



HAL
open science

Synthèse et étude biologique d'analogues di- et tripeptidiques de réversines susceptibles de moduler l'activité de deux protéines de transport, la glycoprotéine R et BCRP

Ali Koubeissi

► **To cite this version:**

Ali Koubeissi. Synthèse et étude biologique d'analogues di- et tripeptidiques de réversines susceptibles de moduler l'activité de deux protéines de transport, la glycoprotéine R et BCRP. Chimie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2007. Français. NNT : . tel-00425638

HAL Id: tel-00425638

<https://theses.hal.science/tel-00425638>

Submitted on 22 Oct 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Présentée devant

l'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention du

DIPLÔME DE DOCTORAT
(Spécialité : Chimie)

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement le

10 Décembre 2007

par

M. Ali KUBEISSI

TITRE :

**SYNTHÈSE ET ÉTUDE BIOLOGIQUE D'ANALOGUES DI-
ET TRIPEPTIDIQUES DE RÉVERSINES SUSCEPTIBLES
DE MODULER L'ACTIVITÉ DE DEUX PROTÉINES DE
TRANSPORT, LA GLYCOPROTÉINE P ET BCRP**

Composition du jury :

M. P. FULCRAND	Professeur, Université de Montpellier	Rapporteur
M ^{me} J. THIERRY	Chargé de recherche, ICSN, Gif-sur-Yvette	Rapporteur
M. P. FALSON	Directeur de recherche, IBCP, Lyon	Président
M ^{lle} J. PARIS	Professeur, Université de Lyon	Co-Directeur de thèse
M. L. ETTOUATI	Maître de conférences, Université de Lyon	Co-Directeur de thèse

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	M. le Professeur L. COLLET
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. le Professeur J. LIETO
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur D. SIMON
Secrétaire Général	M. G. GAY

SECTEUR SANTÉ

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec	Directeur : M. le Professeur P. COCHAT
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche	Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
UFR de Médecine Lyon-Sud	Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
UFR d'Odontologie	Directeur : M. O. ROBIN
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. LOCHER
Institut Techniques de Réadaptation	Directeur : M. le Professeur MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique	Directeur : Mme. le Professeur S. FLECK
UFR de Biologie	Directeur : M. le Professeur H. PINON
UFR de Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
UFR de Génie Electrique et des Procédés	Directeur : M. le Professeur G. CLERC
UFR Sciences de la Terre	Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE
UFR de Mathématiques	Directeur : M. le Professeur M. CHAMARIE
UFR d'Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
UFR de Chimie Biochimie	Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT
UFR STAPS	Directeur : M. C. COLLIGNON
Observatoire de Lyon	Directeur : M. le Professeur R. BACON
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon	Directeur : M. le Professeur J. LIETO
IUT A	Directeur : M. le Professeur M. C. COULET
IUT B	Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

Je dédie ce travail à mes parents, sans qui je ne serais pas ou j'en suis aujourd'hui, à ma sœur Mervat et à mes frères Samir et Jalal, qui m'ont soutenu tout au long de ce chemin.

Remerciements

*Mes plus vifs remerciements s'adressent au Professeur **Joelle PARIS