été envisagées pour son élaboration (Figure 5.19).

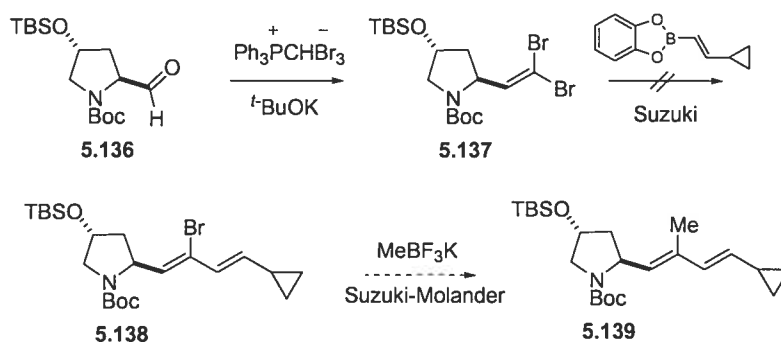
Figure 5.19 Deux approches pour la construction de la chaîne latérale de la cyclizidine.



La première approche implique une réaction de couplage croisé avec un catalyseur de palladium dans les conditions de Suzuki²⁰⁷ ou de Stille.¹⁸⁹ La deuxième approche repose sur une condensation entre un aldéhyde insaturé et une sulfone hétérocyclique dérivé du cyclopropylméthyle dans les conditions de Julia.²⁰⁸

Pour ce faire, des études sur une molécule modèle ont été envisagées afin de déterminer la meilleure approche pour la synthèse de ce tronçon de la cyclizidine. Ainsi, le dérivé **5.136** connu²⁰⁹ est obtenu à partir de la *trans*-hydroxyproline naturelle (Schéma 5.31).

Schéma 5.31 Études modèles de la réaction croisée de Suzuki.

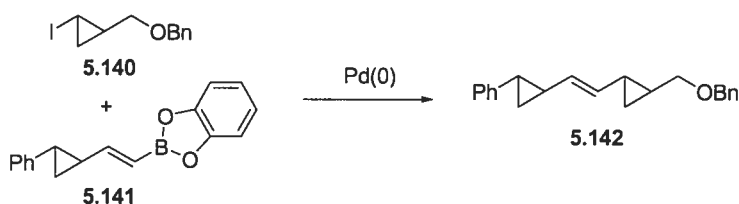


L'aldéhyde **5.136** est converti en dérivé dibromo vinylique **5.137** selon une réaction partielle de Corey-Fuchs.²¹⁰ Un couplage croisé dans les conditions réactionnelles de Suzuki impliquant le bromure vinylique *trans* et le partenaire cyclopropyle dérivé du catécholborane devrait mener à l'intermédiaire **5.138**. Malheureusement, la réaction ne semble pas fonctionner en présence de l'ester boronate dérivé du cyclopropyle vinylique. Des études utilisant l'acide boronique et d'autres dérivés sont présentement en cours. L'introduction subséquente du méthyle au niveau de la double liaison pourrait se faire par un autre couplage croisé de Suzuki dans les conditions modifiées par Molander,²¹¹ utilisant le méthyltrifluoroborate de potassium.

La préférence régiosélective du bromure vinylique *trans* dans les conditions de Suzuki peut être expliquée par une réactivité supérieure de ce dernier envers le bromure vinylique *cis*. En effet, cette préférence initialement observée par Roush²¹² semble générale et plusieurs exemples ont été publiés jusqu'à présent.²¹²

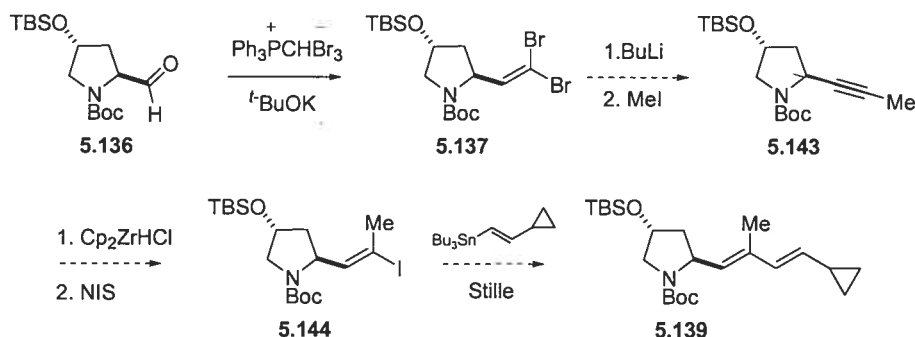
Charette et collaborateurs²¹³ ont rapporté en 1996 une étude impliquant le couplage croisé de Suzuki entre un ester boronate dérivé d'un cyclopropyle vinylique **5.141** et un iodocyclopropane **5.140** (Figure 5.20). Une étude méthodologique des conditions de la réaction a permis l'obtention du composé bis-cyclopropyle vinylique **5.142** avec un rendement supérieur à 95%.

Figure 5.20 Étude méthodologique de la réaction de Suzuki par Charette et collaborateurs.²¹³



Pour l'élaboration de la chaîne latérale, nous avons envisagé une approche semblable qui consiste en un couplage croisé de Stille sur l'iodure vinylique substitué **5.144** (Schéma 5.32). Le dérivé dibromo vinylique **5.137** peut être converti en alcyne **5.143** par la méthode de Corey-Fuchs.²¹⁰ Une hydrozirconation avec le réactif de Schwartz²¹⁴ suivie de l'échange avec l'iode permettrait d'obtenir l'iodure vinylique **5.144**. Par la suite, un couplage croisé de Stille pourrait mener au produit de couplage **5.139**.

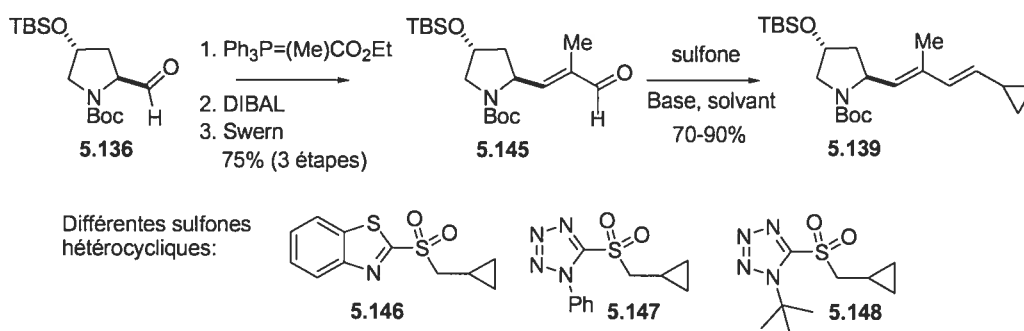
Schéma 5.32 Études modèles de la réaction du couplage croisé de Stille.



La deuxième approche pour la construction de la chaîne latérale de la cyclizidine repose sur une condensation entre un aldéhyde et une sulfone hétérocyclique. La réaction du

modèle **5.136** avec le réactif de Wittig mène à l'ester insaturé qui est ensuite réduit à l'alcool allylique et réoxydé dans les conditions de Swern pour donner l'aldéhyde insaturé **5.145** dans un rendement de 75% et un ratio *E/Z* de 95:5 (Schéma 5.33). La condensation de cet aldéhyde avec différentes sulfones hétérocycliques dérivées du bromure de cyclopropylméthyle mène directement au diène conjugué **5.139**. Puisque la réaction de Julia²⁰⁸ conduit généralement à un mélange d'isomères au niveau de la nouvelle double liaison créée, des études d'optimisation des conditions sont nécessaires.

Schéma 5.33 Études modèles de la réaction de condensation de Julia.



Un survol de quelques conditions réactionnelles a été effectué sur la molécule modèle **5.145** et le Tableau 5.1 résume les résultats obtenus pour la sélectivité de la double liaison formée.

Tableau 5.1 Survol des conditions pour la réaction de Julia menant au composé **5.139**.

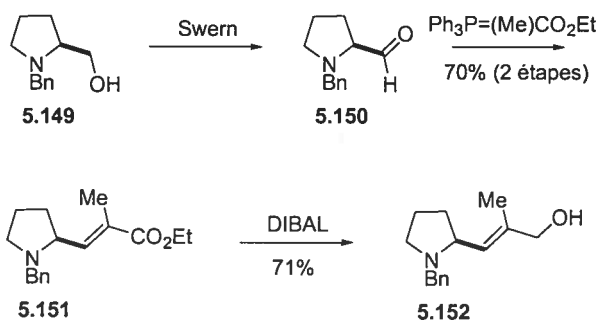
Entrée	Sulfone	Base	Solvant	Température	Ratio ^a <i>E</i> : <i>Z</i>
1	5.146	NaHMDS	THF	-78 °C	1.7:1
2	5.146	NaHMDS	DMF	-60 °C	2.2:1
3	5.147	NaHMDS	THF	-78 °C	1.3:1

^a ratio déterminé à partir du spectre rmn du produit brut.

Puisque la voie synthétique ne fait pas intervenir d'intermédiaire comportant un groupement carbamate sur l'amine, un autre composé modèle a été considéré. Un composé modèle possédant un substituant alkyle sur l'amine mime davantage l'intermédiaire indolizidine. Ainsi, le *N*-benzyl pyrrolidineméthanol **5.149**, disponible

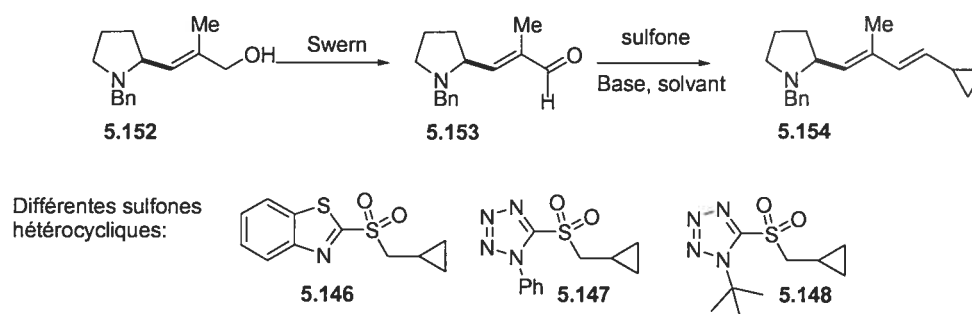
commerciallement, est oxydé vers l'aldéhyde **5.150**²¹⁵ et soumis à la réaction de Wittig pour conduire à l'ester α,β -insaturé **5.151** (Schéma 5.34). Une réduction de l'ester **5.151** avec l'hydrure de diisobutylaluminium donne l'alcool allylique **5.152** dans un rendement global de 50% sur les trois étapes.

Schéma 5.34 Synthèse du modèle *N*-benzyl pyrrolidine.



Par la suite, l'alcool allylique **5.152** est converti en aldéhyde par une oxydation dans les conditions de Swern et cet aldéhyde α,β -insaturé est utilisé directement pour des études de condensations de Julia. Différentes conditions ont été explorées afin d'optimiser la sélectivité *E/Z* de la double liaison nouvellement formée (Schéma 5.35 et Tableau 5.2).

Schéma 5.35 études modèles de la réaction de condensation de Julia avec le *N*-benzyl pyrrolidine.



A présent, la stéréosélectivité optimale (4.4:1) est acquise en utilisant la sulfone **5.147** en présence du NaHMDS dans le DMF (Tableau 5.2, entrée 5). Ces études modèles sont constamment en cours d'optimisation et les conditions optimales devraient être transposées sur la voie synthétique de la cyclizidine.

Tableau 5.2 Survol des conditions pour la réaction de Julia menant au composé **5.154**.

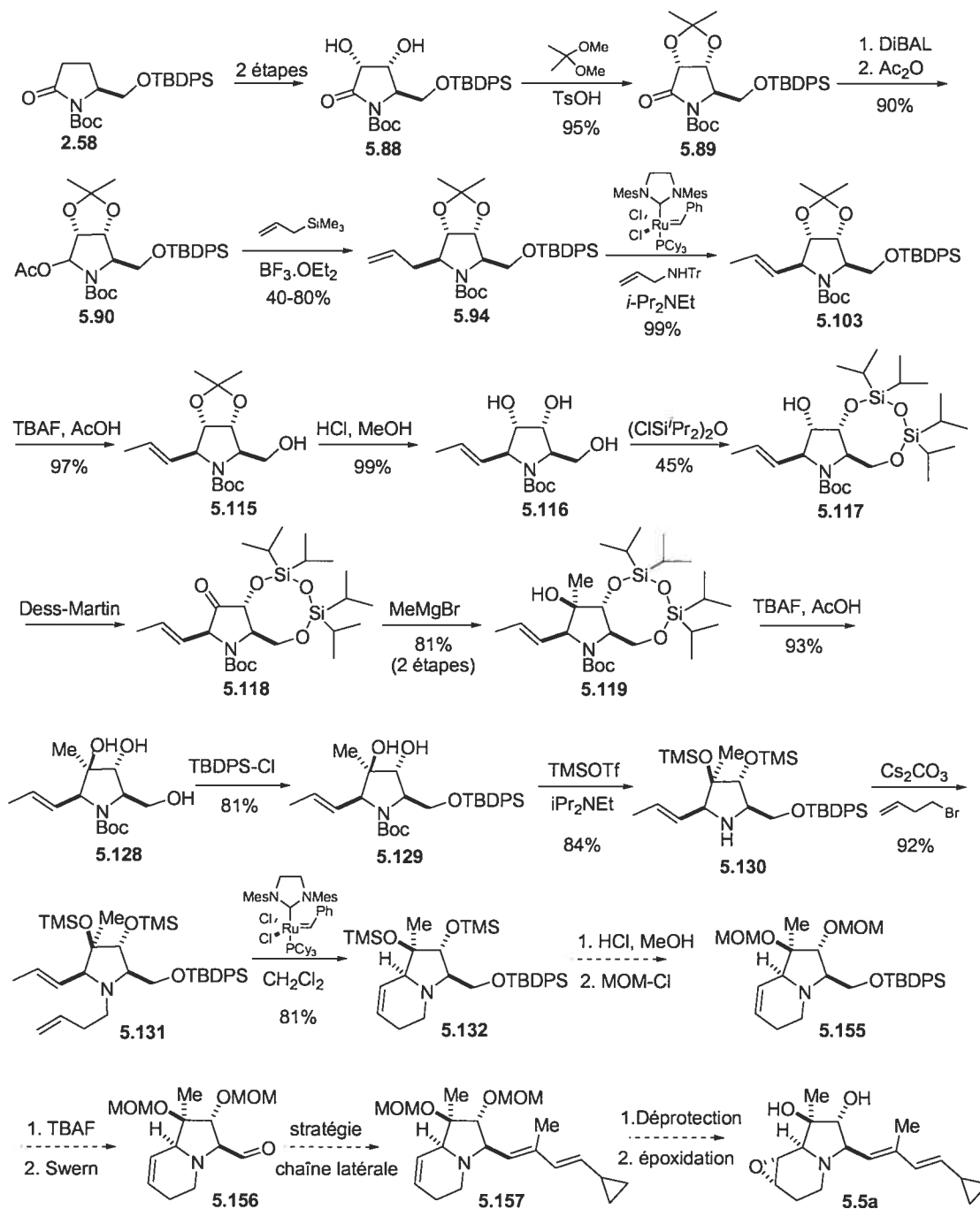
Entrée	Sulfone	Base	Solvant	Température	Ratio ^a <i>E:Z</i>
1	5.146	NaHMDS	THF	-78 °C	1.6:1
2	5.146	NaHMDS	DMF	-60 °C	3:1
3	5.146	LiHMDS	DMF	-60 °C	2.6:1
4	5.147	NaHMDS	THF	-78 °C	2:1
5	5.147	NaHMDS	DMF	-60 °C à -35 °C	4.5:1
6	5.147	LiHMDS	DMF	-60 °C	2.2:1
7	5.147	KHMDS	DMF	-60 °C	3.2:1

^a ratio déterminé à partir du spectre rmn du produit brut.

Une fois la construction de la chaîne latérale établie sur le modèle, la stratégie pourra être transposée sur la voie synthétique menant à la cyclizidine. Le Schéma 5.36 illustre la voie synthétique menant à l'intermédiaire avancé **5.132** ainsi que les étapes projetées pour la synthèse de l'énantiomère de la cyclizidine, à partir de l'acide L-pyroglutamique.

Ainsi, la synthèse pourra être complétée selon la voie proposée en poursuivant à partir de l'intermédiaire le plus avancé, l'indolizidine **5.132**. Une hydrolyse sélective des éthers triméthylsilyles suivie d'une protection des alcools secondaire et tertiaire sous forme d'éthers méthoxyméthyliques conduira au dérivé **5.155**. La déprotection de l'alcool primaire avec le fluorure de tétrabutylammonium suivie de l'oxydation dans les conditions de Swern conduiront à l'aldéhyde **5.156**. Par la suite, en utilisant la stratégie qui sera établie basée sur les réactions modèles, il sera possible d'installer la chaîne latérale et ainsi obtenir le composé **5.157**. Les deux dernières étapes consistent en une déprotection des groupements protecteurs suivie d'une époxidation conduisant à l'énantiomère de la cyclizidine **5.5a**. Il est à noter que l'ordre de ces dernières étapes peut changer afin de s'assurer de la compatibilité des intermédiaires au cours de ces réactions.

Schéma 5.36 Voie synthétique complète et proposée pour la synthèse de l'énantiomère de la cyclizidine.



V.9 Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons su démontrer différentes approches vers la synthèse totale de la cyclizidine. Chacune de ces approches reposent sur une stratégie innovatrice pour la construction stéréosélective du système indolizidine. Bien que de multiples problèmes soient survenus au cours de ces différentes approches, deux de ces approches sont continuellement en cours. Les intermédiaires synthétiques obtenus jusqu'à présent au niveau de ces deux approches sont particulièrement avancés et seulement quelques étapes sont nécessaires pour compléter la synthèse totale du produit naturel. De plus, des études modèles ont permis de planifier les stratégies anticipées pour la construction de la chaîne latérale de la cyclizidine.

Chapitre VI
Partie expérimentale

VI.1 Notes générales

Instrumentation

Les points de fusion des échantillons recristallisés ont été déterminés avec un appareil Büchi et ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés pour la raie D du sodium (589 nm) à l'aide d'un polarimètre Perkin-Elmer 241 à 25 °C. Les spectres infrarouges (IR) ont été enregistrés avec un spectrophotomètre FTIR Pergamon 1000. Les échantillons étaient soit mélangés à du KBr et moulés en forme de pastille pour les solides ou déposés sur une pastille de NaCl. Seules les bandes intenses et/ou significatives sont listées.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été pris en solution avec des appareils Bruker 300 et 400 MHz pour les protons (^1H) et 75 et 100 MHz pour les carbones (^{13}C). Les déplacements chimiques sont exprimés en parties par million (ppm) selon l'échelle δ et référés au solvant utilisé (7.27 ppm pour le CDCl_3 , 4.80 ppm pour le D_2O , 3.30 ppm pour CD_3OD et 2.50 pour le DMSO). Les valeurs de constantes de couplage J sont exprimées en Hertz (Hz). Les symbolismes employés pour décrire la multiplicité des signaux sont les suivants :

s : Singulet	t : Triplet
d : Doublet	td: Triplet dédoublé
dd : Doublet dédoublé	q : Quadruplet
ddd : Doublet doublement dédoublé	qt : Quintuplet
br : Large (broad)	m : Multiplet

Les spectres de masse à haute résolution ont été enregistrés avec un spectromètre Kratos SM-50 TCTA par la technique de bombardement atomique rapide (FAB), et VG-autospec-C1 pour les spectres de masse à basse résolution en utilisant la technique d'ionisation par électrospray.

Les mesures de diffraction des rayons X ont été faites par le Dr Michel Simard avec un diffractomètre Nonius CAD-4 avec radiation monochromatique. Les rapports de cristallographie sont disponibles sur demande.

Chromatographie

La plupart des produits ont été purifiés par chromatographie éclair avec du gel de silice Kieselgel 60 (Merck no 9385, 200-400 mesh). Les solvants utilisés sont préalablement distillés. Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques de verre commerciales enduites de gel de silice pour suivre la progression de la réaction (0.25 mm d'épaisseur, Merck, Kieselgel 60F₂₅₄).

Lumière ultraviolette: Les produits possédant des chromophores absorbants dans l'ultraviolet (254 nm) sont facilement détectés en chromatographie sur couche mince.

Iode: Les plaques de CCM sont mises en contact avec des vapeurs d'iode dans un pot; la plupart des composés forment des taches brunes foncées.

Molybdate d'ammonium et sulfate de cérium aqueux: Les plaques de CCM sont immergées dans une solution de molybdate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, (25 g) et sulfate de cérium, CeSO_4 (10 g) dans une solution d'acide sulfurique concentré-eau (1:9, 1 L) et ensuite chauffées; la plupart des composés forment une tache bleue.

Détection des groupements aminés: Les fonctions amines sont révélées par l'action de la ninhydrine (2 g) dans du *n*-butanol (600 mL) et de l'acide acétique (18 mL). Les plaques de CCM sont chauffées et vaporisées pour donner des taches jaunâtres ou rougeâtres dépendant si l'amine est primaire, secondaire ou tertiaire.

Détection des carbonyles: Les aldéhydes et les cétones sont révélés en formant leur dérivé dinitro-2,4-phénylhydrazone. Les plaques de CCM sont immergées dans une solution à 0.5% de dinitro-2,4-phénylhydrazine dans du HCl 2N puis chauffées pour donner des taches jaunes ou oranges.

Détection des oléfines: Les plaques de CCM sont immergées dans une solution au KMnO_4 (3 g) dans de l'eau (300 mL) et K_2CO_3 (20 g) puis chauffées.

Purification des solvants

L'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et les hexanes sont distillés avant usage. Les autres solvants de qualité spectroscopique commercialement disponible ont été utilisés sans autre purification. Pour les réactions qui requièrent des conditions anhydres, les solvants sont séchés selon les méthodes spécifiques décrites dans la littérature. Le tableau suivant montre les méthodes de séchage utilisées dans la partie expérimentale de ce texte.

Solvant	Agent desséchant
Benzène	CaH ₂
CH ₂ Cl ₂	CaH ₂ ou SDS ^{a,b}
Et ₂ O	Na/ benzophénone ou SDS ^{a,b}
THF	Na/ benzophénone ou SDS ^{a,b}
Toluène	CaH ₂ ou SDS ^{a,c}

^a SDS (Solvent Dispensing System)

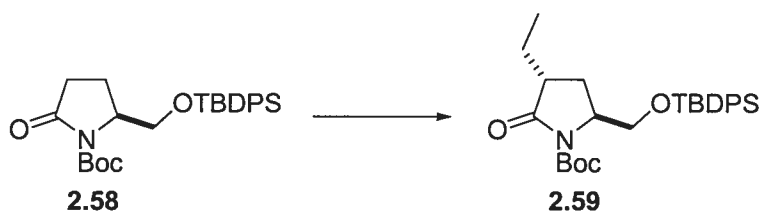
^b Séchage par filtration sur colonne d'alumine neutre sous atmosphère d'argon

^c Séchage par filtration sur colonne d'alumine et l'oxyde de cuivre (II) sous atmosphère d'argon

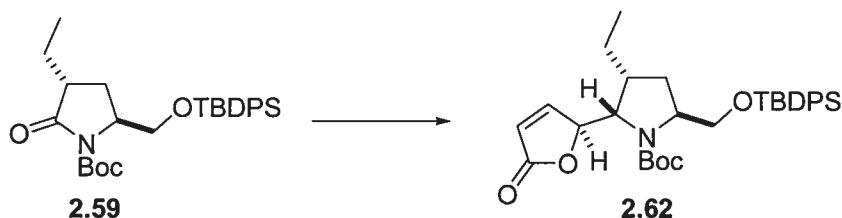
Généralités

Les réactions sous conditions anhydres sont effectuées sous atmosphère d'argon en utilisant de la verrerie, des seringues de verre et des aiguilles préalablement séchées à l'étuve. Les produits ayant déjà fait l'objet d'une caractérisation dans des mémoires, thèses ou dans la littérature n'ont pas été caractérisés de nouveau. La nomenclature des composés fut déterminée à l'aide du programme Autonom® et selon : Favre, H. *Les fondements de la nomenclature pour la chimie organique* ; l'Ordre des chimistes du Québec ; Montréal, 1996.

VI.2 Procédures expérimentales des composés du chapitre II



(3R,5S)-5-(tert-butyl-diphenyl-silyloxyméthyl)-3-éthyl-2-oxo-pyrrolidine-1-N-tert-butylloxycarbonyl (2.59). Dans une solution de la lactame **2.58** (10.6 g, 23.4 mmol) dans le THF (94 mL) à -78°C , a été ajouté une solution 1.0 M de LiHMDS dans le THF (25.7 mL, 25.7 mmol) et la solution jaune résultante a été agitée à -78°C pour 30 min. Ensuite, le triflate d'éthyle (3.33 mL, 25.7 mmol) a été ajouté et la solution a été agitée pendant 1h avant d'être neutralisée par l'ajout d'une solution saturée de NaHCO_3 (60 mL). La phase aqueuse a été extraite avec AcOEt (3 x 60 mL), les phases organiques combinées, séchées avec Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner le produit mono-alkylé **2.59** (10.3 g, 92%) sous forme d'une huile incolore; $[\alpha]_{\text{D}} -33.5$ (c 0.92, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.66-7.59 (m, 4H), 7.47-7.36 (m, 6H), 4.16 (m, 1H), 3.86 (dd, $J = 4.6, 10.4$ Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 2.7, 10.4$ Hz, 1H), 2.73 (m, 2H), 2.27 (dd, $J = 8.8, 12.7$ Hz, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.76 (dq, $J = 9.1, 11.5$ Hz, 1H), 1.53-1.34 (m, 9H), 1.05 (s, 9H), 0.97 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 176.5, 150.0, 135.5, 133.1, 132.8, 129.8, 127.8, 127.7, 82.6, 64.7, 56.8, 43.9, 28.0, 27.9, 26.8, 24.2, 19.2, 11.5; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2962, 1786 (s), 1750 (s), 1711 (s), 1473, 1428, 1367, 1316 (s), 1278 (br), 1153 (s), 1112 (s); SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 482.3; SMHR pour $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{NO}_4\text{Si}$ calculée 482.2727, trouvée 482.2710.



(2*S*,3*R*,5*S*)-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2*S*)-5-oxo-2,5-dihydro-furan-2-yl]-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.62).

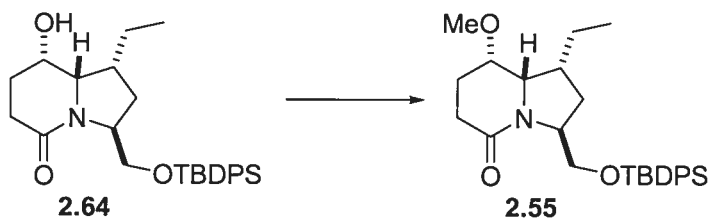
Dans une solution de la lactame **2.59** (1.4 g, 2.89 mmol) dans le toluène (3.6 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a été ajouté une solution 1.5 M de DibalH dans le toluène (2.5 mL, 3.75 mmol) et la solution a été agitée pendant 2h. Du méthanol (3 mL) a été ajouté à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ et la solution a été agitée pour 30 min. Ensuite, Et_2O (15 mL) a été ajouté et la solution a été réchauffée à la température ambiante, suivi de H_2O (0.5 mL). Le gel formé a été filtré sur Celite et lavé avec AcOEt (25 mL). Le filtrat a été séché sur Na_2SO_4 puis concentré sous pression réduite. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le CH_2Cl_2 (11.6 mL), Et_3N (1.2 mL, 8.66 mmol) et DMAP (quantité catalytique) ont été ajoutés suivi de Ac_2O (0.82 mL, 8.66 mmol). Après avoir laissé agiter pendant la nuit, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (15 mL) et extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 30 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70). Dans une solution du produit obtenu précédemment (1.4 g, 2.69 mmol) dans le CH_2Cl_2 (13.4 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a été ajouté $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (0.2 mL, 1.61 mmol) suivi de triméthylsilyloxyfurane (0.59 mL, 3.49 mmol). Après avoir laissé agiter pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (15 mL) et extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 30 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner le buténolide **2.62** (1.48 g, 93%); $[\alpha]_{\text{D}} -113.5$ (c 0.95, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.68-7.40 (m, 10H), 5.85 (dd, $J = 2.1, 5.7$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.70 (dd, $J = 2.9, 9.8$ Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 6.2, 9.8$ Hz, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.16 (m, 1H), 1.65 (m, 2H), 1.44 (m, 2H), 1.19 (s, 9H), 1.05 (m, 12H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 171.1, 154.7, 152.5, 133.0, 132.8, 127.1, 125.2, 115.4, 81.1, 77.3, 61.9, 58.1, 57.8, 55.9, 38.4,

30.8, 25.5, 24.3, 18.5, 16.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2961, 1763 (s), 1689 (s), 1473, 1428, 1390 (s), 1170, 1112 (s); SM (*m/z*) [M⁺+1]: 550.2; SMHR pour C₃₂H₄₄NO₅Si calculée 550.2989, trouvée 550.2964.

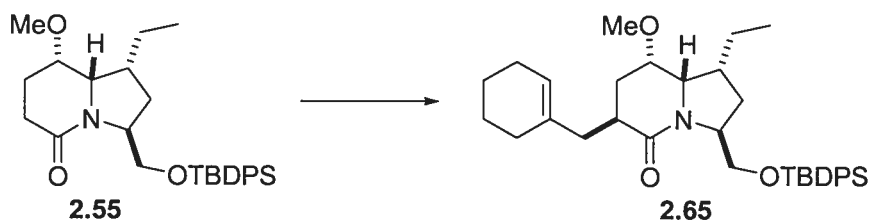


(1*R*,3*S*,8*S*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-hydroxy-

hexahydro-indolizin-5-one (2.64). Dans une solution du buténolide **2.62** (178 mg, 0.32 mmol) dans le AcOEt (3 mL), du palladium sur charbon (10 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la suspension a été filtrée sur Celite, rincée avec AcOEt (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner une huile incolore. Dans une solution de l'huile précédente dans le CH₂Cl₂ (1.2 mL), a été ajouté *B*-bromocatécholborane (84 mg, 0.42 mmol) par portions. La solution a été agitée pendant 2h, neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) puis extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ et concentrées sous pression réduite pour donner l'amine brute qui a été utilisée sans purification. L'amine brute a été dissoute dans le toluène (16.2 mL) et chauffée à reflux pendant toute la nuit. Après avoir évaporé la solution, le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt) pour donner l'indolizidinone **2.64** (104 mg, 71%); [α]_D -57.9 (*c* 0.93, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.65-7.37 (m, 10H), 4.41 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 3.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.41 (m, 3H), 2.28 (m, 2H), 1.98 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.67 (m, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.3, 135.5, 133.5, 129.5, 127.5, 65.1, 64.5, 63.2, 58.2, 42.1, 32.0, 29.3, 27.3, 26.8, 22.5, 19.1, 13.1; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3369, 1627 (s), 1462, 1428, 1112 (s), 1066, 702; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 452.2; SMHR pour C₂₇H₃₈NO₃Si calculée 452.2621, trouvée 452.2625.



(1*R*,3*S*,8*S*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.55). Dans une solution de l'alcool secondaire **2.64** (754 mg, 1.67 mmol) dans le THF (5.6 mL), a été ajouté KH (391 mg, 3.34 mmol) suivi de MeI (0.21 mL, 3.34 mmol). Après avoir agité 2h, la solution a été neutralisée avec H₂O (10 mL) et extraite avec AcOEt (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt) pour donner l'éther méthylique **2.55** (623 mg, 80%); $[\alpha]_D -31.3$ (*c* 1.04, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.66-7.60 (m, 4H), 7.43-7.34 (m, 6H), 4.40 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.46 (m, 1H), 2.32 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.67 (m, 3H), 1.43 (m, 1H), 1.05 (s, 9H), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.0, 135.5, 135.4, 133.6, 133.4, 129.5, 129.4, 127.5, 73.8, 64.7, 63.0, 58.1, 54.8, 42.2, 31.8, 27.5, 26.8, 22.4, 19.1, 13.1; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3436 (br), 2931, 1648 (s), 1428, 1106 (s), 702; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 466.3; SMHR pour C₂₈H₄₀NO₃Si calculée 466.2777, trouvée 466.2763.



(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-ényméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.65). Dans une solution de l'éther méthylique **2.55** (168 mg, 0.36 mmol) dans le THF (1.8 mL) à -78 °C, a été ajouté une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.23 mL, 0.40 mmol) suivie du bromure de cyclohexényméthyle (82 mg, 0.47 mmol) après 30 min. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu

a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner le produit mono-alkylé **2.65** (144 mg, 72%); $[\alpha]_D +12.5$ (c 1.14, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.67-7.34 (m, 10H), 5.42 (s, 1H), 4.48 (m, 1H), 3.72 (d, $J = 4.3$ Hz, 2H), 3.57 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.55 (m, 3H), 2.18 (m, 1H), 1.99 (m, 5H), 1.53 (m, 7H), 1.35 (m, 2H), 1.06 (s, 9H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 172.7, 135.4, 135.0, 133.5, 129.5, 127.5, 123.6, 73.8, 64.9, 62.9, 58.5, 54.8, 42.6, 42.4, 35.5, 31.7, 28.6, 27.5, 26.7, 25.2, 22.7, 22.4, 19.1, 13.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3430 (br), 1640 (s), 1428, 1106, 702; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 560.4; SMHR pour $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_3\text{Si}$ calculée 560.3560, trouvée 560.3542.

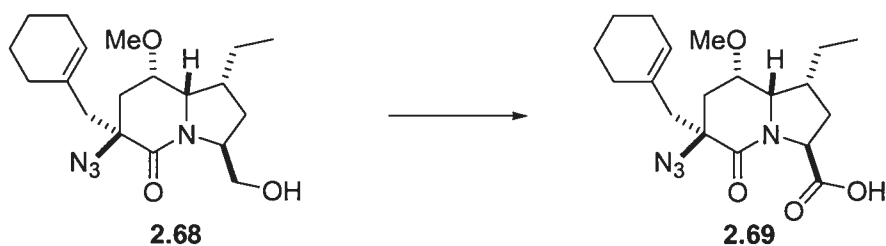


(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-3-(tert-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.66). Dans une solution du produit mono-alkylé **2.65** (259 mg, 0.46 mmol) dans le THF (1.8 mL) a été ajouté à -78 °C une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.30 mL, 0.51 mmol) suivie de l'azidure de trisyle (172 mg, 0.56 mmol) dans le THF (0.2 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'azidure **2.66** (219 mg, 78%); $[\alpha]_D -51.9$ (c 0.9, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.69-7.36 (m, 10H), 5.57 (s, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.48 (s, 1H), 3.26 (s, 3H), 2.77 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 2.55 (m, 2H), 2.50 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.14 (m, 4H), 1.56 (m, 6H), 1.30 (m, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 167.3, 135.4, 133.4, 129.5, 127.5, 127.0, 74.5, 64.9, 62.6, 61.5, 58.7, 55.1, 43.8, 42.3, 34.1, 32.1, 28.2, 26.7, 25.5, 22.9,

22.2, 22.0, 19.1, 13.1; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2099 (s), 1652 (s), 1428 (s), 1110 (s), 702; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 601.4; SMHR pour C₃₅H₄₉N₄O₃Si calculée 601.3574, trouvée 601.3585.

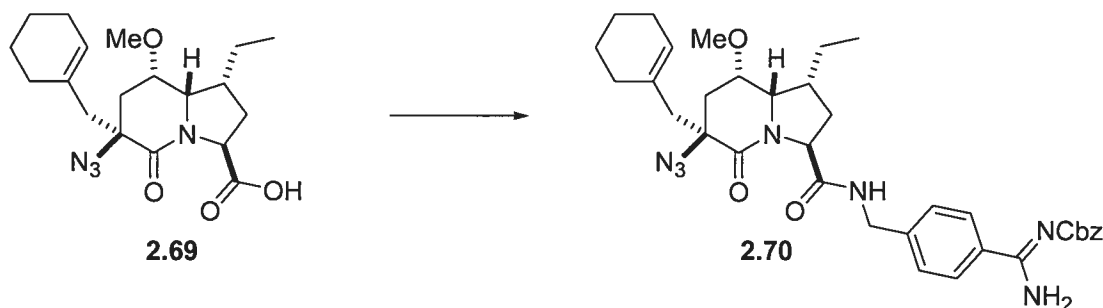


(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.68). Dans une solution de l'azidure **2.66** (810 mg, 1.33 mmol) dans le THF (26.7 mL) a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (1.47 mL, 1.47 mmol). Après avoir agité la solution pour 2h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 50 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'alcool primaire **2.68** (387 mg, 80%); Pf: 128 °C; [α]_D -79.6 (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.53 (s, 1H), 4.42 (m, 1H), 3.85 (dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, 1H), 3.63 (m, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.64 (q, *J* = 14.5 Hz, 2H), 2.36 (m, 1H), 2.25 (dd, *J* = 2.6, 15.4 Hz, 1H), 2.02 (m, 3H), 1.86 (m, 1H), 1.71 (m, 2H), 1.56 (m, 6H), 1.33 (m, 1H), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 169.8, 132.9, 127.3, 74.1, 66.3, 62.4, 61.3, 60.5, 55.3, 43.7, 42.1, 33.8, 31.5, 28.9, 25.5, 22.8, 21.9, 21.8, 12.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3422 (br), 2933, 2099 (s) 1647 (s), 1437, 1093 (s); SM (*m/z*) [M⁺+1]: 362.2; SMHR pour C₁₉H₃₀N₄O₃ calculée 362.23179, trouvée 362.23096.



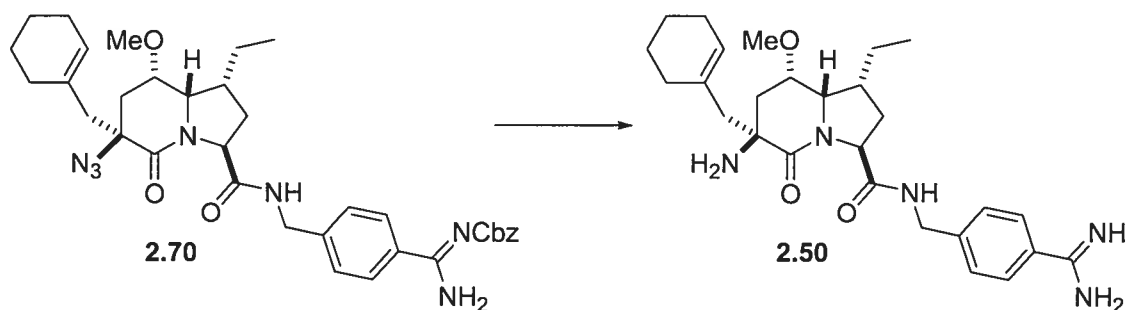
(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-acide-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.69). Dans une solution de chlorure

d'oxalyle (0.03 mL, 0.38 mmol) dans le CH₂Cl₂ (4.6 mL) a été ajouté à -60 °C du DMSO (0.05 mL, 0.64 mmol). Après avoir agité pour 30 minutes, une solution de l'alcool primaire **2.68** (116 mg, 0.32 mmol) dans le CH₂Cl₂ (3.2 mL) a été ajoutée. Après avoir agité la solution résultante pour 30 minutes, Et₃N (0.27 mL, 1.92 mmol) a été ajouté et après 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH₄Cl (5 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Dans une solution de l'aldéhyde brut dans le *t*-BuOH (3.2 mL) a été ajouté le 2-méthyl-2-butène (1.6 mL, 3.2 mmol) suivi d'une solution de NaH₂PO₄ (243 mg, 1.76 mmol) et de NaO₂Cl (144 mg, 1.60 mmol) dans H₂O (3.2 mL). Après avoir agité pendant 20 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (3 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut **2.69** (109 mg, 90%).



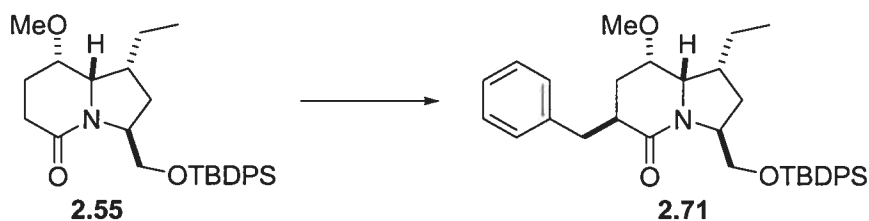
(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(-4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.70). Dans une solution de l'acide **2.69** (109 mg, 0.29 mmol) dans le CH₂Cl₂ (7.2 mL) à 0 °C, ont été ajoutés le *N*-Cbz aminométhyl benzamidine (106 mg, 0.37 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.10 mL, 0.60 mmol) et le réactif BOP (166 mg, 0.37 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 40 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 70:30) pour donner l'amide **2.70** (90 mg, 50%); $[\alpha]_D -72.8$ (*c* 1.06, CHCl₃); ¹H

RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 1.5, 8.3$ Hz, 2H), 7.30 (m, 5H), 5.53 (s, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.75 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.81 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.61 (q, $J = 14.5$ Hz, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.32 (dd, $J = 1.5, 15.6$ Hz, 1H), 2.03 (m, 3H), 1.90 (m, 1H), 1.54 (m, 6H), 1.38 (m, 1H), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.9, 169.2, 167.7, 163.9, 142.8, 136.4, 132.7, 128.2, 128.0, 127.8, 127.5, 127.4, 74.1, 67.1, 62.3, 61.3, 60.3, 55.1, 43.6, 42.9, 42.6, 33.7, 30.7, 28.8, 25.5, 22.7, 21.9, 21.8, 12.9; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3313 (br), 2934 (br), 2099 (s), 1619 (s), 1526, 1260 (s), 1142, 751; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 642.3; SMHR pour C₃₅H₄₄N₇O₅ calculée 642.3404, trouvée 642.3394.



(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-amino-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.50). Dans une solution de l'amide **2.70** (38 mg, 0.06 mmol) dans le MeOH (2 mL), ont été ajoutés HCl (2 gouttes) et palladium sur charbon (10 mg) et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner l'analogue cyclohexényle **2.50** (28 mg, 85%); $[\alpha]_D -78.3$ (c 0.99, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.70 (s, 1H), 4.65 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.25 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.72-2.61 (m, 2H), 2.37 (m, 2H), 2.18 (m, 3H), 1.93 (m, 3H), 1.90-1.38 (m, 8H), 1.30 (s, 1H), 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 172.9, 167.6, 146.0, 131.7, 130.1, 128.3, 127.3, 74.2, 65.9, 63.4, 61.2, 60.5, 57.2, 55.8, 43.0, 42.5, 39.4, 34.4, 30.3, 27.4, 25.6, 23.0, 21.8, 12.4; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3392 (br), 2934,

2363 (br) 1647 (s), 1458; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 482.5; SMHR pour $C_{27}H_{40}N_5O_3$ calculée 482.3131, trouvée 482.3122.



(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-6-benzyl-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.71). Dans une solution de l'indolizidinone **2.55** (600 mg, 1.29 mmol) dans le THF (5.2 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a été ajouté une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.83 mL, 1.42 mmol) suivi du bromure de benzyle (0.18 mL, 1.67 mmol) après 30 min. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 70 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner le produit mono-alkylé **2.71** (561 mg, 78%); $[\alpha]_D^{25} +15.9$ (c 0.9, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.69 (m, 5H), 7.43 (m, 6H), 7.20 (m, 4H), 4.55 (m, 1H), 3.78 (dd, $J = 3.7, 10.0$ Hz, 1H), 3.66 (dd, $J = 6.6, 9.9$ Hz, 1H), 3.43 (s, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.79 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.03 (m, 2H), 1.51 (m, 5H), 1.10 (s, 9H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 171.5, 139.1, 135.5, 133.5, 133.4, 129.5, 129.1, 128.1, 127.6, 126.1, 73.5, 64.5, 62.7, 58.5, 54.8, 42.3, 39.1, 39.0, 31.5, 28.6, 26.8, 22.3, 19.1, 13.1; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932 (br), 1637 (s), 1427, 1106, 702; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 556.3; SMHR pour $C_{35}H_{46}NO_3\text{Si}$ calculée 556.3248, trouvée 556.3275.

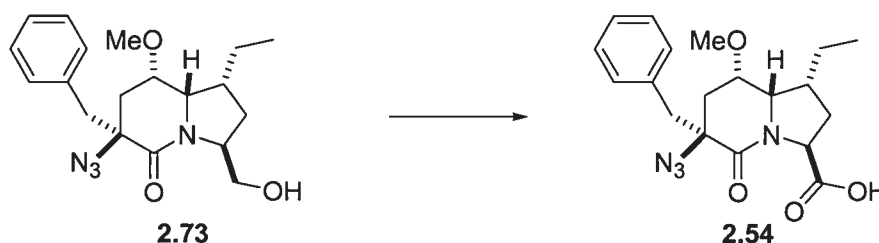


(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-6-benzyl-3-(tert-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.72). Dans une solution du benzyle **2.71** (555 mg, 1.00 mmol) dans le THF (4.0 mL) a été ajouté à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.73 mL, 1.10 mmol) suivie de l'azidure de trisyle (371 mg, 1.20 mmol) dans le THF (0.5 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 2:98) pour donner l'azidure **2.72** (352 mg, 60%); $[\alpha]_{\text{D}} -29.1$ (*c* 1.1, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.70 (m, 5H), 7.45 (m, 6H), 7.34 (m, 4H), 4.50 (m, 1H), 3.90 (m, 2H), 3.80 (dd, $J = 3.0, 10.1$ Hz, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.27 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.02 (s, 3H), 2.59 (m, 1H), 2.16 (dd, $J = 1.7, 15.4$ Hz, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.51 (m, 2H), 1.33 (m, 2H), 1.12 (s, 9H), 0.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 167.2, 136.1, 135.5, 133.2, 130.7, 129.6, 128.2, 127.6, 126.7, 74.3, 64.9, 63.8, 61.6, 58.8, 54.9, 42.3, 41.2, 34.5, 32.1, 28.7, 26.8, 22.1, 19.2, 13.1; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932 (br), 2099 (s), 1654 (s), 1428, 1106 (s), 702; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 597.3; SMHR pour $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_3\text{Si}$ calculée 597.3262, trouvée 597.3224.

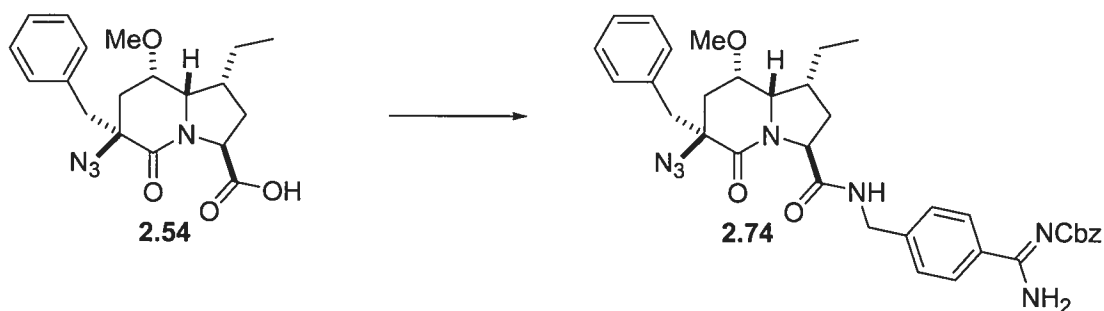


(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.73). Dans une solution de l'azidure **2.72** (328 mg, 0.55 mmol) dans le THF (11.0 mL) a été ajoutée une solution 1.0 M de TBAF dans le THF

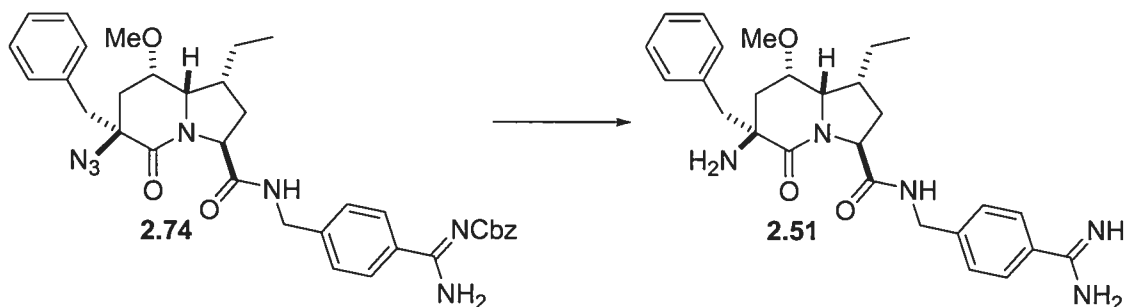
(0.61 mL, 0.61 mmol). Après avoir agité la solution pour 2h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 30 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool primaire **2.73** (149 mg, 76%); [α]_D -48.7 (*c* 0.8, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.29 (m, 5H), 4.42 (m, 1H), 3.94 (br, 1H), 3.83 (dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, 1H), 3.63 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.44 (m, 1H), 3.26 (q, *J* = 14.2 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.33 (m, 1H), 2.08 (dd, *J* = 2.8, 15.4 Hz, 1H), 1.72 (m, 2H), 1.51 (m, 2H), 1.23 (m, 1H), 0.90 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 169.2, 135.6, 130.6, 128.3, 126.8, 73.9, 65.8, 63.7, 61.3, 60.3, 55.1, 42.0, 41.1, 34.2, 31.4, 21.7, 19.4, 12.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2937 (br), 2099 (s), 1644 (s), 1454, 1092 (s); SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 359.2; SMHR pour C₁₉H₂₆N₄O₃ calculée 359.2083, trouvée 359.2090.



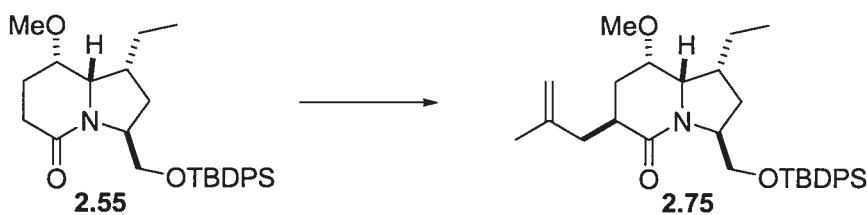
(1R,3S,6S,8S,8aS)-acide-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.54). Dans une solution de l'alcool primaire **2.73** (50 mg, 0.14 mmol) dans le CH₂Cl₂ (4.5 mL) ont été ajoutés à 0 °C du tamis moléculaire 4 Å (15 mg), NMO (41 mg, 0.35 mmol) ainsi que TPAP (5 mg, 0.014 mmol). Après avoir agité la suspension pendant 15 minutes à 0 °C puis 45 minutes à la température ambiante, la suspension a été filtrée sur Fluorisil et le filtrat a été séché sur Na₂SO₄ puis concentré sous pression réduite. Dans une solution de l'aldéhyde brut dans le *t*-BuOH (1.0 mL), a été ajouté le 2-méthyl-2-butène (0.7 mL, 1.4 mmol) suivi d'une solution de NaH₂PO₄ (106 mg, 0.77 mmol) et de NaO₂Cl (63 mg, 0.70 mmol) dans H₂O (1.0 mL). Après avoir agité pendant 20 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (2 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut **2.54** (30 mg, 60%).



(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.74). Dans une solution de l'acide **2.54** (30 mg, 0.08 mmol) dans le DMF (1.3 mL) à 0 °C, ont été ajoutés EDC (19 mg, 0.10 mmol), HOBT (13 mg, 0.10 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.04 mL, 0.20 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Cbz aminométhyl benzamidine (33 mg, 0.10 mmol). Après avoir agité la solution pendant la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (2 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 70:30) pour donner l'amide **2.74** (33 mg, 65%); $[\alpha]_D -53.6$ (*c* 0.9, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 7.37-7.25 (m, 10H), 5.21 (s, 2H), 4.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.46 (dd, *J* = 1.8, 5.8 Hz, 2H), 3.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.42 (dd, *J* = 1.7, 2.8 Hz, 1H), 3.28 (s, 2H), 2.93 (s, 3H), 2.45 (m, 2H), 2.18 (dd, *J* = 1.7, 15.6 Hz, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.47 (dd, *J* = 4.7, 15.6 Hz, 2H), 1.35 (m, 1H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.9, 169.1, 167.7, 164.4, 142.7, 136.5, 135.3, 133.2, 130.6, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.5, 127.4, 126.9, 73.9, 67.1, 63.5, 61.4, 60.4, 54.8, 43.0, 42.7, 40.9, 34.2, 30.6, 21.7, 12.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3311 (br), 2936, 2100 (s), 1654 (s), 1618, 1526, 1497, 1261 (s), 1142, 751; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 638.3; SMHR pour C₃₅H₄₀N₇O₅ calculée 638.3091, trouvée 638.3113.

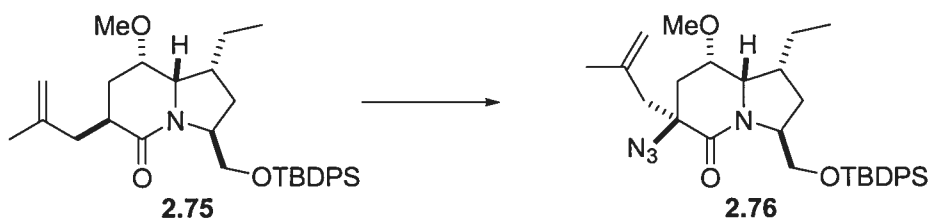


(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-6-amino-6-benzyl-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.51). Dans une solution de l'amide **2.74** (25 mg, 0.04 mmol) dans le MeOH (1.5 mL), ont été ajoutés HCl (2 gouttes) et palladium sur charbon (5 mg) et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner l'analogue benzyle **2.51** (17 mg, 88%); $[\alpha]_D -44.6$ (*c* 1.04, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 9.27 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.43-7.35 (m, 5H), 4.75 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.29 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.31 (m, 8H), 2.73 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 2.29 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 1.90 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 0.99 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 171.2, 168.6, 164.5, 143.2, 136.4, 132.4, 130.7, 128.4, 128.3, 127.8, 127.5, 126.5, 75.1, 62.1, 56.6, 54.8, 43.9, 43.5, 40.9, 34.4, 30.4, 22.8, 13.3; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3322 (br), 1648 (s), 1259 (s), 753; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 478.3; SMHR pour $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_3$ calculée 478.2818, trouvée 478.2834.



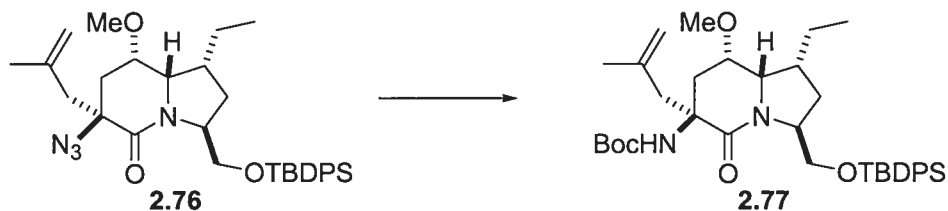
(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthylallyl)-hexahydro-indolizine-5-one (2.75). Dans une solution de l'indolizidinone **2.55** (775 mg, 1.66 mmol) dans le THF (6.7 mL) à -78 °C, a été ajoutée une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (1.22 mL, 1.83 mmol) suivie du 3-bromo-2-méthyl-propène (0.25 mL, 2.50 mmol) après 30 min. Après avoir agité pour 1h, la

solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (25 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 70 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner le produit mono-alkylé **2.75** (717 mg, 83%); $[\alpha]_D +1.8$ (c 1.1, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.73-7.58 (m, 4H), 7.48-7.31 (m, 6H), 4.80 (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.50 (m, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.61 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 3.51 (s, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.69 (dd, $J = 4.1, 13.6$ Hz, 1H), 2.59 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.21 (m, 2H), 2.00 (dd, $J = 8.1, 12.7$ Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.60-1.31 (m, 4H), 1.08 (s, 9H), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 172.1, 143.1, 135.4, 133.4, 129.5, 127.5, 112.5, 73.7, 64.9, 62.9, 58.5, 54.8, 42.6, 42.0, 35.5, 31.8, 28.8, 26.8, 22.4, 21.6, 19.1, 13.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2960 (br), 1640 (s), 1428, 1106 (s), 702; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 520.3; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{NO}_3\text{Si}$ calculée 520.3247, trouvée 520.3261.

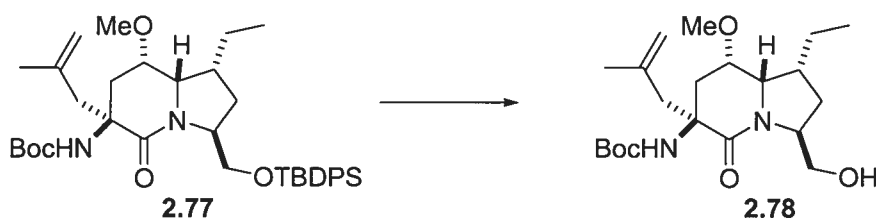


(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-azido-3-(tert-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthallyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.76). Dans une solution du produit mono-alkylé **2.75** (90 mg, 0.17 mmol) dans le THF (0.65 mL) a été ajouté à -78 °C une solution 1.7 M de $t\text{-BuLi}$ dans le pentane (0.12 mL, 0.18 mmol) suivie de l'azidure de trisyle (60 mg, 0.19 mmol) dans le THF (0.2 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (7 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'azidure **2.76** (66 mg, 72%); $[\alpha]_D -65.4$ (c 1.2, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.70-7.62 (m, 4H), 7.46-7.35 (m, 6H), 4.97 (s, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.42 (s, 1H), 3.84 (m, 2H), 3.74 (dd, $J = 3.1, 10.2$ Hz, 1H), 3.48 (s, 1H), 3.19 (s, 3H), 2.87 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 2.60 (s, 1H), 2.33 (dd, $J = 2.0, 15.4$ Hz, 1H), 2.01 (dd, J

= 7.3, 12.0 Hz, 1H), 1.85 (s, 3H), 1.62 (m, 3H), 1.33 (m, 1H), 1.08 (s, 9H), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 167.1, 141.3, 135.4, 133.4, 129.5, 127.6, 115.8, 74.4, 69.4, 62.2, 61.6, 58.8, 55.0, 43.1, 42.4, 34.1, 32.2, 26.7, 23.1, 22.2, 19.1, 13.1; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2933 (br), 2099 (s), 1654 (s), 1428, 1107 (s), 702; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 561.3; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_3\text{Si}$ calculée 561.3261, trouvée 561.3250.

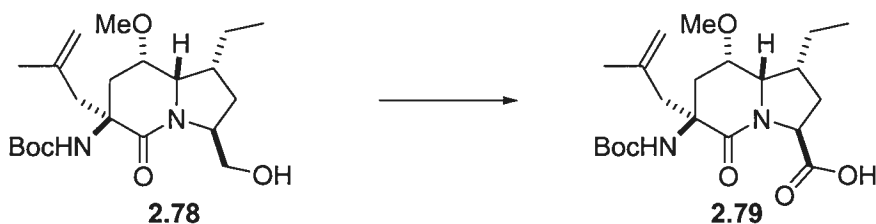


(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-*N*-tert-butyloxycarbonylamino-3-(tert-butyl-diphényl-silyloxyméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-6-(2-méthallyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.77). Dans une solution de l'azidure **2.76** (280 mg, 0.50 mmol) dans le MeOH (2.5 mL) ont été ajoutés Et_3N (0.21 mL, 1.50 mmol) et propane-1,3-dithiol (0.15 mL, 1.50 mmol). Après avoir agité la solution pour 2 jours, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu a été utilisé sans purification. Dans une solution de l'amine brute dans le CH_3CN (1.3 mL), ont été ajoutés Et_3N (0.14 mL, 1.00 mmol) et Boc_2O (326 mg, 1.50 mmol). Après avoir agité pendant une nuit, la solution a été diluée avec H_2O et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner le carbamate **2.77** (211 mg, 67%); $[\alpha]_{\text{D}} -34.5$ (c 0.73, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.66 (m, 4H), 7.38 (m, 6H), 5.02 (s, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.86 (dd, $J = 3.6, 9.7$ Hz, 1H), 3.60 (s, 1H), 3.46 (s, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.76 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 2.54 (d, $J = 14.8$ Hz, 2H), 2.35 (br, 1H), 2.18 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 2.10 (m, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.48 (m, 3H), 1.34 (s, 9H), 1.08 (s, 9H), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 170.4, 155.3, 143.1, 136.1, 136.0, 134.2, 129.9, 128.0, 116.2, 75.9, 63.4, 61.7, 59.9, 57.2, 55.8, 46.2, 42.2, 31.8, 28.7, 27.3, 25.0, 22.5, 19.7, 13.8; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3282, 2963 (br), 1714, 1689, 1653, 1472, 1428, 1391, 1364, 1112 (s), 702; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 634.4; SMHR pour $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ calculée 634.3802, trouvée 634.3810.



(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-6-*N*-*tert*-butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.78).

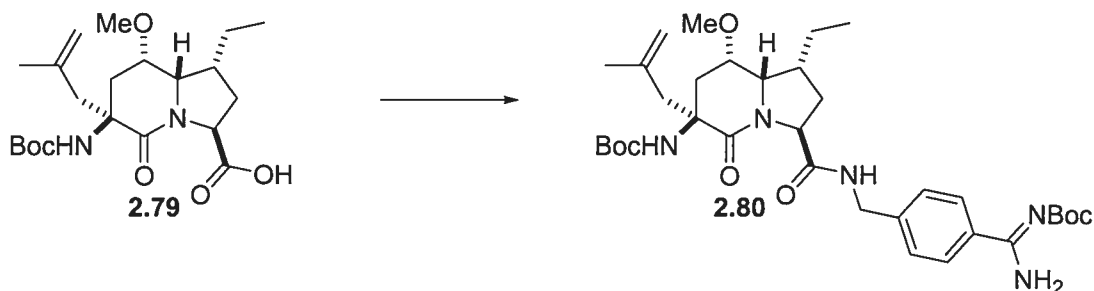
Dans une solution du carbamate **2.77** (200 mg, 0.32 mmol) dans le THF (6.5 mL) a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.63 mL, 0.63 mmol). Après avoir agité la solution pour 2h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 35 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 40:60) pour donner l'alcool primaire **2.78** (122 mg, 98%); [α]_D -43.4 (*c* 1.55, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.19 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 4.04 (m, 2H), 3.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.68 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 2.53 (m, 2H), 2.32 (m, 1H), 2.06 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 1.77 (s, 4H), 1.58 (m, 2H), 1.35 (s, 10H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.4, 155.7, 141.5, 116.5, 80.5, 75.7, 65.3, 62.8, 57.1, 56.1, 54.1, 46.1, 42.8, 33.5, 32.4, 28.7, 25.1, 22.8, 13.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3287, 2964 (br), 2876, 1695, 1635, 1456, 1366, 1170, 1090, 756; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 396.3; SMHR pour C₂₁H₃₆N₂O₅ calculée 396.26242, trouvée 396.26183.



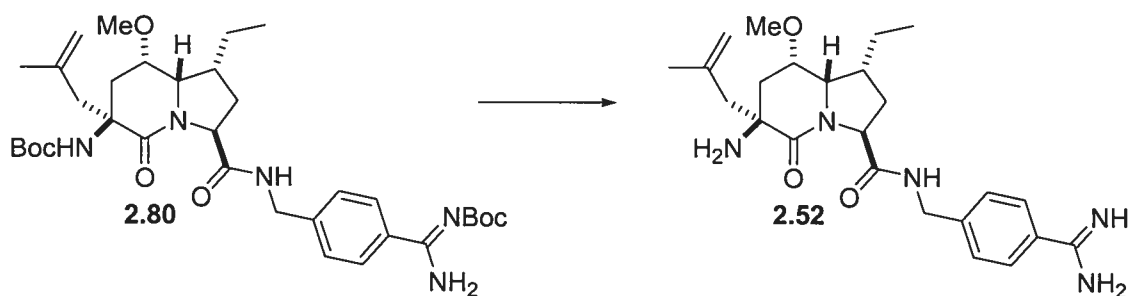
(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-acide-6-*N*-*tert*-butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthalyl-allyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.79).

Dans une solution de l'alcool primaire **2.78** (108 mg, 0.27 mmol) dans le DMF humide (7.0 mL) a été ajouté PDC (1.03 g, 2.73 mmol). Après avoir agité la solution pendant la

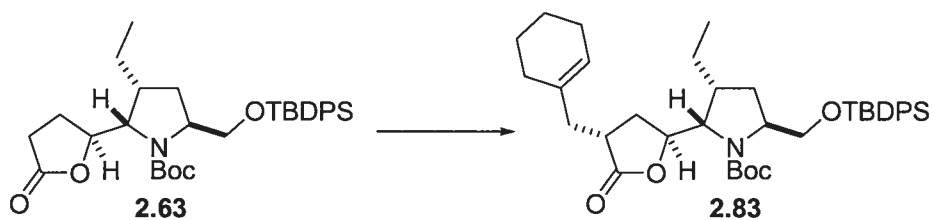
nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut **2.79** (110 mg, 99%).



(1R,3S,6S,8S,8aS)-6-*N*-tert-butyloxycarbonylamino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthylallyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-*N*-Boc-carbamimidoyl-benzamide) (2.80). Dans une solution de l'acide **2.79** (110 mg, 0.27 mmol) dans le DMF (7.0 mL) à 0 °C, ont été ajoutés EDC (63 mg, 0.33 mmol), HOBT (44 mg, 0.33 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.09 mL, 0.55 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Boc aminométhyl benzamidine (136 mg, 0.55 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (8 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 60:40) pour donner l'amide **2.80** (106 mg, 61%); $[\alpha]_D -48.9$ (*c* 1.2, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.92 (m, 1H), 7.77 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 5.35 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.51 (dd, *J* = 6.6, 15.9 Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 5.9, 15.9 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.50 (s, 1H), 3.23 (s, 3H), 2.72 (m, 2H), 2.48 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 2.40 (dd, *J* = 6.7, 11.7 Hz, 1H), 2.10 (m, 1H), 1.84 (d, *J* = 14.6 Hz, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.54 (m, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.18 (s, 9H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171.7, 170.9, 155.8, 143.6, 141.1, 133.8, 127.9, 127.3, 116.9, 80.8, 75.2, 61.9, 61.4, 60.8, 56.4, 56.0, 46.2, 43.0, 42.7, 34.5, 33.9, 28.6, 28.5, 25.2, 22.3, 21.4, 14.6, 13.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3414 (br), 1654 (s), 1280, 1167, 751; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 642; SMHR pour C₃₄H₅₂N₅O₇ calculée 642.3867, trouvée 642.3838.



(1*R*,3*S*,6*S*,8*S*,8*aS*)-6-amino-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-(2-méthallyl-allyl)-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.52). Une solution de l'amide **2.80** (11 mg, 0.02 mmol) dans l'acide formique 98% (0.5 mL) a été agitée pendant la nuit, puis concentrée sous pression réduite pour donner l'analogue isobutényle **2.52** (7.5 mg, 99%); $[\alpha]_D -86.4$ (c 1.1, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.06 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.70 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.11 (m, 1H), 3.74 (s, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.87 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.75 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.61 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 1.87 (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.72 (m, 1H), 1.49 (m, 1H), 1.27 (m, 1H), 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 173.2, 168.4, 167.3, 145.8, 140.3, 128.1, 128.0, 127.4, 117.2, 74.1, 63.2, 61.3, 56.3, 55.4, 46.2, 43.0, 42.6, 34.2, 33.1, 23.1, 21.8, 12.3; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3276 (br), 2965, 1589 (s), 1351, 757; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 442.2; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_3$ calculée 442.2818, trouvée 442.2805.



(2*S*,3*R*,5*S*)-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2*S*,4*R*)-(4-cyclohex-1-énylméthyl)-5-oxo-tétrahydro-furan-2-yl]-*N-tert*-butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.83). Dans une solution de la lactone **2.63** (1.5 g, 2.72 mmol) dans le THF (13.6 mL) à -78 °C, a été ajouté une solution 1.0 M de LiHMDS dans le THF (2.99 mL, 2.99 mmol) suivie du bromure de cyclohexényleméthyle (572 mg, 3.27 mmol) après 30 min. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de

NaHCO₃ (25 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner la lactone mono-alkylée **2.83** (1.3 g, 72%); [α]_D -22.2 (*c* 1.1, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 4H), 7.41 (m, 6H), 5.43 (s, 1H), 4.55 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.08 (dd, *J* = 2.1, 7.5 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 4.3, 12.1 Hz, 2H), 3.58 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 2.73 (m, 2H), 2.53 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.04-1.84 (m, 5H), 1.61-1.50 (m, 7H), 1.42 (s, 2H), 1.24 (s, 9H), 1.06 (s, 9H), 0.98 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 180.5, 155.8, 136.0, 134.9, 133.8, 130.1, 128.1, 124.5, 123.9, 80.4, 64.8, 63.8, 62.4, 60.8, 58.9, 58.7, 41.5, 40.3, 37.6, 33.6, 32.4, 28.6, 28.4, 25.6, 32.1, 22.9, 19.6, 13.4; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2932 (br), 1774 (s), 1692 (s), 1391 (s), 1171, 1113 (s), 742, 702; SM (*m/z*) [M^+ +1]: 646.5; SMHR pour C₃₉H₅₆NO₅Si calculée 646.3928, trouvée 646.3954.

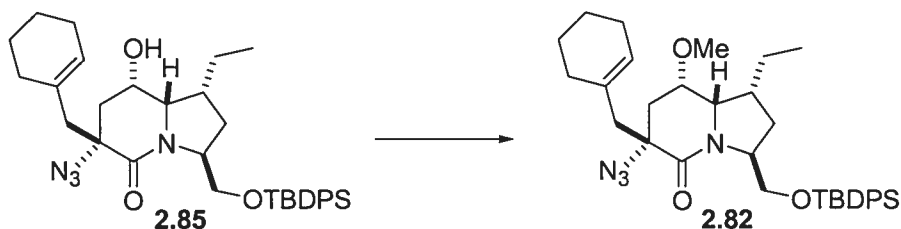


(2*S*,3*R*,5*S*)-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-éthyl-2-[(2*S*,4*R*)-(4-azido-4-cyclohex-1-énylméthyl)-5-oxo-tétrahydro-furan-2-yl]-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-pyrrolidin-2-one (2.84). Dans une solution de la lactone mono-alkylée **2.83** (1.05 g, 1.63 mmol) dans le THF (8.2 mL) a été ajouté à -78 °C une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (1.20 mL, 1.80 mmol) suivie de l'azidure de trisyle (608 mg, 1.96 mmol) dans le THF (1.5 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 50 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 3:97) pour donner l'azidure **2.84** (870 mg, 78%); [α]_D -14.4 (*c* 0.9, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.64 (m, 4H), 7.42 (m, 6H), 5.62 (s, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.91 (m, 2H), 3.64 (m, 1H), 2.84

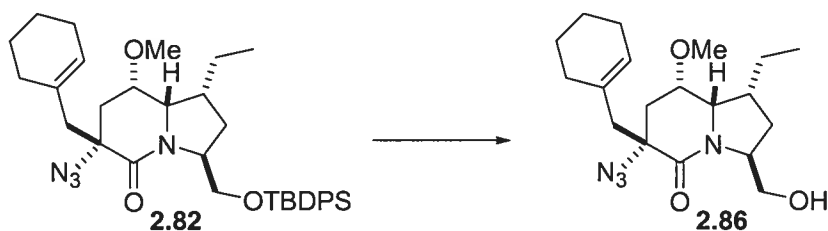
(m, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.02-1.86 (m, 5H), 1.64-1.48 (m, 7H), 1.44 (m, 2H), 1.26 (s, 9H), 1.07 (s, 9H), 0.98 (t, $J = 5.7$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 174.4, 155.8, 136.0, 135.9, 133.9, 131.7, 130.1, 128.1, 128.0, 80.4, 78.5, 66.7, 64.8, 60.3, 59.0, 42.1, 41.5, 38.1, 29.6, 28.8, 28.6, 27.3, 25.8, 23.2, 22.8, 22.3, 19.6, 13.4; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932 (br), 2110 (s), 1780 (s), 1696 (s), 1392, 1113 (s), 702; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 687.4; SMHR pour $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_5\text{Si}$ calculée 687.3942, trouvée 687.3968.



(1*R*,3*S*,6*R*,8*S*,8*aS*)-6-azido-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-énylméthyl)-1-éthyl-8-hydroxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.85). Dans une solution de l'azidure **2.84** (194 mg, 0.28 mmol) dans le CH_2Cl_2 (1.0 mL), a été ajouté *B*-bromocatécholborane (73 mg, 0.37 mmol) par portions. La solution a été agitée pendant 1.5h, neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (10 mL) puis extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 et concentrées sous pression réduite pour donner l'amine brute qui a été utilisée sans purification. L'amine brute a été dissoute dans le toluène (20.5 mL) et chauffée à reflux pendant toute la nuit. Après avoir évaporé la solution, le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'indolizidinone **2.85** (106 mg, 64%); $[\alpha]_D 0$ (c 0.7, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.65 (m, 4H), 7.41 (m, 6H), 5.52 (s, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.48 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.52 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 2.01 (m, 7H), 1.54 (m, 7H), 1.08 (s, 9H), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 169.1, 136.0, 135.9, 133.8, 133.7, 130.2, 128.1, 65.2, 64.7, 64.5, 62.4, 59.6, 45.5, 43.0, 38.9, 32.6, 29.5, 27.3, 25.9, 23.3, 23.0, 22.5, 19.6, 13.6; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932 (br), 2111 (s), 1654 (s), 1112; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 587.4; SMHR pour $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_3\text{Si}$ calculée 587.3417, trouvée 587.3428.

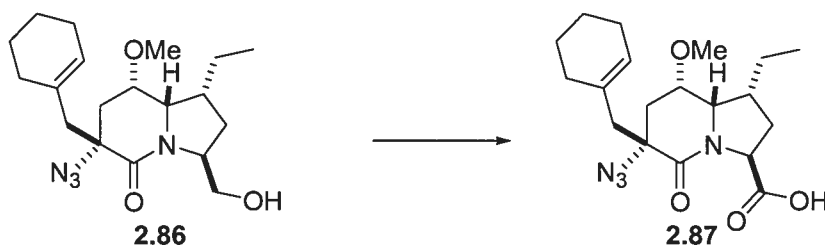


(1R,3S,6R,8S,8aS)-6-azido-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.82). Dans une solution de l'alcool secondaire **2.85** (185 mg, 0.32 mmol) dans le THF (2.0 mL), a été ajouté KH (75 mg, 0.64 mmol) suivi de Me₂SO₄ (0.09 mL, 0.95 mmol). Après avoir agité 2h, la solution a été neutralisée avec H₂O (10 mL) et extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'éther méthylique **2.82** (182 mg, 94%); $[\alpha]_D +21.2$ (*c* 0.5, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.65 (m, 4H), 7.42 (m, 6H), 5.51 (s, 1H), 4.57 (m, 1H), 3.70 (m, 2H), 3.46 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.48 (m, 2H), 2.06 (m, 5H), 1.56 (m, 7H), 1.28 (m, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170.6, 136.0, 133.8, 133.1, 130.1, 128.1, 73.5, 64.9, 63.7, 62.8, 59.5, 55.5, 47.4, 43.1, 34.6, 32.3, 30.1, 29.6, 27.3, 26.0, 23.3, 22.7, 22.5, 19.6, 13.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2929 (br), 2107 (s), 1649, 1106, 701; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 601.4; SMHR pour C₃₅H₄₉N₄O₃Si calculée 601.3574, trouvée 601.3585.

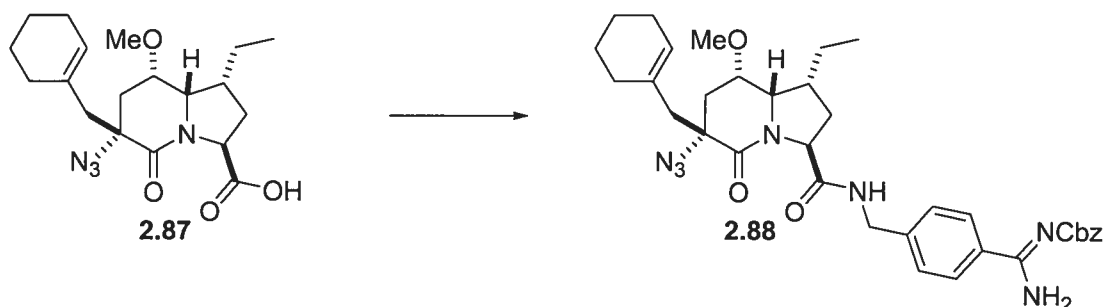


(1R,3S,6R,8S,8aS)-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-hexahydro-indolizin-5-one (2.86). Dans une solution de l'éther méthylique **2.82** (182 mg, 0.30 mmol) dans le CH₃CN (2.0 mL) a été ajouté une solution HF dans la pyridine (0.1 mL). Après avoir agité la solution pour 1h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées,

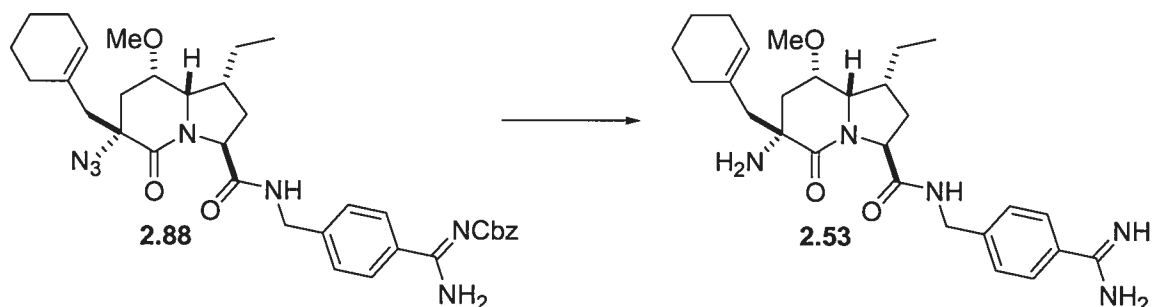
séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool primaire **2.86** (81 mg, 75%); [α]_D +44.4 (*c* 0.9, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5.54 (s, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.67-3.49 (m, 5H), 3.25 (s, 3H), 2.57 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.45 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.12 (m, 1H), 2.08 (m, 6H), 1.88-1.53 (m, 8H), 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.5, 132.8, 128.7, 77.0, 73.2, 66.4, 63.5, 62.7, 61.4, 55.6, 47.1, 42.9, 34.4, 32.0, 29.7, 26.0, 23.3, 22.5, 13.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2932 (br), 2106 (s), 1636 (s), 1438, 1096; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 362.3; SMHR pour C₁₉H₃₀N₄O₃ calculée 362.23179, trouvée 362.23096.



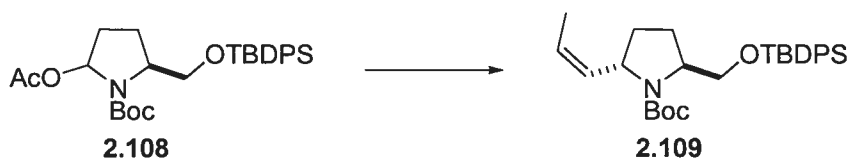
(1*R*,3*S*,6*R*,8*S*,8*aS*)-acide-6-azido-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (2.87). Dans une solution de l'alcool primaire **2.86** (47 mg, 0.13 mmol) dans le CH₂Cl₂ (0.6 mL) a été ajouté le periodinane de Dess-Martin (71 mg, 0.17 mmol). Après avoir agité la suspension pendant 15 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution saturée 1:1 de NaHCO₃ et Na₂S₂O₈ (3 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Dans une solution de l'aldéhyde brut dans le *t*-BuOH (1.3 mL) a été ajouté le 2-méthyl-2-butène (0.65 mL, 1.3 mmol) suivi d'une solution de NaH₂PO₄ (99 mg, 0.71 mmol) et de NaO₂Cl (58 mg, 0.65 mmol) dans H₂O (1.3 mL). Après avoir agité pendant 20 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution 10 % HCl (5 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut **2.87** (34 mg, 70%).



(1*R*,3*S*,6*R*,8*S*,8*aS*)-6-azido-6-(cyclohex-1-ènyleméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.88). Dans une solution de l'acide **2.87** (25 mg, 0.07 mmol) dans le DMF (1.2 mL) à 0 °C, ont été ajouté EDC (15 mg, 0.08 mmol), HOBt (11 mg, 0.08 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.023 mL, 0.13 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Cbz aminométhyl benzamidine (25 mg, 0.08 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (7 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'amide **2.88** (23 mg, 55%); $[\alpha]_D^{20}$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 9.52 (br, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.58 (m, 1H), 7.55 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.35 (m, 5H), 6.61 (br, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 4.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 6.3, 15.4 Hz, 1H), 4.31 (dd, *J* = 5.8, 15.4 Hz, 1H), 3.50 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 2.51 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.13 (m, 1H), 1.97 (m, 5H), 1.57 (m, 7H), 0.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 172.0, 171.3, 143.3, 132.5, 129.0, 128.8, 128.7, 128.4, 128.0, 73.0, 67.6, 63.6, 62.6, 61.3, 55.6, 47.1, 43.5, 43.4, 34.2, 31.2, 29.7, 25.9, 23.3, 22.4, 22.3, 13.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2933 (br), 2106 (s), 1618, 1260; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 642.3; SMHR pour C₃₅H₄₄N₇O₅ calculée 642.3404, trouvée 642.3398.

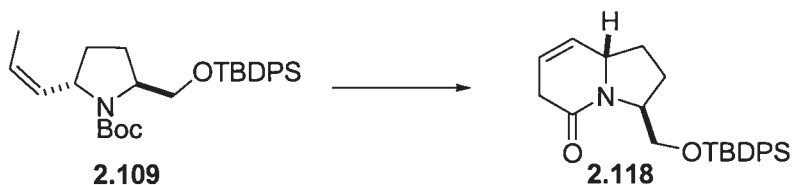


(1*R*,3*S*,6*R*,8*S*,8*aS*)-6-amino-6-(cyclohex-1-ènylméthyl)-1-éthyl-8-méthoxy-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.53). Dans une solution de l'amide **2.88** (5 mg, 0.008 mmol) dans le MeOH (1 mL), ont été ajoutés HCl (1 goutte) et palladium sur charbon (2 mg) et la suspension a été hydrogénée sous 40 psi d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner l'analogue épimérique **2.53** (3.6 mg, 99%); $[\alpha]_D +18.4$ (c 1.02, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 7.93 (s, 1H), 7.80 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 5.63 (s, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.03 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.76 (s, 1H), 3.67 (s, 3H), 2.58 (m, 2H), 2.44 (m, 2H), 2.07 (m, 1H), 2.01 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.53-1.26 (m, 5H), 1.27 (m, 3H), 1.03 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3252 (br), 1658 (s), 1493, 1083; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 482.3.



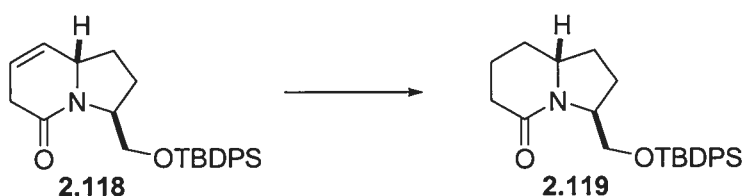
(2*S*,5*S*)-2-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-5-*cis*-propényl-pyrrolidine-1-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (2.109). Dans une suspension de $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$ (2.5 g, 12.22 mmol) dans le Et_2O (35 mL) à -40 °C, a été ajoutée une solution 0.5 M de bromure de propényle et de magnésium dans le THF (21.3 mL, 10.63 mmol). Après avoir agité la suspension pour 40 minutes, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (1.47 mL, 11.69 mmol) a été ajouté suivi d'une solution de l'acétate **2.108** (2.64 g, 5.31 mmol) dans le Et_2O (20 mL). Après avoir laissé réchauffer le mélange réactionnel jusqu'à 0 °C sur une période de 4h, la solution a été neutralisée avec un mélange aqueux 1:1 de NH_4Cl et NH_4OH et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie

éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'oléfine **2.109** (1.85 g, 70%); $[\alpha]_D -0.6$ (c 6.3, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3 , présence de 2 conformations), δ (ppm): 7.68-7.64 (m, 4H), 7.44-7.36 (m, 6H), 5.46-5.31 (m, 2H), 4.56 (m, 1H), 4.07-3.96 (m, 1.5H), 3.76 (m, 1H), 3.47 (m, 0.5H), 2.23-2.01 (m, 3H), 1.74-1.48 (m, 4H), 1.39 (s, 4.5 H), 1.30 (s, 4.5H), 1.06 (m, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , présence de 2 conformations), δ (ppm): 154.0, 153.4, 135.3, 133.5, 133.3, 133.2, 132.9, 132.5, 129.4, 129.3, 127.5, 127.4, 124.0, 122.4, 78.8, 78.6, 63.7, 63.6, 58.2, 54.6, 54.5, 31.3, 31.2, 30.1, 28.3, 28.2, 26.6, 26.1, 25.8, 19.0, 13.9, 12.8; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2963, 2859, 1694, 1388, 1113; SM (m/z) $[\text{M}^+ + 1]$: 480; SMHR pour $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{Si}$ calculée 480.2934, trouvée 480.2942.



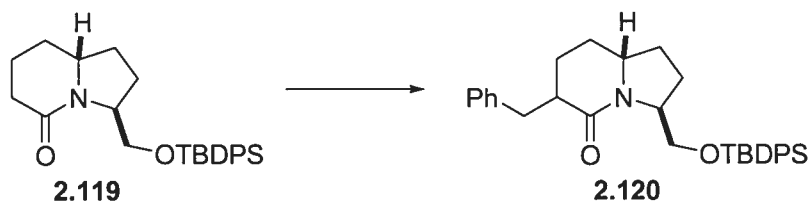
(3*S*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,3,6,8*a*-tétrahydro-1*H*-indolizin-5-one (2.118). Dans une solution du carbamate **2.109** (2.77 g, 5.78 mmol) dans le CH_2Cl_2 (35 mL) à 0 °C, a été ajouté $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ (2.01 mL, 11.57 mmol) suivi de TSMOTf (1.25 mL, 6.94 mmol). Après avoir agité pour 1.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été filtré sur gel de silice (AcOEt/Hexanes 50:50). Dans une solution de l'amine obtenue précédemment dans le CH_2Cl_2 (30 mL), ont été ajoutés EDC (1.47 g, 7.68 mmol), DMAP (937 mg, 7.68 mmol) puis l'acide vinylacétique (0.65 mL, 7.68 mmol). Après avoir agité pour 45 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été filtré sur gel de silice (AcOEt/Hexanes 20:80). Dans une solution du diène précédent dans le CH_2Cl_2 (125 mL), a été ajouté du catalyseur de Grubbs première génération **2.99** (60 mg, 0.85 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant la nuit, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner

l'indolizidinone **2.118** (1.62 g, 71%); $[\alpha]_D -94.8$ (*c* 1.93, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.66-7.62 (m, 4H), 7.43-7.34 (m, 6H), 5.80 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 5.75-5.70 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.18-4.15 (m, 1H), 3.80 (dd, *J* = 2.6, 10.2 Hz, 1H), 2.90-2.84 (m, 2H), 2.17-2.05 (m, 4H), 1.48-1.43 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 166.4, 136.0, 135.9, 134.0, 130.1, 130.0, 128.1, 128.0, 125.5, 122.4, 64.8, 60.3, 57.7, 32.9, 27.4, 25.2, 19.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3433, 2932, 2858, 1648 (s), 1428, 1112; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 406.2; SMHR pour C₂₅H₃₂NO₂Si calculée 406.2202, trouvée 406.2222.

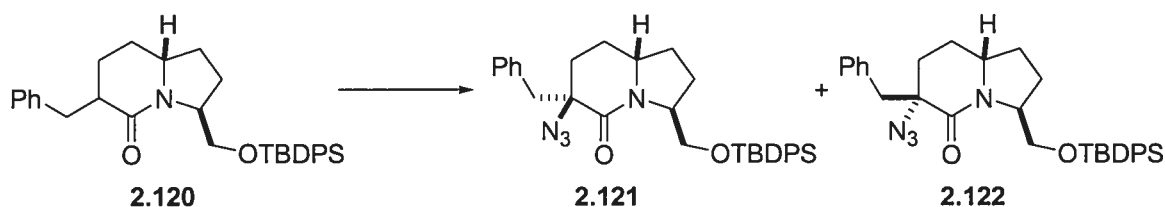


(3*S*,8*aR*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one

(2.119). Dans une solution de l'indolizidinone insaturée **2.118** (1.6 g, 3.95 mmol) dans le AcOEt (35 mL), palladium sur charbon (50 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec AcOEt puis concentrée sous pression réduite pour donner l'indolizidinone saturée **2.119** (1.54 g, 96%); $[\alpha]_D -47.6$ (*c* 1.3, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.66-7.61 (m, 4H), 7.42-7.35 (m, 6H), 4.34-4.30 (m, 1H), 4.08 (dd, *J* = 4.5, 10.0 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 2.5, 10.0 Hz, 1H), 3.54 (tt, *J* = 4.5, 11.0 Hz, 1H), 2.39 (dd, *J* = 6.3, 18.0 Hz, 1H), 2.23 (ddd, *J* = 7.0, 12.0, 18.0 Hz, 1H), 2.17-1.96 (m, 4H), 1.92-1.85 (m, 1H), 1.63 (tdd, *J* = 3.0, 6.5, 13.5 Hz, 1H), 1.43-1.31 (m, 1H), 1.25-1.15 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 168.6, 135.5, 135.4, 133.6, 133.5, 129.5, 129.4, 127.5, 64.1, 59.9, 57.8, 33.1, 29.5, 26.8, 24.6, 19.3; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3071, 2954, 1641, 1612, 1462, 1445, 1412, 1113; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 408; SMHR pour C₂₅H₃₄NO₂Si calculée 408.2359, trouvée 408.2364.



(3*S*,8*aR*)-6-benzyl-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.120). Dans une solution de l'indolizidinone **2.119** (108 mg, 0.27 mmol) dans le THF (1.4 mL) à -78°C , a été ajouté une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.17 mL, 0.29 mmol) suivie du bromure de benzyle (0.04 mL, 0.35 mmol) après 30 min. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner le produit mono-alkylé **2.120** (88 mg, 67%); $[\alpha]_{\text{D}} -3$ (*c* 1.4, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.71-7.65 (m, 4H), 7.47-7.40 (m, 6H), 7.30-7.18 (m, 5H), 4.34 (m, 1H), 4.07 (dd, $J = 4.7, 10.1$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 2.5, 10.1$ Hz, 1H), 3.59-3.52 (m, 2H), 2.61-2.47 (m, 2H), 2.11-2.03 (m, 4H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.45 (m, 2H), 1.22 (dd, $J = 2.4, 13.5$ Hz, 1H), 1.11 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 171.1, 140.7, 136.0, 134.2, 134.1, 130.1, 129.6, 128.7, 128.1, 126.5, 64.7, 60.9, 58.6, 44.3, 39.2, 33.7, 29.6, 27.4, 25.7, 19.9; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2931, 2858, 1633, 1428, 1112; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 498; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{NO}_2\text{Si}$ calculée 498.2828, trouvée 498.2806.



(3*S*,6*R*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.121) et **(3*S*,6*S*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-indolizin-5-one (2.122).** Dans une solution du produit mono-alkylé **2.120** (548 mg, 1.10 mmol) dans le THF (5.5 mL) a été ajouté à -78°C une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.71 mL, 1.21 mmol) suivie de l'azidure de

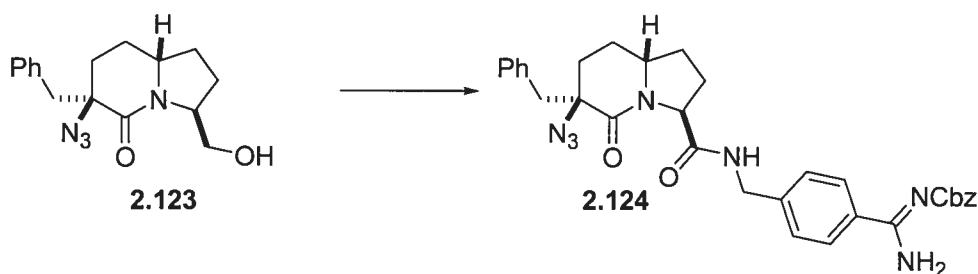
trisyle (444 mg, 1.43 mmol) dans le THF (0.75 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 6h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 15:85) pour donner le β-azidure **2.121** (89 mg, 15%) ainsi que le α-azidure **2.122** (167 mg, 28%); **β-azidure** [α]_D -1.4 (*c* 1.48, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.71-7.68 (m, 4H), 7.49-7.41 (m, 6H), 7.28-7.18 (m, 5H), 4.38 (m, 1H), 3.90 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H), 3.37 (m, 1H), 3.27 (q, *J* = 13.6 Hz, 2H), 2.12-2.01 (m, 3H), 1.87 (dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, 1H), 1.69-1.58 (m, 2H), 1.49-1.40 (m, 2H), 1.11 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 167.4, 136.0, 135.9, 134.0, 133.9, 130.8, 130.2, 128.8, 128.2, 128.1, 127.4, 65.2, 64.4, 60.9, 58.9, 42.4, 33.4, 31.7, 27.4, 25.8, 19.9; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2931, 2859, 2108, 1642, 1429, 1113; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 539; SMHR pour C₃₂H₃₉N₄O₂Si calculée 539.2842, trouvée 539.2860; **α-azidure** [α]_D -92.6 (*c* 0.95, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.71-7.66 (m, 4H), 7.47-7.42 (m, 6H), 7.41-7.26 (m, 5H), 4.31-4.27 (m, 2H), 3.69 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.30 (q, *J* = 13.8 Hz, 2H), 2.15-1.96 (m, 4H), 1.85 (dd, *J* = 3.7, 13.6 Hz, 1H), 1.60 (m, 1H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.09 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 168.8, 136.0, 134.0, 133.6, 130.6, 130.2, 130.1, 129.0, 128.2, 128.1, 127.6, 64.9, 64.0, 60.6, 59.1, 42.0, 33.6, 30.9, 27.5, 25.4, 19.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3435, 2932, 2859, 2105, 1640, 1429, 1113; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 539; SMHR pour C₃₂H₃₉N₄O₂Si calculée 539.2842, trouvée 539.2862.



(3*S*,6*R*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-3hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-5-one (2.123).

Dans une solution du β-azidure **2.121** (85 mg, 0.16 mmol) dans le THF (1.0 mL) a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.32 mL, 0.32 mmol). Après avoir agité la solution pour 1.25h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x

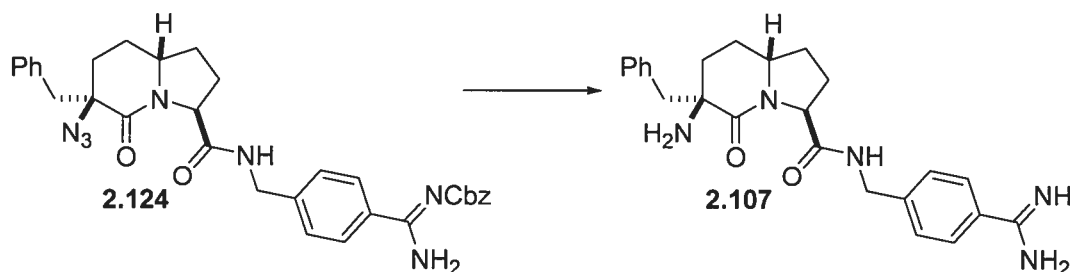
15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'alcool primaire **2.123** (42 mg, 90%); [α]_D -90.5 (*c* 1.6, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.33-7.20 (m, 5H), 4.95 (br, 1H), 4.23-4.17 (m, 1H), 3.73 (dd, *J* = 1.7, 11.8 Hz, 1H), 3.61 (dd, *J* = 7.7, 11.7 Hz, 1H), 3.50-3.42 (m, 1H), 3.32 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.15 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.14-2.09 (m, 1H), 1.99-1.92 (m, 2H), 1.85-1.79 (m, 1H), 1.57 (td, *J* = 3.2, 14.2 Hz, 1H), 1.46-1.36 (m, 1H), 1.28-1.09 (m, 1H), 0.97-0.87 (m, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171.7, 135.5, 130.5, 129.0, 127.8, 67.5, 65.0, 62.6, 60.2, 42.3, 33.0, 30.8, 26.9, 26.4; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3366, 2937, 2870, 2106, 1620, 1441, 1257; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 301; SMHR pour C₁₆H₂₁N₄O₂ calculée 301.1665, trouvée 301.1670.



(3*S*,6*R*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzamide) (2.124).

Dans une solution de l'alcool primaire **2.123** (40 mg, 0.13 mmol) dans le DMF humide (3.5 mL) a été ajouté PDC (500 mg, 1.33 mmol). Après avoir agité la solution pendant la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut. Dans une solution de l'acide brut dans le DMF (3.0 mL) à 0 °C, ont été ajoutés EDC (31 mg, 0.16 mmol), HOBT (21 mg, 0.16 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.05 mL, 0.27 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Cbz aminométhyl benzamidine (55 mg, 0.17 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (15 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes

80:20) pour donner l'amide **2.124** (41 mg, 53%); $[\alpha]_D -84.5$ (c 1.02, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.77-7.71 (m, 3H), 7.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.36-7.26 (m, 7H), 7.18 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 5.19 (s, 2H), 4.59 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 5.4, 15.6$ Hz, 1H), 3.58-3.51 (m, 1H), 3.26 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H), 3.15 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 2.29-2.21 (m, 1H), 2.16-2.02 (m, 2H), 1.94-1.91 (m, 1H), 1.86-1.82 (m, 1H), 1.61-1.54 (m, 1H), 1.27-1.17 (m, 1H), 0.99-0.90 (m, 1H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 171.3, 170.3, 168.5, 164.7, 143.2, 137.1, 135.3, 133.5, 130.5, 129.1, 128.8, 128.6, 128.4, 128.2, 127.9, 127.7, 67.6, 64.9, 60.1, 43.5, 41.9, 33.3, 30.5, 30.1, 26.1, 26.0; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3304, 2938, 2105, 1620, 1497, 1261; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 580; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_7\text{O}_4$ calculée 580.2672, trouvée 580.2685.



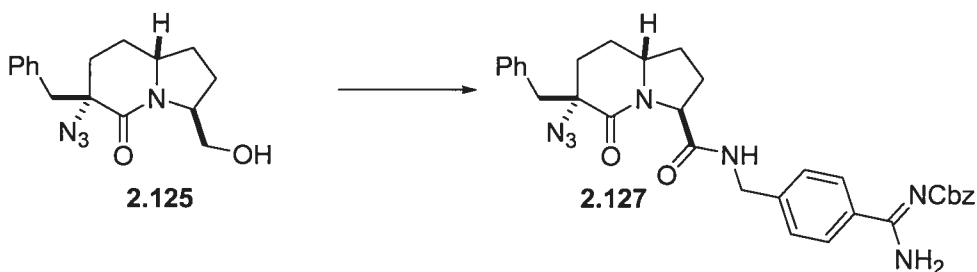
(3*S*,6*R*,8*aS*)-6-amino-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.107).

Dans une solution de l'amide **2.124** (35 mg, 0.06 mmol) dans le MeOH (2 mL), ont été ajoutés HCl (1 goutte) et palladium sur charbon (4 mg) et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner le β -amino-indolizidinone **2.107** (30 mg, 99%); $[\alpha]_D -58.1$ (c 1.51, CH_3OH); ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 9.25 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 7.37-7.21 (m, 5H), 4.60-4.43 (m, 3H), 3.77 (s, 1H), 3.50 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 3.04 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.33-2.30 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.06 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.18 (m, 1H), 0.95 (m, 1H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 173.5, 167.4, 167.3, 146.0, 143.1, 130.4, 129.2, 128.6, 128.3, 128.2, 128.1, 127.2, 60.9, 60.8, 58.7, 42.8, 42.6, 33.0, 29.8, 29.1, 25.4; IR (CH_3OH , cm^{-1}): 3276, 1647, 1540, 1493, 1319; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 420; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_2$ calculée 420.2399, trouvée 420.2379.



(3*S*,6*S*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-3hydroxyméthyl-hexahydro-indolizin-5-one (2.125).

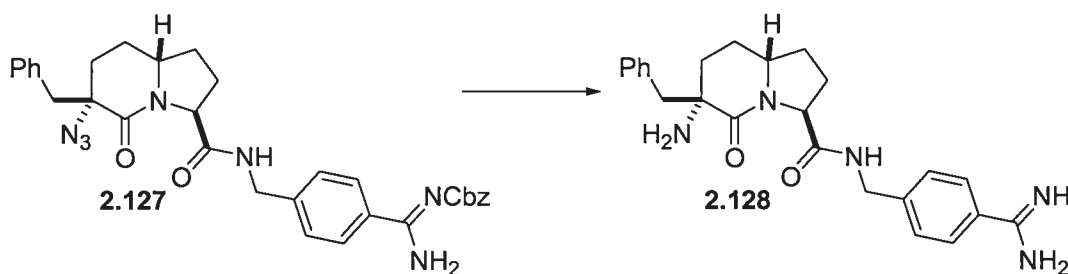
Dans une solution du α -azidure **2.122** (160 mg, 0.30 mmol) dans le THF (2.5 mL) a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.59 mL, 0.30 mmol). Après avoir agité la solution pour 1.5h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (15 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'alcool primaire **2.125** (89 mg, 99%); $[\alpha]_D^{+129.7}$ (*c* 0.83, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7.31-7.21 (m, 5H), 4.73 (br, 1H), 4.27-4.08 (m, 1H), 3.70 (dd, *J* = 1.5, 11.6 Hz, 1H), 3.54 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 3.47 (dd, *J* = 7.1, 11.6 Hz, 1H), 3.14-3.09 (m, 1H), 3.00 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 2.08-2.04 (m, 1H), 1.94-1.91 (m, 1H), 1.83 (dd, *J* = 3.3, 13.3 Hz, 1H), 1.72-1.61 (m, 2H), 1.49-1.38 (m, 1H), 1.35 (m, 2H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 169.7, 135.6, 130.8, 128.9, 127.6, 67.1, 65.2, 62.0, 60.9, 42.2, 32.7, 31.0, 26.6, 25.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3369, 2935, 2107, 1619, 1454, 1248; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 301; SMHR pour C₁₆H₂₁N₄O₂ calculée 301.1665, trouvée 301.1670.



(3*S*,6*S*,8*aS*)-6-azido-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-*N*-Cbz-

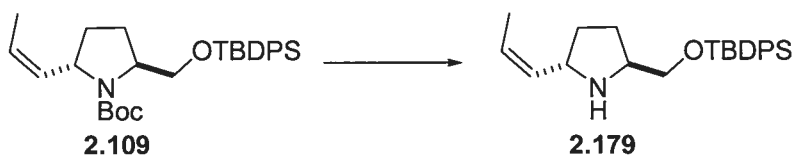
carbamimidoyl-benzamide) (2.127). Dans une solution de l'alcool primaire **2.125** (85 mg, 0.28 mmol) dans le DMF humide (7.0 mL) a été ajouté PDC (1.07 g, 2.83 mmol). Après avoir agité la solution pendant la nuit à la température ambiante, la solution a été

neutralisée avec une solution 10% HCl (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut. Dans une solution de l'acide brut dans le DMF (6.0 mL) à 0 °C, ont été ajoutés EDC (65 mg, 0.34 mmol), HOBT (46 mg, 0.34 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.11 mL, 0.62 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Cbz aminométhyl benzamidine (118 mg, 0.37 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (15 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 80:20) pour donner l'amide **2.127** (104 mg, 63%); [α]_D +9.6 (*c* 1.42, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 9.43 (br, 1H), 7.85 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.35-7.20 (m, 8H), 7.10 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.62 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.54 (dd, *J* = 6.4, 15.5 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 5.3, 15.6 Hz, 1H), 3.44-3.38 (m, 1H), 3.17 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.05 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.23-2.16 (m, 1H), 2.11-2.04 (m, 2H), 1.86-1.71 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.55-1.36 (m, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171.8, 171.6, 168.4, 164.8, 143.2, 137.1, 135.4, 133.6, 130.6, 128.9, 128.8, 128.6, 128.3, 128.2, 127.8, 127.6, 67.5, 65.0, 61.0, 60.8, 60.4, 43.4, 41.8, 33.2, 31.2, 27.1, 25.4, 21.5, 14.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3310, 2946, 2108, 1621, 1497, 1262; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 580; SMHR pour C₃₂H₃₄N₇O₄ calculée 580.2672, trouvée 580.2690.



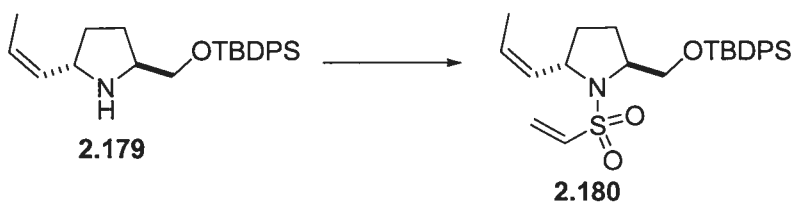
(3*S*,6*S*,8*aS*)-6-amino-6-benzyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-(4-carbamimidoyl-benzamide) (2.128). Dans une solution de l'amide **2.127** (63 mg, 0.11 mmol) dans le MeOH (3 mL), ont été ajoutés HCl (1 goutte) et palladium sur charbon (10 mg) et la suspension a été hydrogénée sous un atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant

la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 15 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner le α -amino-indolizidinone **2.128** (50 mg, 99%); $[\alpha]_D +20.2$ (*c* 1.25, CH₃OH); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 9.77 (br, 2H), 9.26 (br, 2H), 8.20 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H), 7.66 (m, 5H), 4.85-4.70 (m, 3H), 3.76-3.72 (m, 1H), 3.59 (d, *J* = 18.9 Hz, 1H), 3.22 (d, *J* = 18.9 Hz, 1H), 2.52-2.46 (m, 1H), 2.41-2.06 (m, 4H), 1.98-1.87 (m, 1H), 1.65 (m, 2H); ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD), δ (ppm): 163.1, 157.9, 157.8, 143.0, 138.3, 126.8, 124.3, 122.5, 122.0, 121.8, 121.4, 120.9, 120.8, 60.2, 59.8, 57.7, 42.9, 33.9, 31.1, 30.1, 26.8; IR (CH₃OH, cm⁻¹): 3268, 1654, 1540, 1496, 1319; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 420; SMHR pour C₂₄H₃₀N₅O₂ calculée 420.2399, trouvée 420.2388.

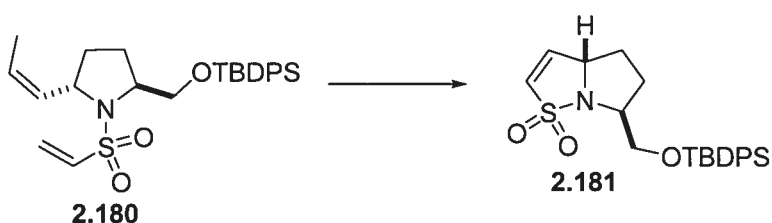


(2*S*,5*S*)-2-(*tert*-butyl-diphénylsilyloxyméthyl)-5-*cis*-propényl-pyrrolidine (2.179).

Dans une solution du carbamate **2.109** (1.40 g, 2.92 mmol) dans le CH₂Cl₂ (20 mL) à 0 °C, a été ajouté *i*-Pr₂NEt (1.02 mL, 5.85 mmol) suivi de TSMOTf (0.63 mL, 3.51 mmol). Après avoir agité pour 1.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'amine **2.179** (1.04 g, 94%); $[\alpha]_D +12.1$ (*c* 2.7, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.67-7.61 (m, 4H), 7.45-7.36 (m, 6H), 5.66-5.61 (m, 1H), 5.52-5.47 (m, 1H), 4.39-4.33 (m, 1H), 3.90-3.77 (m, 2H), 3.68-3.64 (m, 1H), 2.15-2.10 (m, 2H), 1.82-1.68 (m, 2H), 1.64 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.05 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 135.6, 135.5, 132.7, 132.6, 129.8, 129.3, 127.7, 127.3, 64.3, 59.3, 55.7, 31.6, 26.8, 26.6, 19.0, 13.0; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2959, 2860, 1683, 1429, 1202, 1135, 1114; SMHR pour C₂₄H₃₃NOSi calculée 379.2331, trouvée 379.2334.

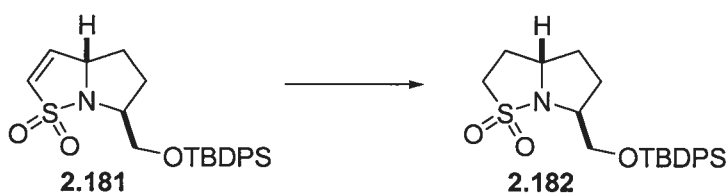


(2*S*,5*S*)-2-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1-éthènesulfonyl-5-*cis*-propényl-pyrrolidine (2.180). Dans une solution du chlorure d'éthanechlorosulfonyle (0.30 mL, 2.90 mmol) dans le CH₂Cl₂ (7.3 mL) à -78 °C, a été ajouté Et₃N (0.40 mL, 2.90 mmol). Après avoir agité la solution et ramené le mélange réactionnel à 0 °C pendant une période de 1.5h, une solution de l'amine **2.179** (1.04 g, 2.74 mmol) dans le CH₂Cl₂ (2.0 mL) a été ajoutée puis agitée pour la nuit à la température ambiante. La solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 40:60) pour donner le diène **2.180** (607 mg, 47%); [α]_D +50.1 (*c* 0.5, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.71-7.68 (m, 4H), 7.47-7.39 (m, 6H), 6.42 (dd, *J* = 9.9, 16.6 Hz, 1H), 6.03 (dd, *J* = 4.4, 16.6 Hz, 1H), 5.76 (dd, *J* = 5.3, 9.9 Hz, 1H), 5.62-5.58 (m, 1H), 5.35 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.70 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.03-4.00 (m, 1H), 3.68-3.59 (m, 2H), 2.23-2.15 (m, 2H), 2.09-2.04 (m, 1H), 1.75-1.71 (m, 3H), 1.63-1.54 (m, 1H), 1.12 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 136.5, 136.1, 136.0, 134.0, 133.9, 130.1, 130.0, 128.1, 127.4, 125.9, 66.0, 60.5, 57.3, 31.0, 27.4, 27.2, 19.7, 13.4; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2933, 2858, 1473, 1428, 1348, 1151, 1113; SMHR pour C₂₆H₃₆NO₃SSi calculée 470.2185, trouvée 470.2164.



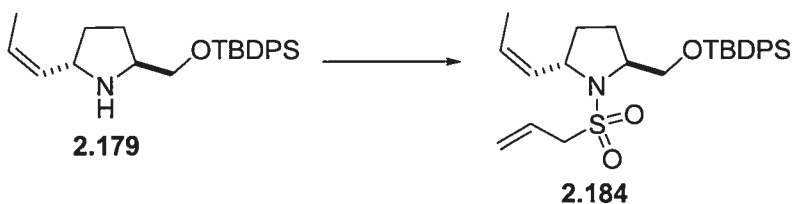
(6*S*,3*aS*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3*a*,4,5,6-tétrahydro-pyrrolo[1,2-*b*]isothiazole 1,1-dioxide (2.181). Dans une solution du diène **2.180** (100 mg, 0.21 mmol) dans le toluène (20 mL), a été ajouté du catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (10 mg, 0.28 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 2

jours, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner la sultame insaturée **2.181** (72 mg, 79%); $[\alpha]_D -6.2$ (c 0.13, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.73-7.70 (m, 4H), 7.47-7.39 (m, 6H), 6.77 (dd, $J = 1.9, 6.4$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J = 2.6, 6.5$ Hz, 1H), 4.53 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.15 (m, 1H), 3.78 (dd, $J = 5.3, 10.3$ Hz, 1H), 3.67 (dd, $J = 6.1, 10.3$ Hz, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.10 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 139.8, 139.2, 136.1, 136.0, 133.7, 133.6, 128.2, 127.9, 67.9, 67.0, 61.7, 30.9, 30.1, 27.2, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2931, 2858, 1306, 1155, 1113; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 428; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{NO}_3\text{SSi}$ calculée 428.1716, trouvée 428.1718.

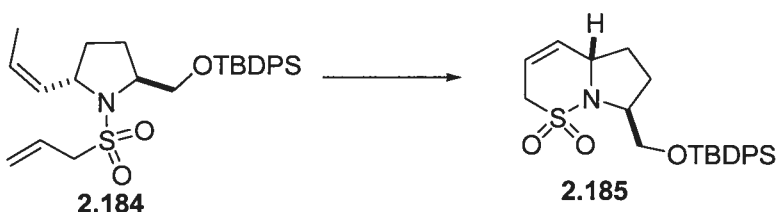


(6*S*,3*aS*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2-

***b*]isothiazole 1,1-dioxide (2.182).** Dans une solution de la sultame insaturée **2.181** (42 mg, 0.098 mmol) dans le AcOEt (1 mL), palladium sur charbon (5 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec AcOEt puis concentrée sous pression réduite pour donner la sultame saturée **2.182** (42 mg, 99%); $[\alpha]_D -34.6$ (c 1.05, CHCl_3). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm): 7.71-7.68 (m, 4H), 7.43-7.37 (m, 6H), 4.02 (dd, $J = 5.0, 6.6$ Hz, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.78 (dd, $J = 4.7, 10.2$ Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 6.6, 10.2$ Hz, 1H), 3.16 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.13-2.07 (m, 3H), 1.88 (m, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.08 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 136.1, 136.0, 133.9, 133.8, 130.1, 128.1, 67.3, 62.8, 62.6, 46.0, 32.3, 29.0, 27.2, 26.7, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2931, 2857, 1333, 1156, 1112; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{NO}_3\text{SSi}$ calculée 430.18722, trouvée 430.18540.



(2*S*,5*S*)-1-(prop-2-ène-1-sulfonyl)-2-(*tert*-butyl-diphénylsilanyloxyméthyl)-5-*cis*-propényl-pyrrolidine (2.184). Dans une solution de l'amine **2.179** (132 mg, 0.35 mmol) dans le CH₂Cl₂ (4 mL) à 0 °C, ont été ajouté Et₃N (0.049 mL, 0.35 mmol) et une solution de chlorure de propènesulfonyle (79 mg, 0.59 mmol) dans le CH₂Cl₂ (2 mL). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner le diène **2.184** (107 mg, 63%); [α]_D -6.5 (*c* 2.6, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.69-7.66 (m, 4H), 7.46-7.36 (m, 6H), 5.94-5.83 (m, 1H), 5.69-5.62 (m, 1H), 5.42-5.31 (m, 3H), 4.69-4.64 (m, 1H), 4.01 (dd, *J* = 3.6, 10.0 Hz, 1H), 3.89-3.84 (m, 1H), 3.76-3.63 (m, 2H), 3.58-3.54 (m, 1H), 2.17-2.01 (m, 3H), 1.75 (dd, *J* = 1.7, 6.9 Hz, 3H), 1.56-1.51 (m, 1H), 1.09 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 135.6, 135.5, 133.5, 133.4, 129.6, 129.4, 127.6, 127.5, 126.5, 122.7, 65.1, 61.6, 58.2, 56.1, 30.4, 26.9, 26.4, 19.2, 12.9; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2959, 1344, 1145, 1113; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 484; SMHR pour C₂₇H₃₈NO₃SSi calculée 484.2342, trouvée 484.2353.

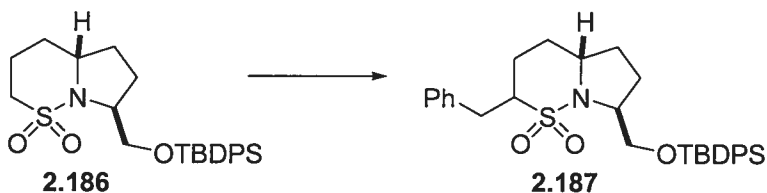


(7*S*,4*aS*)-7-(*tert*-butyl-diphénylsilanyloxyméthyl)-4*a*,5,6,7-tétrahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.185). Dans une solution du diène **2.184** (90 mg, 0.19 mmol) dans le CH₂Cl₂ (19 mL), a été ajouté du catalyseur de Grubbs première génération **2.99** (5 mg, 0.006 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 16h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner la sultame insaturée

2.185 (78 mg, 93%); $[\alpha]_D -46.4$ (*c* 3.5, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.69-7.63 (m, 6H), 7.46-7.37 (m, 4H), 5.79-5.74 (m, 1H), 5.66-5.63 (m, 1H), 4.58-4.57 (m, 1H), 3.84-3.46 (m, 5H), 2.18-1.93 (m, 3H), 1.80-1.75 (m, 1H), 1.08 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 135.4, 133.8, 129.6, 129.4, 127.6, 120.2, 66.6, 63.2, 61.5, 42.3, 29.3, 26.8, 25.6, 19.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932, 2858, 1347, 1157, 1112; SM (*m/z*) [$\text{M}^+ + 1$]: 442; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{NO}_3\text{SSi}$ calculée 442.1872, trouvée 442.18885.

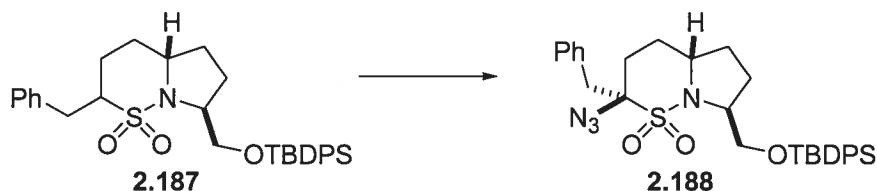


(7*S*,4*aS*)-7-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-2*H*-pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.186). Dans une solution de la sultame insaturée **2.185** (61 mg, 0.14 mmol) dans le MeOH (10 mL), palladium sur charbon (5 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant 2h, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH puis concentrée sous pression réduite pour donner la sultame saturée **2.186** (60 mg, 97%); $[\alpha]_D -28.9$ (*c* 2.95, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.70-7.65 (m, 4H), 7.44-7.36 (m, 6H), 3.99-3.94 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 2H), 3.59-3.54 (m, 1H), 3.07 (dt, $J = 3.4, 13.2$ Hz, 1H), 2.75 (td, $J = 3.9, 13.2$ Hz, 1H), 2.33-2.22 (m, 1H), 2.16-2.05 (m, 4H), 1.64-1.56 (m, 2H), 1.35-1.23 (m, 1H), 1.08 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 135.6, 135.5, 133.5, 133.4, 129.6, 127.6, 66.9, 61.1, 46.7, 30.2, 27.6, 26.8, 25.6, 19.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2933, 2858, 1333, 1146, 1113; SM (*m/z*) [$\text{M}^+ + 1$]: 444; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{NO}_3\text{SSi}$ calculée 444.2029, trouvée 444.2036.



(7*S*,4*aS*)-2-benzyl-7-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.187). Dans une solution de la sultame saturée **2.186** (279 mg, 0.63 mmol) dans le THF (3.2 mL) à -78 °C, a été ajoutée une solution 1.7 M de *t*-

BuLi dans le pentane (0.41 mL, 0.69 mmol) suivie du bromure de benzyle (0.09 mL, 0.82 mmol) après 45 minutes. Après avoir agité pour 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 30 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner le produit mono-alkylé **2.187** (291 mg, 87%); [α]_D -53.6 (*c* 0.97, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.74 (m, 4H), 7.44 (m, 6H), 7.35 (m, 2H), 7.28 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 3.97-3.90 (m, 3H), 3.62 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 2.6, 13.4 Hz, 1H), 2.91 (m, 1H), 2.68 (t, *J* = 13.0 Hz, 1H), 2.13 (m, 3H), 1.94 (m, 2H), 1.57 (m, 2H), 1.30 (m, 1H), 1.12 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 137.3, 136.1, 136.0, 133.8, 130.1, 129.9, 129.1, 128.2, 127.3, 67.4, 61.5, 61.4, 59.1, 34.4, 30.6, 29.6, 28.4, 27.4, 26.2; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2932, 1472, 1324, 1205, 1149, 1113, 1031, 760, 701; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 533.0; SMHR pour C₃₁H₃₉NO₃SSi calculée 533.2420, trouvée 533.2418.

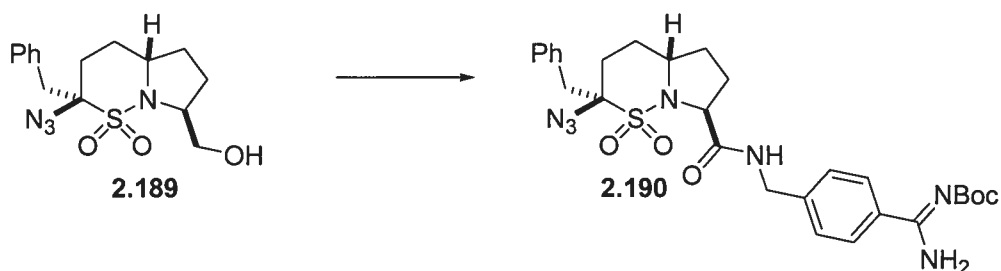


(2*S*,4*aS*,7*S*)-2-azido-2-benzyl-7-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-hexahydro-pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine 1,1-dioxide (2.188). Dans une solution du produit mono-alkylé **2.187** (500 mg, 0.94 mmol) dans le THF (4.7 mL) a été ajouté à -78 °C une solution 1.7 M de *t*-BuLi dans le pentane (0.72 mL, 1.22 mmol) suivie de l'azidure de trisyle (436 mg, 1.41 mmol) dans le THF (0.5 mL) après 30 minutes. Après avoir agité pour 6h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (15 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 60 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (Hexanes/CH₂Cl₂ 40:60) pour donner l'azidure **2.188** (217 mg, 40%) qui a été recristallisé à partir du CH₂Cl₂; Pf 144 °C; [α]_D -4.5 (*c* 0.85, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.72-7.68 (m, 4H), 7.47-7.27 (m, 11H), 4.08-4.03 (m, 2H), 3.83 (dd, *J* = 3.7, 10.2 Hz, 1H), 3.61 (dd, *J* = 7.6, 10.1 Hz, 1H), 3.22 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 2.91 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 2.35-2.17 (m, 3H), 1.90-1.84

(m, 2H), 1.71-1.59 (m, 2H), 1.33-1.26 (m, 1H), 1.11 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 136.1, 136.0, 133.7, 130.9, 130.2, 129.0, 128.2, 128.1, 79.1, 67.0, 63.5, 60.3, 36.4, 30.6, 29.5, 28.4, 27.3, 26.3, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2955, 2858, 2107, 1428, 1333, 1154, 1112; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 575.1; SMHR pour $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_3\text{SSi}$ calculée 575.2434, trouvée 575.2430.

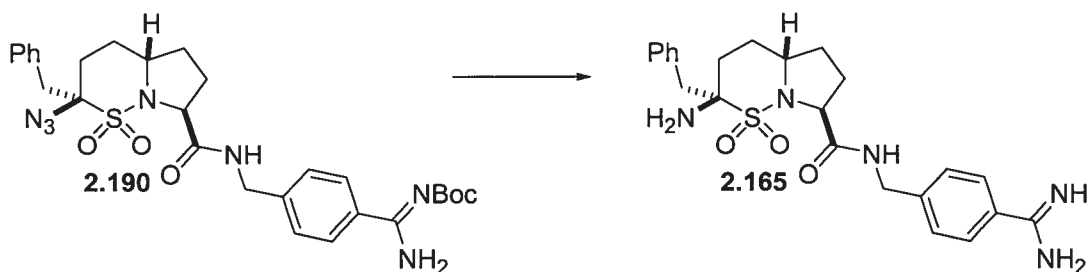


(2*S*,4*aS*,7*S*)-(2-azido-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1 λ^6 -pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazin-7-yl)-méthanol (2.189). Dans une solution de l'azidure **2.188** (190 mg, 0.33 mmol) dans le THF (3.5 mL) a été ajoutée une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.66 mL, 0.66 mmol). Après avoir agité la solution pour 1.25h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 (20 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 25 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 70:30) pour donner l'alcool primaire **2.189** (96 mg, 86%); $[\alpha]_{\text{D}} +34.2$ (c 1.22, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.35-7.27 (m, 5H), 4.05-4.02 (m, 2H), 3.73-3.64 (m, 3H), 3.21 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 2.30-2.25 (m, 3H), 2.10-2.07 (m, 1H), 1.89-1.83 (m, 2H), 1.76-1.69 (m, 2H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 133.8, 130.8, 129.0, 128.1, 79.5, 66.4, 64.1, 60.9, 36.5, 31.2, 29.5, 28.3, 26.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2959, 2104, 1454, 1329, 1150, 699; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 337.2; SMHR pour $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ calculée 337.1334, trouvée 337.1350.



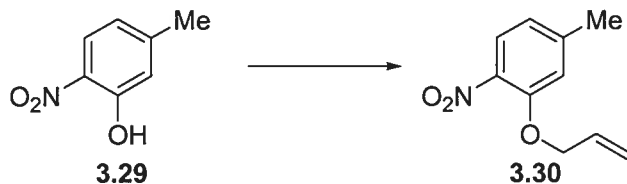
(2*S*,4*aS*,7*S*)-(4-{{(2-azido-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1 λ^6 -pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine-7-(4-*N*-Boc-carbamimidoyl-benzamide) (2.190). Dans une solution de l'alcool primaire **2.189** (45 mg, 0.13 mmol) dans le CH₂Cl₂ (1.0 mL) a été ajouté le periodinane de Dess-Martin (74 mg, 0.17 mmol). Après avoir agité la suspension pendant 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée 1:1 de NaHCO₃ et Na₂S₂O₈ (3 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Dans une solution de l'aldéhyde brut dans le *t*-BuOH (1.4 mL) a été ajouté le 2-méthyl-2-butène (0.67 mL, 1.3 mmol) suivi d'une solution de NaH₂PO₄ (101 mg, 0.73 mmol) et de NaO₂Cl (60 mg, 0.67 mmol) dans H₂O (1.4 mL). Après avoir agité pendant 45 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (2 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide brut. Dans une solution de l'acide brute dans le DMF (3.0 mL) à 0 °C, ont été ajouté EDC (30 mg, 0.16 mmol), HOBt (21 mg, 0.16 mmol), *i*-Pr₂NEt (0.05 mL, 0.26 mmol), et après 20 minutes, le *N*-Boc aminométhyl benzamidine (39 mg, 0.16 mmol). Après avoir agité la solution pour la nuit à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (7 mL) et la phase aqueuse extraite avec AcOEt (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (MeOH/AcOEt 2:98) pour donner l'amide **2.190** (49 mg, 65%); [α]_D +4.2 (*c* 0.65, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.37-7.26 (m, 7H), 7.14 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.55-4.42 (m, 3H), 4.16-4.15 (m, 1H), 3.20 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 2.85 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 2.43-2.38 (m, 2H), 2.34-2.25 (m, 1H), 2.23-2.16 (m, 1H), 1.92-1.89 (m, 2H), 1.86-1.78 (m, 1H), 1.72-1.67 (m, 1H), 1.53 (s, 9H); ¹³C RMN (100. MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.0, 141.9, 133.8, 132.7, 130.2, 128.5, 127.7, 127.0,

79.5, 79.0, 64.0, 60.3, 42.9, 35.8, 30.6, 28.7, 28.2, 28.1, 28.0, 27.3; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2108, 1616, 1281, 1142; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 582.3; SMHR pour C₂₈H₃₆N₇O₅S calculée 582.2499, trouvée 582.2512.

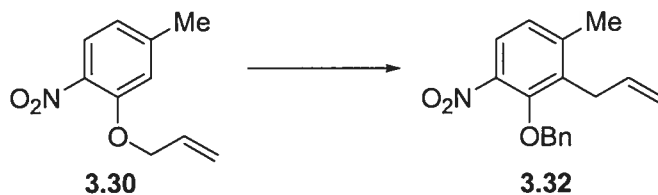


(2*S*,4*aS*,7*S*)-2-amino-2-benzyl-1,1-dioxo-octahydro-1λ⁶-pyrrolo[1,2-*b*][1,2]thiazine-7-(4-carbamimidoyl-benzylamide) (2.165). Dans une solution de l'amide **2.190** (6.3 mg, 0.01 mmol) dans le MeOH (1 mL), a été ajouté palladium sur charbon (20 mg) et la suspension a été hydrogénée sous 40 psi d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite. Dans une solution du résidu précédent dans le MeOH (1 mL), a été ajouté une solution 6*N* HCl. Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été évaporée sous pression réduite pour donner l'analogue sultame **2.165** (3.6 mg, 73%); [α]_D -38.9 (*c* 0.18, CH₃OH); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.24-7.16 (m, 5H), 4.38-4.29 (m, 1H), 4.25-4.19 (m, 1H), 3.70-3.57 (m, 2H), 3.09 (dd, *J* = 4.6, 13.6 Hz, 1H), 2.99-2.90 (m, 1H), 2.60 (s, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.28-2.16 (m, 2H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.91-1.82 (m, 2H), 1.70-1.73 (m, 1H); IR (MeOH, cm⁻¹): 3059, 1680, 1560; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 455.6; SMHR pour C₂₃H₂₉N₅O₃S calculée 455.5731, trouvée 455.5730.

VI.3 Procédures expérimentales des composés du chapitre III

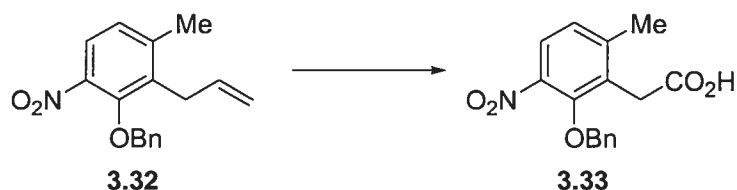


2-allyloxy-4-méthyl-1-nitro-benzène (3.30). Dans une solution du 2-nitro-5-méthylphénol **3.29** (10.0 g, 65 mmol) dans l'acétone (100 mL) ont été ajouté séquentiellement le bromure d'allyle (17 mL, 200 mmol) et le carbonate de potassium (27.1 g, 65 mmol). Après avoir chauffé le mélange hétérogène à reflux pendant 19h, la suspension a été filtrée et le filtrat concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'éther allylique **3.30** (12.5 g, 99%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.85-6.79 (m, 2H), 6.05-5.95 (m, 1H), 5.49 (dd, $J = 1.4, 17.2$ Hz, 1H), 5.30 (dd, $J = 1.4, 10.6$ Hz, 1H), 4.64 (dd, $J = 1.6, 3.2$ Hz, 2H), 2.38 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 152.5, 146.3, 137.9, 132.2, 126.3, 121.6, 118.5, 115.7, 70.2, 22.3; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 194; SMHR pour $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ calculée 193.0739, trouvée 193.0742.

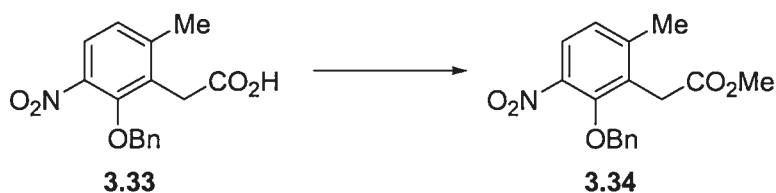


1-allyl-2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-benzène (3.32). Le composé éther allylique **3.30** (5.5 g, 28 mmol) a été chauffé à 170 °C sans solvant pendant 21h. L'huile noire obtenue a été dissoute dans l'acétone et a été ajouté le bromure de benzyle (10 mL, 85 mmol) suivi du carbonate de potassium (11.8 g, 85 mmol). Après avoir chauffé le mélange à reflux pendant 18h, le mélange a été filtré et le filtrat concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'éther benzylique **3.32** (6.55 g, 93 %); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.72 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 7.46-7.36 (m, 3H), 7.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H),

6.04-5.91 (m, 1H), 5.12 (dd, $J = 1.7, 10.2$ Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.94 (dd, $J = 1.7, 17.2$ Hz, 1H), 3.56-3.54 (m, 2H), 2.39 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 150.4, 145.3, 142.4, 136.4, 135.0, 134.5, 128.5, 128.3, 128.2, 125.9, 123.3, 116.0, 77.1, 30.7, 19.9; SM (m/z) [M^+]: 283; SMHR pour $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ calculée 283.1208, trouvée 283.1206.



acide-(2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-phényl)-acétique (3.33). Dans une solution de l'éther benzylique **3.32** (0.90 g, 3.2 mmol) dans un mélange de tétrachlorure de carbone (6 mL), acétonitrile (6 mL) et H_2O (9 mL) ont été ajouté du périodate de sodium (4.2 g, 20 mmol) et le chlorure de ruthénium trihydraté (0.020 g, 0.076 mmol). Après avoir agité la solution pour 18h, propan-2-ol (1 mL) a été ajouté et la solution a été agitée pendant 10 minutes. Après avoir ajouté du CH_2Cl_2 (50 mL), le mélange a été filtré sur Celite puis une solution saturée de NaHCO_3 (20 mL) a été ajoutée. La phase aqueuse a été lavée avec CH_2Cl_2 (20 mL) puis acidifié à pH 3 avec une solution 1N de HCl et extraite avec EtOAc (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite pour donner l'acide acétique **3.33**; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 11.00-10.50 (br, 1H), 7.81 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.46-7.27 (m, 5H), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.99 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 177.6, 151.3, 146.0, 142.3, 136.1, 129.8, 129.1, 129.0, 128.8, 126.4, 125.2, 77.8, 32.7, 20.8.

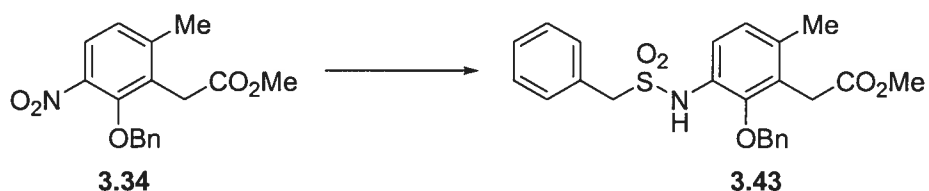


(2-benzyloxy-6-méthyl-3-nitro-phényl)-acétate de méthyle (3.34). Dans une solution de l'acide **3.33** (3.2 mmol) dans l'éther diéthylique (50 mL) a été ajouté une solution

fraichement préparée de diazométhane jusqu'à ce que la couleur jaune persiste. Après avoir ajouté de l'acide acétique (0.5 mL), la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu a été dissout dans CH_2Cl_2 (50 mL). La phase organique a été lavée avec une solution saturée de bicarbonate de sodium (20 mL) et H_2O (20 mL), séchée avec Na_2SO_4 et concentrée sous pression réduite pour donner l'ester méthylique **3.34** (0.92 g, 92 %); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.42-7.31 (m, 5H), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.5, 151.3, 145.9, 142.3, 136.4, 129.8, 129.0, 129.0, 128.8, 126.3, 124.9, 77.6, 52.7, 32.7, 20.8; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 314; SMHR pour $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ calculée 313.0950, trouvée 313.0943.

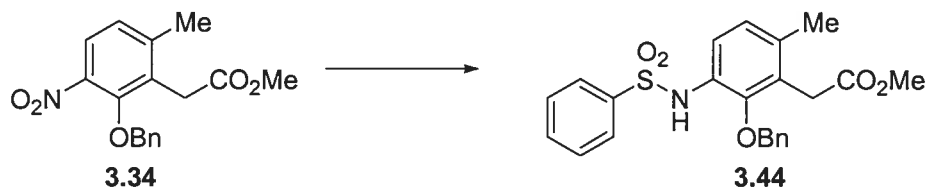
Procédure générale pour la formation des sulfonamides.

Dans une solution de l'ester méthylique **3.34** dans le THF (0.2 M) a été ajouté platinum sur charbon 5 % (0.1 éq.) et la suspension a été agitée sous une atmosphère d'hydrogène pendant 2h. La suspension a été filtrée sur Celite, lavée avec AcOEt et le filtrat a été concentré sous pression réduite pour donner l'amine correspondante **3.42**. Dans une solution de l'amine précédente dans le CH_2Cl_2 (0.15 M) ont été ajoutés le chlorure de sulfonyl (1.2 éq.) et la pyridine (1.5 éq.). Après avoir agité pendant 18h, la solution a été neutralisée avec une solution 1N HCl et extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 et concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner le sulfonamide correspondant.



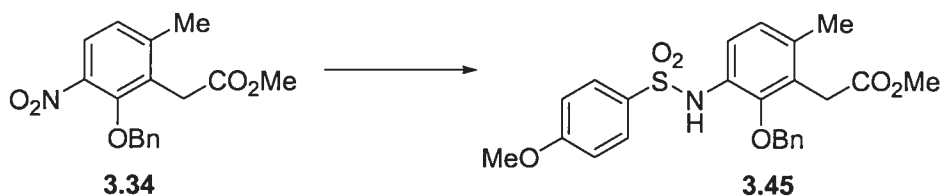
(2-benzyloxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétate de méthyle (3.43). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.38-7.26 (m, 11H), 6.98 (d, $J = 8.3$ Hz,

1H), 6.50 (br, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.30 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.27 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172.1, 147.1, 136.4, 134.8, 131.3, 129.3, 129.3, 129.1, 128.7, 128.4, 127.9, 127.1, 117.8, 76.4, 58.1, 52.6, 33.1, 19.7; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 440; SMHR pour C₂₄H₂₆O₅NS calculée 440.1532, trouvée 440.1519.



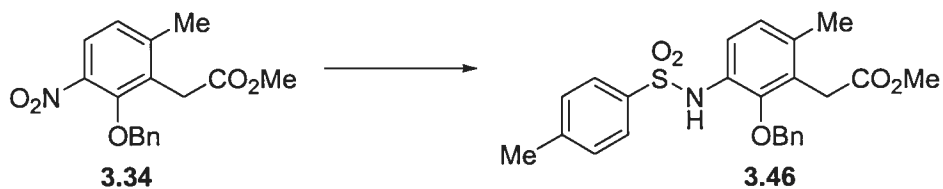
(3-benzènesulfonylamino-2-benzyloxy-6-méthyl-phényl)-acétate de méthyle (3.44).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.79 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.54-7.27 (m, 8H), 6.93 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.65 (s, 5H), 2.19 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172.1, 148.2, 140.0, 136.6, 135.4, 133.5, 129.5, 129.3, 129.1, 128.7, 128.2, 127.7, 127.5, 127.0, 119.7, 76.5, 52.6, 33.1, 19.8; SM (*m/z*) [M⁺]: 425.1; SMHR pour C₂₃H₂₃NO₅S calculée 425.1297, trouvée 425.1285.

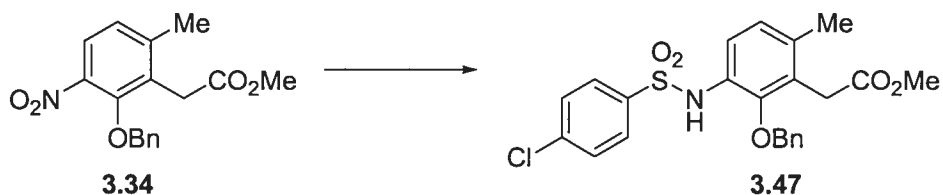


[2-benzyloxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.45).

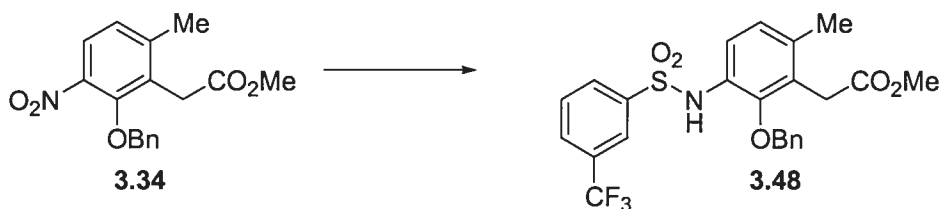
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.71 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.41-7.26 (m, 6H), 6.92 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.65 (s, 5H), 2.18 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172.1, 163.6, 148.1, 136.7, 135.1, 131.5, 129.7, 129.3, 129.0, 128.9, 128.2, 127.7, 127.0, 119.5, 114.7, 76.5, 56.0, 52.5, 33.1, 19.7; SM (*m/z*) [M⁺]: 455.1; SMHR pour C₂₄H₂₅NO₆S calculée 455.1403, trouvée 455.1423.



[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(toluène-4-sulfonylamino)-phényl]-acétate de méthyle (3.46). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.68 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.42-7.33 (m, 6H), 7.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.93 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.55 (s, 2H), 3.65 (s, 5H), 2.20 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.1, 147.9, 144.4, 137.0, 136.6, 135.1, 130.1, 129.3, 129.1, 128.8, 128.2, 127.6, 127.0, 119.3, 76.5, 52.5, 33.1, 22.0, 19.8; SM (m/z) [M^+]: 439.1.

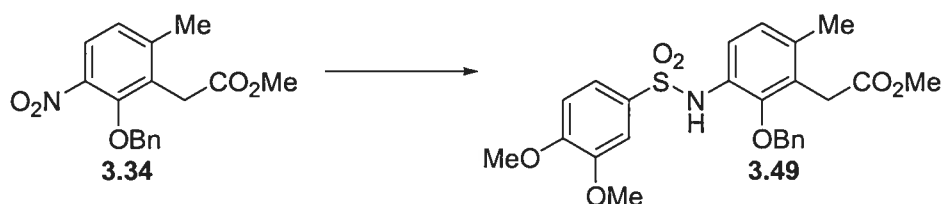


[2-benzyloxy-3-(4-chlorobenzenesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.47). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.68 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.43-7.32 (m, 8H), 6.94 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.67 (s, 5H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 148.3, 139.9, 138.4, 136.5, 135.8, 129.8, 129.4, 129.2, 129.0, 128.3, 128.2, 127.8, 127.0, 119.8, 76.6, 52.6, 33.1, 19.8; SM (m/z) [M^+]: 459.1; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{NO}_5\text{SCl}$ calculée 459.0907, trouvée 459.0925.

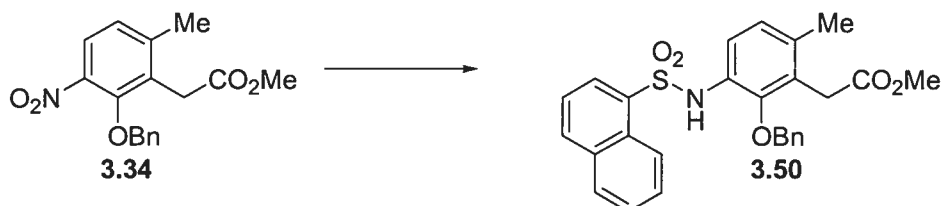


[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]-acétate de méthyle (3.48). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.04 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.41-7.26 (m, 6H), 6.95 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.65 (s, 5H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 148.8, 141.1, 136.5, 136.4, 130.8, 130.1, 130.0, 129.4, 129.2,

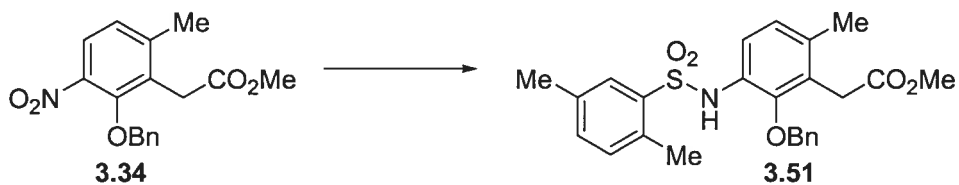
128.2, 128.0, 127.9, 127.0, 124.7, 124.6, 120.6, 76.7, 52.5, 33.0, 19.8; SM (m/z) [M^+]: 493.1; SMHR pour $C_{24}H_{22}NO_5SF_3$ calculée 493.1171, trouvée 493.1182.



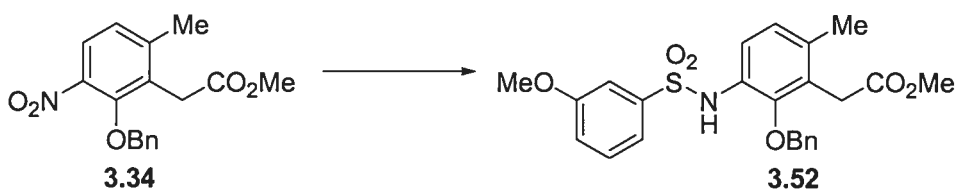
[2-benzyloxy-3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.49). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.42-7.37 (m, 5H), 7.34-7.31 (m, 2H), 7.19 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.83 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.65 (s, 5H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 172.0, 153.2, 149.4, 148.1, 136.6, 135.3, 131.5, 129.3, 129.0, 128.9, 128.0, 127.6, 126.9, 121.5, 119.8, 110.9, 109.8, 76.4, 56.6, 56.5, 52.5, 33.0 19.7; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 486.1; SMHR pour $C_{25}H_{28}N_1O_7S$ calculée 486.1586, trouvée 486.1590.



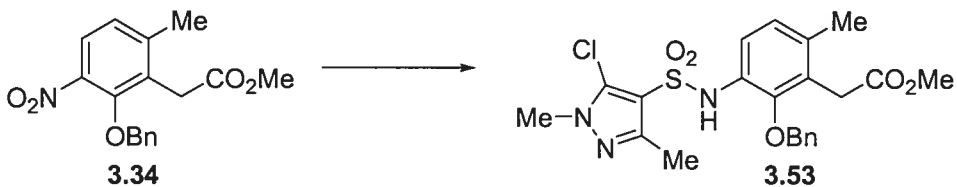
[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-sulfonylamino)-phényl]-acétate de méthyle (3.50). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8.58 (dd, $J = 3.1, 7.1$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 2.4, 5.9$ Hz, 1H), 7.58-7.51 (m, 3H), 7.49-7.41 (m, 3H), 7.39-7.33 (m, 2H), 7.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.62 (s, 5H), 2.15 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 172.0, 147.7, 136.6, 135.1, 134.8, 134.6, 130.3, 129.3, 129.0, 128.9, 128.5, 128.2, 127.5, 127.4, 126.8, 124.8, 124.5, 118.8, 76.4, 52.5, 33.0, 19.7; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 476.0; SMHR pour $C_{27}H_{26}NO_5S$ calculée 476.1532, trouvée 476.1548.



[2-benzyloxy-3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.51). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.82 (s, 1H), 7.47-7.37 (m, 6H), 7.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 2.0, 7.9$ Hz, 2H), 6.86 (m, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.69 (s, 3H), 2.51 (s, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.1, 147.7, 138.0, 136.6, 134.7, 134.3, 133.0, 130.4, 129.3, 129.1, 129.0, 128.9, 128.7, 128.4, 127.6, 126.9, 126.4, 124.9, 118.7, 76.7, 52.6, 33.1, 21.3, 20.2, 19.7; SM (m/z) [M^++1]: 454.2; SMHR pour $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{NO}_5\text{S}$ calculée 454.1688, trouvée 454.1697.

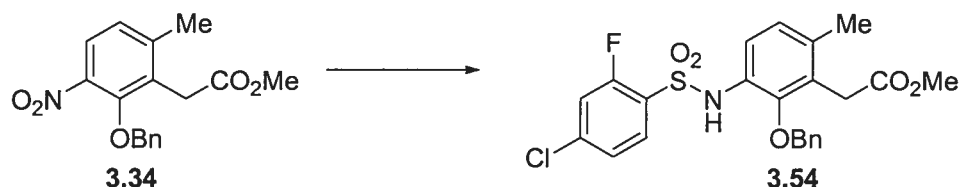


[2-benzyloxy-3-(3-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.52). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.45-7.27 (m, 10H), 7.08-7.05 (m, 1H), 6.94 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.66 (s, 5H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 160.2, 148.1, 141.1, 136.5, 135.4, 130.6, 129.3, 129.1, 128.7, 128.1, 127.6, 127.0, 120.2, 119.7, 119.6, 111.8, 76.4, 56.0, 52.6, 33.1, 19.8; SM (m/z) [M^++1]: 456.2; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{NO}_6\text{S}$ calculée 456.1481, trouvée 456.1496.

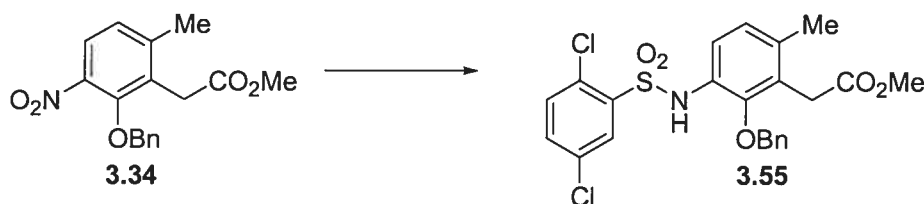


[2-benzyloxy-3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1H-pyrazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.53). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.45-7.39 (m, 5H), 7.26 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.91 (m, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.68 (s, 5H),

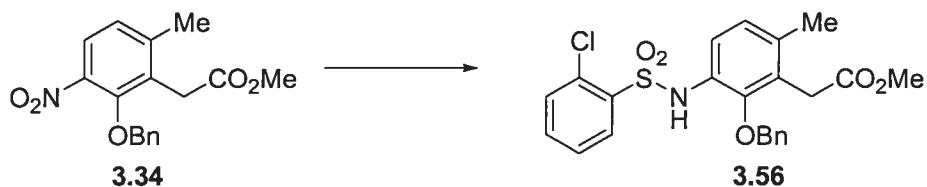
2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 149.5, 148.0, 136.5, 135.4, 130.2, 129.4, 129.2, 128.5, 128.3, 127.7, 126.9, 119.2, 115.3, 76.7, 52.6, 36.9, 33.1, 19.8, 14.1; SM (m/z) [M^++1]: 478.1; SMHR pour $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5\text{SCl}$ calculée 478.1203, trouvée 478.1185.



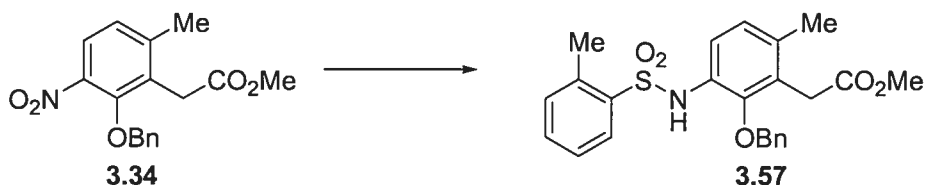
[2-benzyloxy-3-(4-chloro-2-fluoro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.54). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.80 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.47-7.43 (m, 5H), 7.24-7.21 (m, 2H), 7.15 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 3.69 (s, 5H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 148.1, 136.4, 132.0, 129.3, 129.0, 128.7, 128.0, 127.8, 126.9, 126.6, 126.4, 125.3, 125.2, 119.1, 118.5, 118.2, 76.8, 52.6, 33.1, 19.7; SM (m/z) [M^++1]: 478.1; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{NO}_5\text{FSCl}$ calculée 478.0891, trouvée 478.0904.



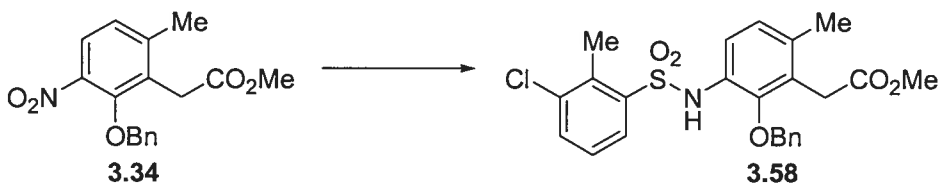
[2-benzyloxy-3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.55). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.08 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.44-7.35 (m, 8H), 7.31 (s, 1H), 7.19 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.88 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.9, 148.0, 138.8, 136.5, 135.5, 134.3, 133.7, 133.2, 131.7, 130.5, 129.3, 129.1, 128.4, 128.0, 127.9, 126.9, 118.5, 76.8, 52.5, 33.1, 19.7; SM (m/z) [M^++1]: 494.1; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{NO}_5\text{SCl}_2$ calculée 494.0596, trouvée 494.0611.



[2-benzyloxy-3-(2-chlorobenzènesulfonlamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.56). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.12 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.49-7.36 (m, 9H), 7.19 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.83 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.88 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.17 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 147.6, 137.3, 136.6, 134.9, 134.5, 132.2, 132.0, 129.3, 129.1, 128.4, 127.7, 127.5, 126.8, 117.9, 76.6, 52.5, 33.1, 19.6.

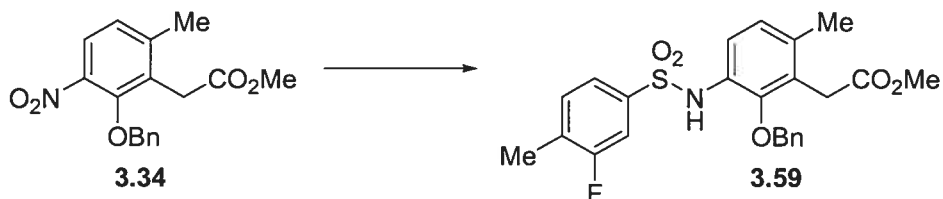


[2-benzyloxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonlamino)-phényl]-acétate de méthyle (3.57). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.97 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.47-7.22 (m, 7H), 7.09 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.69 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.1, 147.6, 137.7, 136.6, 134.8, 133.1, 130.2, 130.1, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.2, 127.0, 126.7, 119.2, 118.6, 76.7, 52.6, 33.1, 20.7, 19.7; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 440.0; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{NO}_5\text{S}$ calculée 440.1532, trouvée 440.1541.

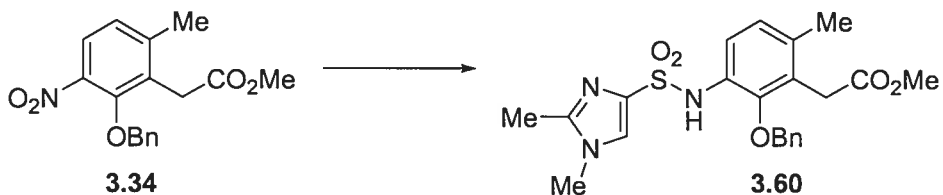


[2-benzyloxy-3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonlamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.58). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.90 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.48-7.40 (m, 5H), 7.22 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.85 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.0, 147.7,

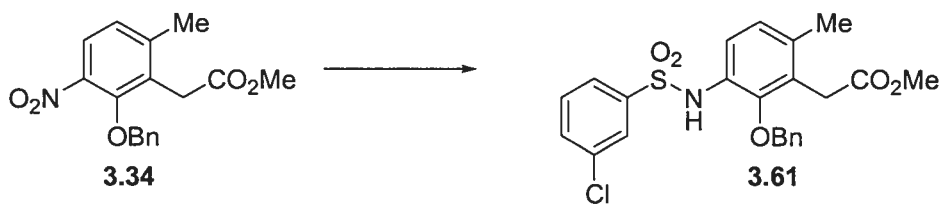
140.4, 137.5, 136.5, 135.7, 135.2, 134.4, 129.4, 129.3, 129.0, 128.7, 128.6, 128.6, 127.8, 127.1, 126.9, 118.7, 76.9, 52.6, 33.2, 19.7, 17.3; SM (m/z) [M^+]: 473.9; SMHR pour $C_{24}H_{24}ClNO_5S$ calculée 473.1064, trouvée 473.1041.



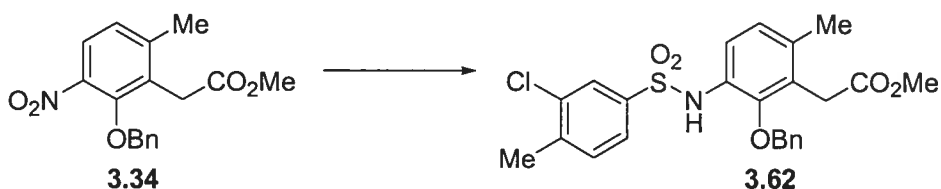
[2-benzyloxy-3-(3-fluoro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.59). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.48-7.41 (m, 5H), 7.37-7.35 (m, 3H), 7.26 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 3.69 (s, 5H), 2.32 (s, 3H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 171.9, 148.1, 136.5, 135.4, 132.5, 131.5, 129.4, 129.2, 128.5, 128.2, 127.7, 127.0, 123.2, 123.1, 119.3, 116.9, 114.7, 114.4, 76.7, 52.5, 33.1, 19.7; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 458.1; SMHR pour $C_{24}H_{24}NO_5FS$ calculée 457.1359, trouvée 457.1371.



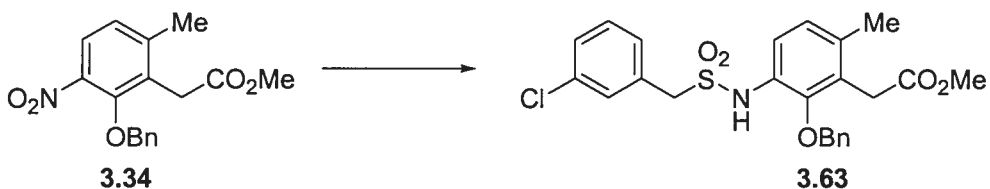
[2-benzyloxy-3-(1,2-diméthyl-1H-imidazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.60). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.53 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.43-7.37 (m, 5H), 7.18 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.79 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 172.3, 147.7, 147.5, 136.8, 134.3, 129.2, 129.0, 128.9, 128.8, 127.5, 126.8, 126.3, 118.1, 76.3, 52.6, 33.9, 33.0, 19.7, 14.6, 13.4; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 444.1; SMHR pour $C_{22}H_{26}N_3O_5S$ calculée 444.1593, trouvée 444.1605.



[2-benzyloxy-3-(3-chlorobenzoylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.61). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.77 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.46-7.33 (m, 8H), 6.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.68 (s, 5H), 2.21 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.1, 147.1, 136.4, 134.8, 131.3, 129.3, 129.3, 129.1, 128.7, 128.4, 127.9, 127.1, 117.8, 76.4, 58.1, 52.6, 33.1, 19.7; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 460.0; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClNO}_5\text{S}$ calculée 460.0980, trouvée 460.0971.



[2-benzyloxy-3-(3-chloro-4-méthyl-benzoylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.62). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.78 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.52-7.41 (m, 3H), 7.40-7.33 (m, 3H), 7.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.68 (s, 5H), 2.40 (s, 3H), 2.21 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.1, 148.0, 142.4, 138.8, 136.5, 135.6, 135.4, 131.9, 129.4, 129.2, 128.4, 128.2, 128.1, 127.7, 127.0, 125.7, 119.3, 76.7, 52.6, 33.1, 20.8, 19.8; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 474.1; SMHR pour $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{NO}_5\text{SCl}$ calculée 474.1142, trouvée 474.1134.

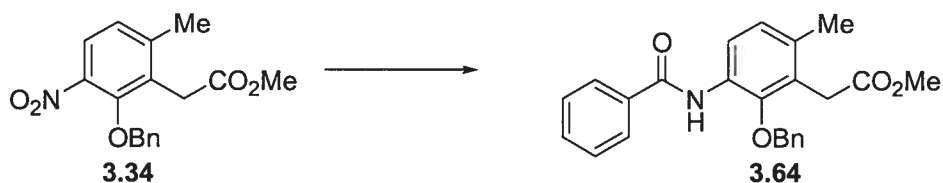


[2-benzyloxy-3-(3-chlorophénylméthanesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.63). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.39-7.22 (m, 10H), 7.12 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 3.75 (s, 5H), 2.26 (s,

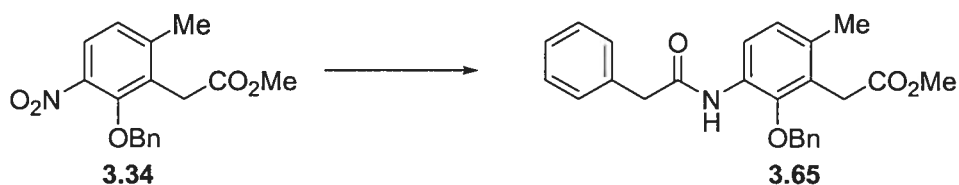
3H); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 474.1; SMHR pour $C_{24}H_{25}NO_5S$ calculée 474.1142, trouvée 474.1101.

Procédure générale pour la formation des amides et urées.

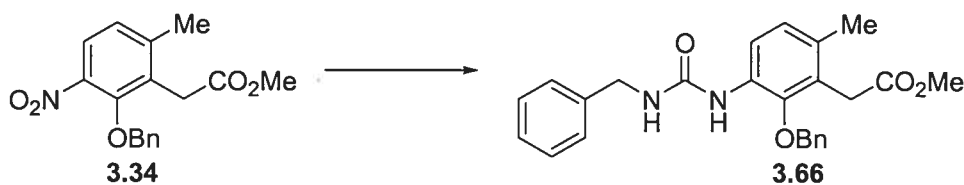
Dans une solution de l'ester méthylique **3.34** dans le THF (0.2 M) a été ajouté platinum sur charbon 5 % (0.1 éq.) et la suspension a été agitée sous une atmosphère d'hydrogène pendant 2h. La suspension a été filtrée sur Celite, lavée avec EtOAc et le filtrat a été concentré sous pression réduite pour donner l'amine correspondante. Dans une solution de l'amine précédente dans le CH_2Cl_2 (0.15 M) ont été ajouté le chlorure d'acide ou l'isocyanate correspondant (1.2 éq.) et la pyridine (1.5 éq.). Après avoir agité pendant 18h, la solution a été neutralisée avec une solution 1N HCl et extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 et concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 25:75) pour donner les amides ou urées correspondantes.



(3-benzoylamino-2-benzyloxy-6-méthyl-phényl)-acétate de méthyle (3.64). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.81 (m, 4H), 7.47-7.23 (m, 8H), 7.07 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 174.3, 171.7, 135.2, 132.7, 132.6, 129.7, 129.2, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.0, 127.4, 76.6, 52.4, 33.1, 20.2; SM (m/z) [M^+]: 389.2; SMHR pour $C_{24}H_{23}NO_4$ calculée 389.1627, trouvée 389.1638.



(2-benzyloxy-6-méthyl-3-phénylacétylamino-phényl)-acétate de méthyle (3.65). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.19 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.41-7.22 (m, 10H), 6.99 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.2, 169.3, 137.0, 134.8, 134.3, 129.8, 129.5, 129.1, 128.8, 128.0, 127.9, 126.8, 120.2, 76.1, 52.5, 45.4, 33.0, 19.8; SM (m/z) [M^+]: 403.2; SMHR pour $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ calculée 403.1783, trouvée 403.1798.

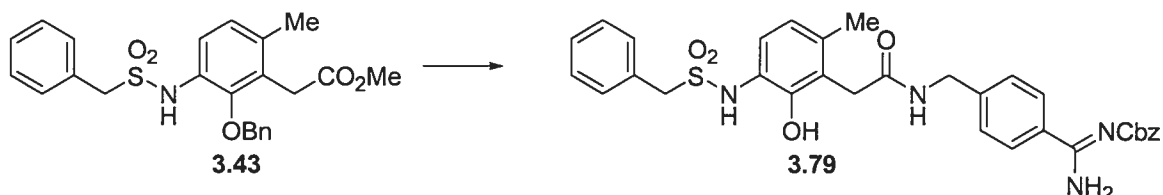


[2-benzyloxy-3-(3-benzyl-ureido)-6-méthyl-phényl]-acétate de méthyle (3.66). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.34-7.16 (m, 11H), 6.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.73 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.23 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.57 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.5, 156.4, 148.4, 139.6, 137.3, 133.4, 130.6, 128.9, 128.7, 128.6, 128.3, 127.6, 127.5, 127.3, 127.0, 126.7, 121.8, 75.9, 52.4, 44.4, 33.0, 19.7; SM (m/z) [M^+]: 418.2; SMHR pour $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$ calculée 418.1892, trouvée 418.1896.

Procédure générale pour l'hydrolyse, l'hydrogénolyse et le couplage.

Dans une solution de l'ester méthylique dans un mélange 2:2:1 THF/ H_2O /MeOH (0.15 M) a été ajouté NaOH (5 éq.). Après avoir agité la solution pour 3h, la solution a été acidifiée avec une solution 1N HCl jusqu'à un pH de ~2. La phase aqueuse a été extraite avec l'acétate d'éthyle (3 x 5 mL), les phases organiques combinées, séchées avec Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Dans une solution de l'acide brut dans le MeOH (0.02 M), a été ajouté palladium sur charbon (0.1 éq.) et la suspension a été

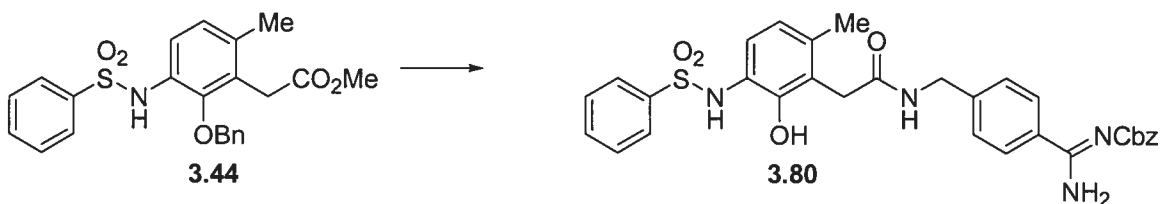
hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant 30 minutes, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH puis concentrée sous pression réduite pour donner l'acide phénolique. Dans une solution de l'acide brut dans le DMF (0.06 M) ont été ajoutés à 0 °C, *i*-Pr₂NEt (1.2 éq.), EDC (1.2 éq.) suivis de l'amine correspondante (1.2 éq.). Après avoir agité la solution pour 12h à la température ambiante, la solution a été concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt) pour donner les produits de couplage correspondants.



***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-**

hénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.79).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.77 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.43-7.41 (m, 2H), 7.36-7.28 (m, 10H), 7.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 2.30 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 173.8, 164.2, 149.3, 143.4, 137.3, 135.8, 133.6, 131.1, 129.5, 128.5, 128.5, 128.1, 128.0, 127.5, 124.0, 123.2, 122.8, 122.2, 67.0, 57.2, 42.9, 34.6, 19.0; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 601.3; SMHR pour C₃₂H₃₃N₄O₆S calculée 601.2121, trouvée 601.2115.

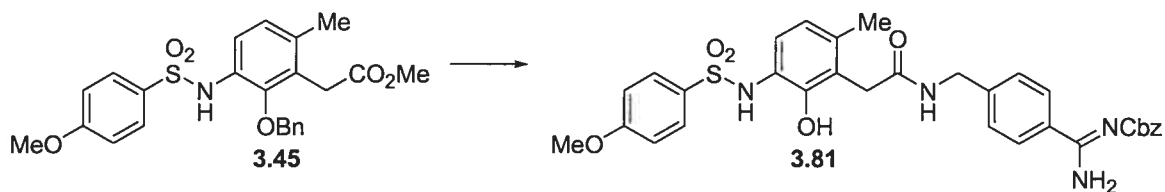


2-(3-benzènesulfonylamino-2-hydroxy-6-méthyl-phényl)-*N*-(4-*N*-Cbz-

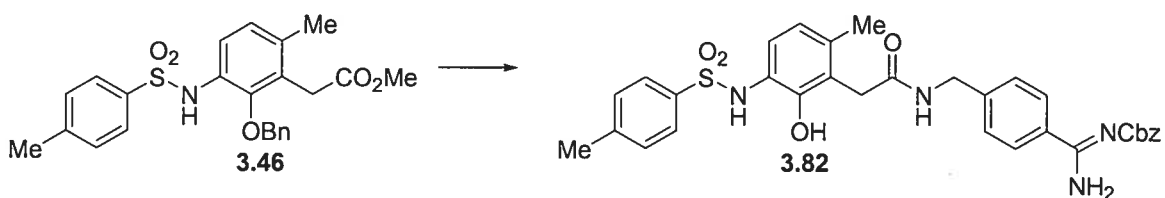
carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.80).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.79-7.28 (m, 14H), 6.73 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.38 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.21 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.5, 169.6, 164.2, 150.5, 143.5, 139.6, 137.2, 136.6, 133.5, 133.0, 128.9, 128.5, 128.1, 128.0, 127.5,

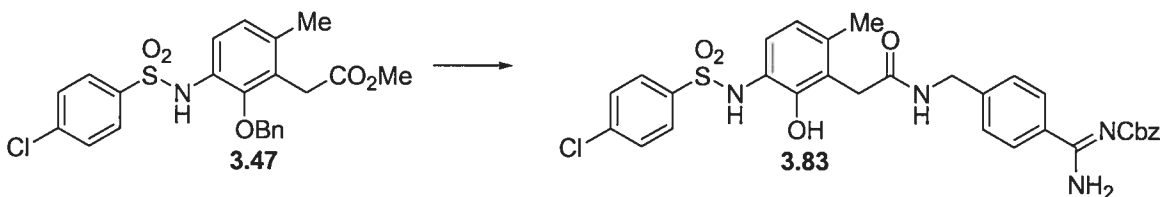
124.1, 122.7, 122.5, 121.7, 67.0, 42.8, 34.4, 19.1; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 587.2; SMHR pour $C_{31}H_{31}N_4O_6S$ calculée 587.1964, trouvée 587.1976.



***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.81).** 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 9.20 (br, 2H), 7.59-7.23 (m, 12H), 6.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.51 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.17 (m, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.47 (s, 2H), 2.11 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.7, 168.7, 163.4, 148.7, 142.7, 136.8, 135.1, 133.7, 129.8, 128.9, 128.6, 128.5, 128.0, 127.5, 123.8, 122.6, 122.0, 114.4, 67.6, 55.9, 43.3, 35.4, 19.5; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 617.1; SMHR pour $C_{32}H_{33}N_4O_7S$ calculée 617.2070, trouvée 617.2066.

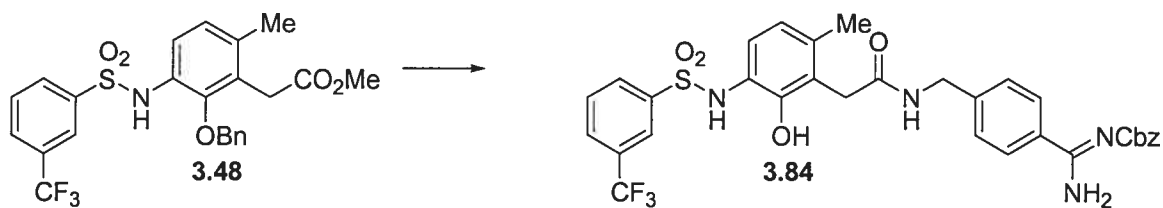


***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-4-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.82).** 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.81 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.43-7.23 (m, 9H), 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 4.42 (m, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.23 (s, 3H); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 601.1; SMHR pour $C_{32}H_{33}N_4O_6S$ calculée 601.2121, trouvée 601.2110.

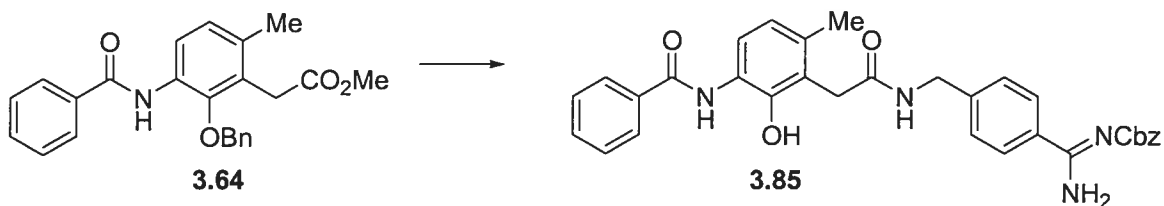


***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-benzènesulfonylamino)-2-**

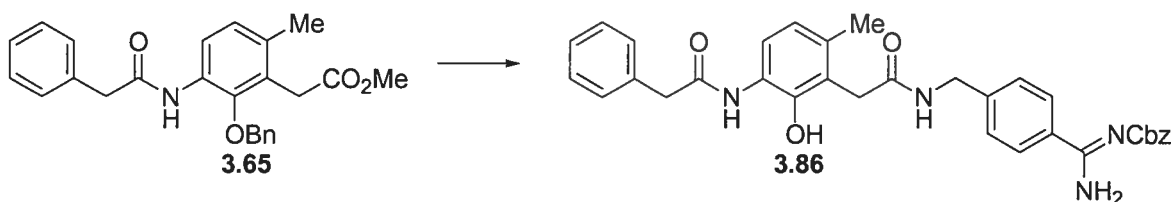
hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.83). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.43-7.28 (m, 9H), 6.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.40 (s, 2H), 3.59 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.5, 169.6, 164.2, 150.7, 143.5, 139.1, 138.4, 137.2, 136.7, 133.6, 129.2, 129.0, 128.5, 128.0, 127.5, 124.5, 122.7, 122.6, 121.8, 67.0, 42.8, 34.4, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 621.1; SMHR pour $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{ClN}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 621.1575, trouvée 621.1568.



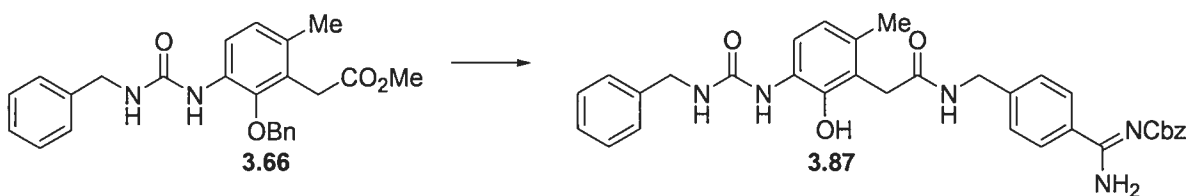
***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.84).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.97-7.29 (m, 13H), 6.83 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.38 (s, 2H), 3.57 (s, 2H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.6, 169.6, 163.9, 150.7, 143.5, 142.0, 137.3, 135.9, 133.6, 130.9, 130.0, 129.0, 128.1, 128.0, 127.5, 124.2, 124.1, 124.0, 123.9, 122.0, 121.5, 67.0, 42.8, 34.5, 19.0; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 655.0; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 655.1838, trouvée 655.1844.



***N*-{3-[(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzylcarbamoyl)-méthyl]-2-hydroxy-4-méthyl-phényl}-benzamide (3.85).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.90 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.73 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.53-7.23 (m, 11H), 6.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.35 (s, 2H), 2.30 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 169.3, 167.8, 164.1, 147.3, 143.1, 136.7, 135.2, 134.2, 133.2, 132.5, 129.0, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 125.4, 123.2, 122.7, 121.4, 67.6, 43.3, 35.3, 19.9; SM (m/z) [M^++1]: 551.3; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5$ calculée 551.2294, trouvée 551.2297.

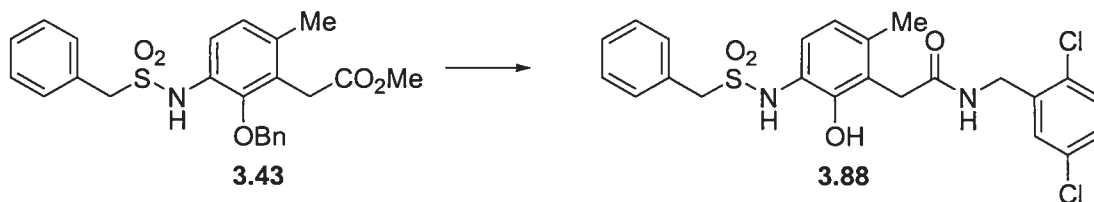


***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylacétylamino-phényl)-acétamide (3.86).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.43-7.26 (m, 12H), 7.17 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 2.28 (s, 3H); SM (m/z) [M^++1]: 565.2; SMHR pour $\text{C}_{33}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5$ calculée 565.2451, trouvée 565.2458.

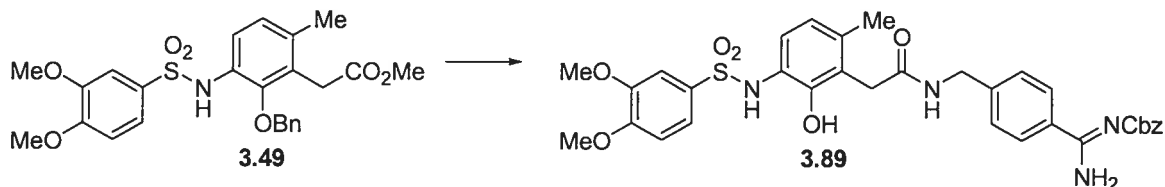


2-[3-(3-benzyl-ureido)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-*N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.87). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.43-7.23 (m, 12H), 7.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 4.41 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.32 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 158.4, 147.4, 143.7, 139.8, 137.3, 133.7, 133.5, 128.6, 128.5, 128.1,

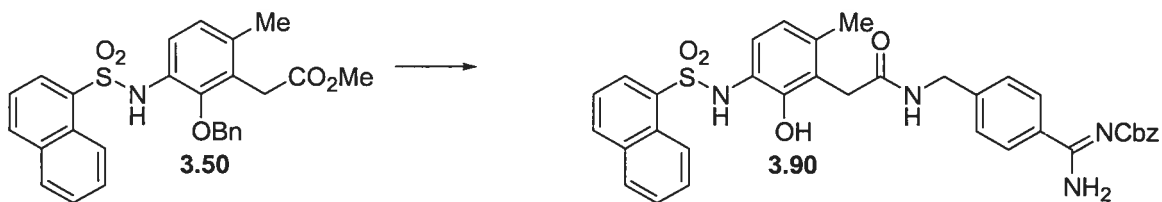
128.0, 127.4, 127.3, 127.1, 125.8, 123.0, 121.9, 120.9, 66.9, 43.8, 42.7, 34.5, 18.8; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 580.3; SMHR pour $C_{33}H_{34}N_5O_5$ calculée 580.2560, trouvée 580.2558.



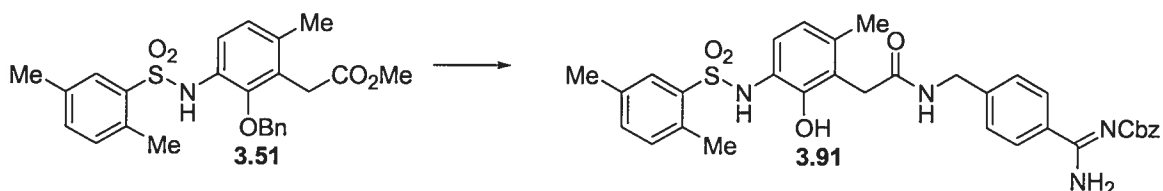
***N*-(2,5-dichloro-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino)-phényl)-acétamide (3.88).** 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 10.01 (br, 1H), 7.40-7.13 (m, 9H), 6.85 (br, 1H), 6.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.70 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.28 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.32 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 174.0, 147.2, 136.7, 133.4, 131.2, 130.2, 129.7, 129.2, 128.7, 125.4, 123.1, 121.9, 119.9, 57.3, 42.2, 36.2, 20.5; SM (m/z) [M^+]: 492.2; SMHR pour $C_{23}H_{22}Cl_2N_2O_4S$ calculée 492.0677, trouvée 492.0670.



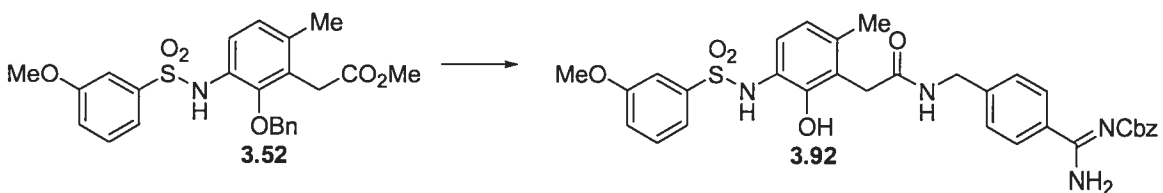
***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.89).** 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.35-7.28 (m, 6H), 6.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.38 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 2.21 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.5, 169.5, 164.2, 153.2, 150.4, 149.2, 143.5, 137.3, 136.3, 133.5, 130.9, 128.5, 128.2, 128.1, 128.0, 127.5, 124.1, 123.3, 122.5, 121.8, 121.5, 110.7, 110.1, 67.0, 55.6, 55.5, 42.8, 34.5, 19.1; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 647.3; SMHR pour $C_{33}H_{35}N_4O_8S$ calculée 647.2176, trouvée 647.2183.



***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.90).** ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.64 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.57-7.48 (m, 5H), 7.41-7.25 (m, 6H), 6.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.18 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.07 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.5, 168.4, 164.2, 148.3, 143.2, 142.8, 136.8, 134.9, 134.8, 134.5, 133.1, 130.3, 129.4, 128.7, 128.5, 128.1, 127.6, 127.3, 124.8, 124.4, 123.8, 122.5, 122.0, 121.1, 71.1, 67.7, 60.8, 43.4, 35.5, 20.2; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 637.2; SMHR pour $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 637.2121, trouvée 637.2118.

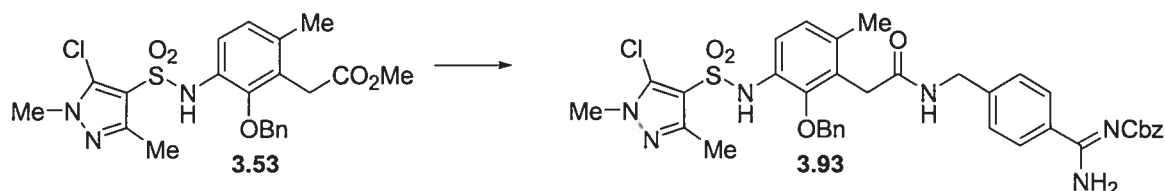


***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.91).** ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.71 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.50-7.26 (m, 6H), 7.15 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.22 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.48 (s, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.12 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.8, 168.5, 164.5, 147.6, 142.5, 137.3, 136.8, 136.3, 134.6, 134.2, 133.9, 133.6, 132.9, 130.6, 128.9, 128.7, 128.5, 128.0, 127.7, 124.3, 122.6, 121.9, 120.0, 67.7, 43.5, 35.6, 21.2, 20.2, 20.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 615.2; SMHR pour $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 615.2277, trouvée 615.2268.

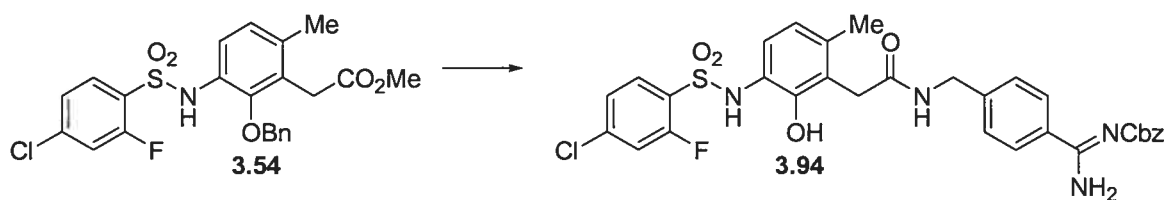


***N*-(4-*N*-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(3-méthoxy-**

benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.92). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.52 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.44-7.22 (m, 9H), 7.00-6.95 (m, 4H), 6.55 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.24 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.49 (s, 2H), 2.17 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.6, 168.5, 160.0, 148.5, 142.8, 140.4, 136.7, 135.0, 133.2, 130.3, 128.9, 128.7, 128.6, 128.1, 127.7, 123.8, 122.6, 122.1, 121.9, 119.9, 112.8, 67.8, 55.9, 43.4, 35.6, 20.3; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 617.2; SMHR pour $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$ calculée 617.2070, trouvée 617.2059.

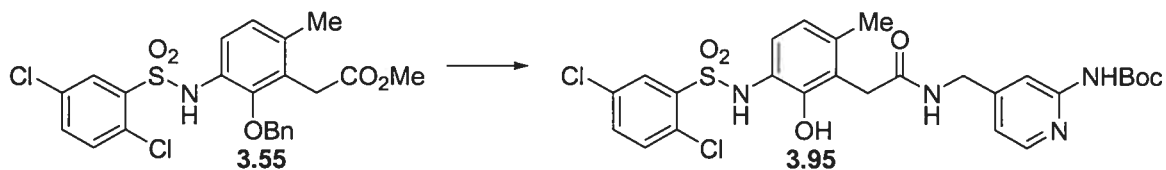


2-[2-benzyloxy-3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1H-pyrazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-N-(4-N-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.93). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.68 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.39-7.26 (m, 8H), 7.18 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 6.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.36 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 4.30 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.61 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 170.7, 163.0, 149.4, 148.3, 143.2, 137.0, 136.3, 135.8, 133.8, 130.1, 129.4, 129.3, 128.8, 128.6, 128.4, 128.3, 128.1, 127.7, 127.3, 120.0, 115.4, 67.6, 43.4, 36.6, 35.4, 19.9, 14.0; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 729.1; SMHR pour $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_6\text{SCl}$ calculée 729.2262, trouvée 729.2247.

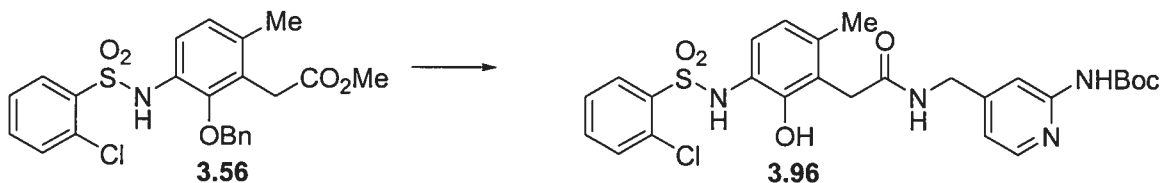


N-(4-N-Cbz-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-2-fluoro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.94). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.66 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.43-7.27 (m, 6H), 7.11 (t, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 6.57 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.27 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.49 (s, 2H), 2.16 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.7, 168.4, 164.5, 160.6, 158.0, 148.5, 142.5, 141.0, 136.8, 134.9,

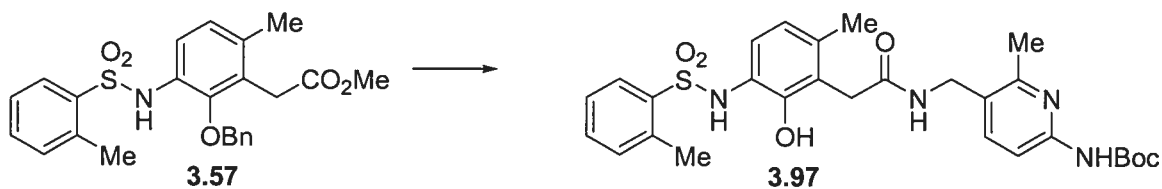
133.7, 131.9, 128.9, 128.7, 128.5, 128.0, 127.8, 126.3, 126.1, 125.0, 123.5, 122.7, 122.1, 121.4, 118.3, 118.1, 67.7, 43.5, 35.7, 30.1, 20.3; SM (m/z) [M^+]: 639.0; SMHR pour $C_{31}H_{28}N_4O_6FSCl$ calculée 638.1402, trouvée 638.1417.



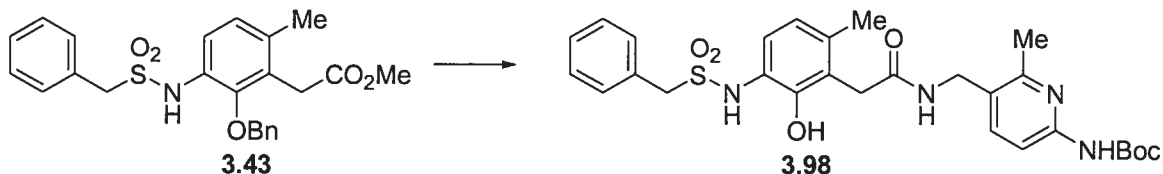
***N*-(2-*N*-Boc-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.95).** 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8.14 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.41 (s, 2H), 7.09 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 4.7$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.41 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.53 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.6, 152.9, 152.7, 148.3, 147.5, 138.3, 134.8, 134.2, 133.4, 133.2, 131.8, 130.7, 123.4, 122.9, 121.9, 120.9, 117.5, 110.9, 82.0, 76.3, 43.3, 36.0, 30.1, 28.7, 20.5; SM (m/z) [M^+]: 595.1; SMHR pour $C_{26}H_{29}N_4O_6SCl_2$ calculée 595.1185, trouvée 595.1165.



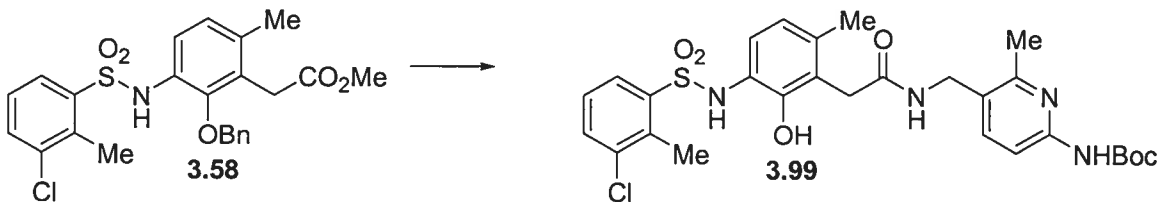
***N*-(2-*N*-Boc-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.96).** 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.99 (s, 1H), 7.89 (dd, $J = 1.3, 7.8$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.50-7.34 (m, 3H), 7.28-7.24 (m, 1H), 6.89 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.24 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.47 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.2, 152.8, 151.7, 147.1, 138.5, 136.7, 134.4, 132.3, 132.2, 132.1, 129.2, 128.4, 127.6, 127.3, 123.2, 122.6, 122.1, 121.1, 112.7, 81.7, 41.1, 41.0, 35.6, 28.6, 20.1, 14.5; SM (m/z) [M^+]: 560.9; SMHR pour $C_{26}H_{30}N_4O_6SCl$ calculée 561.1575, trouvée 561.1559.



***N*-(6-*N*-Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.97).** ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.80 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.61-7.54 (m, 1H), 7.35 (dd, $J = 8.4, 12.5$ Hz, 2H), 7.25-7.14 (m, 2H), 6.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.61 (s, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.4, 155.2, 152.9, 150.6, 144.1, 139.2, 137.8, 137.3, 134.4, 133.3, 132.9, 130.3, 129.9, 127.6, 126.3, 125.9, 123.8, 122.6, 121.9, 120.7, 110.1, 81.6, 40.8, 35.4, 28.5, 21.5, 20.4, 20.0; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 2$]: 556.0; SMHR pour $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 555.2277, trouvée 555.2292.

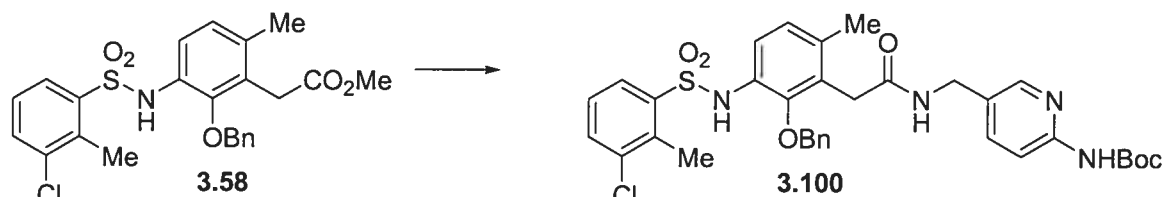


***N*-(6-*N*-Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylmethanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.98).** ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.27-7.24 (m, 5H), 7.10 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.28 (s, 4H), 3.03 (s, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.44 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.7, 155.2, 153.4, 151.0, 149.3, 138.7, 135.6, 131.3, 131.1, 129.5, 128.5, 128.4, 126.3, 124.0, 123.1, 122.8, 122.2, 110.0, 80.6, 57.1, 40.4, 34.5, 27.6, 20.6, 19.0; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 555.2; SMHR pour $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 555.2277, trouvée 555.2286.

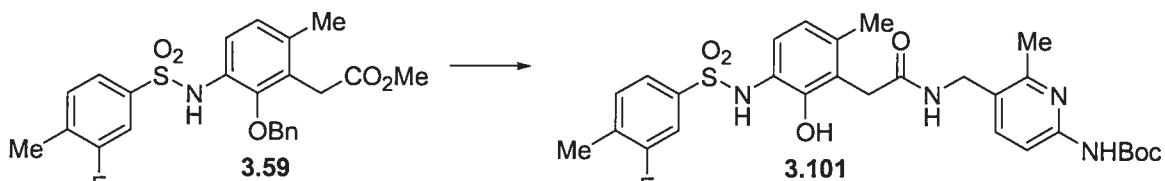


***N*-(6-*N*-Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.99).** ^1H RMN

(400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.75 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.09 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.50 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.24 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.6, 152.9, 143.9, 139.3, 137.2, 134.2, 129.0, 126.8, 123.7, 122.6, 122.0, 120.8, 110.2, 81.7, 75.3, 41.0, 35.4, 28.5, 21.4, 20.0, 17.0; SM (m/z) [M^+ +1]: 589.1; SMHR pour C₂₈H₃₄N₄O₆SCl calculée 589.1888, trouvée 589.1867.

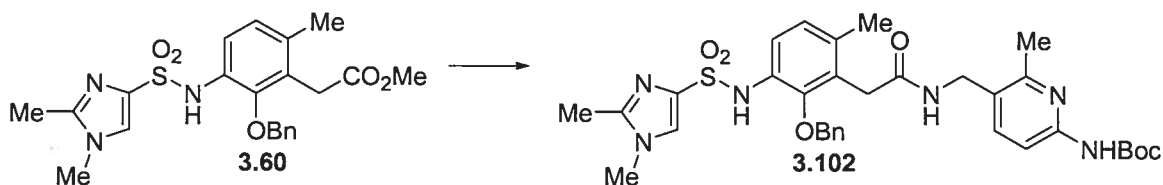


***N*-(6-*N*-Boc-amino-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-benzyloxy-3-(3-chloro-2-méthylbenzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.100).** ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.40 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.39-7.36 (m, 2H), 7.20 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01-6.99 (m, 2H), 6.84 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.27 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.53 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.3, 152.8, 151.9, 148.0, 146.9, 140.5, 138.5, 137.5, 137.5, 136.1, 136.1, 135.7, 135.7, 135.5, 134.4, 129.5, 129.4, 129.2, 128.9, 128.8, 128.6, 128.5, 128.3, 127.4, 127.1, 119.5, 112.7, 81.6, 60.8, 41.0, 35.6, 28.7, 19.9, 17.3; SM (m/z) [M^+ +1]: 665.2; SMHR pour C₃₄H₃₈N₄O₆SCl calculée 665.2201, trouvée 665.2215.

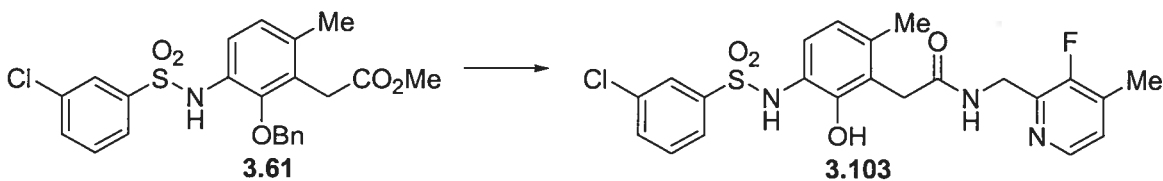


***N*-(6-*N*-Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-fluoro-4-méthylbenzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.101).** ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.30-7.21 (m, 2H), 7.17 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.25 (s, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 1.43 (s, 9H); ¹³C RMN

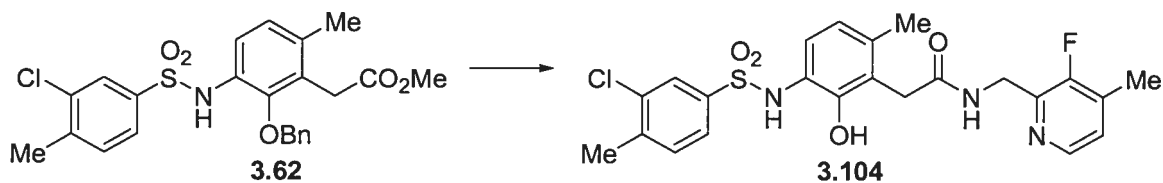
(100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 173.4, 155.1, 150.2, 138.8, 136.5, 131.0, 127.5, 126.3, 124.0, 123.3, 122.7, 122.5, 122.2, 120.8, 120.3, 119.7, 114.4, 114.2, 111.2, 110.2, 81.1, 40.5, 34.7, 28.0, 21.0, 19.6, 14.4; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 573.3; SMHR pour C₂₈H₃₄N₄O₆FS calculée 573.2183, trouvée 573.2184.



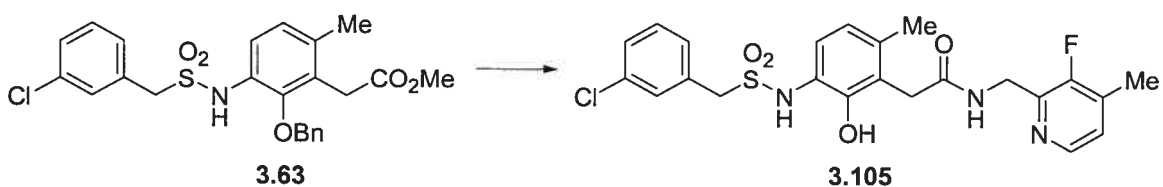
***N*-(6-*N*-Boc-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-benzyloxy-3-(1,2-diméthyl-1H-imidazole-4-sulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.102).** ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.56 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.39-7.33 (m, 7H), 7.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.10 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.23 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.48 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.5, 155.2, 152.8, 150.6, 147.7, 147.5, 138.6, 136.8, 136.6, 134.6, 129.2, 129.0, 128.5, 128.2, 127.2, 126.3, 126.2, 118.9, 109.8, 81.2, 76.1, 60.8, 40.7, 35.5, 33.8, 28.6, 21.8, 19.9, 14.6, 13.4; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 649.4; SMHR pour C₃₃H₄₁N₆O₆S calculée 649.2808, trouvée 649.2829.



2-[3-(3-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-*N*-(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.103). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.19 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.27 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.13 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.55 (s, 2H), 3.61 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.31 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 173.6, 157.6, 155.1, 147.8, 144.2, 135.2, 133.8, 133.2, 130.5, 127.8, 126.3, 125.7, 122.9, 121.9, 120.8, 36.2, 20.5, 14.5; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 478.0; SMHR pour C₂₂H₂₂N₃O₄FSCl calculée 478.1004, trouvée 478.0996.



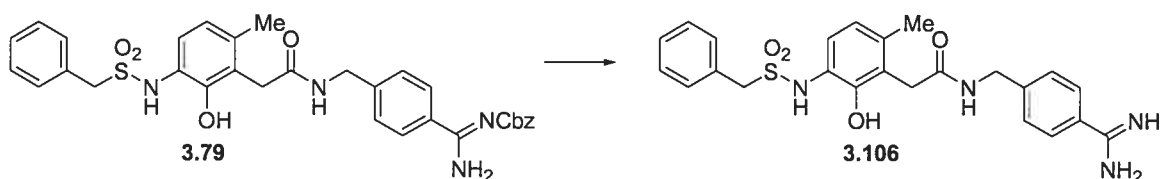
2-[3-(3-chloro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-N-(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.104). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 8.18 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.54 (dd, $J = 1.7, 8.0$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.24 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.12 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 3.3$ Hz, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.30 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.6, 147.8, 144.3, 144.2, 141.9, 138.5, 135.2, 133.7, 131.6, 128.2, 126.3, 125.0, 122.8, 122.0, 120.6, 60.8, 39.4, 36.1, 20.6, 14.5; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 492.0; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4\text{FSCl}$ calculée 492.1160, trouvée 492.1180.



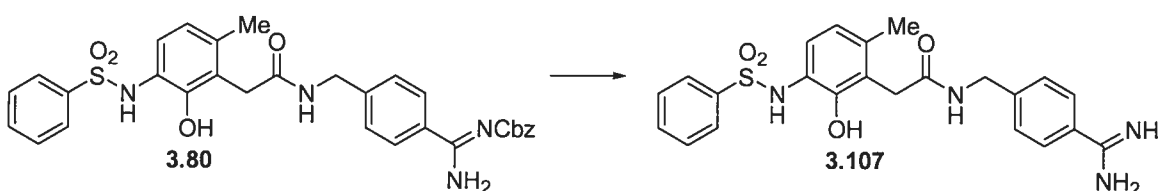
2-[3-(3-chloro-phénylméthanesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-N-(3-fluoro-4-méthyl-pyridin-2-ylméthyl)-acétamide (3.105). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 8.15 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.32-7.14 (m, 6H), 6.73 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.35 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.30 (s, 6H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 144.3, 144.2, 135.8, 135.7, 131.9, 131.1, 130.9, 129.9, 128.5, 128.5, 128.4, 126.2, 124.2, 122.9, 122.7, 122.2, 57.2, 56.8, 39.3, 34.5, 19.0, 12.9; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 492.0.

Procédure générale pour l'hydrogénolyse.

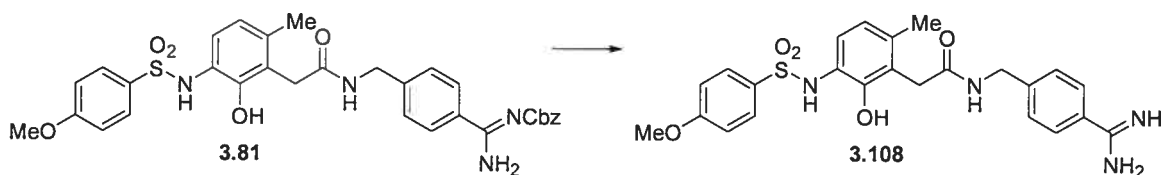
Dans une solution du carbamate dans le MeOH (0.03 M), ont été ajoutés HCl (2 gouttes) et palladium sur charbon (0.1 éq.) et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant 30 minutes, la solution a été filtrée sur Celite, rincée avec MeOH (3 x 5 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner les amidines correspondantes.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonyl-amino-phényl)-acétamide (3.106).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.21 (br, 2H), 8.74 (br, 2H), 7.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.32 (m, 5H), 7.15 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.37 (s, 2H), 3.75 (s, 2H), 2.33 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.0, 167.5, 149.6, 145.9, 136.1, 131.1, 129.5, 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 123.7, 123.6, 122.7, 122.2, 57.1, 42.8, 34.5, 19.1.

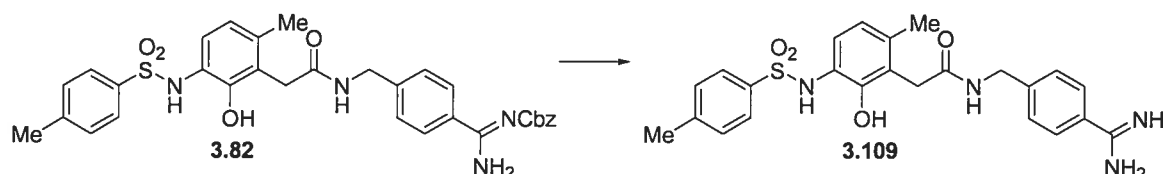


2-(3-benzènesulfonylamino-2-hydroxy-6-méthyl-phényl)-*N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.107). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.25 (br, 2H), 8.80 (br, 2H), 7.79-7.44 (m, 9H), 6.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.2, 167.2, 150.8, 145.7, 139.6, 137.0, 133.1, 129.0, 128.8, 128.3, 128.2, 127.5, 125.1, 124.7, 122.7, 122.4, 122.1, 121.8, 43.0, 34.1, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 453.0.

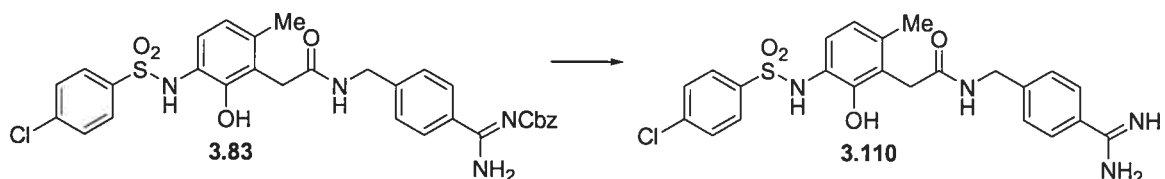


***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.108).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.25 (br, 2H), 8.80 (br, 2H), 7.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J = 8.0$

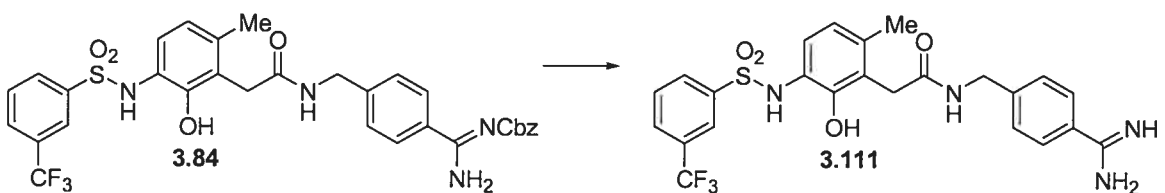
Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.2, 167.0, 163.6, 150.7, 145.7, 136.9, 130.9, 130.1, 129.7, 128.8, 128.3, 128.2, 127.1, 127.0, 124.7, 122.6, 122.1, 121.8, 114.1, 55.3, 43.0, 34.1, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 483.2.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-4-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.109).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.12 (br, 2H), 8.72 (br, 2H), 7.76-7.28 (m, 8H), 6.58 (m, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.65 (s, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.1, 152.8, 147.3, 144.1, 136.9, 136.6, 129.6, 129.5, 128.2, 128.0, 127.6, 124.5, 122.4, 121.7, 42.7, 34.3, 20.5, 19.0; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 467.1.

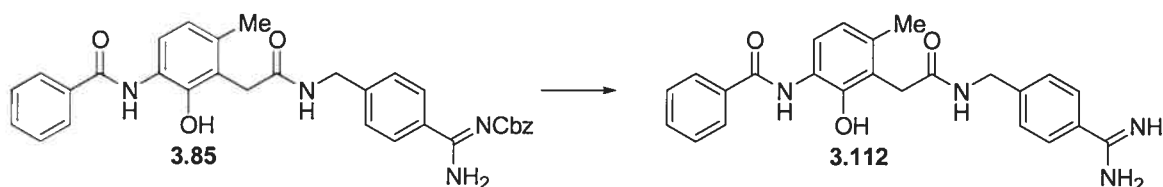


***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.110).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.23 (br, 2H), 8.76 (br, 2H), 7.77-7.44 (m, 8H), 6.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 167.3, 150.8, 145.9, 139.1, 138.4, 137.0, 130.0, 129.2, 129.0, 128.2, 128.1, 127.5, 124.8, 122.5, 122.4, 121.8, 54.9, 42.8, 34.3, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 487.1.

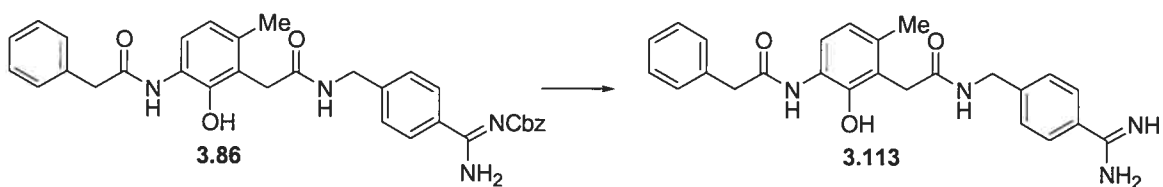


***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(3-trifluorométhyl-benzènesulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.111).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ

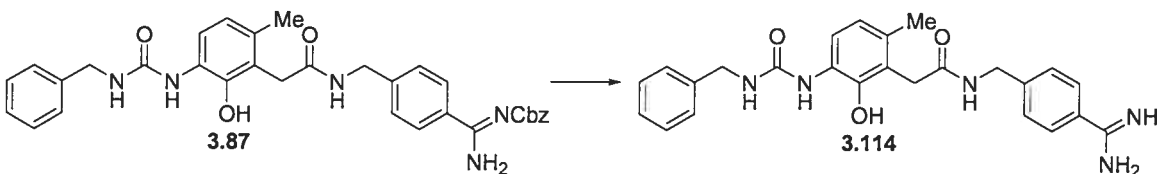
(ppm): 9.24 (br, 2H), 8.76 (br, 2H), 7.95-7.48 (m, 8H), 6.78 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.26 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 151.0, 145.9, 141.1, 137.1, 131.1, 130.0, 129.4, 128.8, 128.2, 128.1, 127.2, 125.0, 124.3, 122.5, 122.3, 121.8, 54.9, 42.8, 36.8, 34.3, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 521.0.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.112).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.11 (br, 2H), 8.78 (br, 2H), 8.01-7.29 (m, 9H), 7.27 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.2, 168.5, 167.0, 148.9, 145.9, 136.6, 133.9, 132.4, 132.0, 130.0, 128.8, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.4, 127.0, 124.4, 123.3, 123.0, 122.2, 121.9, 42.9, 34.2, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 417.

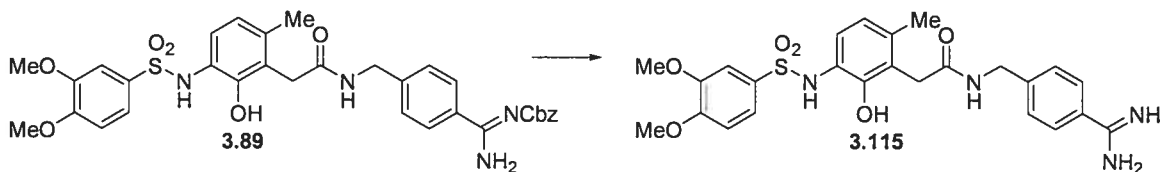


***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(4-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.113).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.15 (br, 2H), 8.73 (br, 2H), 7.93-7.25 (m, 9H), 7.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 2.30 (s, 3H); SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 431.



2-[3-(3-benzyl-ureido)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-*N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-acétamide (3.114). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.23 (br, 2H), 8.74 (br, 2H),

7.78-6.85 (m, 11H), 4.48 (s, 2H), 4.41 (s, 2H), 3.75 (s, 2H), 2.28 (s, 3H); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 446.1.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(3,4-diméthoxy-benzènesulfonylamino)-2-**

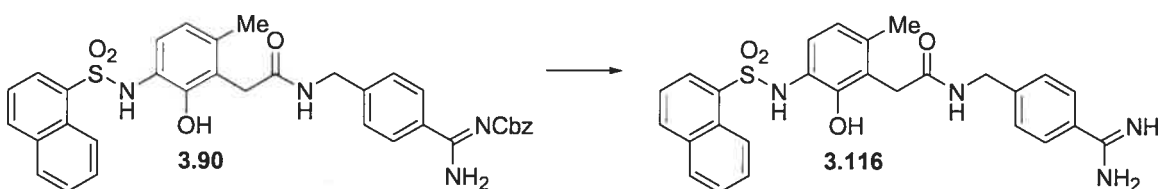
hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.115). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm):

9.22 (br, 2H), 8.79 (br, 2H), 7.76 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.78 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.47 (s,

2H), 3.81 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 174.1, 167.2, 153.2, 150.6, 149.2, 145.7, 136.8, 130.9, 128.3, 128.2,

127.2, 124.6, 123.0, 122.2, 121.8, 121.6, 110.8, 110.3, 55.8, 55.7, 43.0, 34.3, 19.2; SM

(m/z) [$M^+ + 1$]: 513.2; SMHR pour $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ calculée 513.1808, trouvée 513.1831.



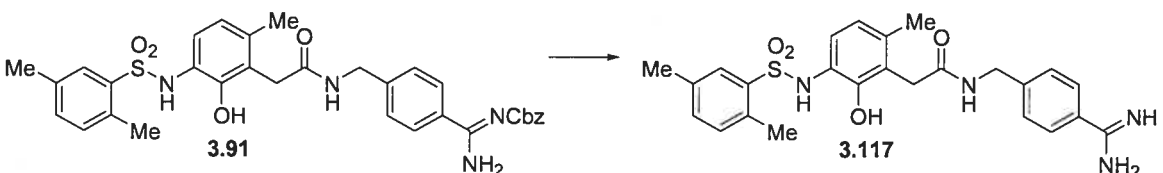
***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(naphthalène-1-**

sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.116). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm):

9.20 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 8.53 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 8.47-8.41 (m, 2H), 8.20-8.15 (m, 3H), 8.11-8.05 (m, 2H), 8.02-7.81 (m, 3H), 6.66 (q, $J = 11.6$ Hz, 2H), 4.64 (s, 2H), 3.73 (s,

2H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.7, 150.7, 145.9, 142.6, 136.9, 134.7, 134.6, 130.2, 129.1, 128.6, 128.3, 128.2, 127.1, 127.0, 124.9, 124.3, 124.2,

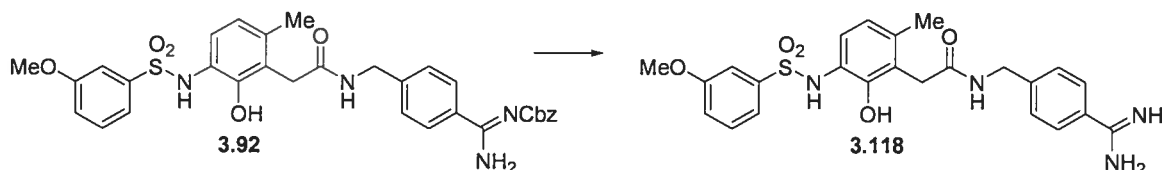
122.3, 122.2, 121.6, 63.5, 42.9, 37.0, 34.3, 31.5, 19.1; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 503.0.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(2,5-diméthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-**

6-méthyl-phényl]-acétamide (3.117). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.22 (br,

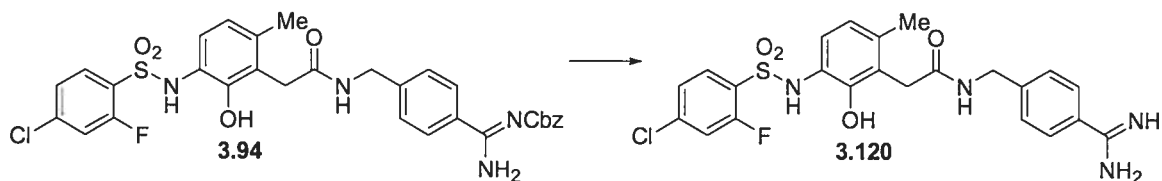
2H), 8.75 (br, 2H), 7.76 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.25 (s, 6H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 167.5, 150.2, 145.9, 137.5, 136.3, 136.2, 134.7, 133.7, 132.6, 130.2, 128.3, 128.2, 123.5, 122.7, 122.3, 121.8, 42.9, 34.4, 19.8, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 481.1; SMHR pour $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ calculée 481.1910, trouvée 481.1900.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[2-hydroxy-3-(3-méthoxy-benzènesulfonylamino)-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.118).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.22 (br, 2H), 8.74 (br, 2H), 7.75 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.36 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.11 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.7, 167.5, 160.2, 150.8, 146.0, 140.7, 136.9, 130.1, 128.2, 128.1, 127.3, 124.5, 122.6, 122.5, 121.7, 119.6, 119.2, 112.2, 60.6, 55.2, 42.8, 34.4, 19.9, 19.1, 13.5; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 2$]: 484.



***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(5-chloro-1,3-diméthyl-1*H*-pyrazole-4-sulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.119).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.21 (br, 2H), 8.74 (br, 2H), 7.75 (s, 2H), 7.50 (s, 2H), 6.83 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.74-3.65 (m, 5H), 2.70 (s, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.09 (s, 6H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 167.5, 150.9, 149.2, 145.9, 137.0, 130.4, 130.1, 128.9, 128.3, 128.2, 127.4, 125.0, 122.6, 122.4, 121.9, 114.7, 42.9, 36.0, 34.5, 19.3, 12.6; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 505.0; SMHR pour $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4\text{SCl}$ calculée 505.1425, trouvée 505.1408.

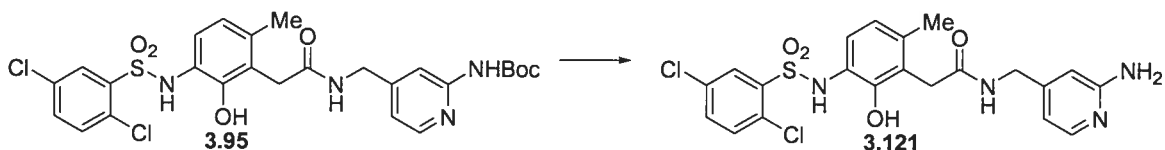


***N*-(4-carbamimidoyl-benzyl)-2-[3-(4-chloro-2-fluorobenzènesulfonylamino)-2-**

hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.120). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 9.21 (br, 2H), 8.73 (br, 2H), 7.75 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.68-7.60 (m, 2H), 7.49 (m, 2H), 7.30-7.21 (m, 2H), 6.80 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.57 (dd, $J = 2.0, 19.5$ Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.7, 167.4, 160.7, 150.6, 136.9, 135.9, 131.9, 130.8, 127.4, 124.8, 124.5, 124.0, 122.1, 121.9, 121.8, 118.0, 117.7, 117.2, 117.0, 50.2, 42.9, 34.4, 19.2; SM (m/z) [M^+]: 504.9; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_4\text{FSCl}$ calculée 505.1113, trouvée 505.1126.

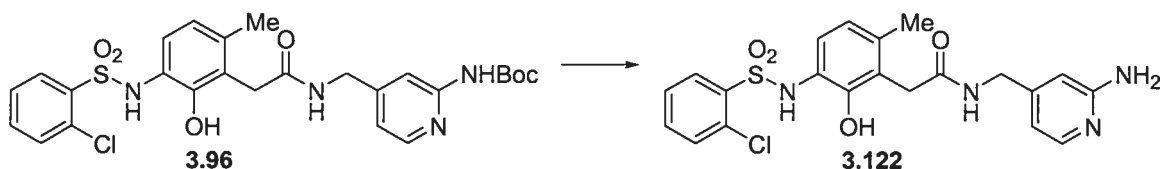
Procédure générale pour l'hydrolyse.

Dans une solution du *tert*-butyl carbamate dans le MeOH (0.03 M) est bullé du HCl gazeux pendant 5 minutes. Après avoir agité la solution pour 30 minutes, la solution est concentrée sous pression réduite pour donner les amino pyridines correspondantes.

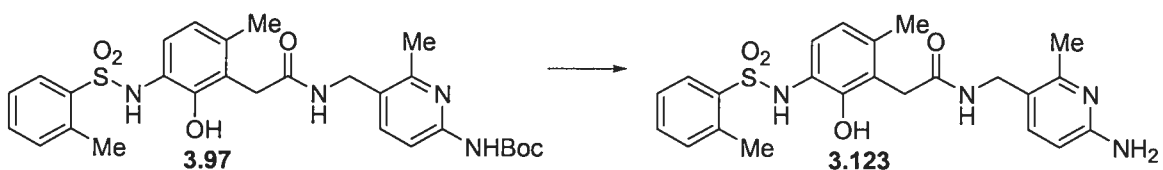


***N*-(2-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2,5-dichloro-benzènesulfonylamino)-2-**

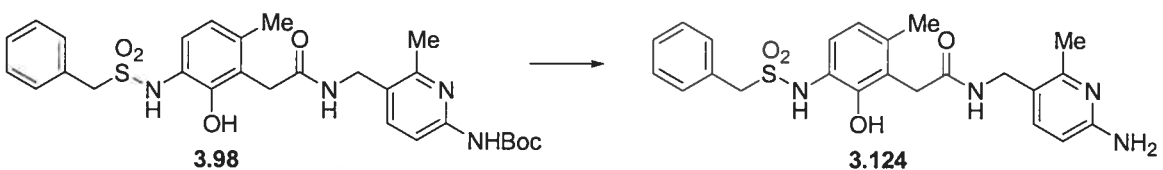
hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.121). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.76 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.80 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.57 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 2.28 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.9, 158.2, 138.1, 135.2, 134.2, 133.4, 133.1, 131.2, 125.0, 122.5, 121.8, 112.0, 111.8, 110.3, 42.4, 34.3, 19.1; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 495.0; SMHR pour $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4\text{SCl}_2$ calculée 495.0661, trouvée 495.0645.



***N*-(2-amino-pyridin-4-ylméthyl)-2-[3-(2-chloro-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.122).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.88-7.83 (m, 2H), 7.73-7.69 (m, 1H), 7.55-7.53 (m, 2H), 7.48 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.61 (s, 2H), 2.21 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.7, 144.8, 137.3, 134.4, 133.4, 132.1, 132.0, 131.9, 129.0, 127.2, 124.5, 124.2, 121.7, 121.5, 114.0, 60.5, 39.3, 34.3, 18.9, 13.5; SM (m/z) [M^+]: 460.2; SMHR pour $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4\text{SCl}$ calculée 461.1050, trouvée 461.1039.

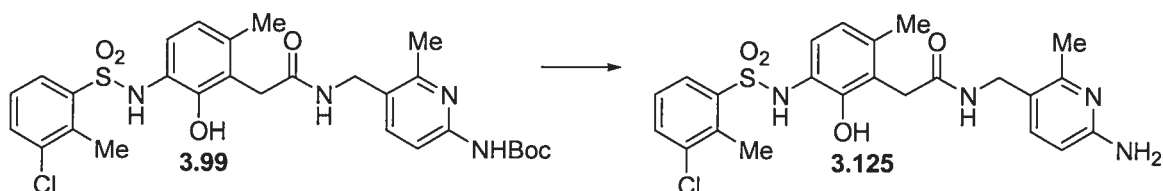


***N*-(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[2-hydroxy-6-méthyl-3-(toluène-2-sulfonylamino)-phényl]-acétamide (3.123).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.80 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.83 (dd, $J = 2.1, 8.9$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.53-6.48 (m, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.20 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.7, 150.5, 145.6, 144.1, 137.9, 137.1, 136.6, 133.1, 132.6, 130.0, 129.5, 127.6, 126.1, 124.7, 123.8, 122.4, 121.7, 110.6, 57.4, 38.6, 34.2, 19.6, 18.7, 16.2; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 455.1; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ calculée 455.1753, trouvée 455.1741.



***N*-(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-(2-hydroxy-6-méthyl-3-phénylméthanesulfonylamino-phényl)-acétamide (3.124).** ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.83 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.33 (m, 5H), 7.14 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.81

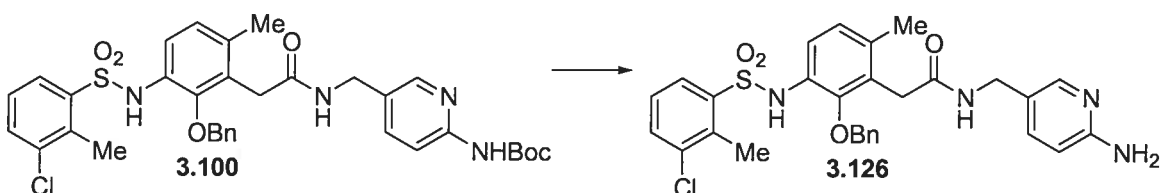
(d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 3.69 (s, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 173.8, 154.1, 149.8, 145.7, 145.0, 136.3, 131.1, 129.5, 128.6, 128.5, 123.8, 123.4, 122.7, 122.2, 121.6, 110.5, 57.0, 38.6, 34.4, 19.0, 15.8; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 455.0.



***N*-(6-amino-2-méthylpyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-**

benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.125). ^1H RMN

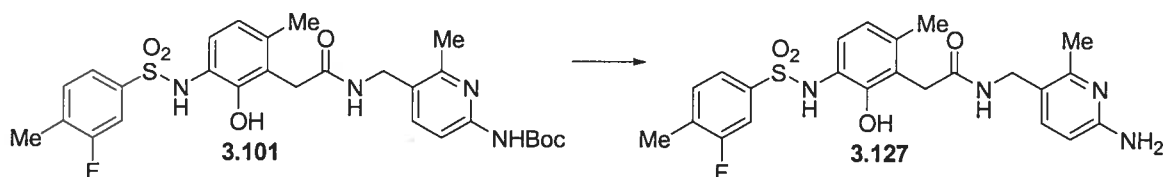
(400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 171.3, 155.1, 151.7, 148.4, 146.7, 137.8, 136.6, 134.7, 129.9, 127.7, 125.3, 123.4, 122.7, 111.5, 61.5, 39.6, 35.3, 20.0, 17.1, 16.8, 14.4; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 489.



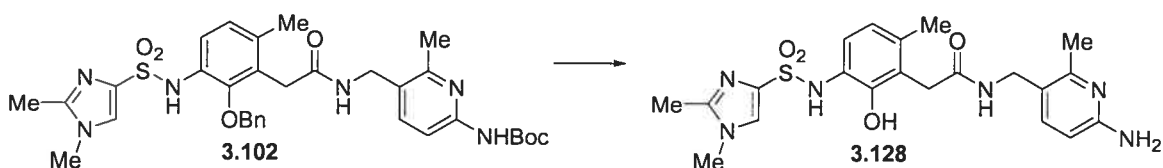
***N*-(6-amino-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-chloro-2-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-**

hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.126). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm):

7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.79-7.72 (m, 2H), 7.57 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.9, 150.5, 144.8, 140.2, 136.9, 136.7, 135.6, 133.8, 133.5, 128.9, 126.8, 124.3, 124.1, 122.4, 121.9, 114.1, 57.4, 39.5, 34.4, 19.1, 17.4, 16.3; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 475.0; SMHR pour $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{SCl}$ calculée 475.1207, trouvée 475.1211.



***N*-(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(3-fluoro-4-méthyl-benzènesulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.127).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.38 (s, 2H), 7.34 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.57 (dd, $J = 8.2, 12.7$ Hz, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.5, 151.1, 145.7, 145.0, 139.0, 137.3, 132.2, 131.0, 124.8, 123.4, 122.5, 122.0, 121.7, 114.0, 110.6, 57.3, 38.6, 34.3, 19.0, 17.4, 13.6; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 2$]: 474; SMHR pour $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{FS}$ calculée 473.1659, trouvée 473.1653.



***N*-(6-amino-2-méthyl-pyridin-3-ylméthyl)-2-[3-(1,2-diméthyl-1H-imidazole-4-sulfonylamino)-2-hydroxy-6-méthyl-phényl]-acétamide (3.128).** ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.85 (m, 2H), 7.00-6.96 (m, 1H), 6.87 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.70 (s, 1H), 3.64 (s, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.27 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173.8, 154.6, 151.6, 148.1, 145.9, 145.2, 138.1, 130.1, 126.9, 126.7, 122.9, 122.3, 121.3, 110.8, 60.6, 51.8, 38.9, 34.8, 19.4, 16.1, 13.5; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 459.1; SMHR pour $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ calculée 459.1815, trouvée 459.1829.

VI.4 Procédures expérimentales pour la modélisation moléculaire du chapitre IV

A. Étude comparative de programmes de *docking* et application à la conception d'inhibiteurs potentiels des MPMs

La modélisation moléculaire a été effectuée sur un ordinateur Silicon Graphics Octane 2 équipé d'un processeur 360 MHz R12000 sous IRIX 6.5. Les molécules ont été manipulées avec les programmes de visualisation InsightII version 95.0 (Accelrys) et MacroModel version 5.5 (Schrödinger).

Les coordonnées cartésiennes des 36 complexes ligand/MPM ont été récupérées à partir de la base de données PDB et les molécules d'eau ont été enlevées. Les codes PDB utilisés sont les suivants: **MPM-1**: 3AYK, 1FBL, 1HFC, 1TCL, 966C; **MPM-2**: 1QIB; **MPM-3**: 1B3D, 1B8Y, 1BIW, 1BQO, 1CAQ, 1CIZ, 1HFS, 1SLM, 1SLN, 1UEA, 1UMT, 1USN, 2USN, 3USN; **MPM-8**: 1A85, 1A86, 1JAN, 1JAO, 1JAP, 1JAP, 1KBC, 1MMB, 1MNC, 1BZS; **MPM-9**: 1MMP, 1MMQ, 1MMR; **MPM-13**: 456C, 830C, 1CVX.

Les hydrogènes polaires ont été rajoutés et les structures ont été visuellement inspectées. Les types d'atomes et les charges ont été ajoutés en utilisant le champ de forces AMBER. Ce dernier a été modifié pour inclure les paramètres de l'ion de zinc. Les charges partielles des inhibiteurs ont été assignées à leur tour avec la méthode semi-empirique MNDO telle que retrouvée dans le programme MOPAC.

GRID. La version 17.0 a été utilisée. Le site actif d'une MMP-3 a été cartographié en utilisant les sondes DRY (hydrophobique), O= (oxygènes de sulfonamide), O (oxygène de carbonyle), N1 (hydrogène d'amide) et OH2 (eau). La flexibilité a été considérée (MOVE = 1) ainsi que 2 plans par Ångström (NPLA = 2) tandis que les autres paramètres par défaut ont été conservés.

DOCK. La version 4.0 a été utilisée. Le site actif des enzymes a été représenté par des sphères en suivant le protocole de Kuntz et ces dernières ont été inspectées visuellement. Une optimisation préliminaire a montré qu'une moyenne de 40 à 50 sphères par groupe (*cluster*) était idéale. Une grille centrée sur le site actif de l'enzyme de dimension 61 x 61 x 61 avec des points espacés de 0.375 a été calculée. Les paramètres pour les groupements aryles de sulfonamide ont été rajoutés dans les fichiers de définitions `flex.defn` et `felx_drive.tbl`. Un survol des structures cristallines de sulfonamides a montré que les valeurs des dièdres $C_{ar}-C_{ar}-S(O)_2-N$ étaient généralement de 90 et -90. (`flex.defn`: name sulfone-arom, drive_id 64, minimize 0, definition S (2 O [*]) C.ar; `flex_drive.tbl`: drive_id 64, positions 2, torsions -90 90). Durant l'exécution du programme DOCK, la flexibilité du ligand a été considérée alternativement par la méthode de l'ancre multiple (taille: 3 atomes) et la méthode de recherche simultanée. La minimisation concomitante des torsions et du ligand a été effectuée. Les méthodes d'orientation multiple utilisant alternativement la recherche aléatoire ou l'appariement dirigé automatique ont été également considérées. Les scores intra- et intermoléculaires ont été calculés suite au filtre de contact. Les conformères modélisés ont été optimisés davantage par 250 pas de minimisation avec des valeurs initiales de translation, rotation et torsions de 2 Å, 0.2 et 20° respectivement. Finalement, les poses finales ont été rangées selon l'énergie calculée par la fonction d'évaluation incluse dans le programme et les rSMd relatifs aux structures cristallines ont été mesurés.

AutoDock. La version 3.0.5 a été utilisée. Les enzymes et les ligands ont été préparés en suivant la procédure telle que décrite dans le manuel d'utilisation du programme. Les grilles ont été calculées selon les mêmes dimensions que précédemment (*c.f.* DOCK) en incluant les paramètres de solvation dans la fonction d'évaluation. La population initiale a été constituée de façon aléatoire pour un total de 100 individus. Des pas de translation de 1 Å et de rotation de 50° ont été choisis. Un nombre maximum d'évaluations d'énergie variant de 600 000 à 1 700 000 (100 000 par torsions) et 27 000 générations ont été considérées. Les paramètres de mutation, croisement et élitisme ont été conservés par défaut. La recherche locale de pseudo-Solis et Wets a été incluse avec ses paramètres par défaut.

B. Développement d'un protocole pour le *docking* flexible d'inhibiteurs dans la β -sécrétase flexible

Le protocole développé a été entièrement intégré dans l'interface du programme InsightII (version 2000.2, Accelrys) en utilisant le code BCL ainsi que des scripts awk et perl. Les charges partielles des atomes de la protéine ont été assignées avec le champ de force AMBER94 tandis que les charges du ligand ont été calculées selon la méthode semi-empirique MNDO. Les paramètres manquants (e.g. sulfonamide) ont été obtenus du champ de forces Amber* tel que distribué avec le programme MacroModel (Schrödinger). Les fonctions d'évaluation LigScore1, LigScore2, PLP1 et PLP2 ont été obtenues en utilisant le programme Cerius 2 (Accelrys). Les fonctions d'évaluation PMF, D_Score, G_Score et Chem_Score ont été obtenues sous leur forme "standalone" distribuées par Tripos Inc.

Les enzymes de départ ont été préparées de la façon suivante. Les structures cristallines des complexes inhibiteurs/ β -sécrétase ont été obtenues à partir de la PDB (codes: 1FKN, 1M4H et 1YM4) et d'un brevet¹⁶² (American Home Product). Les hydrogènes ont été rajoutés, l'énergie minimisée et le tout a été visuellement inspecté. Les inhibiteurs et les molécules d'eau ont été enlevés du complexe. Les enzymes ont été tronquées de façon à réduire le temps des calculs. Ainsi, tous les résidus possédant au moins un atome à l'intérieur d'un rayon de 15 Å du ligand OM99-2 ont été conservés. L'acide aspartique Asp32 a été considéré sous sa forme protonée tandis que l'acide aspartique Asp228 sous sa forme ionisée.

L'algorithme génétique a été écrit en utilisant le code BTCL tel que supporté sous Discover 3.0 en suivant ce protocole:

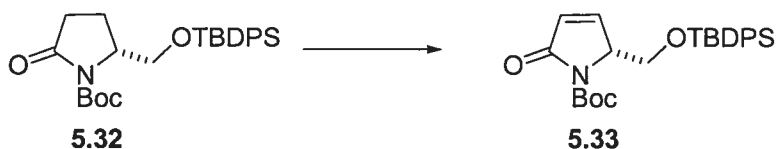
1. Une population de 300 individus est créée suite à la rotation aléatoire (Monte Carlo) des torsions en conservant le groupement hydroxyle fixe (ancree) suivie d'une minimisation rapide. Les individus possédant une énergie inférieure à 3000 kcal.mol⁻¹

ont été conservés. La population initiale a été construite en utilisant les six structures cristallines. 2. Un nombre défini d'opération génétique a été initié (la population converge généralement à l'intérieur de 100 à 200 générations). 2.1. Deux parents sont sélectionnés à partir de la population initiale. 2.2. Deux enfants sont issus par un croisement en deux points (un pour l'enzyme et un pour le ligand). 2.3. Un taux de mutation de 0.05 est appliqué. 2.4. Une fraction (0.25) de la population est optimisée selon 250 pas de minimisation utilisant la méthode de gradient conjugué selon un critère de convergence de $0.001 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Durant l'étape de minimisation, les hydrogènes des groupements hydroxyles (Tyr et Thr) sont libres de mouvement, permettant ainsi l'optimisation des interactions avec l'enzyme. 2.5. Les enfants sont archivés si l'énergie potentielle est inférieure à celle des parents, sinon les parents sont conservés. 2.6. Le protocole est ensuite réitéré jusqu'à ce que la convergence soit atteinte, c'est à dire lorsque plus de 80% de la population est constituée par une conformation unique.

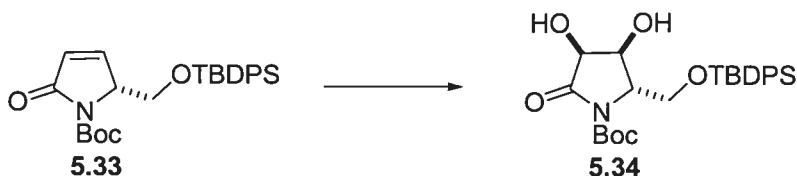
La fonction d'évaluation utilisée pendant le *docking* a été une simple évaluation de l'énergie utilisant un terme coulombique pondéré de 0.5. Une constante diélectrique dépendante de la distance ($\epsilon = 4*r$) a été utilisée pour compenser le phénomène de désolvation. Les chaînes latérales suivantes ont été considérées flexibles lors du protocole: Gln12, Leu30, Asp32, Tyr71, Thr72, Gln73, Phe108, Ile118, Ile126, Arg128, Tyr198, Lys224, Asp228, Thr231, Thr232, Arg235, Arg307, Lys321. Chacune de ces chaînes latérales a été codée comme un gène et le reste de la protéine (squelette et autres chaînes latérales) a été codé pour un gène unique.

Les structures modélisées ont été optimisées davantage par une minimisation utilisant la méthode de gradient conjugué avec un critère de convergence de $0.001 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Ensuite, ces structures ont été évaluées avec RankScore. Cette fonction inclut les interactions de van der Waals et coulombiques tels que mesurés par AMBER94. Les contributions des ponts hydrogènes ont été évaluées en utilisant des scripts pour extraire les valeurs à partir des fichiers. Différents scripts awk et perl ont été créés afin de combiner les différentes valeurs et d'automatiser les calculs.

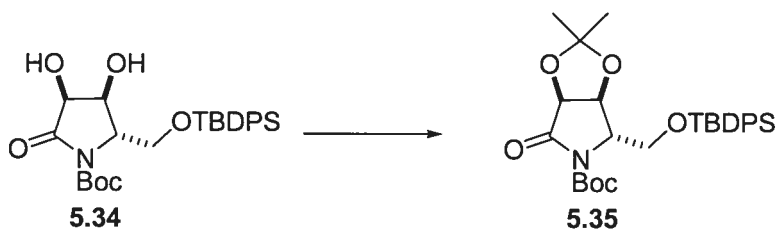
VI.5 Procédures expérimentales des composés du chapitre V



(2*R*)-2-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-5-oxo-2,5-dihydro-pyrrole-1-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.33). Dans une solution du dérivé de l'acide pyroglutamique **5.32** (5.5 g, 9.93 mmol) dans le THF (40 mL), a été ajouté LiHMDS (11.0 mL, 10.93 mmol) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Après avoir agité pour 50 minutes, une solution du bromure de phénylsélényle (3.5 g, 14.90 mmol) dans le THF (5 mL) a été ajoutée. La solution résultante a été agitée pendant une période de 2h au cours de laquelle la température a été graduellement remontée à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Dans une solution du résidu précédent dans le CH_2Cl_2 (40 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, ont été ajoutés pyridine (5 mL) et le peroxyde d'hydrogène (5 mL). La solution résultante a été agitée pendant une période de 1h au cours de laquelle la température a été graduellement remontée à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solution a été neutralisée avec H_2O et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner la lactame insaturée **5.33** (3.66 g, 82%); $[\alpha]_{\text{D}} +114.6$ (c 1.2, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.64-7.60 (m, 4H), 7.46-7.38 (m, 6H), 7.28 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.14 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 3.77 (dd, $J = 1.8, 6.4$ Hz, 1H), 1.45 (m, 9H), 1.05 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 170.0, 149.8, 135.9, 135.8, 133.3, 133.1, 130.4, 128.3, 128.2, 127.8, 83.3, 63.9, 63.4, 28.4, 27.1, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3422, 2933, 1782, 1744, 1712, 1321, 1355, 1321, 1161, 1114; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 452.5.

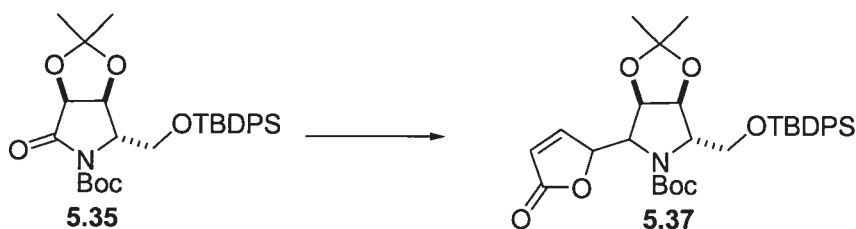


(2*S*,3*S*,4*S*)-2-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3,4-dihydroxy-5-oxo-pyrrolidine-1-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.34). Dans une solution de la lactame insaturée **5.33** (3.66 g, 8.12 mmol) dans un mélange 4:1 acétone-H₂O (50 mL), ont été ajouté OsO₄ (100 mg, 0.41 mmol) et une solution aqueuse 50% de NMO (3.36 mL, 16.23 mmol). Après avoir agité pendant la nuit, la réaction a été neutralisée avec une solution saturée de sodium hydrosulfite et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner le diol **5.34** (3.13 g, 79%); $[\alpha]_D +0.01$ (c 1.1, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.69-7.55 (m, 4H), 7.47-7.32 (m, 6H), 4.75 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.56 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.13 (s, 1H), 3.90-3.84 (m, 2H), 3.63-2.99 (br, 2H), 1.42 (m, 9H), 1.01 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 174.7, 149.8, 135.9, 135.8, 132.8, 132.15, 130.5, 128.4, 84.1, 72.1, 69.6, 65.1, 62.9, 28.3, 27.2, 19.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3438, 2930, 1784, 1720, 1370, 1308, 1153, 1114; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 486.7.



(1*aS*,3*aS*,6*S*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-oxo-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.35). Dans une solution du diol **5.34** (2.55 g, 5.26 mmol) dans l'acétone (21 mL), a été ajouté diméthoxypropane (1.3 mL, 10.52 mmol) suivi d'une quantité catalytique de l'acide *p*-toluènesulfonique (30 mg). Après avoir agité pour 1.5h, la solution a été neutralisée avec H₂O puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'acétal **5.35** (2.64 g, 95%);

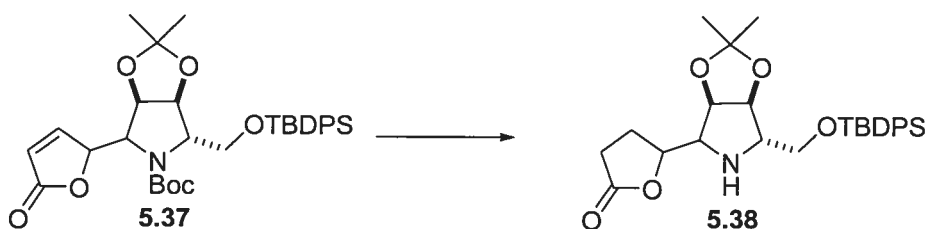
$[\alpha]_D +53.9$ (c 1.2, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.61-7.53 (m, 4H), 7.45-7.34 (m, 6H), 4.82 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.98 (dd, $J = 2.2, 10.8$ Hz, 1H), 3.76 (dd, $J = 1.2, 10.7$ Hz, 1H), 1.45 (m, 12H), 1.38 (s, 3H), 1.02 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.6, 150.0, 135.9, 135.8, 132.9, 132.3, 130.5, 128.3, 112.4, 84.0, 78.7, 76.1, 63.2, 62.3, 28.4, 27.6, 27.2, 26.1, 19.5; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2934, 1793, 1763, 1718, 1370, 1370, 1308, 1154, 1104; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 526.8; SMHR pour $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{NO}_6\text{Si}$ calculée 526.2625, trouvée 526.2613.



(1*aS*,3*aS*,6*S*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-(5-oxo-2,5-dihydro-furan-2-yl)-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N-tert*-

butyloxycarbonyl (5.37). Dans une solution de la lactame 5.35 (1.96 g, 3.73 mmol) dans le toluène (25 mL) à -78 °C, a été ajouté une solution 1.5 M de DibalH dans le toluène (3.73 mL, 5.59 mmol) et la solution a été agitée pendant 2h. Du méthanol (4 mL) a été ajouté à -78 °C et la solution a été agitée pour 30 min. Ensuite, Et_2O (25 mL) a été ajouté et la solution a été réchauffée à la température ambiante, suivi de H_2O (1 mL). Le gel formé a été filtré sur Celite et lavé avec AcOEt (45 mL). Le filtrat a été concentré sous pression réduite et le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le CH_2Cl_2 (25 mL), Et_3N (1.56 mL, 11.2 mmol) et DMAP (quantité catalytique) ont été ajoutés suivi de Ac_2O (1.05 mL, 11.2 mmol). Après avoir laissé l'agitation pendant la nuit, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (5 mL) et extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 50 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair ($\text{AcOEt}/\text{Hexanes}$ 30:70) pour donner l'acétate (1.87 g, 88%). Dans une solution de l'acétate obtenu précédemment (1.87 g, 3.28 mmol) dans le CH_2Cl_2 (16.5 mL) à -78 °C, a été ajouté $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.25 mL, 1.97 mmol) suivi du triméthylsilyloxyfuran (0.83 mL, 4.92 mmol). Après avoir agité pour 2h, la solution a été neutralisée avec une solution

10% HCl (3 mL) et extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 30 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner le buténolide **5.37** (1.5 g, 77%) sous forme d'un mélange inséparable; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2933, 1765, 1698, 1383, 1114; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 594.4.



(1*aS*,3*aS*,6*S*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrol-4-yl-5-(5-oxo-furan-2-yl) (5.38).

Dans une solution du buténolide **5.37** (830 mg, 1.40 mmol) dans le AcOEt (10 mL), palladium sur charbon (15 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant la nuit, la suspension a été filtrée sur Celite, rincée avec AcOEt (3 x 15 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner une huile incolore. Dans une solution de l'huile précédente dans le CH₂Cl₂ (5 mL), a été ajouté *B*-bromocatécholborane (362 mg, 1.82 mmol) par portions. La solution a été agitée pendant 4h, neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ (7 mL) puis extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'amine **5.38** (568 mg, 82%) sous forme de mélange inséparable; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.68-7.66 (m, 4H), 7.44-7.26 (m, 6H), 4.66-4.32 (m, 3H), 3.81 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.39-3.31 (m, 2H), 2.58-2.50 (m, 3H), 2.34-2.15 (m, 2H), 1.51 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 177.3, 177.1, 136.0, 135.9, 133.7, 133.6, 130.3, 130.2, 128.2, 128.1, 114.4, 114.3, 82.4, 82.1, 81.9, 81.6, 81.1, 80.3, 67.9, 67.0, 65.6, 65.5, 65.4, 65.0, 60.8, 28.8, 27.8, 27.3, 25.7, 25.6, 24.9, 24.2, 19.7, 19.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2933, 1781, 1428, 1213, 1113; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 496.3.

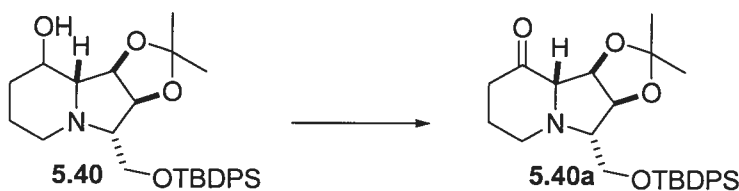


(1*aS*,3*aR*,5*aR*,9*S*)-9-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-hydroxy-hexahydro-indolizin-8-one (5.39). Dans une solution de l'amine **5.38** (430 mg, 0.87 mmol) dans le méthanol (10 mL) à 0 °C, du méthanolate de sodium (0.5 mL, 25% solution) a été ajouté et la solution a été agitée pendant 3h. La solution a été concentrée sous pression réduite, une solution saturée de NaHCO₃ (3 mL) a été ajoutée puis extraite avec AcOEt (3 x 10 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 60:40) pour donner l'indolizidinone **5.39** (366 mg, 85%) sous forme de mélange inséparable; Pf: 97-99 °C; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.70-7.63 (m, 4H), 7.48-7.36 (m, 6H), 4.83 (t, *J* = 5.8 Hz, 0.5H), 4.64 (d, *J* = 6.3 Hz, 0.5H), 4.48 (dd, *J* = 4.0, 7.1 Hz, 0.5H), 4.38 (t, *J* = 6.6 Hz, 0.5H), 4.24 (br, 0.5H), 4.09 (br, 0.5H), 3.90-3.82 (m, 1H), 3.74-3.66 (m, 1H), 3.48 (m, 0.5H), 3.23 (br, 0.5H), 2.96 (m, 2H), 2.67 (d, *J* = 4.4 Hz, 0.5H), 2.50 (m, 0.5H), 2.10 (m, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.06 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.0, 136.1, 135.9, 133.4, 133.1, 132.9, 130.5, 130.4, 130.3, 128.3, 128.2, 113.0, 82.6, 82.0, 70.2, 69.8, 64.7, 63.2, 62.5, 30.6, 28.4, 27.4, 26.0, 19.7; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2934, 1627, 1428, 1113; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 496.3.



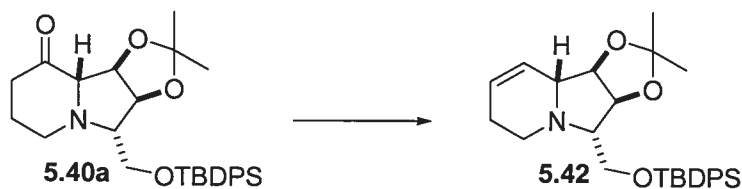
(1*aS*,3*aR*,5*aR*,9*S*)-9-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-hydroxy-indolizidine (5.40). Dans une solution de l'indolizidinone **5.39** (260 mg, 0.53 mmol) dans le THF (2.0 mL) à 0 °C, borane (BH₃.Me₂S) (0.26 mL, 0.53 mmol) a été ajouté et la solution a été agitée pendant 1h. La solution a été neutralisée avec EtOH (1 mL) et la solution a été concentrée sous pression réduite. EtOH (5 mL) a été ajouté à nouveau au résidu et la solution a été chauffée à reflux pendant 6h puis concentrée sous pression réduite. Le

résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 40:60) pour donner l'indolizidine **5.40** (213 mg, 84%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.69-7.67 (m, 4H), 7.46-7.38 (m, 6H), 4.58 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.47 (dd, $J = 4.2, 7.1$ Hz, 1H), 4.02 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 4.3, 11.0$ Hz, 1H), 3.74 (dd, $J = 3.6, 10.9$ Hz, 1H), 2.92 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.40 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.09 (m, 1H), 1.88 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.43 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 1.08 (s, 9H). SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 481.3

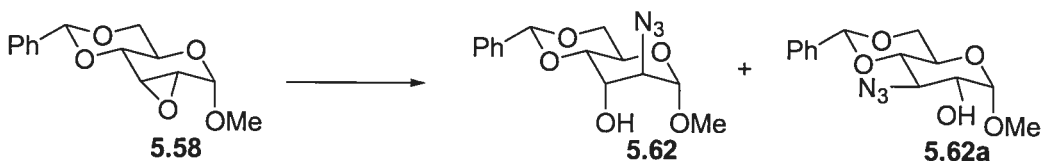


(1*aS*,3*aR*,5*aR*,9*S*)-9-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-6-oxo-indolizidine

(5.40a). Dans une solution du chlorure d'oxalyle (0.04 mL, 0.42 mmol) dans le CH_2Cl_2 (3 mL) a été ajouté à -78 °C, du DMSO (0.03 mL, 0.44 mmol). Après avoir agité pour 30 minutes, une solution de l'alcool secondaire **5.40** (100 mg, 0.21 mmol) dans le CH_2Cl_2 (1 mL) a été ajoutée. Après avoir agité la solution résultante pour 30 minutes, Et_3N (0.58 mL, 4.2 mmol) a été ajouté et après 1h, la solution a été neutralisée avec H_2O (5 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 7 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite pour donner la cétone **5.40a** (100 mg, 99%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.69 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H), 7.45-7.39 (m, 6H), 4.71 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.40 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 5.2, 10.9$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J = 3.9, 10.7$ Hz, 1H), 3.21 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 2.93 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 2.79 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 2.51-2.42 (m, 2H), 2.29 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.07 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 204.6, 136.1, 136.0, 130.2, 128.1, 114.5, 80.1, 76.8, 71.7, 64.2, 50.2, 27.6, 26.7, 25.9, 25.5, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932, 2858, 1731, 1428, 1382, 1210, 1113; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 480.4.



(1*R*,2*S*,3*S*,8*aR*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8*a*-hexahydro-indolizine-1,2-diméthylacétonide (5.42). Dans une solution de la cétone **5.40a** (100 mg, 0.21 mmol) dans le THF (5 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a été ajouté une solution 1.0 M de NaHMDS dans le THF (0.32 mL, 0.32 mmol). Après avoir agité à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour 30 min, le *N*-(5-chloro-2-pyridyl)triflimide (130 mg, 0.32 mmol) a été ajouté et la solution a été agitée pendant 1h à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis 16h à la température ambiante. La réaction a été neutralisée par l'ajout d'une solution saturée de NH_4Cl et la phase aqueuse extraite avec Et_2O . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite pour donner le triflate qui a été utilisé sans purification. Dans une solution du triflate précédent dans le THF (10 mL), ont été ajouté tétrakis(triphénylphosphine)palladium (4 mg, 0.004 mmol), LiCl (13 mg, 0.63 mmol) puis *n*- Bu_3SnH (0.08 mL, 0.27 mmol). Après avoir agité la réaction à reflux pendant la nuit, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'indolizidine insaturée **5.42** (68 mg, 71%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.75-7.73 (m, 4H), 7.45-7.37 (m, 6H), 5.94 (td, $J = 1.2, 10.0$ Hz, 1H), 5.75-5.73 (m, 1H), 4.46 (q, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.95 (dd, $J = 5.7, 10.5$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 5.1, 10.5$ Hz, 1H), 3.21 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.84-2.80 (m, 1H), 2.45 (td, $J = 6.6, 10.9$ Hz, 1H), 2.31-2.28 (m, 1H), 2.09-2.00 (m, 1H), 1.55 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.10 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 135.6, 135.5, 133.5, 133.4, 129.6, 127.7, 126.3, 113.5, 81.5, 81.1, 69.8, 67.5, 64.5, 47.0, 27.2, 26.7, 26.1, 25.2, 19.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2931, 2858, 1428, 1211, 1128; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 464.2.



Méthyl 2-azido-2-déoxy-4,6-*O*-benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.62) et méthyl 3-azido-3-déoxy-4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside (5.62a). Dans une solution de l'époxide **5.58** (714 mg, 2.70 mmol) dans un mélange méthoxyéthanol-H₂O (4:1, 8 mL), a été ajouté le chlorure d'ammonium (300 mg, 16.2 mmol) suivi de l'azidure de sodium (714 g, 2.70 mmol). Après avoir agité à reflux pendant 12h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner, dans un ratio 10:1, l'azido-alcool **5.62** (660 mg, 79%) et le régioisomère **5.62a** (75 mg, 8%); **azido-alcool 5.62**: $[\alpha]_D +42.2$ (c 4.2, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.54-7.50 (m, 2H), 7.42-7.29 (m, 3H), 5.67 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.37 (dd, $J = 6.8, 13.5$ Hz, 1H), 4.25-4.18 (m, 2H), 3.94-3.82 (m, 3H), 3.49 (s, 3H), 2.98 (br, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 137.6, 129.7, 128.7, 126.7, 102.7, 99.9, 76.4, 69.4, 67.9, 62.3, 58.6, 56.3; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3492, 2107, 1136, 1102, 1047; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 308.2; **Régioisomère 5.62a**: Pf: 103-108 °C; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.52 (m, 2H), 7.38 (m, 3H), 5.57 (s, 1H), 4.78 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 4.32 (dd, $J = 4.6, 10.1$ Hz, 1H), 3.84 (m, 3H), 3.65 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 3.47 (s, 1H), 2.26 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 136.6, 129.0, 128.2, 125.9, 101.4, 99.0, 79.4, 71.6, 68.7, 63.5, 62.6, 55.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3423, 2110, 1369, 1078, 994; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 308.2.



Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-allopyranoside (5.63). Dans une solution du chlorure d'oxalyle (0.7 mL, 0.8 mmol) dans le CH₂Cl₂ (10 mL) a été ajouté à -78 °C du DMSO (0.84 mL, 0.84 mmol). Après avoir agité pour 30 minutes, une solution de l'azido-alcool **5.62** (130 mg, 0.4 mmol) dans le CH₂Cl₂ (5 mL) a été ajoutée. Après avoir agité la solution résultante pour 30 minutes, *N,N*-diisopropyléthylamine (0.25 mL, 2.0 mmol) a été ajoutée et après 0.75h, la solution a été

neutralisée avec une solution saturée de NH_4Cl (10 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 (3 x 15 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le THF (5 mL) à $-78\text{ }^\circ\text{C}$, a été ajouté le bromure de méthylmagnésium (0.27 mL, 0.8 mmol). Après avoir agité pendant 7h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH_4Cl et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'alcool tertiaire **5.63** (95 mg, 74%); Pf: 110-113 $^\circ\text{C}$; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.50 (m, 2H), 7.38 (m, 3H), 5.57 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.90 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.36 (q, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.76 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.34 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.09 (br, 1H), 2.97 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 1.47 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 137.6, 129.5, 128.7, 126.6, 102.3, 100.8, 82.4, 74.0, 69.4, 63.2, 59.7, 56.6, 22.3; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3480, 2927, 2102, 1264, 1100, 1037; SM (m/z) [M^++1]: 322.3.



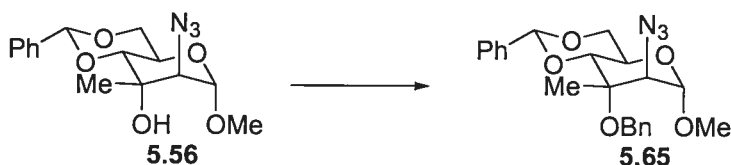
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-4,6-O-benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.56).

Dans une solution de l'azido-alcool **5.62** (3.31 g, 10.8 mmol) dans le CH_2Cl_2 (80 mL), a été ajouté le periodinane de Dess-Martin (5.6 g, 13.0 mmol). Après avoir agité pendant 0.5h, la solution a été filtrée sur silice pour donner la cétone brute. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le THF (40 mL) à $-78\text{ }^\circ\text{C}$, a été ajouté le bromure de méthylmagnésium (20 mL, 54 mmol). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH_4Cl et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool tertiaire **5.56** (2.5 g, 71%); $[\alpha]_{\text{D}} -3.1$ (c 3.6, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.50 (dd, $J = 3.2, 7.7$ Hz, 2H), 7.38-

7.36 (m, 3H), 5.60 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.34 (dd, $J = 5.0, 10.2$ Hz, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.82 (td, $J = 5.2, 10.2$ Hz, 1H), 3.63 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.49 (s, 3H), 1.43 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 137.0, 128.7, 127.9, 125.9, 101.8, 99.8, 78.9, 71.2, 68.5, 66.0, 59.6, 55.5, 21.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3502, 2110, 1398, 1132, 1108, 1045; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 322.3.



Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-6-O-benzyl- α -D-gulopyranoside (5.64). Dans une solution de l'alcool tertiaire **5.56** (250 mg, 0.78 mmol) dans le THF (20 mL) à 0 °C, a été ajouté une solution 1.0 M de cyanure et borohydrure de sodium dans le THF (15.6 mL, 15.6 mmol). Après avoir agité à 0 °C pendant 10 min, la solution a été acidifiée avec une solution d'acide chlorhydrique dans l'éther diéthylique jusqu'à ce que le pH soit 3-4. Après avoir agité pour 15 minutes additionnelles, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'éther benzylique primaire **5.64** (205 mg, 82%); Pf: 107-109 °C; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.36-7.26 (m, 5H), 4.89 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.84 (dd, $J = 1.6, 9.7$ Hz, 1H), 3.75 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 3.72-3.67 (m, 2H), 3.49 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.48 (s, 3H), 2.36 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 1.37 (s, 3H); SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 324.2.

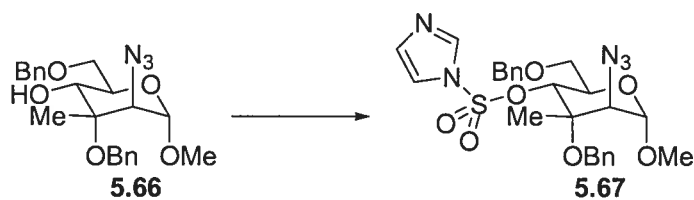


Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène- α -D-gulopyranoside (5.65). Dans une solution de l'alcool tertiaire **5.56** (3.23 g, 10.1 mmol) dans le THF (70 mL) à 0 °C, a été ajouté l'hydrure de potassium (2 g, 15.1 mmol) suivi du bromure de benzyle (1.8 mL, 15.1 mmol) après 30 minutes. Après avoir agité

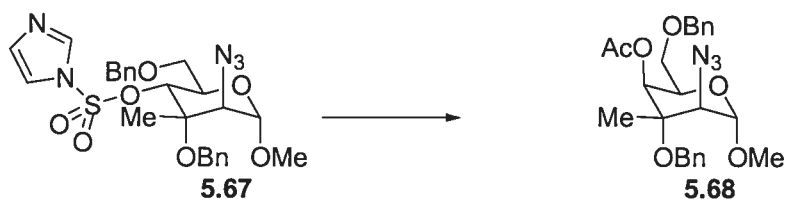
pendant 8h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'éther benzylique **5.65** (3.1 g, 75%); [α]_D +7.2 (*c* 1.46, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.55-7.53 (m, 2H), 7.49-7.48 (m, 3H), 7.46-7.38 (m, 5H), 5.57 (s, 1H), 4.88 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.72 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.47 (m, 1H), 4.37 (dd, *J* = 5.4, 10.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.77 (t, *J* = 9.9 Hz, 2H), 3.48 (s, 3H), 1.60 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 139.4, 137.6, 130.5, 128.9, 128.2, 128.0, 126.8, 126.6, 126.2, 102.4, 100.3, 80.4, 75.4, 69.0, 65.5, 65.4, 59.4, 55.5, 17.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2936, 2869, 2107, 1454, 1135, 1083, 1040; SM (*m/z*) [M^+ +1]: 412.3.



Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6-O-dibenzyl- α -D-gulopyranoside (5.66). Dans une solution du benzylidène **5.65** (10.0 g, 24.3 mmol) dans le CH₂Cl₂ (300 mL) à 0 °C, a été ajouté l'acide trifluoroacétique (10.3 mL, 121.5 mmol) suivi du triéthylsilane (22 mL, 121.5 mmol). Après avoir agité à 0 °C pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool secondaire **5.66** (9.0 g, 90%); [α]_D +2.0 (*c* 3.0, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.37-7.24 (m, 10H), 4.81 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.61 (s, 1H), 4.42 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.81 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.62 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.44 (s, 3H), 2.35 (br, 1H), 1.54 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 138.1, 137.8, 128.1, 128.0, 127.6, 127.4, 127.2, 127.1, 99.5, 76.1, 73.2, 69.9, 69.4, 69.3, 64.3, 61.9, 54.9, 18.8; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3544, 2932, 2106, 1454, 1145, 1059; SM (*m/z*) [M^+ +1]: 414.3.

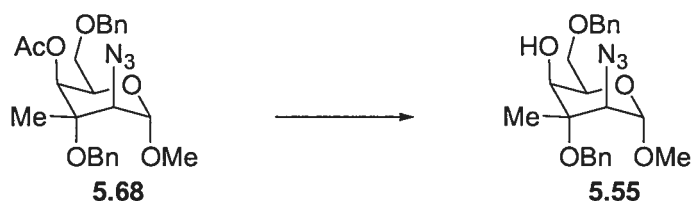


Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6-*O*-dibenzyl-4-*O*-imidazylate- α -D-gulopyranoside (5.67). Dans une solution de l'alcool secondaire **5.66** (9.0 g, 21.8 mmol) dans le DMF (153 mL) à 0 °C, a été ajouté l'hydrure de sodium (620 mg, 26.2 mmol) suivi du (imid)₂SO₂ (6.47 g, 32.7 mmol) à -40 °C. Après avoir agité à -40 °C pendant 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH₄Cl et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'imidazylate **5.67** (9.0 g, 76%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.89 (s, 1H), 7.39-7.24 (m, 11H), 7.08 (s, 1H), 5.09 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.56 (s, 3H), 4.45 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 4.36 (m, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.53 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.45 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 3.39 (s, 3H), 1.44 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 137.9, 137.6, 136.8, 130.7, 128.2, 128.1, 127.6, 127.5, 127.4, 127.1, 117.9, 100.0, 83.7, 76.1, 73.4, 68.3, 67.0, 64.6, 64.0, 55.5, 18.7.

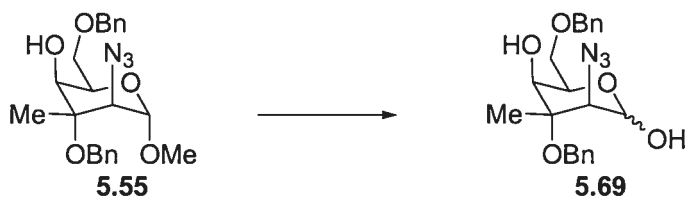


Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6-*O*-dibenzyl-4-*O*-acétyl- α -D-idopyranoside (5.68). Dans une solution de l'imidazylate **5.67** (9.0 g, 16.6 mmol) dans le toluène (108 mL), a été ajouté l'acétate de tétrabutylammonium (20 g, 66.3 mmol). Après avoir agité à reflux pendant 0.25h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'acétate axial **5.68** (6.7 g, 89%); [α]_D +11.2 (*c* 5.1, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.39-7.19 (m, 10H), 5.12 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.59 (d, *J* = 11.3 Hz, 3H), 4.48 (dd, *J* = 4.2, 11.9 Hz, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.50 (s, 1H), 3.47 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.39 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 169.7, 138.0, 137.7, 128.1,

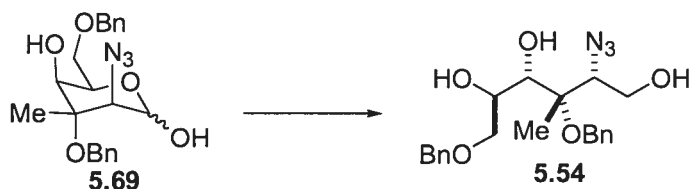
128.0, 127.4, 127.3, 127.2, 99.8, 75.6, 73.2, 70.1, 68.9, 65.8, 64.2, 59.8, 55.0, 20.5, 18.0; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2935, 2106, 1745, 1374, 1230, 1139, 1066; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 456.3.



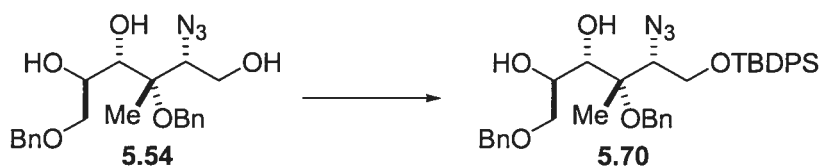
Méthyl 2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6-*O*-dibenzyl- α -D-idopyranoside (5.55). Dans une solution de l'acétate **5.68** (6.7 g, 14.7 mmol) dans le méthanol (200 mL) à 0 °C, a été ajouté du méthanolate de sodium jusqu'à ce que le pH soit 9-10. Après avoir agité pendant 12h, la solution a été neutralisée avec de la glace carbonique puis concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'alcool axial **5.55** (6.0 g, 99%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.40-7.28 (m, 10H), 4.91 (s, 1H), 4.62 (d, *J* = 10.6 Hz, 3H), 4.55-4.49 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.51 (m, 4H), 2.92 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 1.60 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 138.1, 137.6, 128.1, 128.0, 127.4, 127.3, 127.2, 127.0, 99.9, 76.5, 75.2, 73.3, 72.0, 70.5, 66.5, 64.1, 60.7, 55.5, 18.5; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3545, 2934, 2110, 1454, 1138, 1105, 1064; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 414.2.



2-azido-2-déoxy-3-méthyl-3,6-*O*-dibenzyl- α -D-idopyranose (5.69). Dans une solution de l'alcool **5.55** (3.76 g, 9.1 mmol) dans le H₂O (15 mL) et l'acide acétique (60 mL), a été ajouté l'acide *p*-toluènesulfonique (120 mg, 0.63 mmol). Après avoir agité à 90 °C pendant 12h, la solution a été concentrée sous pression réduite pour donner l'hémiacétal **5.69** (3.0 g, 83%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.36-7.30 (m, 10H), 5.32 (s, 1H), 4.63-4.48 (m, 4H), 4.21 (m, 1H), 3.93-3.62 (m, 4H), 2.80 (br, 1H), 1.63 (s, 3H); IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3402, 2925, 2112, 1053; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 399.7.

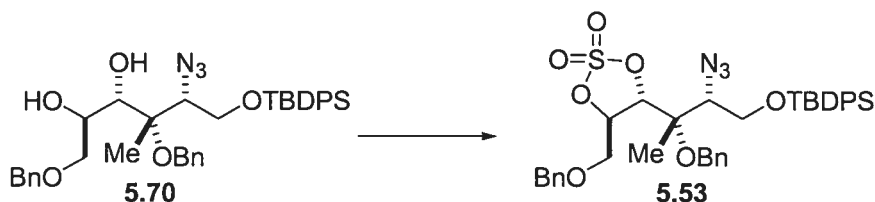


(2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-2-azido-3,6-bis-benzyloxy-3-méthyl-hexane-1,4,5-triol (5.54). Dans une solution de l'hémiacétal **5.69** (4.7 g, 11.8 mmol) dans l'éthanol (70 mL) à 0 °C, a été ajouté le borohydrure de sodium (0.9 g, 23.6 mmol). Après avoir agité à 0 °C pendant 4h, la solution a été neutralisée avec une l'acide acétique, H₂O a été ajouté et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (MeOH/CH₂Cl₂/AcOH 3:1:1) pour donner le triol **5.54** (4.0 g, 85%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.40-7.29 (m, 10H), 4.64 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.23 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 3.96-3.86 (m, 3H), 3.71 (s, 1H), 3.58 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.42 (br, 2H), 2.08 (s, 1H), 1.46 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 138.2, 138.1, 129.1, 129.0, 128.4, 128.35, 128.3, 128.2, 82.4, 74.1, 73.3, 72.7, 69.1, 69.0, 66.1, 62.3, 18.3; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3401, 2930, 2104, 1454, 1268, 1109, 1028; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 401.7.



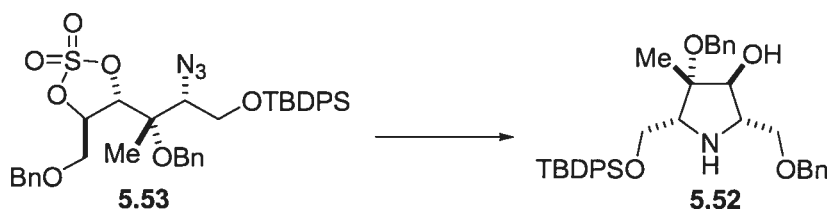
(2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-5-azido-1,4-bis-benzyloxy-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxy)-4-méthyl-hexane-2,3-diol (5.70). Dans une solution du triol **5.54** (4.0 g, 10.0 mmol) dans le CH₂Cl₂ (180 mL), ont été ajouté le chlorure de *tert*-butyldiphénylsilyle (2.9 mL, 11.0 mmol) et l'imidazole (1.4 g, 20.0 mmol). Après avoir agité pendant 1.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaCl et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'éther silylé **5.70** (5.9 g, 92%); [α]_D -14.8 (*c* 1.9, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.78-7.76 (m, 4H), 7.47-7.20 (m, 16H), 4.57-4.52 (m, 4H), 4.14-4.09 (m, 4H), 3.58 (s, 1H), 3.53 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.38 (s,

3H), 1.14 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 138.3, 138.2, 136.1, 136.0, 133.6, 133.4, 130.3, 130.2, 129.1, 128.9, 128.4, 128.2, 128.1, 82.0, 74.0, 72.5, 70.5, 69.4, 66.2, 64.8, 27.2, 19.6, 18.9; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3698, 2931, 2859, 2100, 1113; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 640.3.

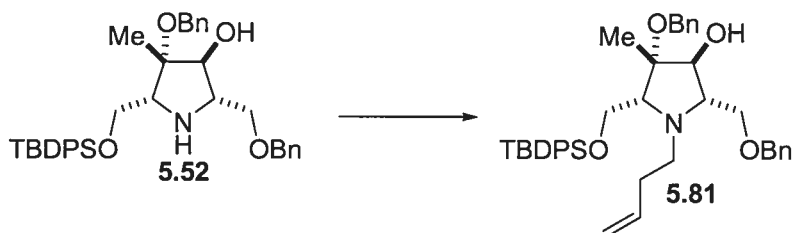


(2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-[2-azido-3-benzyloxy-3-(5-benzyloxyméthyl-2,2-dioxo-2 λ^6 -

[1,3,2]dioxathiolan-4-yl)-butoxy]-*tert*-butyl-diphényl-silane (5.53). Dans une solution du diol **5.70** (1.5 g, 2.35 mmol) dans le CH_2Cl_2 (120 mL) à 0 °C, a été ajouté le chlorure de thionyle (0.26 mL, 3.52 mmol) suivi de triéthylamine (1.25 mL, 9.39 mmol). Après avoir agité à 0 °C pendant 0.5h, la solution a été neutralisée avec H_2O et la phase aqueuse extraite avec Et_2O . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du sulfite dans un mélange $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}$ (1:1:1.5, 110 mL) ont été ajouté le chlorure de ruthénium (46 mg, 0.24 mmol) et le periodate de sodium (840 mg, 3.52 mmol). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair ($\text{AcOEt}/\text{Hexanes}$ 20:80) pour donner le sulfate cyclique **5.53** (1.4 g, 85%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.73 (t, $J = 7.9$ Hz, 4H), 7.49-7.24 (m, 16H), 5.11 (m, 1H), 4.87 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 4.63-4.54 (m, 4H), 4.06 (dd, $J = 2.3$, 10.1 Hz, 1H), 4.01-3.95 (m, 2H), 3.76 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.14 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 138.0, 137.2, 136.1, 136.0, 130.6, 130.5, 129.1, 128.9, 128.6, 128.4, 128.3, 128.1, 127.4, 8.4, 81.5, 77.6, 74.2, 68.7, 68.4, 66.3, 27.2, 19.6, 17.6; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932, 2859, 2104, 1391, 1213, 1114.

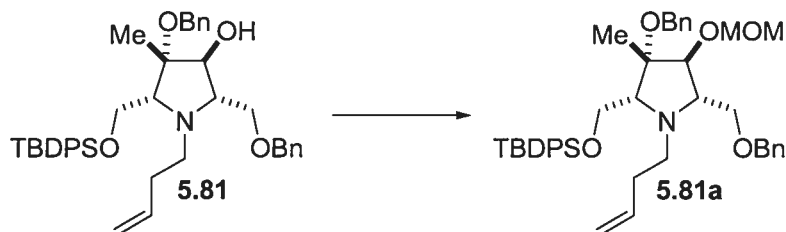


(2*S*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-benzyloxy-2-benzyloxyméthyl-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthyl-pyrrolidin-3-ol (5.52). Dans une solution du sulfate cyclique **5.53** (104 mg, 0.15 mmol) dans le EtOH (7 mL), palladium sur sulfate de barium (5 mg) a été ajouté et la suspension a été hydrogénée sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir agité pendant 6h, la suspension a été filtrée sur Celite, rincée avec AcOEt (3 x 10 mL) puis concentrée sous pression réduite pour donner la pyrrolidine sous forme de sel zwitterionique. Dans une solution du sel zwitterionique précédent dans le l'éther *tert*-butylméthylique (13 mL), ont été ajouté H₂O (0.4 mL), dioxane (0.4 mL) et l'acide *p*-toluènesulfonique (16 mg, 0.08 mmol). Après avoir agité la solution à 40 °C pour 12h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 80:20) pour donner la pyrrolidine **5.52** (56 mg, 64%); $[\alpha]_D +6.7$ (*c* 0.9, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.69-7.66 (m, 4H), 7.38-7.26 (m, 14H), 7.19 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 4.46 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.04 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.64 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.29 (m, 2H), 2.71 (br, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.06 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 139.4, 138.1, 136.1, 133.8, 130.1, 128.9, 128.6, 128.1, 128.0, 127.6, 127.4, 85.1, 79.4, 77.6, 73.8, 71.5, 68.4, 65.2, 64.3, 63.3, 29.8, 27.3, 23.1; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2928, 2856, 1652, 1113; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 596.3.



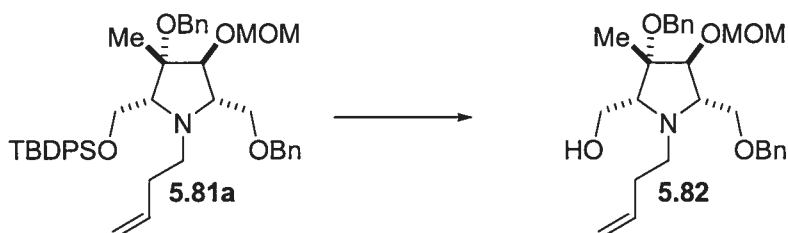
(2*S*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-benzyloxy-2-benzyloxyméthyl-1-but-3-ényl-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthyl-pyrrolidin-3-ol (5.81). Dans une solution de la pyrrolidine **5.52** (140 mg, 0.24 mmol) dans l'acétone (15 mL), a été ajouté le bromure de butényle (0.04 mL, 0.35 mmol) suivi du carbonate de césium (140 mg, 0.47 mmol). Après avoir

agité à reflux pendant 12h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'oléfine **5.81** (140 mg, 90%); $[\alpha]_D +8.8$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.78 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 7.47-7.28 (m, 16H), 5.75 (m, 1H), 5.05 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.64-4.51 (m, 4H), 4.24 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.06 (dd, $J = 5.1, 10.5$ Hz, 1H), 3.76-3.71 (m, 2H), 3.57 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.05 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.93 (qt, $J = 7.3$ Hz, 1H), 2.85 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.26 (m, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.12 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 139.3, 137.7, 136.2, 135.4, 133.4, 133.3, 129.2, 129.1, 128.1, 127.8, 127.5, 127.4, 127.3, 126.6, 115.3, 82.9, 79.1, 73.5, 73.2, 72.7, 67.5, 64.6, 64.2, 53.6, 31.2, 26.6, 18.8, 17.8; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3418, 2927, 2856, 1740, 1456, 1113; SM (m/z) $[\text{M}^+ + 1]$: 650.3.

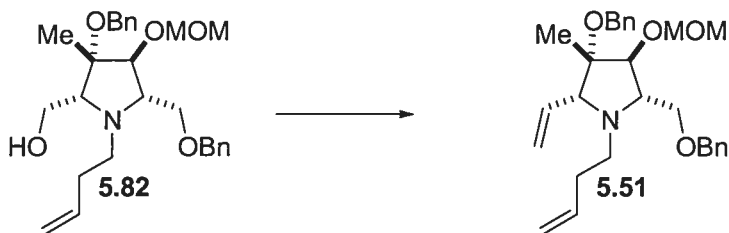


(2R,3S,4S,5S)-3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ènyl-2-(tert-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-pyrrolidine (5.81a). Dans une solution de l'alcool secondaire **5.81** (140 mg, 0.22 mmol) dans le CH_2Cl_2 (10 mL) à 0 °C, a été ajouté le chlorure de méthoxyméthyle (0.12 mL, 1.1 mmol) suivi du *N,N*-diisopropyléthylamine (0.3 mL, 1.1 mmol). Après avoir agité pendant 12h, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 15:85) pour donner l'éther méthoxyméthyle **5.81a** (140 mg, 92%); $[\alpha]_D +17.2$ (c 1.1, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.74 (m, 4H), 7.44-7.22 (m, 16H), 5.76-5.66 (m, 1H), 4.99 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.71 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.50 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.35 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.13 (t, $J = 9.9$ Hz, 2H), 3.70 (dd, $J = 4.6, 10.5$ Hz, 1H), 3.46-3.39 (m, 4H), 3.09 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.97 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 2.83-2.71 (m, 2H), 2.23-2.07 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz,

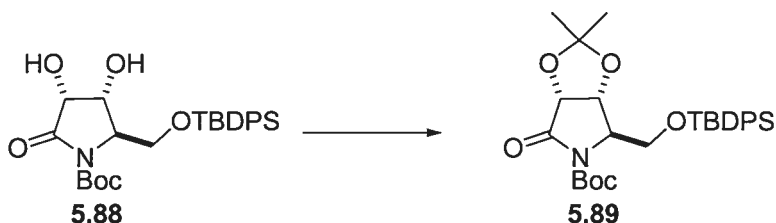
CDCl₃) δ (ppm): 139.1, 138.2, 136.2, 135.3, 133.3, 133.2, 129.2, 129.1, 127.9, 127.8, 127.3, 127.2, 127.1, 126.6, 126.5, 115.2, 94.9, 84.6, 80.6, 72.7, 72.4, 72.2, 68.3, 64.2, 63.1, 55.5, 54.0, 31.3, 26.5, 18.8, 17.3; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2931, 2858, 1642, 1113; SM (m/z) [M⁺+1]: 694.5.



(2*R*,3*S*,4*S*,5*S*)-(3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ényl-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-pyrrolidin-2-yl)-méthanol (5.82). Dans une solution de l'éther silylé **5.81a** (200 mg, 0.29 mmol) dans le THF (10 mL), a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.6 mL, 0.59 mmol) suivie de l'acide acétique (0.03 mL, 0.59 mmol). Après avoir agité pendant 12h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 50:50) pour donner l'alcool primaire **5.82** (97 g, 73%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.36-7.28 (m, 10H), 5.78 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 4.75 (s, 2H), 4.54 (s, 4H), 4.28 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.54 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 2.93-2.83 (m, 4H), 2.24 (m, 2H), 1.44 (s, 3H), 1.28 (s, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 138.3, 137.9, 136.0, 128.0, 127.9, 127.3, 127.2, 127.0, 126.6, 115.7, 95.7, 84.4, 81.2, 72.9, 70.5, 70.1, 66.8, 65.1, 60.1, 55.4, 53.9, 32.2, 18.0; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3446, 2925, 1654, 1455, 1102, 1039; SM (m/z) [M⁺+1]: 456.4.

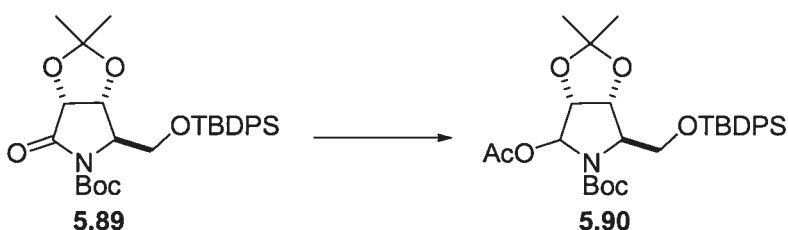


(2*R*,3*S*,4*S*,5*S*)-3-benzyloxy-5-benzyloxyméthyl-1-but-3-ényl-4-méthoxyméthoxy-3-méthyl-2-vinyl-pyrrolidine (5.51). Dans une solution du chlorure d'oxalyle (0.44 mL, 0.014 mmol) dans le CH₂Cl₂ (4 mL) à -78 °C, a été ajouté du DMSO (0.10 mL, 0.015 mmol). Après avoir agité pour 30 minutes, une solution de l'alcool primaire **5.82** (32 mg, 0.07 mmol) dans le CH₂Cl₂ (2 mL) a été ajoutée. Après avoir agité la solution résultante pour 30 minutes, Et₃N (0.2 mL, 1.4 mmol) a été ajouté et après 1h, la solution a été neutralisée avec H₂O (5 mL) et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 7 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le THF (2 mL) à -78 °C, a été ajouté le bromure de méthyltriphénylphosphonium (100 mg, 0.28 mmol) suivi de *n*-BuLi (0.06 mL, 0.14 mmol). Après avoir agité à -78 °C pendant 1h et 12h à la température ambiante, la solution a été neutralisée avec H₂O et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 15:85) pour donner le diène **5.51** (21 mg, 65%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.35-7.24 (m, 10H), 5.98 (qd, *J* = 1.2, 8.3 Hz, 1H), 5.76 (m, 1H), 5.24 (td, *J* = 2.0, 10.1 Hz, 2H), 5.02 (dd, *J* = 1.7, 17.2 Hz, 1H), 4.98 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.84 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.67 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.56-4.44 (m, 3H), 4.32 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 4.13 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 3.55-3.45 (m, 2H), 3.43 (s, 3H), 3.14 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.22 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.29 (s, 3H), 1.28 (s, 2H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 139.1, 138.2, 136.5, 136.3, 127.9, 127.7, 127.3, 127.1, 126.6, 126.5, 118.4, 115.1, 94.8, 85.2, 80.3, 75.9, 72.7, 72.0, 68.4, 64.2, 55.4, 52.4, 31.0, 15.9; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2930, 1734, 1641, 1454, 1102, 1037; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 452.4.



(1*aR*,3*aR*,6*R*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-oxo-
tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.89).

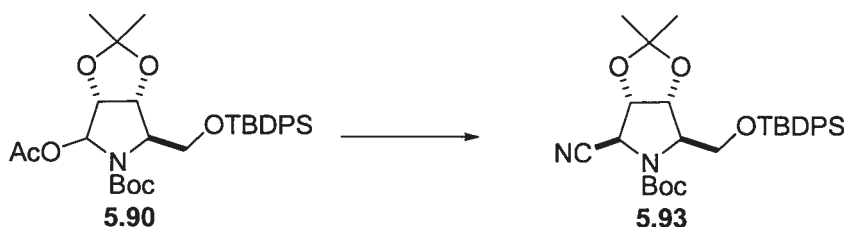
La même procédure que pour la synthèse du produit **5.35** donne l'acétal **5.89** (3.31 g, 92%) [α]_D -55.3 (*c* 0.75, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.60 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.48-7.35 (m, 6H), 4.82 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.98 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 1.46 (m, 12H), 1.39 (s, 3H), 1.03 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.9, 149.5, 135.3, 135.2, 132.3, 131.8, 129.9, 127.8, 111.8, 83.4, 78.1, 75.5, 62.6, 61.7, 27.8, 27.0, 26.7, 25.5, 18.9; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2934, 1793, 1763, 1718, 1370, 1307, 1154, 1104; SM (*m/z*) [M^+ +1]: 526.2.



(1*aR*,3*aR*,6*R*)-4-acétoxy-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-
tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.90).

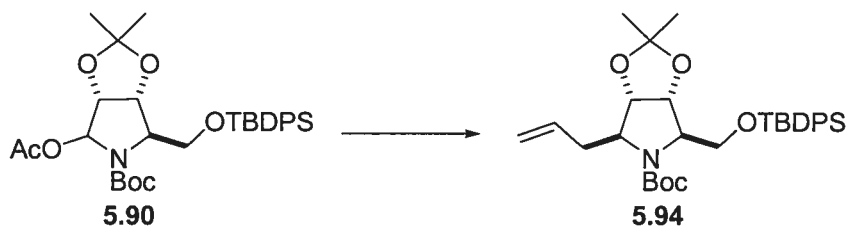
Dans une solution de la lactame **5.89** (1.75 g, 3.33 mmol) dans le toluène (12 mL) à -78 °C, a été ajouté une solution 1.5 M de DibalH dans le toluène (3.33 mL, 4.99 mmol) et la solution a été agitée pendant 2h. Du méthanol (4 mL) a été ajouté à -78 °C et la solution a été agitée pour 30 min. Ensuite, Et₂O (25 mL) a été ajouté et la solution a été réchauffée à la température ambiante, suivi de H₂O (1 mL). Le gel formé a été filtré sur Celite et lavé avec AcOEt (45 mL). Le filtrat a été concentré sous pression réduite et le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le CH₂Cl₂ (23 mL), Et₃N (1.39 mL, 9.98 mmol) et DMAP (quantité catalytique) ont été ajoutés suivi de Ac₂O (0.94 mL, 9.98 mmol). Après avoir

agité pendant la nuit, la solution a été neutralisée avec une solution 10% HCl (5 mL) et extraite avec CH₂Cl₂ (3 x 50 mL). Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'acétate **5.90** (1.71 g, 90%)
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.63-7.57 (m, 4H), 7.45-7.37 (m, 6H), 6.34 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.62 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 2.12 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.33 (s, 6H), 1.07 (s, 9H); SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 570.3.



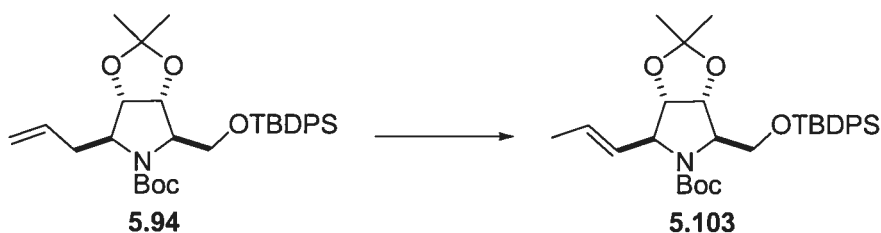
(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-4-cyano-2,2-diméthyl-

tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.93). Dans une solution de l'acétate **5.90** (70 mg, 0.12 mmol) dans le CH₂Cl₂ (1.5 mL) à -78 °C, ont été ajouté BF₃.OEt₂ (0.03 mL, 0.25 mmol) et le cyanure de triméthylsilyle (0.02 mL, 0.18 mmol). Après avoir agité pendant 10 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner le nitrile **5.93** (48 mg, 73%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, mélange de rotamères) δ (ppm): 7.70-7.65 (m, 4H), 7.46-7.40 (m, 6H), 5.00 (m, 1H), 4.75 (m, 0.5H), 4.66 (m, 1H), 4.47 (m, 0.5H), 4.23 (m, 0.5H), 4.14 (m, 0.5H), 3.89 (m, 0.5H), 3.72 (m, 1.5H), 1.56 (s, 5H), 1.48 (s, 3H), 1.41 (s, 4H), 1.33 (s, 3H), 1.12 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 153.0, 136.1, 135.8, 133.2, 132.9, 130.4, 128.3, 128.2, 118.1, 117.8, 113.2, 83.6, 82.8, 82.6, 82.0, 65.8, 65.2, 63.4, 56.5, 55.6, 28.7, 27.7, 27.5, 25.5, 19.5; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 537.4.



(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-4-allyl-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-

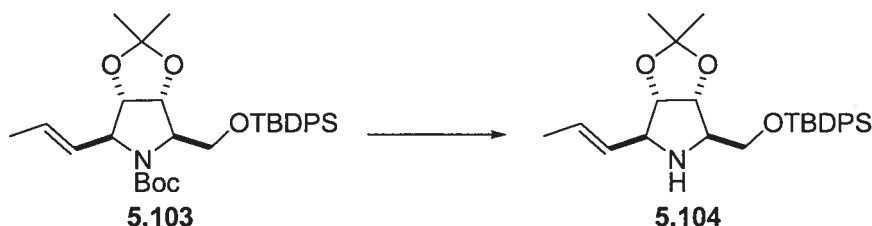
tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.94). Dans une solution de l'acétate **5.90** (1.39 g, 2.44 mmol) dans le CH₂Cl₂ (16 mL) à -78 °C, ont été ajouté BF₃.OEt₂ (0.61 mL, 4.89 mmol) et allyltriméthylsilane (0.58 mL, 3.66 mmol). Après avoir agité pendant 3h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'allyle **5.94** (793 mg, 59%); [α]_D -32.7 (*c* 1.4, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.67-7.64 (m, 4H), 7.41-7.36 (m, 6H), 5.76 (m, 1H), 5.05 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 5.01-4.96 (m, 1H), 4.76 (m, 1H), 4.42 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 4.15-4.00 (m, 2H), 3.89-3.81 (m, 1H), 3.76-3.73 (m, 1H), 2.63 (m, 0.5H), 2.48 (m, 0.5H) 2.20-2.13 (m, 1H), 1.47 (s, 6H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 153.9, 135.4, 135.3, 134.1, 129.7, 127.7, 117.5, 111.4, 79.6, 65.6, 63.8, 61.1, 60.2, 37.4, 28.2, 27.2, 26.9, 25.3, 19.1, 14.0; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2934, 2860, 1698, 1393, 1114; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 552.3.



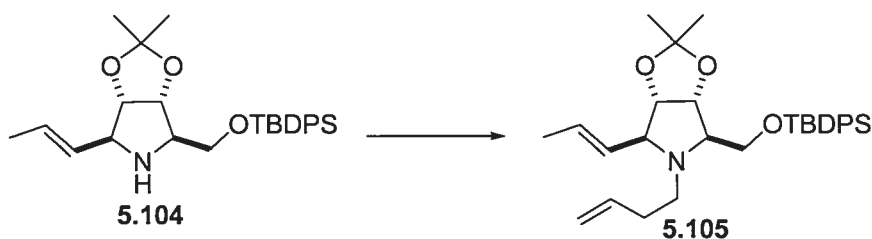
(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propényl-

tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.103). Dans une solution de l'allyle **5.94** (793 mg, 1.44 mmol) dans le toluène (29 mL), ont été ajouté allyltriméthylamine (862 mg, 2.87 mmol), *N,N*-diisopropyléthylamine (0.25 mL, 1.44 mmol) et le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (263 mg, 0.29 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 2 jours, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes

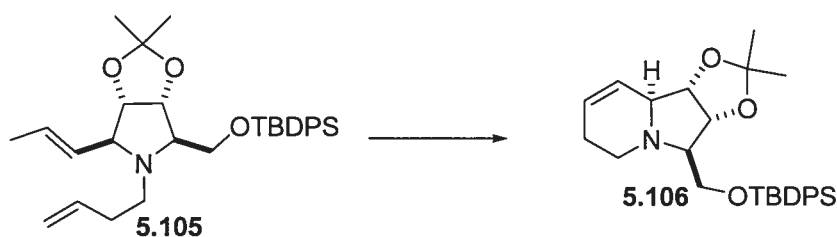
5:95) pour donner le propènyle **5.103** (780 mg, 98%); $[\alpha]_D -35.6$ (c 1.1, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.71-7.66 (m, 4H), 7.45-7.37 (m, 6H), 5.61 (m, 1H), 5.50 (m, 1H), 4.76 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.21 (m, 2H), 3.79-3.75 (m, 2H), 1.57 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.35 (s, 3H), 1.12 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 154.7, 136.1, 136.0, 133.4, 130.3, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 111.9, 60.8, 28.8, 27.8, 27.4, 25.9, 19.7, 17.9, 14.6; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2934, 2860, 1697, 1393, 1113; SM (m/z) $[\text{M}^++1]$: 552.3.



(1aR,3aS,4S,6R)-6-(tert-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propényle-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-c]pyrrole (5.104). Dans une solution du propènyle **5.103** (510 mg, 0.92 mmol) dans le CH_2Cl_2 (6.5 mL) à 0 °C, ont été ajoutés *N,N*-diisopropyléthylamine (0.32 mL, 1.85 mmol) et le triflate de triméthylsilyle (0.20 mL, 1.11 mmol). Après avoir agité pendant 0.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 25:75) pour donner l'amine **5.104** (338 mg, 81%); $[\alpha]_D -4.3$ (c 1.44, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.70-7.67 (m, 4H), 7.46-7.38 (m, 6H), 5.76 (dd, $J = 6.5$, 15.3 Hz, 1H), 5.50 (ddd, $J = 1.5$, 7.1, 15.3 Hz, 1H), 4.46 (dd, $J = 4.3$, 7.0 Hz, 1H), 4.29 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.88-3.85 (m, 1H), 3.78 (dd, $J = 5.4$, 10.4 Hz, 1H), 3.60 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 3.34-3.30 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 1.72 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.09 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 135.5, 135.4, 133.1, 130.5, 129.6, 127.6, 113.6, 85.6, 82.0, 66.4, 65.2, 64.6, 27.3, 26.8, 25.2, 19.2, 17.8; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2933, 2859, 1428, 1211, 1113, 1072; SM (m/z) $[\text{M}^++1]$: 452.2.

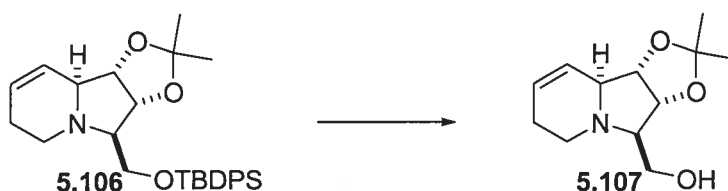


(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-5-but-3-ènyl-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole (5.105). Dans une solution de l'amine **5.104** (335 mg, 0.74 mmol) dans l'acétonitrile (6 mL), ont été ajouté le carbonate de césium (483 mg, 1.48 mmol) et le bromure de butènyle (0.83 mL, 0.82 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 4h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner le diène **5.105** (325 mg, 87%); $[\alpha]_D -24.8$ (*c* 1.58, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.75-7.71 (m, 4H), 7.47-7.38 (m, 6H), 5.76-5.61 (m, 2H), 5.35-5.29 (m, 1H), 4.96 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.49-4.45 (m, 1H), 4.20 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 4.5, 10.4 Hz, 1H), 3.61 (dd, *J* = 6.1, 10.4 Hz, 1H), 3.19 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.09-3.04 (m, 1H), 2.67-2.60 (m, 2H), 2.16-2.06 (m, 2H), 1.73 (dd, *J* = 1.4, 6.4 Hz, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.10 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 135.6, 135.5, 131.5, 129.6, 128.8, 127.7, 127.5, 115.3, 112.2, 83.4, 81.5, 71.7, 67.7, 65.0, 49.6, 29.6, 27.7, 26.7, 25.6, 19.1, 17.7; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2933, 2859, 1428, 1214, 1113; SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 506.3.



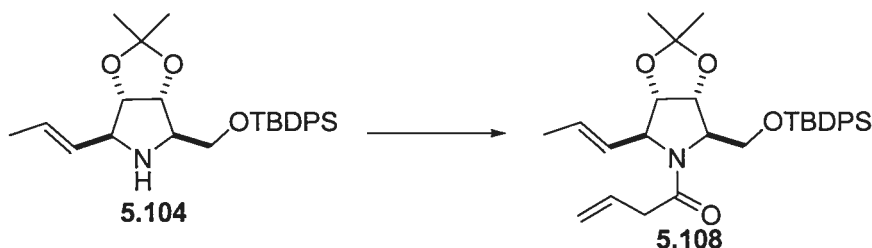
(1*S*,2*R*,3*R*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8*a*-hexahydro-indolizine-1,2-diméthylacétonide (5.106). Dans une solution du diène **5.105** (310 mg, 0.61 mmol) dans le CH₂Cl₂ (13 mL), a été ajouté le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (28 mg, 0.03 mmol). Après avoir agité pendant 3h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'indolizidine insaturée **5.106** (241 mg,

85%); $[\alpha]_D -28.2$ (c 0.8, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.75-7.72 (m, 4H), 7.47-7.38 (m, 6H), 5.95 (td, $J = 1.1, 10.1$ Hz, 1H), 5.77-5.74 (m, 1H), 4.45 (q, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 3.94 (dd, $J = 5.7, 10.6$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 5.2, 10.6$ Hz, 1H), 3.20 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.84-2.81 (m, 1H), 2.45 (td, $J = 6.5, 11.0$ Hz, 1H), 2.33-2.28 (m, 1H), 2.07-2.00 (m, 1H), 1.56 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.11 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 135.6, 133.5, 133.3, 129.6, 127.6, 126.4, 113.6, 81.5, 81.0, 69.7, 67.5, 64.5, 47.0, 27.3, 26.7, 26.1, 25.3, 19.2; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2932, 2858, 1428, 1210, 1127; SM (m/z) $[\text{M}^++1]$: 464.2.



(1*S*,2*R*,3*R*,8*aS*)-3-(hydroxyméthyl)-1,2,3,5,6,8*a*-hexahydro-indolizine-1,2-

diméthylacétonide (5.107). Dans une solution de l'indolizidine **5.106** (241 mg, 0.52 mmol) dans le THF (3.5 mL) à 0 °C, a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.78 mL, 0.78 mmol). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec AcOEt . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt) pour donner l'alcool primaire **5.107** (108 mg, 92%); $[\alpha]_D -40.7$ (c 0.68, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.91 (dd, $J = 1.2, 10.1$ Hz, 1H), 5.74-5.72 (m, 1H), 4.62 (dd, $J = 3.5, 7.0$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.75 (q, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.06-2.97 (m, 2H), 2.70 (br, 1H), 2.68 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.08-2.02 (m, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.31 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 126.8, 126.5, 114.2, 81.7, 81.5, 69.3, 67.7, 59.7, 45.8, 27.7, 26.6, 25.8; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3448, 2935, 1210, 1076; SM (m/z) $[\text{M}^++1]$: 226.1.

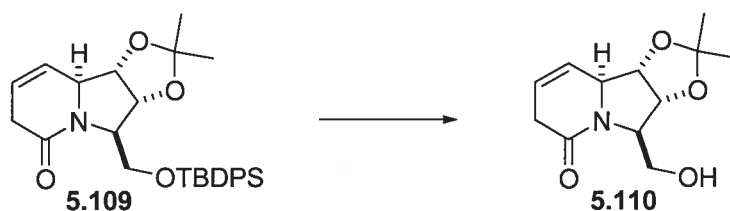


(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-5-but-3-ènone-6-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-2,2-diméthyl-4-propènyl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole (5.108). Dans une solution de l'amine **5.104** (799 mg, 1.77 mmol) dans le CH₂Cl₂ (10 ml), ont été ajouté EDC (509 mg, 2.65 mmol), DMAP (324 mg, 2.65 mmol) suivi de l'acide vinylacétique (0.22 mL, 2.65 mmol). Après avoir agité pour 5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec CH₂Cl₂. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner le diène **5.108** (919 mg, 99%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.64-7.60 (m, 4H), 7.40-7.32 (m, 6H), 5.95-5.87 (m, 1H), 5.59-5.54 (m, 2H), 5.14-5.04 (m, 2H), 4.70 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.48 (m, 2H), 4.32 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.60-3.56 (m, 1H), 3.10-3.01 (m, 2H), 1.53 (d, *J* = 5.1 Hz, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); SM (*m/z*) [*M*⁺+1]: 520.3.

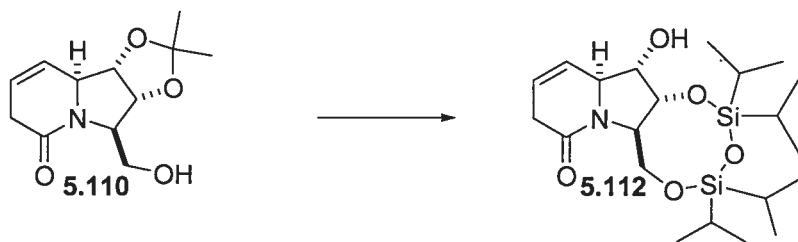


(1*S*,2*R*,3*R*,8*aS*)-3-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-1,2,3,5,6,8*a*-tétrahydro-1*H*-indolizin-5-one-1,2-diméthylacétonide (5.109). Dans une solution du diène **5.108** (905 mg, 1.76 mmol) dans le CH₂Cl₂ (35 mL), a été ajouté le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (80 mg, 0.09 mmol). Après avoir agité pendant 1.5h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'indolizidinone **5.109** (697 mg, 84%); [α]_D -58.2 (*c* 0.78, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.64-7.56 (m, 4H), 7.44-7.34 (m, 6H), 6.14 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 5.96 (m, 1H), 4.60-4.54 (m, 2H),

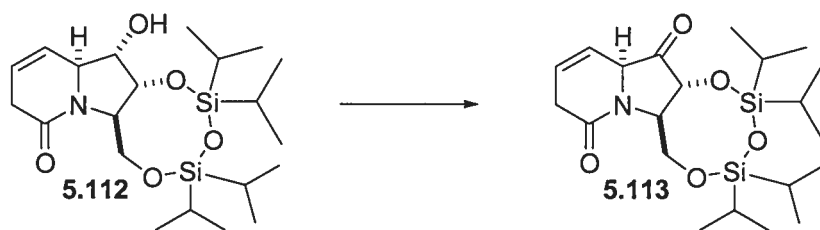
4.48 (dd, $J = 3.1, 10.5$ Hz, 1H), 4.26 (s, 1H), 4.16-4.14 (m, 1H), 3.79 (dd, $J = 2.0, 10.5$ Hz, 1H), 2.95-2.90 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 168.4, 136.0, 135.9, 133.2, 130.3, 128.2, 125.8, 125.4, 112.8, 82.1, 81.5, 64.4, 62.7, 61.6, 34.7, 28.6, 27.3, 26.2, 19.7; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2933, 2858, 1661, 1429, 1217, 1113, 1078; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 478.3.



(1*S*,2*R*,3*R*,8*aS*)-3-(hydroxyméthyl)-1,2,3,5,6,8*a*-tétrahydro-1*H*-indolizin-5-one-1,2-diméthylacétonide (5.110). Dans une solution de l'indolizidinone **5.109** (690 mg, 1.44 mmol) dans le THF (10 mL) à 0 °C, a été ajouté une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (2.17 mL, 2.17 mmol). Après avoir agité pendant 1h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec AcOEt . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt) pour donner l'alcool primaire **5.110** (206 mg, 60%); $[\alpha]_{\text{D}} -130.5$ (c 1.2, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6.54 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.79 (dd, $J = 2.6, 9.7$ Hz, 1H), 4.53 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.38 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.12 (s, 1H), 3.91 (dd, $J = 3.1, 11.5$ Hz, 1H), 3.70-2.60 (m, 2H), 2.53 (td, $J = 5.4, 17.2$ Hz, 1H), 2.20 (t, $J = 14.7$ Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.28 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 165.3, 140.7, 126.1, 113.0, 83.2, 82.0, 64.0, 63.9, 61.5, 29.1, 28.3, 26.1; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3385, 2998, 2938, 1654, 1596, 1446, 1379, 1218, 1079, 808; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 240.1.

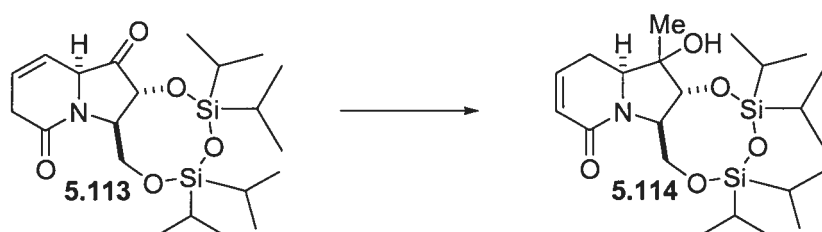


Composé (5.112). Dans une solution de l'alcool primaire **5.110** (106 mg, 0.44 mmol) dans le méthanol (1.0 mL), a été ajouté l'acide *p*-toluènesulfonique (8.5 mg, 0.04 mmol). Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été neutralisée avec quelques gouttes de triéthylamine puis concentrée sous pression réduite. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans la pyridine (2.0 mL), a été ajouté le dichlorure de diisopropyldisiloxane (0.17 mL, 0.53 mmol). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool secondaire **5.112** (59 mg, 30%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6.67-6.61 (m, 1H), 5.87 (dd, $J = 2.7, 9.7$ Hz, 1H), 4.76 (q, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J = 1.1, 6.1$ Hz, 1H), 4.06 (dd, $J = 5.9, 12.1$ Hz, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.62 (td, $J = 4.7, 17.9$ Hz, 1H), 3.41 (t, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.77 (br, 1H), 2.69 (td, $J = 5.9, 17.6$ Hz, 1H), 2.29-2.23 (m, 1H), 1.21-1.15 (m, 6H), 1.09-0.95 (m, 22H); SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 442.2.

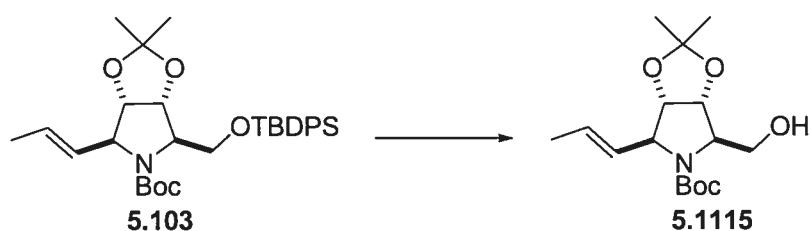


Composé (5.113). Dans une solution de l'alcool secondaire **5.112** (28 mg, 0.06 mmol) dans le CH_2Cl_2 (0.6 mL), ont été ajoutés le bicarbonate de sodium (65 mg, 0.08 mmol) et le periodinane de Dess-Martin (32 mg, 0.08 mmol). Après avoir agité pendant 3h, la solution a été filtrée sur silice pour donner la cétone brute **5.113** (28 mg, 99%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6.64 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.96 (dd, $J = 2.9, 9.7$ Hz, 1H), 4.96 (dd, $J = 3.7, 12.1$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J = 3.1, 12.1$ Hz, 1H), 3.98 (dd, $J = 4.9, 14.3$ Hz, 1H), 3.83 (td, $J = 3.4, 9.3$ Hz, 1H), 2.68 (td, $J = 5.4, 17.9$ Hz, 1H), 2.31 (t, $J = 14.5$ Hz, 1H), 1.17-1.00 (m, 28H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ

(ppm): 208.7, 166.1, 139.0, 127.7, 74.7, 63.8, 61.2, 59.9, 27.3, 17.8, 17.7, 17.6, 17.4, 17.3, 17.2, 14.1, 13.7, 13.1, 12.9; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 440.2.

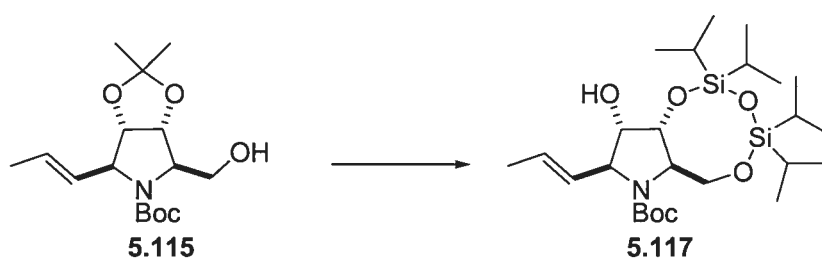


Composé (5.114). Dans une solution de la cétone **5.113** (58 mg, 0.13 mmol) dans le THF (0.7 mL) à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a été ajouté le bromure de méthylmagnésium (0.13 mL, 0.39 mmol). Après avoir agité pendant 0.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH_4Cl et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'alcool tertiaire **5.114** (20 mg, 30%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6.72-6.66 (m, 1H), 5.88 (dd, $J = 2.9, 9.7$ Hz, 1H), 4.78 (q, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.02 (dd, $J = 5.1, 14.0$ Hz, 1H), 3.48 (t, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.30 (s, 1H), 2.41 (td, $J = 5.5, 17.6$ Hz, 1H), 2.34-2.28 (m, 1H), 1.29 (s, 3H), 1.23-1.15 (m, 6H), 1.10-0.98 (m, 22H); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 456.4.

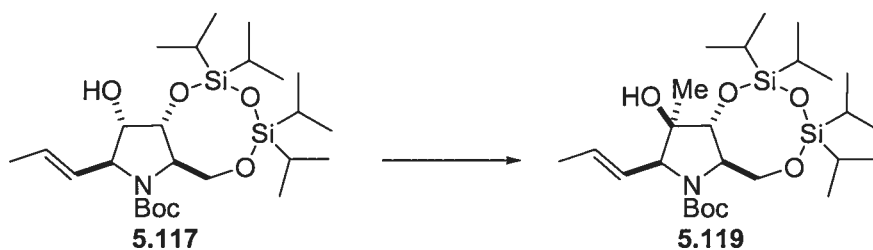


(1*aR*,3*aS*,4*S*,6*R*)-6-hydroxyméthyl-2,2-diméthyl-4-propényl-tétrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyrrole-5-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.115). Dans une solution du propényle **5.103** (817 mg, 1.48 mmol) dans le THF (7.5 mL) à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, ont été ajoutés une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (2.96 mL, 2.96 mmol) et AcOH (0.17 mL, 2.96 mmol). Après avoir agité pendant 3h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu

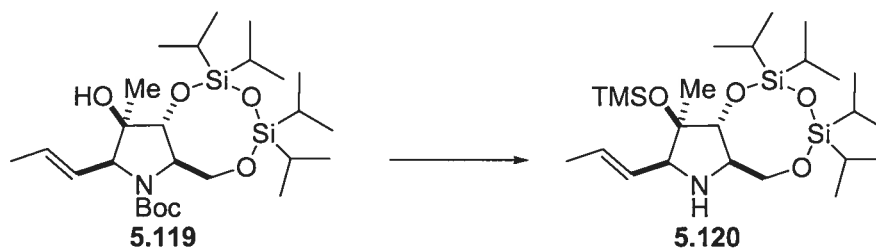
obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'alcool primaire **5.115** (409 mg, 88%); $[\alpha]_D -36.7$ (*c* 0.76, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.61 (m, 1H), 5.38 (m, 1H), 4.53 (m, 1H), 4.44 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.41 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 3.65 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 2.43 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 1.66 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 1.44 (m, 12H), 1.28 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 129.7, 128.0, 112.1, 80.7, 66.7, 64.4, 60.8, 53.9, 28.7, 27.6, 25.8, 21.1, 18.1, 14.6; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 3450, 2991, 2937, 1671, 1395, 1214, 1174, 1130, 1059; SM (*m/z*) [M⁺+Na]: 336.2.



Composé (5.117). Dans une solution de l'alcool primaire **5.115** (310 mg, 0.99 mmol) dans le méthanol (2 mL), a été ajoutée une solution 10% HCl (1 mL). Après avoir agité pendant 1h à 40 °C, la solution a été neutralisée avec NaHCO₃ solide, le méthanol évaporé sous pression réduite, H₂O ajouté et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le triol brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du triol précédent dans la pyridine (3 mL) à 0 °C, a été ajouté le dichlorure de diisopropyldisiloxane (0.38 mL, 1.09 mmol). Après avoir agité pendant 4h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'alcool secondaire **5.117** (111 mg, 24%); $[\alpha]_D -52.6$ (*c* 0.63, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.67-5.62 (m, 1H), 5.28 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 4.43 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.11-4.08 (m, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.69 (m, 1H), 2.76 (s, 1H), 1.66 (d, *J* = 5.3 Hz, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.04 (m, 28H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 154.9, 127.6, 126.7, 79.3, 74.7, 64.6, 61.9, 28.0, 17.3, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 16.7, 16.6, 16.5, 13.0, 12.7, 12.3, 12.2; IR (CHCl₃, cm⁻¹): 2946, 2869, 1700, 1391, 1367, 1177, 1117, 1035; SM (*m/z*) [M⁺+1]: 516.4.

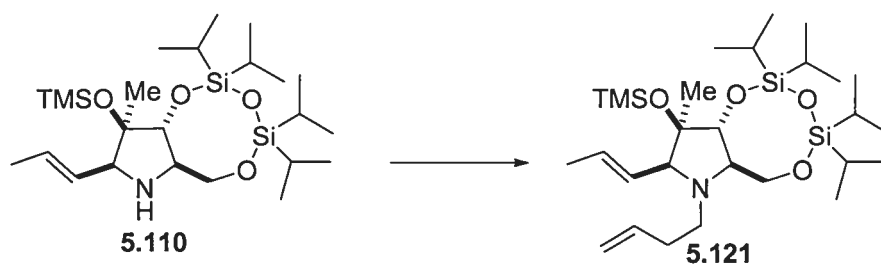


Composé (5.119). Dans une solution de l'alcool secondaire **5.117** (200 mg, 0.39 mmol) dans le CH_2Cl_2 (2 mL), a été ajouté le periodinane de Dess-Martin (412 mg, 0.97 mmol). Après avoir agité pendant la nuit, la solution a été filtrée sur silice pour donner la cétone brute. Le produit brut résultant a été utilisé pour l'étape suivante sans purification. Dans une solution du produit précédent dans le THF (2 mL) à -78°C , a été ajouté le bromure de méthylmagnésium (0.39 mL, 1.16 mmol). Après avoir agité pendant 0.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NH_4Cl et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'alcool tertiaire **5.119** (166 mg, 81%); $[\alpha]_D -70.1$ (c 0.87, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.75-5.69 (m, 1H), 5.40 (ddd, $J = 1.6, 7.4, 15.3$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 1H), 1.73 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.27 (s, 3H), 1.11-0.91 (m, 28H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 154.7, 129.6, 127.1, 79.6, 66.8, 62.7, 28.0, 20.7, 18.7, 17.6, 17.1, 17.0, 16.8, 16.7, 13.3, 12.8, 12.4, 12.3; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 3470, 2946, 2869, 1679, 1393, 1128, 1033, 886; SM (m/z) $[\text{M}^++1]$: 530.4.

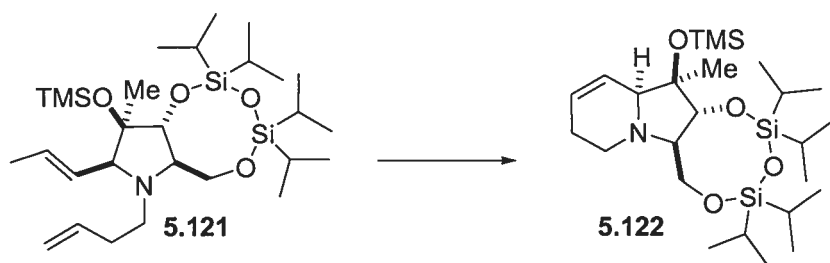


Composé (5.120). Dans une solution du carbamate **5.119** (125 mg, 0.24 mmol) dans le CH_2Cl_2 (1.6 mL) à 0°C , ont été ajoutés N,N -diisopropyléthylamine (0.13 mL, 0.76 mmol) et le triflate de triméthylsilyle (0.09 mL, 0.52 mmol). Après avoir agité pendant 0.5h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase

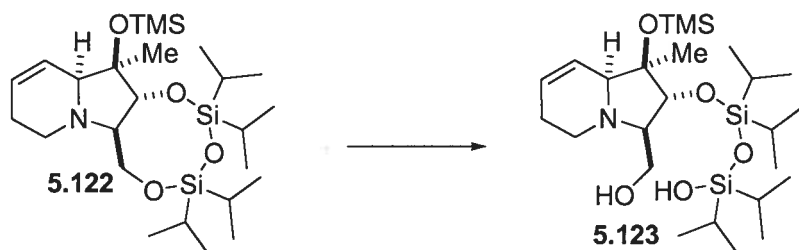
aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'amine **5.120** (104 mg, 88%); $[\alpha]_D -35.6$ (*c* 1.5, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.73-5.68 (m, 1H), 5.40 (ddd, $J = 1.5, 8.0, 15.4$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 4.4, 10.9$ Hz, 1H), 3.98 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 3.58 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 3.16 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.14-3.11 (m, 1H), 2.10 (br, 1H), 1.73 (dd, $J = 1.3, 6.4$ Hz, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.09-0.99 (s, 28H), 0.13 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 129.3, 126.9, 84.3, 81.9, 68.8, 68.2, 65.7, 19.0, 17.8, 17.2, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 16.7, 13.3, 12.8, 12.2, 2.04; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2946, 2869, 1465, 1252, 1103, 1037, 841; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 502.5.



Composé (5.121). Dans une solution de l'amine **5.110** (101 mg, 0.20 mmol) dans l'acétonitrile (1.5 mL), ont été ajouté le carbonate de césium (131 mg, 0.40 mmol) et le bromure de butène (0.02 mL, 0.22 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 5h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner le diène **5.121** (109 mg, 97%); $[\alpha]_D -1.0$ (*c* 0.97, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.81-5.71 (m, 1H), 5.61-5.53 (m, 1H), 5.43 (dd, $J = 8.5, 15.5$ Hz, 1H), 5.04-4.97 (m, 3H), 4.08 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.94 (dd, $J = 4.3, 11.1$ Hz, 1H), 3.72 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.90 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 2.78-2.69 (m, 2H), 2.57-2.50 (m, 1H), 2.22-2.17 (m, 1H), 1.74 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.12-0.90 (s, 28H), 0.13 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 136.3, 129.9, 128.6, 115.1, 82.8, 81.4, 74.4, 73.2, 66.3, 52.4, 31.1, 20.2, 17.6, 17.3, 17.2, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 16.7, 13.6, 13.3, 12.7, 12.4, 2.17; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2946, 2869, 1465, 1251, 1101, 1035, 841; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 556.5.

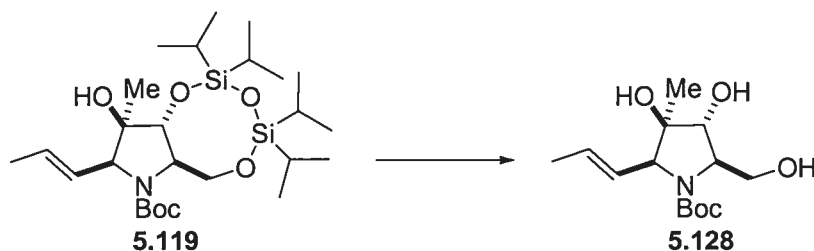


Composé (5.122). Dans une solution du diène **5.121** (105 mg, 0.19 mmol) dans le CH_2Cl_2 (10 mL), a été ajouté le catalyseur de Grubbs deuxième génération **2.100** (9 mg, 0.01 mmol). Après avoir agité pendant 0.75h, la solution a été concentrée sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 5:95) pour donner l'indolizidine **5.122** (90 mg, 92%); $[\alpha]_D -42.7$ (c 0.66, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.76-5.70 (m, 2H), 4.09 (dd, $J = 2.9, 11.4$ Hz, 1H), 4.06 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 3.85 (t, $J = 19.5$ Hz, 1H), 3.15-3.11 (m, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.40-2.33 (m, 3H), 2.06 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 1.31 (s, 3H), 1.10-0.89 (s, 28H), 0.11 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 126.3, 124.7, 85.3, 81.4, 73.5, 69.9, 64.8, 47.9, 26.2, 20.5, 17.3, 17.2, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 16.7, 13.3, 13.1, 12.7, 12.4, 2.61; IR (CHCl_3 , cm^{-1}): 2947, 2869, 1465, 1249, 1126, 1036, 840; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 514.4.

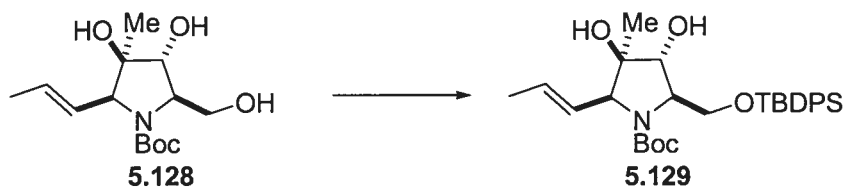


Composé (5.123). Dans une solution de l'indolizidine **5.122** (16 mg, 0.03 mmol) dans le dioxane (2 mL), a été ajoutée une solution aqueuse 10% HCl (0.5 mL). Après avoir agité pendant toute la nuit, la solution a été neutralisée avec NaHCO_3 solide, le dioxane évaporé sous pression réduite, H_2O ajouté et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 10:90) pour donner l'alcool primaire **5.123** (5 mg, 35%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.93-5.90 (m, 1H), 5.77 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 4.0$ Hz,

1H), 3.86 (d, $J = 3.5$ Hz, 2H), 3.29 (br, 1H), 2.98 (br, 1H), 2.52-2.50 (m, 3H), 2.23-2.15 (m, 1H), 1.32 (s, 3H), 1.29-1.28 (m, 2H), 1.15-0.88 (s, 28H); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 460.5.

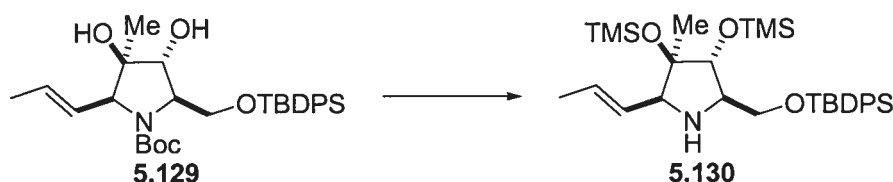


(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-hydroxyméthyl-3-méthyl-2-propènyle-pyrrolidine-1-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.128). Dans une solution de l'alcool secondaire **5.119** (160 mg, 0.30 mmol) dans le THF (1.5 mL) à 0 °C, ont été ajoutés une solution 1.0 M de TBAF dans le THF (0.76 mL, 0.76 mmol) et AcOH (0.04 mL, 0.76 mmol). Après avoir agité pendant 2h, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO₃ et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 90:10) pour donner l'alcool primaire **5.128** (71 mg, 82%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.59-5.57 (m, 1H), 5.42-5.40 (m, 1H), 4.16 (br, 2H), 3.98-3.76 (m, 4H), 3.62 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 1.73 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.25 (m, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 157.1, 129.6, 128.0, 81.0, 78.8, 68.6, 66.5, 60.9, 28.8, 19.5, 18.3, 14.6; SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 232.1.

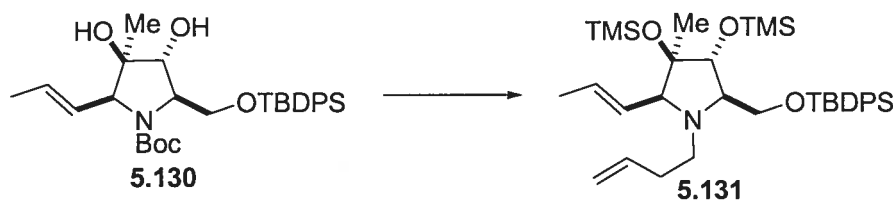


(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3,4-dihydroxy-3-méthyl-2-propènyle-pyrrolidine-1-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl (5.129). Dans une solution de l'alcool primaire **5.128** (71 mg, 0.25 mmol) dans le DMF (1.5 mL) à 0 °C, ont été ajoutés imidazole (35 mg, 0.52 mmol) et le chlorure de *tert*-butyldiphénylsilyle (0.07 mL, 0.27 mmol). Après avoir agité pendant 3h, la solution a été neutralisée avec H₂O et la phase aqueuse extraite avec AcOEt. Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na₂SO₄ puis concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu a été purifié par

chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 30:70) pour donner l'éther silylé **5.129** (105 mg, 81%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.71-7.69 (m, 4H), 7.46-7.41 (m, 6H), 5.62 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 3.94 (m, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 2.42 (br, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.73 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 1.38 (s, 9H), 1.30 (m, 3H), 1.11 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 155.8, 136.1, 136.0, 133.1, 132.8, 130.4, 130.3, 128.3, 128.2, 80.2, 79.7, 63.9, 60.9, 28.8, 20.3, 19.6, 18.4; SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 526.4.



(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-2-propènyl-3,4-bis-triméthylsilanyloxy-pyrrolidine (5.130). Dans une solution du carbamate **5.129** (55 mg, 0.10 mmol) dans le CH_2Cl_2 (1.0 mL) à 0 °C, ont été ajoutés *N,N*-diisopropyléthylamine (0.05 mL, 0.45 mmol) et le triflate de triméthylsilyle (0.06 mL, 0.35 mmol). Après avoir agité pendant 10 minutes, la solution a été neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 et la phase aqueuse extraite avec CH_2Cl_2 . Les phases organiques ont été combinées, séchées sur Na_2SO_4 puis concentrées sous pression réduite et le résidu obtenu a été purifié par chromatographie éclair (AcOEt/Hexanes 20:80) pour donner l'amine **5.130** (51 mg, 84%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.67 (dd, $J = 1.3, 7.3$ Hz, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 5.63 (qd, $J = 6.5, 19.4$ Hz, 1H), 5.38 (ddd, $J = 1.6, 8.2, 15.3$ Hz, 1H), 3.81 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 3.74 (dd, $J = 6.4, 10.1$ Hz, 1H), 3.65 (dd, $J = 5.7, 10.0$ Hz, 1H), 3.24 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.07-3.03 (m, 1H), 2.17 (br, 1H), 1.70 (dd, $J = 1.5, 6.4$ Hz, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.10 (s, 9H), 0.06 (s, 9H); SM (m/z) [$\text{M}^+ + 1$]: 570.4.



(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-1-but-3-ènyl-5-(*tert*-butyl-diphényl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-2-propènyl-3,4-bis-triméthylsilanyloxy-pyrrolidine (5.131). Dans une solution de

l'amine **5.130** (51 mg, 0.09 mmol) dans l'acétonitrile (1.0 mL), ont été ajoutés le carbonate de césium (58 mg, 0.18 mmol) et le bromure de butényle (0.01 mL, 0.10 mmol). Après avoir chauffé la solution à reflux pendant 1 h, la solution a été concentrée sous pression réduite pour donner le diène **5.131** (52 mg, 92%); SM (m/z) [$M^+ + 1$]: 624.6.

Chapitre VII

Références

1. (a) Marder, V. J.; Salzman, E.; Hirsh, W. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principle and Clinical Practice*, 3ième édition, Colman, R. W. Ed., J. B. Lippincott Co., Philadelphie, **1994**, p. 3; (b) Lutchman-Jones, L.; Broze Jr., G. J. "The current Status of Coagulation" *Ann. Med.* **1995**, *27*, 47-52; (c) Rosenberg, R. D.; Aird, W. C. "Thrombosis" dans *Molecular Cardiovascular Medecine*, Haber, E. Ed., Scientific American Inc., New York, **1995**, p. 115; (d) Tapper H.; Herward H. "Modulation of hemostatic mechanisms in bacterial infectious diseases" *Blood* **2000**, *96*, 2329-2337.

2. Halkier, T. *Mechanisms in Blood Coagulation, Fibrinolysis, and Blood Coagulation*, Cambrigde Université Press, 1991, pp. 4-5.

3. (a) Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochimie*; 2ième édition, John Willey and Sons Inc.; New York, **1998**, p. 1196-1207; (b) Davie E. W.; Fujikawa K.; Kisiel W. "The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation" *Biochemistry* **1991**, *30*, 10363-10370.

4. (a) Pfau, R. "Structure-based design of thrombin inhibitors" *Curr. Opin. Drug. Disc. & Dev.* **2003**, *6*, 437-450; (b) Steinmetzer, T.; Hauptmann, J.; Stürzebecher, J. "Advances in the development of thrombin inhibitors" *Exp. Opin. Inverst. Drugs* **2001**, *10*, 845-864; (c) Sanderson, P. E. J.; Naylor-Olsen, A. M. "Thrombin Inhibitor Design" *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 289-304.

5. (a) Gustafsson, D.; Bylund, R.; Antonsson, T.; Nilsson, I.; Nyström, J.-E.; Eriksson, U.; Bredberg, U.; Teger-Nilsson, A.-C. "A New Oral Anticoagulant: The 50-Year Challenge" *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, *3*, 649-659; (b) Ries, U. J.; Wienen, W. "Serine proteases as targets for antithrombotic therapy" *Drugs of the Future* **2003**, *28*, 355-370.

6. Steiner, J. L. R.; Murakami, M.; Tulinsky, A. "Structure of thrombin inhibited by aeruginosin 298-A from a blue-green alga" *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 597-598.

7. Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochimie*; 2ième édition, John Willey and Sons Inc.; New York, **1998**, p. 395.
8. (a) Kettner, C.; Shaw, E. "D-Phe-Pro-ArgCH₂Cl – A Selective Affinity Label for Thrombin" *Throm. Res.* **1979**, *14*, 969-973; (b) Bode, W.; Turk, D.; Karshikov, A. "The Refined 1.9-Å X-ray Crystal Structure of D-Phe-Pro-Arg Chloromethylketone-Inhibited Human α -Thrombin: Structure Analysis, Overall Structure, Electrostatic Properties, Detailed Active-site Geometry, and Structure-Function Relationships" *Protein Sci.* **1992**, *1*, 426-471.
9. Qiu, X.; Padmanabhan, K. P.; Carperos, V. E.; Tulinsky, A.; Kline, T.; Maraganore, J. M.; Fenton, J. W. "Structure of the hirulog 3-thrombin complex and nature of the S' subsites of substrates and inhibitors" *Biochemistry* **1992**, *31*, 11689-11697.
10. Stürzebecher, J.; Markwardt, F.; Voigt, B.; Wagner, G.; Walsmann, P. "Cyclic amides of N ^{α} -arylsulfonylamino-acylated 4-amidinophenylalanine – tight binding inhibitors of thrombin" *Thromb. Res.* **1983**, *29*, 267-278.
11. Okamoto, S.; Hijikata, A.; Kikumoto, R. *et al.* "Potent inhibition of thrombin by the newly synthesized arginine derivative No. 805: the importance of the stereostructure of its hydrophobic carboxamide portion" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, *101*, 440-446.
12. Gustafsson, U.; Antonsson, T.; Bylund, R. "Effects of melagatran, a new low-molecular-weight thrombin inhibitor, on thrombin and fibrinolytic enzymes" *Thromb. Haemost.* **1998**, *79*, 110-118.
13. (a) Gustafsson, D.; Nyström, J. E.; Carlsson, S. *et al.* "The direct thrombin inhibitor melagatran and its oral prodrug H 376/95: Intestinal absorption properties, biochemical and pharmacodynamic effects" *Thromb. Res.* **2001**, *101*, 171-181; (b) Petersen, P.

"Ximelagatran – A Promising New Drug in Thromboembolic Disorders" *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11*, 527-538.

14. (a) Ripka, A. S.; Rich, D. H. "Peptidomimetic design" *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 441-452; (b) Gante, J. "Tailored Enzyme Inhibitors" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699-1720; (c) Adang, A. E. P.; Hermkens, P. H. H.; Linders, J. T. M.; Ottenheijm, H. C. J.; van Staveren, C. J. "Case Histories of Peptidomimetics: Progression from Peptides to Drugs" *Rec. Trav. Chim. Pays Bas* **1994**, *113*, 63-78; (d) Olson, G. L.; Bolin, D. R.; Bonner, M. P.; Börs, M.; Cook, C. M.; Fry, D. C.; Graves, B. J.; Hatada, M.; Hill, D. E.; Kahn, M.; Madison, V. S.; Rusiecki, V. K.; Sarabu, R.; Sepinwall, J.; Vincent, G. P.; Vos, M. E. "Concepts and Progress in the Development of Peptide Mimetics" *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039-3049.

15. (a) Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W. D. "Design and Synthesis of Conformationally Constrained Amino Acids as Versatile Scaffolds and Peptide Mimetics" *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854; (b) Belvisi, L.; Colombo, L.; Manzoni, L.; Potenza, D.; Scolastico, C. "Design, Synthesis, Conformational Analysis and Application of Azabicycloalkane Amino Acids as Constrained Dipeptide Mimetics" *Synlett* **2004**, 1449-1471; (c) Maison, W.; Prenzel, A. H. G. P. "Stereoselective Synthesis of Aza- and Diazabicyclo[X.Y.0]alkane Dipeptide Mimetics" *Synthesis* **2005**, 1031-1048.

16. Hanessian, S.; Ronan, B.; Laoui, A. "Design and Synthesis of a Prototype Model Antagonist of Tachykinin NK-2 Receptor" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1397-1400.

17. Barton, D. H. R.; Hervé, Y.; Potier, P.; Thierry, J. "Synthesis of Novel α -Amino Acids and Derivatives Using Radical Chemistry: Synthesis of L- and D- α -Amino-Adipic Acids, L- α -Aminopimelic Acid and Appropriate Unsaturated Derivatives" *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4297-4308.

18. Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G. "A Versatile Synthesis of a β -Turn Peptidomimetic Scaffold: An Approach Towards a Designed Model Antagonist of the Tachykinin NK-2 Receptor" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1567-1572.

19. (a) Arend, M.; Westermann, B.; Risch, N. "Modern Variants of the Mannich Reaction" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 1044-1070; (b) Casiraghi, G.; Zanardi, F.; Appendino, G.; Rassa, G. "The Vinylogous Aldol Reaction: A Valuable, Yet Understated Carbon-Carbon Bond-Forming Maneuver" *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1929-1972; (c) Rassa, G.; Zanardi, F.; Battistini, L.; Casiraghi, G. "The synthetic utility of furan-, pyrrole- and thiophene-based 2-silyloxy dienes" *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 109-118; (d) Martin, S. F. "General strategies for the stereoselective synthesis of alkaloid natural products" *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 571-576.

20. Nájera, C.; Yus, M. "Pyroglutamic acid: a versatile building block in asymmetric synthesis" *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 2245-2303.

21. Mueller, R.; Revesz, L. "Synthesis of 6,5-Fused Bicyclic Lactams as Potential Dipeptide β -Turn Mimetics" *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4091-4092.

22. Schöllkopf, U.; Hinrichs, R.; Lonsky, R. "Asymmetric Synthesis of Cyclic α -Amino Acids by the Bislactim Ether Method" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 143-145.

23. Lombart, H.-G.; Lubell, W. D. "Rigid Dipeptide Mimetics: Efficient Synthesis of Enantiopure Indolizidinone Amino Acids" *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9437-9446.

24. Polyak, F.; Lubell, W. D. "Rigid Dipeptide Mimics: Synthesis of Enantiopure 5- and 7-Benzyl and 5,7-Dibenzyl Indolizidinone Amino Acids via Enolization and Alkylation of δ -Oxo α,ω -Di-[N-(9-(9-phenylfluorenyl))amino]azelaate Esters" *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5937-5949.

25. Kim, H.-O.; Kahn, M. "Short Synthesis of (3S,6S,9S)-2-Oxo-3-(N-Boc-amino)-1-azabicyclo[4.3.0]nonane-9-carboxylic Acid Methyl Ester: Tandem Cyclization Protocol" *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6483-6484.
26. Colombo, L.; Di Giacomo, M.; Brusotti, G.; Sardone, N.; Angiolini, M.; Belvisi, L.; Maffioli, S.; Manzoni, L.; Scolastico, C. "Stereoselective synthesis of 6,5-bicyclic reverse-turn peptidomimetics" *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5325-5336.
27. (a) Wang, W.; Yang, J.; Ying, J.; Xiong, C.; Zhang, J.; Cai, C.; Hruby, V. J. "Stereoselective Synthesis of Dipeptide β -Turn Mimetics: 7-Benzyl and 8-Phenyl Substituted Azabicyclo[4.3.0]nonane Amino Acid Esters" *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6353-6360; (b) Wang, W.; Xiong, C.-Y.; Hruby, V. J. "An efficient approach to asymmetric synthesis of dipeptide β -turn mimetics: indolizidinone amino acids" *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3159-3161.
28. Mulzer, J.; Schülzchen, F.; Bats, J.-W. "Rigid Dipeptide Mimetics. Stereocontrolled Synthesis of All Eight Stereoisomers of 2-Oxo-3-(N-Cbz-amino)-1-azabicyclo[4.3.0]nonane-9-carboxylic Acid Ester" *Tetrahedron* **2000**, *56*, 4289-4298.
29. Hanessian, S.; Balaux, E.; Musil, D.; Olsson, L.-L.; Nilsson, I. "Exploring the chiral space within the active site of α -thrombin with a constrained mimic of D-Phe-Pro-Arg - design, synthesis, inhibitory activity, and X-ray structure of an enzyme-inhibitor complex" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 243-247.
30. (a) Kalafatis, M.; Egan, J. O.; van't Veer, C.; Cawthern, K.; Mann, K. G. "The regulation of clotting factors" *Curr. Rev. Eukaryotic Gene Expression* **1997**, *7*, 241-280; (b) Bouma, B. N.; von dem Borne, P. A. K.; Meijers, J. C. M. "Factor XI and protection of the fibrin clot against lysis - a role for the intrinsic pathway of coagulation in fibrinolysis" *Thromb. Haemost.* **1998**, *80*, 24-27; (c) Mann, K. G. "Biochemistry and physiology of blood coagulation" *Thromb. Haemost.* **1999**, *82*, 165-174; (d) Banner, D. W.; D'Arcy, A.; Chene, C.; Winkler, F. K.; Guha, A.; Konigsberg, W. H.; Nemerson, Y.;

Kirchhofer, D. "The crystal structure of the complex of blood coagulation factor VIIa with soluble tissue factor" *Nature* **1996**, *380*, 41-46.

31. Hanessian, S.; Therrien, E.; Granberg, K.; Nilsson, I. "Targeting thrombin and factor VIIa: design, synthesis, and inhibitory activity of functionally relevant indolizidinones" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2907-2911.

32. Kadono, S.; Sakamoto, A.; Kikuchi, Y.; Oh-eda, M.; Yabuta, N.; Koga, T.; Hattori, K.; Shiraishi, T.; Haramura, M.; Kodama, H.; Ono, Y.; Esaki, T.; Sato, H.; Watanabe, Y.; Itoh, S.; Ohta, M.; Kozono, T. "Structure of human factor VIIa/tissue factor in complex with a peptide-mimetic inhibitor: high selectivity against thrombin by introducing two charged groups in P2 and P4" *Acta Cryst.* **2005**, *F61*, 169-173.

33. (a) Saijo, S.; Wada, M.; Himizu, J.-I.; Ishida, A. "Heterocyclic Prostaglandins. V. Synthesis of (12*R*, 15*S*)-(-)-11-Deoxy-8-azaprostaglandin E₁ and Related Compounds" *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 1449-1458; (b) Shin, C.-G.; Nakamura, Y.; Yamada, Y.; Yonezawa, Y.; Umemura, K.; Yoshimura, J. "Syntheses of 2-[(1*S*,3*S*)-1-Amino-3-carboxy-3-hydroxypropyl]thiazole-4-carboxylic Acid and the Tripeptide Skeleton of Nosiheptide Containing the Acid" *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 3151-3160.

34. Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Rubio, A.; Yruretagoyena, B.; Escribano, A.; Sanchez-Ferrando, F. "Stereoselective Reactions of Lithium Enolates Derived from N-Boc Protected Pyroglutamic Esters" *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8665-8678.

35. (a) Westwood, N. J.; Claridge, T. D. W.; Edwards, P. N.; Schofield, C. J. "Reversible acylation of elastase by γ -lactam analogues of β -lactam inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2973-2978; (b) Hanessian, S.; Balaux, E. Résultats non-publiés.

36. Tramontini, M.; Angiolini, L. *Mannich Bases: Chemistry and Uses*, CRC Press: Boca Raton, FL, 1994.

37. (a) Zanardi, F.; Battistini, L.; Rassa, G.; Pinna, L.; Mor, M.; Culeddu, N.; Casiraghi, G. "Modular Approach toward the Construction of the Core Motifs of Annonaceous Acetogenins and Variants Thereof" *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1368-1369; (b) Casiraghi, G.; Rassa, G. "Furan-, Pyrrole-, and Thiophene-Based Siloxydienes for Synthesis of Densely Functionalized Homochiral Compounds" *Synthesis* **1995**, 607-626.
38. (a) Bur, S. K.; Martin, S. F. "Vinylogous Mannich reactions: selectivity and synthetic utility" *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3221-3242; (b) Bur, S. K.; Martin, S. F. "Vinylogous Mannich Reactions: Some Theoretical Studies on the Origins of Diastereoselectivity" *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3445-3447.
39. Boeckman, R. K.; Potenza, J. C. "Catechol Boron Halides: Mild and Selective Reagents for Cleavage of Common Protecting Groups" *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1407-1410.
40. Bordwell, F. G.; Fried, H. E. "Acidities of the hydrogen-carbon protons in carboxylic esters, amides, and nitriles" *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4327-4331.
41. (a) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Ellman, J. A.; Dorrow, R. L. "The asymmetric synthesis of α -amino acids. Electrophilic azidation of chiral imide enolates, a practical approach to the synthesis of (R)- and (S)- α -azido carboxylic acids" *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4011-4030; (b) Hanessian, S.; Wang, W.; Gai, Y. "Stereocontrolled sequential functionalization in acyclic systems by exploiting internal 1,2-asymmetric induction - generation of symmetry-related polyamino alcohol motifs" *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7477-7480; (c) Wasserman, H. H.; Hlasta, D. J. "A synthesis of (\pm)-3-aminonocardicinic acid (3-ANA)" *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6780-6781.
42. Mancuso, A. J.; Huang, S.-L.; Swern, D. "Oxidation of Long-Chain and Related Alcohols to Carbonyls by Dimethylsulfoxide "Activated" by Oxalyl Chloride" *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480-2482.

43. Bal, B. B.; Childers, W. E., Jr.; Pinnick, H. W. "Oxidation of α,β -unsaturated aldehydes" *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2091-2096.
44. (a) Lila, C.; Gloanec, P.; Cadet, L.; Hervé, Y.; Fournier, J.; Leborgne, F.; Verbeuren, T. J.; De Nanteuil, G. "Large scale preparation of protected 4-aminomethylbenzamidine. Application to the synthesis of the thrombin inhibitor, Melagatran" *Synthetic Comm.* **1998**, *28*, 4419-4429; (b) Antonsson, K.; Bylund, R.; Gustafsson, N.; Nilsson, N. "Trypsin-like protease-inhibiting peptide derivatives, their synthesis and therapeutic use" World Patent **1994**, *94* 29336, 263p.; (c) Gustafsson, D.; Antonsson, T.; Bylund, R.; Eriksson, U.; Gyzander, E.; Nilsson, I.; Elg, M.; Mattsson, C.; Deinum, J.; Pehrsson, S.; Karlsson, O.; Nilsson, A.; Sorensen, H. "Effects of melagatran, a new low-molecular-weight thrombin inhibitor, on thrombin and fibrinolytic enzymes" *Thromb. Haemostasis* **1998**, *119*, 110-118.
45. Griffith, W. P.; Ley, S. V.; Withcombe, G. P.; White, A. D. "Preparation and Use of Tetra-n-butylammonium Per-ruthenate (TBAP reagent) and Tetra-n-propylammonium Per-ruthenate (TPAP reagent) as New Catalytic Oxidants for Alcohols" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1625-1627.
46. Bayley, H.; Standring, D. N.; Knowles, J. R.; "Propane-1,3-dithiol: A selective reagent for the efficient reduction of alkyl and aryl azides to amines" *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 3633-3634.
47. Toteva, M. M.; Richard, J. P. "Mechanism for Nucleophilic Substitution and Elimination Reactions at Tertiary Carbon in Largely Aqueous Solutions: Lifetime of a Simple Tertiary Carbocation" *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11434-11445.
48. (a) Fray, A. H.; Kaye, R. L.; Kleinman, E. F. "A Short, Stereoselective Synthesis of the Lactone Precursor to 2R,4S,5S Hydroxyethylene Dipeptide Isosteres" *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4828-4833; (b) Takano, S.; Chiba, K.; Yonaga, M.; Ogasawara, K.

"Enantioselective Synthesis of (+)-Quebrachamine using L-Glutamic Acid as a Chiral Template" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, 616-617.

49. (a) Dess, D. B.; Martin, J. C. "A Useful 12-I-5 Triacetoxyperiodinane (the Dess-Martin Periodinane) for the Selective Oxidation of Primary and Secondary Alcohols and a Variety of Related 12-I-5 Species" *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287; (b) Dess, D. B.; Martin, J. C. "Readily Accessible 12-I-5 Oxidant for the Conversion of Primary and Secondary Alcohols to Aldehydes and Ketones" *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156.

50. Hanessian, S.; Sailes, H.; Munro, A.; Therrien, E. "Synthesis of Diversely Functionalized Indolizidinones and Related Bicyclic Lactams Using Intramolecular Grubbs Olefin Metathesis and Dieckmann Condensation" *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7219-7233.

51. (a) McLure, K. F.; Renold, P.; Kemp, D. S. "An Improved Synthesis of a Template for α -Helix Formation" *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 454-457; (b) Wistrand, L.-G.; Skrinjar, M. "Chiroselective synthesis of trans-2,5-disubstituted pyrrolidines via stereoselective addition of organocopper reagents to *N*-acyliminium ions" *Tetrahedron* **1991**, *47*, 573-582.

52. Revues récentes: (a) Grubbs, R. H.; Chang, S. "Recent advances in olefin metathesis and its application in organic synthesis" *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450; (b) Armstrong, S. K. "Ring closing diene metathesis in organic synthesis" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 371-388; (c) Fürstner, A. "Olefin Metathesis and Beyond" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 3012-3043; (d) Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. "The Development of $L_2X_2Ru=CHR$ Olefin Metathesis Catalysts: An Organometallic Success Story" *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18-29; (e) Hoveyda, A. H.; Schrock, R. R. "Catalytic asymmetric olefin metathesis" *Org. Synth. Highlights V* **2003**, 210-229.

53. (a) Schrock, R. R.; Murdzek, J. S.; Bazan, G. C.; Robbins, J.; DiMare, M.; O'Regan, M.; "Synthesis of molybdenum imido alkylidene complexes and some reactions involving acyclic olefins" *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3875-3886; (b) Oskam, J. H.; Fox, H. H.; Yap, K. B.; McConville, D. H.; O'Dell, R.; Lichtenstein, B. J.; Schrock, R. R. "Ligand variation in alkylidene complexes of the type $\text{Mo}(\text{CHR})(\text{NR}')(\text{OR})_2$ " *J. Organomet. Chem.* **1993**, *459*, 185-198; (c) Feldman, J.; Murdzek, J. S.; Davis, W. M.; Schrock, R. R. "Reaction of neopentylidene complexes of the type $\text{M}(\text{CH-t-Bu})(\text{N-2,6-C}_6\text{H}_3\text{-i-Pr}_2)(\text{OR})_2$ ($\text{M} = \text{W, Mo}$) with methyl acrylate and N,N-dimethylacrylamide to give metallacyclobutane complexes" *Organometallics* **1989**, *8*, 2260-2265.

54. (a) Nguyen, S. T.; Johnson, L. K.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W. "Ring-opening metathesis polymerization (ROMP) of norbornene by a Group VIII carbene complex in protic media" *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974-3975; (b) Nguyen, S. T.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W. "Syntheses and activities of new single-component, ruthenium-based olefin metathesis catalysts" *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9858-9859; (c) Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H. "A series of well-defined metathesis catalysts - synthesis of $[\text{RuCl}_2(\text{:CHR}')(\text{PR}_3)_2]$ and their reactions." *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039-2041.

55. (a) Scholl, M.; Trnka, T. M.; Morgan, J. P.; Grubbs, R. H. "Increased ring closing metathesis activity of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with imidazolin-2-ylidene ligands" *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2247-2250; (b) Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H. "Synthesis and Activity of a New Generation of Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Coordinated with 1,3-Dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene Ligands" *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-956; (c) Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H. "Synthesis of Trisubstituted Alkenes via Olefin Cross-Metathesis" *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1751-1753; (d) Chatterjee, A. K.; Morgan, J. P.; Scholl, M.; Grubbs, R. H. "Synthesis of Functionalized Olefins by Cross and Ring-Closing Metatheses" *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3783-3784.

56. Deiters, A.; Martin, S. F. "Synthesis of Oxygen- and Nitrogen-Containing Heterocycles by Ring-Closing Metathesis" *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2199-2238.
57. (a) Thaning, M.; Wistrand, L.-G. "Intermolecular Stereoselective Alkenylation of Chiral *N*-Acylpyrrolidinium Ions" *Acta Chem. Scand.* **1992**, *46*, 194-199; (b) Wistrand, L.-G.; Skrinjar, M. "Chiroselective synthesis of trans-2,5-disubstituted pyrrolidines via stereoselective addition of organocopper reagents to *N*-acyliminium ions" *Tetrahedron* **1991**, *47*, 573-578.
58. Collado, I.; Ezquerro, J.; Pedregal, C. "Stereoselective Addition of Grignard-Derived Organocopper Reagents to *N*-Acyliminium Ions: Synthesis of Enantiopure 5- and 4,5-Substituted Prolinates" *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5011-5015.
59. Smith, A. B., III.; Guzman, M. C.; Sprengeler, P. A.; Keenan, T. P.; Holcomb, R. C.; Wood, J. L.; Carroll, P. J.; Hirschmann, R. "De Novo Design, Synthesis, and X-ray Crystal Structures of Pyrrolinone-Based β -Strand Peptidomimetics" *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9947-9962.
60. (a) Moree, W. J.; van der Marel, G. A.; Liskamp, R. J. "Synthesis of Peptidosulfonamides and Peptidosulfonamides: Peptidomimetics Containing the Sulfonamide or Sulfonamide Transition-State Isostere" *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5157-5169; (b) Morre, W. J.; van Gent, L. C.; van der Marel, G. A.; Liskamp, R. M. J. "Synthesis of Peptides containing a Sulfonamide or a Sulfonamide Transition-State Isostere" *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1133-1150; (c) Radkiewicz, J. L.; McAllister, M. A.; Goldstein, E.; Houk, K. N. "A Theoretical Investigation of Phosphoramidates and Sulfonamides as Protease Transition State Isosteres" *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1419-1428; (d) Meléndez, R. E.; Lubell, W. D. "Synthesis and reactivity of cyclic sulfamidites and sulfamidates" *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2581-2616.

61. Cvetkovic, R. S.; Perry, C. M. "Brinzolamide: a review of its use in the management of primary open-angle glaucoma and ocular hypertension" *Drugs & Aging* **2003**, *20*, 919-947.
62. Bakker, W. I.; Familoni, O. B.; Padfield, J.; Snieckus, V. "Intramolecular Anionic Friedel-Crafts Equivalents. An Expedient Synthesis of 4*H*-1,2-Benzothiazin-4-one 1,1-Dioxides from *N*-Arylsulfonylated Amino Acids" *Synlett* **1997**, 1079-1080.
63. Cooper, G. F. "Synthesis of Substituted 1,3-Propanesultams from *N*-Substituted 2-Amino Alcohols" *Synthesis* **1991**, 859-860.
64. (a) Hanson, P. R.; Probst, D. A.; Robinson, R. E.; Yau, M. "Cyclic Sulfonamides via Ring-Closing Metathesis Reaction" *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4761-4764; (b) Wanner, J.; Harned, A. M.; Probst, D. A.; Poon, K. W. C.; Klein, T. A.; Snelgrove, K. A.; Hanson, P. R. "A dual metathesis route to oligomeric sulfonamides" *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 917-921.
65. (a) Long, D. D.; Termin, A. P. "Ring-closing metathesis to a divergent endocyclic sulfonamide template" *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6743-6747; (b) Long, D. D.; Dahl, R.; Jolivet, C.; Marshall, W. J.; Termin, A. P. "Stereo- and regiospecific of a highly functionalized bridgehead tricyclic sultam" *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4407-4409.
66. Greig, I. R.; Tozer, M. J.; Wright, P. T. "Synthesis of Cyclic Sulfonamides through Intramolecular Diels-Alder Reactions" *Org. Lett.* **2001**, *3*, 369-371.
67. Brouwer, A. J.; Liskamp, R. M. J. "Synthesis of Cyclic Peptidosulfonamides by Ring-Closing Metathesis" *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3662-3668.
68. (a) Freitag, D.; Schwab, P.; Metz, P. "A concise synthesis of β -lactam-sulfonamide hybrids" *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3589-3592; (b) Karsch, S.; Freitag, D.; Schwab, P.;

Metz, P. "Ring Closing Metathesis in the Synthesis of Sultones and Sultams" *Synthesis* **2004**, 1696-1712.

69. Hanessian, S.; Sailes, H.; Therrien, E. "Synthesis of functionally diverse bicyclic sulfonamides as constrained proline analogues and application to the design of potential thrombin inhibitors" *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7047-7056.

70. Kaiser, E. M.; Knutson, P. L. A. "Preparation and Reactions of α -lithiobutanesultams" *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1342-1346.

71. Spaltenstein, A.; Almond, M. R.; Bock, W. J.; Cleary, D. G.; Furfine, E. S.; Hazen, R. J.; Kazmierski, W. M.; Salituro, F. G.; Tung, R. D.; Wright, L. L. "Novel Inhibitors of HIV Protease: Design, Synthesis and Biological Evaluation of Picomolar Inhibitors Containing Cyclic P1/P2 Scaffolds" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1159-1162.

72. (a) Inagaki, M.; Tsuru, T.; Jyoyama, H.; Ono, T.; Yamada, K.; Kobayashi, M.; Hori, Y.; Arimura, A.; Yasui, K.; Ohno, K.; Kakudo, S.; Koizumi, K.; Suzuki, R.; Kato, M.; Kawai, S.; Matsumoto, S. "Novel Antiarthritic Agents with 1,2-Isothiazolidine-1,1-dioxide (γ -Sultam) Skeleton: Cytokine Suppressive Dual Inhibitors of Cyclooxygenase-2 and 5-Lipoxygenase" *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2040-2048; (b) Inagaki, M.; Jyoyama, H.; Ono, T.; Yamada, K.; Kobayashi, M.; Baba, T.; Touchi, A.; Iwatani, K.; Ohkawa, T.; Matsumoto, S.; Tsuria, T. "Synthesis and Activities of Oxidative Metabolites of the Anti-arthritis Drug Candidate S-2474" *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2415-2419.

73. Miyabe, H.; Fujii, K.; Naito, T. "Radical addition to oxime ethers for asymmetric synthesis of β -amino acid derivatives" *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 381-390.

74. (a) Remko, M. "Theoretical Study of Molecular Structure and Gas-Phase Acidity of Some Biologically Active Sulfonamides" *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 720-725; (b) Cama, E.; Shin, H.; Christianson, D. W. "Design of Amino Acid Sulfonamides as

Transition-State Analogue Inhibitors of Arginase" *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13052-13057.

75. Gennari, C.; Gude, M.; Potenza, D.; Piarulli, U. "Hydrogen-Bonding Donor/Acceptor Scales in β -Sulfonamidopeptides" *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1924-1931.

76. (a) Levy, O. E.; Semple, J. E.; Lim, M. L.; Reiner, J.; Rote, W. E.; Dempsey, E.; Richard, B. M.; Zhang, E.; Tulinsky, A.; Ripka, W. C.; Nutt, R. F. "Potent and selective thrombin inhibitors incorporating the constrained arginine mimic 1-3-piperidyl(*N*-guanidino)alanine at P1" *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4527-4530; (b) Semple, J. E.; Rowley, D. C.; Brunck, T. K.; Ha-Uong, T.; Minami, N. K.; Owens, T. D.; Tamura, S. Y.; Goldman, E. A.; Siev, D. V.; Ardecky, R. J.; Carpenter, S. H.; Ge, Y.; Richard, B. M.; Nolan, T. G.; Hakanson, K.; Tulinsky, A.; Nutt, R. F.; Ripka, W. C. "Design, synthesis, and evolution of a novel, selective, and orally bioavailable class of thrombin inhibitors: P1-argininal derivatives incorporating P3-P4 lactam sulfonamide moieties" *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4531-4536.

77. Tamura, S. Y.; Semple, J. E.; Reiner, J. E.; Goldman, E. A.; Brunck, T. K.; Lim-Wilby, M. S.; Carpenter, S. H.; Rote, W. E.; Oldeshulte, G. L.; Richard, B. M.; Nutt, R. F.; Ripka, W. C. "Design and synthesis of a novel class of thrombin inhibitors incorporating heterocyclic dipeptide surrogates" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1543-1548.

78. (a) Sanderson, P. E. J.; Cutrona, K. J.; Dorsey, B. D.; Dyer, D. L.; McDonough, C. M.; Naylor-Olsen, A. M.; Chen, I.-W.; Chen, Z.; Cook, J. J.; Gardell, S. J.; Krueger, J. A.; Lewis, S. D.; Lin, J. H.; Lucas, Jr., B. J.; Lyle, E. A.; Lynch, Jr., J. J.; Stranieri, M. T.; Vastag, K.; Shafer, J. A.; Vacca, J. P. "L-374,087, an efficacious, orally bioavailable, pyridinone acetamide thrombin inhibitor" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 817-822; (b) Sanderson, P. E. J.; Cutrona, K. J.; Dyer, D. L.; Krueger, J. A.; Kuo, L. C.; Lewis, S. D.; Lucas, B. J.; Yan, Y. "Small, low nanomolar, noncovalent thrombin inhibitors

lacking a group to fill the 'Distal binding pocket'" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 161-164.

79. (a) von der Saal, W.; Kuczniarz, R.; Leinert, H.; Engh, R. A. "Derivatives of 4-amino-pyridine as selective thrombin inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1283-1288; (b) Bursi, R.; Grootenhuis, P. D. J. "Comparative molecular field analysis and energy interaction studies of thrombin-inhibitor complexes" *J. Comput.-Aided Mol. Design* **1999**, *13*, 221-232.

80. (a) Illig, C.; Eisennagel, S.; Bone, R.; Radzicka, A.; Murphy, L.; Randle, T.; Spurlino, J.; Salemme, F. R.; Soll, R. M. "Expanding the envelope of structure-based drug design using chemical libraries: Application to small-molecule inhibitors of thrombin" *Med. Chem. Res.* **1998**, *8*, 244-260; (b) Lu, T.; Tomczuk, B.; Illig, C. R.; Bone, R.; Murphy, L.; Spurlino, J.; Salemme, F. R.; Soll, R. M. "In vitro evaluation and crystallographic analysis of a new class of selective, non-amide-based thrombin inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1595-1600; (c) Soll, R. M.; Lu, T.; Tomczuk, B.; Illig, C. R.; Fedde, C.; Eisennagel, S.; Bone, R.; Murphy, L.; Spurlino, J.; Salemme, F. R. "Amidinohydrazones as guanidine bioisosteres: application to a new class of potent, selective and orally bioavailable, non-amide-based small-molecule thrombin inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1-4.

81. Hanessian, S.; Therrien, E.; van Otterlo, W. A. L.; Bayrakdarian, M.; Nilsson, I.; Fjellström, O.; Xue, Y. "Phenolic P₂/P₃ Core Motif as Thrombin Inhibitors – Design, Synthesis, and X-ray Co-crystal Structures" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *manuscript en préparation*.

82. Moreno-Mañas, M.; Pleixats, R.; Santamaria, A. "Preparation of Tricyclic and Tetracyclic Benzoxepin Derivatives by One-Pot Enyne Metathesis/Diels-Alder Reaction" *Synlett*, **2001**, 1784-1786.

83. Pan, W.; Lu, T.; Markotan, T. P.; Tomczuk, B. E. "Aminopyridinyl-, aminoguanidinyl- and alkoxyguanidinyl- substituted phenyl acetamides as protease inhibitors" Patent WO 02/028825, 2002.
84. (a) Berggren, Kristina; Davidsson, Öjvind; Fjellström, Ola; Gustafsson, David; Inghardt, Tord; Någård, Mats; Nilsson, Ingemar; Therrien, Eric; Hanessian, Stephen; Van Otterlo, Willem. New 5,6-Dihydropyridin-2-one Compounds Useful as Inhibitors of Thrombin. WO 2005058826 A1 2005-06-30; (b) Bayrakdarian, Malken; Berggren, Kristina; Davidsson, Öjvind; Fjellström, Ola; Gustafsson, David; Hanessian, Stephen; Inghardt, Tord; Någård, Mats; Nilsson, Ingemar; Simard, Daniel; Therrien, Eric. New Pyridin-2-one Compounds Useful as Inhibitors of Thrombin. WO 2005075424 A1 2005-08-18; (c) Hanessian, S.; Therrien, E.; van Otterlo, W. A. L.; Bayrakdarian, M.; Nilsson, I.; Fjellström, O.; Petersen, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *manuscript en préparation*; (d) Hanessian, S.; Simard, D.; Bayrakdarian, M.; Therrien, E.; Nilsson, I.; Fjellström, O. "Design, Synthesis, and Thrombin Inhibitory Activity of Pyridin-2-ones as P2/P3 Core Motifs" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *manuscript en préparation*.
85. Bick, K. L. "The Early Story of Alzheimer Disease" dans *Alzheimer Disease*, 2^{ème} édition, Terry, R. D.; Katzman, R.; Bick, K. L.; Sisodia, S. S. Ed., Lippincott Co., Philadelphie, 1989, p. 1.
86. Alzheimer, A.. "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde" *Allg. Z. Psychiatr.* **1907**, *64*, 146–148.
87. Kraepelin E. "Psychiatrie: Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte" *Leipzig: Barth* **1910**, 593-632.
88. Divry, P.; Florkin, M. "Sur les propriétés optiques de l'amyloïde" *C. R. Soc. Biol.* **1927**, *97*, 1808–1810.

89. Kidd, H. "Alzheimer's disease. An electron microscopical study" *Brain* **1964**, *87*, 307-320.
90. Glenner, G. G.; Wong, C. W. "Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1984**, *120*, 885-890.
91. Germain, I. "L'alimentation adéquate du résident dément, de la folie?" *Revue Aînés Hébergement* **2003**, *4*, 41-42.
92. Selkoe, D. J. "Biology of β -Amyloid Precursor Protein and the Mechanism of Alzheimer Disease" dans *Alzheimer Disease*, 2^{ème} édition, Terry, R. D.; Katzman, R.; Bick, K. L.; Sisodia, S. S. Ed., Lippincott Co., Philadelphie, 1989, p. 293.
93. Thal, L. J. "Clinical Trials in Alzheimer Disease" dans *Alzheimer Disease*, 2^{ème} édition, Terry, R. D.; Katzman, R.; Bick, K. L.; Sisodia, S. S. Ed., Lippincott Co., Philadelphie, 1989, p. 423.
94. (a) Citron, M. " β -Secretase inhibition for the treatment of Alzheimer's disease – promise and challenge" *Trends Pharmacol. Sci.* **2004**, *25*, 92-97; (b) Wolfe, S. M. "Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease" *Nature Reviews Drug Discovery* **2002**, *1*, 859-866; (c) Wolfe, M. S. "Secretase Targets for Alzheimer's Disease: Identification and Therapeutic Potential" *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2039-2060.
95. Vassar, R.; Bennett, B. D.; Babu-Khan, S.; Kahn, S.; Mendiaz, E. A.; Denis, P.; Teplow, D. B.; Ross, S.; Amarante, P.; Loeloff, R.; Luo, Y.; Fisher, S.; Fuller, J.; Edenson, S.; Lile, J.; Jarosinski, M. A.; Biere, A. L.; Curran, E.; Burgess, T.; Louis, J. C.; Collins, F.; Treanor, J.; Rogers, G.; Citron, M. " β -Secretase Cleavage of Alzheimer's Amyloid Precursor Protein by the Transmembrane Aspartic Protease BACE" *Science* **1999**, *286*, 735-741.

96. Sinha, S.; Anderson, J. P.; Barbour, R.; Basi, G. S.; Caccavello, R.; Davis, D.; Doan, M.; Dovey, H. F.; Frigon, N.; Hong, J.; Jacobson-Croak, K.; Jewett, N.; Keim, P.; Knops, J.; Lieberburg, I.; Power, M.; Tan, H.; Tatsuno, G.; Tung, J.; Schenk, D.; Seubert, P.; Suomensaaari, S. M.; Wang, S.; Walker, D.; John, V. "Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain" *Nature* **1999**, *402*, 537-40.
97. Yan, R.; Bienkowski, M. J.; Shuck, M. E.; Miao, H.; Tory, M. C.; Pauley, A. M.; Brashier, J. R.; Stratman, N. C.; Mathews, W. R.; Buhl, A. E.; Carter, D. B.; Tomasselli, A. G.; Parodi, L. A.; Heinrikson, R. L.; Gurney, M. E. "Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease beta- secretase activity" *Nature* **1999**, *402*, 533-7.
98. (a) Hussain, I.; Powell, D.; Howlett, D. R.; Tew, D. G.; Meek, T. D.; Chapman, C.; Gloger, I. S.; Murphy, K. E.; Southan, C. D.; Ryan, D. M.; Smith, T. S.; Simmons, D. L.; Walsh, F. S.; Dingwall, C.; Christie, G. "Identification of a Novel Aspartic Protease (Asp 2) as β -Secretase" *Mol. Cell Neurosci.* **1999**, *14*, 419-427; (b) Lin, X.; Koelsch, G.; Wu, S.; Downs, D.; Dashti, A.; Tang, J. "Human aspartic protease memapsin 2 cleaves the β -secretase site of beta-amyloid precursor protein" *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 1456-60.
99. Ghosh, A. K.; Shin, D.; Downs, D.; Koelsch, G.; Lin, X.; Ermolieff, J.; Tang, J. "Design of potent inhibitors of human brain memapsin 2 (β -secretase)." *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3522-3523.
100. Hong, L.; Koelsch, G.; Lin, X.; Wu, W. S.; Terzyan, S.; Ghosh, A. K.; Zhang, X. C.; Tang, J. "Structure of the protease domain of memapsin 2 (β -secretase) complexed with inhibitor" *Science* **2000**, *290*, 150-153.
101. (a) Ghosh, A. K.; Bilcer, G.; Harewood, C.; Kawahama, R.; Shin, D.; Hussain, K. A.; Hong, L.; Loy, J. A.; Nguyen, C.; Koelsch, G.; Ermolieff, J.; Tang, J. "Structure-based design: potent inhibitors of human brain memapsin 2 (β -secretase)" *J. Med. Chem.*

2001, 44, 2865-2868; (b) Ghosh, A. K.; Hong, L.; Tang, J. " β -Secretase as a Therapeutic Target for Inhibitor Drugs" *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 1135-1144.

102. (a) Hom, R. K.; Fang, L. Y.; Mamo, S.; Tung, J. S.; Guinn, A. C.; Walker, D. E.; Davis, D. L.; Gailunas, A. F.; Thorsett, E. D.; Sinha, S.; Knops, J. E.; Jewett, N. E.; Anderson, J. P.; John, V. "Design and Synthesis of Statine-Based Cell-Permeable Peptidomimetic Inhibitors of Human β -Secretase" *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 1799-1802; (b) Hom, R. K.; Gailunas, A. F.; Mamo, S.; Fang, L. Y.; Tung, J. S.; Walker, D. E.; Davis, D. L.; Thorsett, E. D.; Jewett, N. E.; Moon, J. B.; John, V. "Design and Synthesis of Hydroxyethylene-Based Peptidomimetic Inhibitors of Human β -Secretase" *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 158-164.

103. (a) Hu, J.; Cwi, C. L.; Smiley, D. L.; Timm, D.; Erickson, J. A.; McGee, J. E.; Yang, H.-C.; Mendel, D.; May, P. C.; Shapiro, M.; McCarthy, J. R. "Design and Synthesis of Statine-Containing BACE Inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 4335-4339; (b) Lamar, J.; Hu, J.; Bueno, A. B.; Yang, H.-C.; Guo, D.; Copp, J. D.; McGee, J.; Gitter, B.; Timm, D.; May, P.; McCarthy, J.; Chen, S.-H. "Phe*-Ala-based pentapeptide mimetics are BACE inhibitors: P2 and P3 SAR" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 239-243; (c) Chen, S.-H.; Lamar, J.; Guo, D.; Kohn, T.; Yang, H.-C.; McGee, J.; Timm, D.; Erickson, J.; Yip, Y.; May, P.; McCarthy, J. "P3 cap modified Phe*-Ala series BACE inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 245-250.

104. Miyamoto, M.; Matsui, J.; Fukumoto, H.; Tarui, N. "Preparation of 2-[2-amino- or 2-(N-heterocycl)ethyl]-6-(4-biphenylmethoxy)tetralin derivatives as β -secretase inhibitors" Patent WO 01/00665, 2001.

105. Qiao, L.; Etcheberrigaray, R. "Phosphinylmethyl and phosphorylmethyl succinic and glutaric analogs as β -secretase inhibitors" Patent WO 02/96897, 2002.

106. Bhisetti, G. R.; Saunders, J. O.; Murcko, M. A.; Lepre, C. A.; Britt, S. D.; Come, J. H.; Deninger, D. D.; Wang, T. "Inhibitors of BACE" Patent WO 02/88101, 2002.

107. Cumming, J. N.; Iserloh, U.; Kennedy, M. E. "Design and development of BACE-1 inhibitors" *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* **2004**, *7*, 536-556.
108. Kuntz, I. D.; Meng, E. C.; Shoichet, B. K. "Structure-Based Molecular Design" *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 117-123.
109. (a) Bursulaya, B. D.; Totrov, M.; Abagyan, R.; Brooks, C. L., III "Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2003**, *17*, 755-763; (b) Taylor, R. D.; Jewsbury, P. J.; Essex, J. W. "A review of protein-small molecule docking methods" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2002**, *16*, 151-166; (c) Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J. "Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications" *Nature Reviews Drugs Discovery* **2004**, *3*, 935-949.
110. (a) Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 2611; (b) Fischer, E. "Einfluss der Configuration auf die Wirkung den Enzyme" *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985; (c) Lemieux, R. U.; Spohr, U. "How Emil Fischer was led to the lock and key concept for enzyme specificity" *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 1-20.
111. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. "An All Atom Force Field for Simulations of Proteins and Nucleic Acids" *J. Comp. Chem.* **1986**, *7*, 230-252.
112. Jorgensen, W. L.; Tirado-Rives, J. "The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimization for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin" *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1657-1666.
113. Brooks, B. R.; Brucoleri, R. E.; Olafson, B. D.; States, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. "CHARMM: A program for macromolecular energy, minmimization, and dynamics calculations" *J. Comp. Chem.* **1983**, *4*, 187-217.

114. Dauber-Osguthorpe, P.; Roberts, V. A.; Osguthorpe, D. J.; Wolff, J.; Genest, M.; Hagler, A. T. "Structure and energetics of ligand binding to proteins: E. coli dihydrofolate reductase- trimethoprim, a drug-receptor system", *Proteins: Structure, Function and Genetics* **1988**, *4*, 31-47.

115. Allinger, N. L. "Conformational Analysis 130. MM2. A Hydrocarbon Force Field Utilizing V1 and V2 Torsional Terms" *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8127-8134.

116. Hagler, A. T.; Ewig, C. S. "On the use of quantum energy surfaces in the derivation of molecular force fields" *Comp. Phys. Comm.* **1994**, *84*, 131-155.

117. Maple, J. R.; Dinur, U.; Hagler, A. T. "Derivation of forcefields for molecular mechanics and dynamics from ab initio energy surfaces" *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *85*, 5350-5354.

118. Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Lii, J.-H. "Molecular Mechanics. The MM3 Force Field for Hydrocarbons. 1" *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8551-8565.

119. Shi, S.; Yan, L.; Yang, Y.; Fisher, J. *ESFF Forcefield Project Report II*; MSI, San Diego.

120. Rappe, A. K.; Casewit, C. J.; Colwell, K. S.; Goddard, W. A., III; Skiff, W. M. "UFF, a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations" *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10024-10035.

121. En effet, la première simulation par ordinateur fut effectuée au sein du Projet Manhattan lors la seconde guerre mondiale. Elle consistait à l'étude de la détonation nucléaire par la méthode de Monte Carlo.

122. Metropolis, N.; Ulam, S. "The Monte Carlo Method." *J. Amer. Stat. Assoc.* **1949**, *44*, 335-341.

123. Glide 2.5. New York: Schrodinger; **2003**.
124. Trosset, J.-Y.; Scheraga, H. A. "Prodock: Software package for protein modeling and docking" *J. Comp. Chem.* **1999**, *20*, 412-427.
125. Abagyan, R. A.; Totrov, M. M.; Kuznetsov, D. A. "ICM: a new method for structure modeling and design: Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation" *J. Comp. Chem.* **1994**, *15*, 488-506.
126. Liu, M.; Wang, S. "MCDOCK: a Monte Carlo simulation approach to the molecular docking problem" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 435-451.
127. McMartin, C.; Bohacek, R. S. "QXP: Powerful, rapid computer algorithms for structure-based drug design" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 333-344.
128. (a) Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C. "Molecular Recognition of Receptor Sites using a Genetic Algorithm with a Description of Desolvation" *J. Mol. Biol.* **1995**, *245*, 43-53; (b) Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R.; "Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking" *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727-748.
129. (a) Goodsell, D. S.; Olson, A. J. "Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing" *Proteins: Struct. Func. Genet.* **1990**, *8*, 195-202; (b) Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. "Automated Docking using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function" *J. Comput. Chem.* **1998**, *19*, 1639-1662.
130. Clark, K. P.; Ajay "Flexible Ligand Docking without Parameter Adjustment across Four Ligand-Receptor Complexes" *J. Comp. Chem.* **1995**, *16*, 1210-1226.

131. Taylor, J. S.; Burnett, R. M. "DARWIN: A program for docking flexible molecules" *Proteins* **2000**, *41*, 173-191.
132. (a) Rarey, M.; Kramer, B.; Lengauer, T.; Klebe, G. "A Fast Flexible Docking Method using an Incremental Construction Algorithm" *J. Mol. Biol.* **1996**, *261*, 470-489; (b) Rarey, M.; Kramer, B.; Lengauer, T. "Multiple Automatic Base Selection: Protein-Ligand Docking Based on Incremental Construction Without Manual Intervention" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 369-384.
133. Miller, M. D.; Kearsley, S. K.; Underwood, D. J.; Sheridan, R. P. "FLOG: a system to select 'quasi-flexible' ligands complementary to a receptor of known three-dimensional structure" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1994**, *8*, 153-174.
134. (a) Kuntz, I. D.; Blaney, J. M.; Oatley, S. J.; Langridge, R.; Ferrin, T. E. "A Geometric Approach to Macromolecule-Ligand Interactions" *J. Mol. Biol.* **1982**, *161*, 269-288; (b) DesJarlais, R.; Sheridan, R. P.; Seibel, G. L.; Dixon, J. S.; Kuntz, I. D. "Using Shape Complementarity as an Initial Screen in Designing Ligands for a Receptor Binding Site of Known Three-Dimensional Structure" *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 722-729; (c) Kuntz, I. D. "Structure-Based Strategies for Drug Design and Discovery" *Science* **1992**, *257*, 1078-1082.
135. Accelrys Inc., Cerius2 - LigandFit, San Diego: Accelrys Inc.
136. (a) Gehlhaar, D. K.; Verkhivker, G. M.; Rejto, P. A.; Sherman, C. J.; Fogel, D. B.; Fogel, L. J.; Freer, S. T. "Molecular Recognition of the Inhibitor AG-1343 by HIV-1 Protease: Conformationally Flexible Docking by Evolutionary Programming" *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 317-324; (b) Gehlhaar, D. K.; Bouzida, D.; Rejto, P. A. "Rational Drug Design: Novel Methodology and Practical Applications" L. Parrill, M. Rami Reddy, Eds. Washington, DC: American Chemical Society, c1999, pp292-311. Series title: ACS Symposium series 719 (1999).

137. Böhm, H.-J. "The Development of a Simple Empirical Scoring Function to Estimate the Binding Constant for a Protein-Ligand Complex of Known Three-Dimensional Structure" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1994**, *8*, 243-256.
138. Eldridge, M. D.; Murray, C. W.; Auton, T. R.; Paolini, G. V.; Mee, R. P. "Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 425-445.
139. Wang, R.; Lai, L.; Wang, S. "Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2002**, *16*, 11-26.
140. Muegge, I.; Martin, Y. C. "A General and Fast Scoring Function for Protein-Ligand Interactions: A Simplified Potential Approach" *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 791-804.
141. Gohlke, H.; Hendlich, M.; Klebe, G. "Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions" *J. Mol. Biol.* **2000**, *295*, 337-356.
142. (a) Halperin, I.; Ma, B.; Wolfson, H.; Nussinov, R. "Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions" *Proteins* **2002**, *47*, 409-443; (b) Wang, R.; Lu, Y.; Wang, S. "Comparative evaluation of 11 scoring functions for molecular docking" *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2287-2303.
143. Charifson, P. S.; Corkery, J. J.; Murcko, M. A.; Walters, W. P. "Consensus Scoring: A Method for Obtaining Improved Hit Rates from Docking Databases of Three-Dimensional Structures into Proteins" *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5100-5109.
144. Whittaker, M.; Floyd, C. D.; Brown, P.; Gearing, A. J. H. "Design and Therapeutic Application of Matrix Metalloproteinase Inhibitors" *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2735-2776.

145. Hanessian, S.; Bouzbouz, S.; Boudon, A.; Tucker, G. C.; Peyroulan, D. "Picking the S1, S1' and S2' Pockets of Matrix Metalloproteinases. A Niche for Potent Acyclic Sulfonamide Inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1691-1696.
146. Hanessian, S.; Moitessier, N.; Gauchet, C.; Viau, M. "N-Aryl Sulfonyl Homocysteine Hydroxamate Inhibitors of Matrix Metalloproteinases: Further Probing of the S1, S1', and S2' Pockets" *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3066-3073.
147. Hanessian, S.; Griffin A.; Devasthale P. V. "Synthesis of conformationally constrained potential inhibitors of mammalian metalloproteinases" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 3119-3124.
148. Hanessian, S.; Moitessier, N.; Wilmouth, S. "Tetrahydrofuran as a Scaffold for Peptidomimetics. Application to the Design and Synthesis of Conformationally Constrained Metalloproteinase Inhibitors" *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7643-7660.
149. Goodford, P. J. "A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules" *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 849-857.
150. Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. "The Protein Data Bank" *Nucleic Acids Research* **2000**, *28*, 235-242.
151. Hanessian, S.; Moitessier, N.; Therrien, E. "A comparative docking study and the design of potentially selective MMP inhibitors" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2001**, *15*, 873-881.
152. (a) Tamura, Y.; Watanabe, F.; Nakatani, T.; Yasui, K.; Fuji, M.; Komurasaki, T.; Tsuzuki, H.; Maekawa, R.; Yoshioka, T.; Kawada, K.; Sugita, K.; Ohtani, M. "Highly selective and orally active inhibitors of type IV collagenase (MMP-9 and MMP-2): N-

sulfonylamino acid derivatives" *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 640; (b) Kiyama, R.; Tamura, Y.; Watanabe, F.; Tsuzuki, H.; Ohtani, M.; Yodo, M. "Homology modeling of gelatinase catalytic domains and docking simulations of novel sulfonamide inhibitors" *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1723.

153. Ha, S.; Andreani, R.; Robbins, A.; Muegge, I. "Evaluation of docking/scoring approaches: A comparative study based on MMP3 inhibitors" *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2000**, *14*, 435-448.

154. (a) Hanessian, S.; MacKay, D. B.; Moitessier, N. "Design and Synthesis of Matrix Metalloproteinase Inhibitors Guided by Molecular Modeling. Picking the S1 Pocket Using Conformationally Constrained Inhibitors" *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3074-3082; (b) Hanessian, S.; Moitessier, N.; Cantin, L.-D. "Design and synthesis of MMP inhibitors using N-arylsulfonylaziridine hydroxamic acids as constrained scaffolds" *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6885-6900; (c) Hanessian, S.; Moitessier, N. "Sulfonamide-based acyclic and conformationally constrained MMP inhibitors: From computer-assisted design to nanomolar compounds" *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2004**, *4*, 1269-1287.

155. (a) Kulkarni, S. S.; Kulkarni, V. M. "Structure based prediction of binding affinity of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 1128-1140; (b) Northrop, D. B. "Follow the protons: A low-barrier hydrogen bond unifies the mechanisms of the aspartic proteases" *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 790-797.

156. Park, H.; Lee, S. "Determination of the Active Site Protonation State of β -Secretase from Molecular Dynamics Simulation and Docking Experiment: Implications for Structure-Based Inhibitor Design" *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16416-15422.

157. Rajamani, R.; Reynolds, C. H. "Modeling the Protonation States of the Catalytic Aspartates in β -secretase" *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5159-5166.

158. Tounge, B. A.; Reynolds, C. H. "Calculation of the Binding Affinity of β -Secretase Inhibitors using the Linear Interaction Energy Method" *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2074-2082.
159. (a) Åqvist, J. "Calculation of Absolute Binding Free Energies for Charged Ligands and Effects of Long-range Electrostatic Interactions" *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 1587-1597; (b) Åqvist, J. "Ligand Binding Affinities from MD Simulations" *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 358-365; (c) Åqvist, J.; Marelius, J. "The Linear Interaction Energy Method for Predicting Ligand Binding Free Energies" *Comb. Chem. High Throughput. Screen.* **2001**, *4*, 613-626.
160. Carlson, H. A.; Jorgensen, W. L. "An Extended Linear Response Method for Determining Free Energies of Hydration" *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 10667-10673.
161. Rajamani, R.; Reynolds, C. H. "Modeling the Binding Affinities of β -Secretase Inhibitors: Application to Subsite Specificity" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4843-4846.
162. Moitessier, N.; Therrien, E.; Hanessian, S. "A Method for Induced-fit Docking, Scoring and Ranking of Flexible ligands. Application to peptidic and pseudopeptidic BACE-1 Inhibitors" *J. Med. Chem.* **2005**, *sous presse*.
163. Moitessier, N.; Henry, C.; Len, C.; Chapleur, Y. "Toward a Computational Tool Predicting the Stereochemical Outcome of Asymmetric Reactions. 1. Application to Sharpless Asymmetric Dihydroxylation" *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7275-7282.
164. (a) Koshland, D.E. "Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis" *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1958**, *44*, 98-104; (b) Koshland, D.E. "The key-lock theory and the induced fit theory" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2375-2378.

165. Teague, S. J. "Implications of protein flexibility for drug discovery" *Nature Rev.-Drug Disc.* **2003**, *2*, 527-541.
166. (a) Carlson, H. A. "Protein flexibility and drug design: how to hit a moving target" *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 447-452; (b) Erickson, J. A.; Jalaie, M.; Robertson, D. H.; Lewis, R. A.; Vieth, M. "Lessons in Molecular Recognition: the Effects of Ligand and Protein Flexibility on Molecular Docking Accuracy" *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 45-55.
167. Hanessian, S.; Yun, H.; Hou, Y.; Yang, G.; Bayrakdarian, M.; Therrien, E.; Moitessier, N.; Roggo, S.; Veenstra, S.; Tintelnot-Blomley, M.; Rondeau, J.-M.; Ostermeier, C.; Strauss, A.; Ramage, P.; Paganetti, P.; Neumann, U.; Betschart, C. "Structure-Based Design, Synthesis, and Memapsin 2 (BACE) Inhibitory Activity of Carbocyclic and Heterocyclic Peptidomimetics" *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5175-5190.
168. (a) Xiong, B.; Huang, X.-Q.; Shen, L.-L.; Shen, J.-H.; Luo, X.-M.; Shen, X.; Jiang, H.-L.; Chen, K.-X. "Conformational flexibility of β -secretase: Molecular dynamics simulation and essential dynamics analysis" *Acta Pharmacologica Sinica* **2004**, *25*, 705-713; (b) Hong, L.; Tang, J. "Flap Position of Free Memapsin 2 (β -Secretase), a Model for Flap Opening in Aspartic Protease Catalysis" *Biochemistry* **2004**, *43*, 4689-4695.
169. Najmanovich, R.; Kuttner, J.; Sobolev, V.; Edelman, M. "Side-chain Flexibility in Proteins Upon Ligand Binding" *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **2000**, *39*, 261-268.
170. Hong, L.; Turner, R. T., III; Koelsch, G.; Shin, D.; Ghosh, A. K.; Tang, J. "Crystal Structure of Memapsin 2 (β -Secretase) in Complex with an Inhibitor OM00-3" *Biochemistry* **2002**, *41*, 10963-10967.
171. Choppa, R.; Svenson, K.; Annis, B.; Akopian, T. N.; Bard, J.; Stahl, M. L.; Somers, W. S. "Crystal structure of beta-site APP-cleaving enzyme (BACE) and uses thereof" Patent. WO 02/025276, 2002.

172. Tang, J.; Koelsch, G.; Ghosh, A. K. "Inhibitors of Memapsin 2 and Use Thereof" Patent. WO 02/053594, 2002.

173. Boyd, J. G.; Singleton, D. H. "Novel Inhibitor of beta Amyloid Cleavage Enzyme" Patent. US 02/0115616 A1, 2002.

174. Tung, J. S.; Davis, D. L.; Anderson, J. P.; Walker, D. E.; Mamo, S.; Jewett, N.; Hom, R. K.; Sinha, S.; Thorsett, E. D.; John, V. "Design of Substrate-Based Inhibitors of Human β -Secretase" *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 259-262.

175. Grüniger-Leitch, F.; Schlatter, D.; Küng, E.; Nelböck, P.; Döbeli, H. "Substrate and Inhibitor Profile of BACE (β -Secretase) and Comparison with Other Mammalian Aspartic Proteases" *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 4687-4693.

176. Lehmann, E. L.; D'Abrera, H. J. M. "Nonparametrics: Statistical Methods Based on Ranks" Ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, pp. 292, 300, and 323, 1998.

177. (a) Gohlke, H.; Klebe, G. "Approaches to the Description and Prediction of the Binding Affinity of Small-Molecule Ligands to Macromolecular Receptors" *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2644-2676; (b) Williams, D. H.; Westwell, M. S. "Aspects of Weak Interactions" *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 57-63.

178. (a) Hanessian, S.; Hou, Y.; Bayrakdarian, M.; Tintelnot-Blomley, M. "Stereoselective Synthesis of Constrained Oxacyclic Hydroxyethylene Isosteres of Aspartic Protease Inhibitors: Aldol and Mukaiyama Aldol Methodologies for Branched Tetrahydrofuran 2-Carboxylic Acids" *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6735-6745; (b) Hanessian, S.; Yun, H.; Tintelnot-Blomley, M. "Stereoselective Synthesis of Constrained Azacyclic Hydroxyethylene Isosteres as Aspartic Protease Inhibitors: Dipolar Cycloaddition and Related Methodologies toward Branched Pyrrolidine and Pyrrolidinone Carboxylic Acids" *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6746-6756.

179. Lourenço, A. M.; Máximo, P.; Ferreira, L. M.; Pereira, M. M. A. "Bioactive Natural Products, Part H" dans *Studies in Natural Product Chemistry*, édition Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam, **2002**, vol. 27, pp. 233-298.

180. (a) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21*, 625-649; (b) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 458-475; (c) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 719-741; (d) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 520-542; (e) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 579-602; (f) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 675-696; (g) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **1998**, *15*, 571-594; (h) Michael, J. P. "Indolizidine and quinolizidine alkaloids" *Nat. Prod. Rep.* **1997**, *14*, 619-636.

181. Freer, A. A.; Gardner, D.; Greatbanks, D.; Poyser, J. P.; Sim, G. A. "Structure of Cyclizidine (Antibiotic M146791): X-Ray Crystal Structure of an Indolizidinediol Metabolite bearing a Unique Cyclopropyl Side-chain" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 1160-1162.

182. Monaco, P.; Previtara, L.; Mangoni, L. "Terpenes in Pistacia plants: A possible defence role for monoterpenes against gall-forming aphids" *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2408-2410.

183. (a) Leeper, F. J.; Shaw, S. E.; Satish, P. "Biosynthesis of the indolizidine alkaloid cyclizidine: incorporation of singly and doubly labelled precursors" *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 131-134; (b) Leeper, F. J.; Padmanabhan, P.; Kirby, G. W.; Sheldrake, G. N. "Biosynthesis of the Indolizidine Alkaloid, Cyclizidine" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 505-605; (c) Leeper, F. J.; Padmanabhan, P. "Stereospecific nucleophilic ring-opening of a deuteriated cyclopropylcarbinol" *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5017-5020.

184. Haigh, D. "Development of a synthetic route to cyclizidine", Ph. D. Thesis, Leeds University, March 1985.
185. (a) Kim, G.; Chu-Moyer, M. Y.; Danishefsky, S. J.; Shulte, G. K. "The Total Synthesis of Indolizomycin" *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 30-39; (b) Kim, G.; Chu-Moyer, M. Y.; Danishefsky, S. J. "Total Synthesis of *dl*-Indolizomycin" *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2003-2005.
186. (a) Yamashita, F.; Hotta, K.; Kurasawa, S.; Okami, Y.; Umezawa, H. "New antibiotic-producing streptomycetes, selected by antibiotic resistance as a marker. I. New antibiotic production generated by protoplast fusion treatment between *Streptomyces griseus* and *S. tenjimariensis*" *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 58-63; (b) Gomi, S.; Ikeda, D.; Nakamura, H.; Naganawa, H.; Yamashita, F.; Hotta, K.; Kondo, S.; Okami, Y.; Umezawa, H.; Iitaka, Y. "Isolation and structure of a new antibiotic, indolizomycin, produced by a strain SK2-52 obtained by interspecies fusion treatment" *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 1491-1494.
187. Woo, K.-C.; Jones, K. "Asymmetric Synthesis from α -Amino Acids; Some Reactions of (S)-Pyroglutamate" *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6949-6952.
188. Comins, D. L.; Dehghani, A. "Pyridine-derived triflating reagents: An improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates" *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-6302.
189. Milstein, D.; Stille, J. K. "A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by palladium" *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636-3638.
190. Markiewicz, W. T. "Protection of vicinal trans-diol with tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl group" *Chemica Scripta* **1986**, *26*, 123-125.

191. Byun, H.-S.; He, L.; Bittman, R. "Cyclic Sulfites and Cyclic Sulfates in Organic Synthesis" *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7051-7091.
192. Guthrie, R. D.; Murphy, D. "Nitrogen-containing Carbohydrate Derivatives. Part IV. Some Azido- and Epimino-sugars" *J. Chem. Soc.* **1963**, 5288-5294.
193. Medgyes, A.; Farkas, E.; Liptak, A.; Pozsgay, V. "Synthesis of the monosaccharide units of the O-specific polysaccharide of *Shigella sonnei*" *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4159-4178.
194. Žagar, C.; Scharf, H.-D. "Synthesis of Methyl 2-O-Benzyl-6-deoxy-3-C-methyl- α -D-mannopyranoside and Methyl α -D-Evalopyranoside" *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 693-697.
195. DeNinno, M. P.; Etienne, J. B.; Duplantier, K. C. "A Method for the Selective Reduction of Carbohydrate 4,6-O-Benzylidene Acetals" *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 669-672.
196. Hanessian, S.; Vatèle, J.-M. "Design and reactivity of organic functional groups: imidazolylsulfonate (imidazylate) - an efficient and versatile leaving group" *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3579-3582.
197. (a) Hanessian, S.; Lavallée, P. "The Preparation and Synthetic Utility of *tert*-Butyldiphenylsilyl Ethers" *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 2975-2977; (b) Hanessian, S.; Lavallée, P. "A stereospecific, total synthesis of thromboxane B₂" *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 562-565.
198. (a) Albertini, E.; Barco, A.; Benetti, S.; De Risi, C.; Pollini, G. P.; Zanirato, V. "Enantioselective Approach to 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane Ring Systems Using D-(-)-Quinic Acid as the Chiral Educt: Application to The Formal Synthesis of (+)-Epibatidine" *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 681-684; (b) Albertini, E.; Barco, A.; Benetti,

S.; De Risi, C.; Pollini, G. P.; Zanirato, V. "A Unified Asymmetric Approach to Substituted Hexahydroazepine and 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane Ring Systems from D(-)-Quinic acid: Application to The Formal Syntheses of (-)-Balanol and (-)-Epibatidine" *Tetrahedron* **1997**, *53*, 17177-17194; (c) Barco, A.; Benetti, S.; De Risi, C.; Marchetti, P.; Pollini, G. P.; Zanirato, V. "From (-)-Quinic Acid to 8-Azabicyclo[3.2.1]octane Framework: Preparation of an Enantiopure Tropan-6 α -ol" *Tetrahedron* **1999**, *55*, 5923-5930.

199. (a) Denmark, S. E.; Martinborough, E. A. "Enantioselective Total Syntheses of (+)-Castanospermine, (+)-6-Epicastanospermine, (+)-Australine, and (+)-3-Epiaustraline" *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3046-3056; (b) Denmark, S. E.; Herbert, B. "Synthesis of (-)-7-Epiaustraline and (-)-1-Epicastanospermine" *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2887-2896.

200. (a) Hanessian, S.; Bayrakdarian, M.; Luo, X. "Total Synthesis of A-315675: A Potent Inhibitor of Influenza Neuraminidase" *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4716-4721; (b) Arndt, H.-D.; Polborn, K.; Koert, U. "Stereoselective synthesis of a terpyrrolidine unit, a potential building block for anion recognition" *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3879-3882; (c) Langlois, N.; Rojas-Rousseau, A. "A short synthesis of C-2 symmetric (2*S*,5*S*) pyrrolidine-2,5 dicarboxylic acid, a constituent of red alga *Schizymenia dubyi*" *Tetrahedron* **1993**, *49*, 77-82; (d) Katoh, T.; Nagata, Y.; Kobayashi, Y.; Arai, J. M.; Terashima, S. "Enantioselective synthesis of 5-substituted- and 3,5-disubstituted-2-formylpyrrolidine derivatives, the key D-ring fragments of (-)-quinocarcin and (-)-10-decarboxyquinocarcin" *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5743-5746.

201. Tong, Y.; Fobian, Y. M.; Wu, M.; Boyd, N. D.; Moeller, K. D. "Conformationally Constrained Substance P Analogues: The Total Synthesis of a Constrained Peptidomimetic for the Phe⁷-Phe⁸ Region" *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2484-2493.

202. Grieco, P. A.; Gilman, S.; Nishizawa, M. "Organoselenium Chemistry. A Facile One-Step Synthesis of Alkyl Aryl Selenides from Alcohols" *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1485-1486.

203. (a) Hu, Y.-J.; Dominique, R.; Das, S. K.; Roy, R. "A facile new procedure for the deprotection of allyl ethers under mild conditions" *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 838-845; (b) McGrath, D. V.; Grubbs, R. H. "The Mechanism of Aqueous Ruthenium(II)-Catalyzed Olefin Isomerization" *Organometallics* **1994**, *13*, 224-235.
204. Wipf, P.; Rector, S. R.; Takahashi, H. "Total Synthesis of (-)-Tuberostemonine" *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14848-14849.
205. Zhu, X.-F.; Williams, H. J.; Scott, A. I. "Aqueous trifluoroacetic acid – and efficient reagent for exclusively cleaving the 5'-end of 3',5'-TIPDS protected ribonucleoside" *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9541-9545.
206. Hanessian, S.; Marcotte, S.; Machaalani, R.; Huang, G. "Total Synthesis and Structural Confirmation of Malayamycin A: A Novel Bicyclic C-Nucleoside from *Streptomyces malaysiensis*" *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4277-4280.
207. Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. "A new stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides" *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440.
208. (a) Blakemore, P. R.; Cole, W. J.; Kocienski, P. J.; Morley, A. "A Stereoselective Synthesis of *trans*-1,2-Disubstituted Alkenes Based on the Condensation of Aldehydes with Metallated 1-Phenyl-1*H*-tetrazol-5-yl Sulfones" *Synlett*, **1998**, 26-28; (b) Julia, M.; Paris, J.-M. "Synthèses à l'aide de sulfones $\nu^{(+)}$ - méthode de synthèse générale de doubles liaisons" *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 4833-4836.
209. Mori, S.; Ohno, T.; Harada, H.; Aoyama, T.; Shioiri, T. "New methods and reagents in organic synthesis. 92. A stereoselective synthesis of tilivalline and its analogs" *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5051-5070.

210. Corey, E. J.; Fuchs, P. L. "A synthetic method for formyl→ ethynyl conversion (RCHO→ RCCH or RCCR)" *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3769-3772.
211. Molander, G. A.; Yun, C.-S.; Ribagorda, M.; Biolatto, B. "*B*-Alkyl Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reactions with Air-Stable Potassium Alkyltrifluoroborates" *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5534-5539.
212. (a) Roush, W. R.; Riva, R. "Enantioselective synthesis of the bottom half of chlorothricolide. 2. A comparative study of substituent effects on the stereoselectivity of the key intramolecular Diels-Alder reaction" *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 710-712; (b) Uenishi, J.; Beau, J. M.; Armstrong, R. W.; Kishi, Y. "Dramatic rate enhancement of Suzuki diene synthesis. Its application to palytoxin synthesis" *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4756-4758; (c) Zhang, H. C.; Chan, K. S. "Base effect on the cross-coupling of bulky arylboronic acid with halopyridines " *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1043-1044.
213. (a) Charette, A. B.; Giroux, A. "Palladium-Catalyzed Suzuki-Type Cross-Couplings of Iodocyclopropanes with Boronic Acids: Synthesis of *trans*-1,2-Dicyclopropyl Alkenes" *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8718-8719; (b) Charette, A. B.; De Freitas-Gil, R. P. "Synthesis of Contiguous Cyclopropanes by Palladium-Catalyzed Suzuki-Type Cross-Coupling Reactions" *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2809-2812.
214. Hart, D. W.; Schwartz, J. "Hydrozirconation. Organic synthesis via organozirconium intermediates. Synthesis and rearrangement of alkylzirconium(IV) complexes and their reaction with electrophiles" *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 8115-8116.
215. (a) Deur, C. J.; Miller, M. W.; Hegedus, L. S. "Photochemical Reaction between Tertiary Allylic Amines and Chromium Carbene Complexes: Synthesis of Lactams via a Zwitterion Aza Cope Rearrangement" *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2871-2876; (b) Sudau, A.; Münch, W.; Bats, J.-W.; Nubbemeyer, U. "Synthesis of the Bicyclic Core of Pumiliotoxins" *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3304-3314.

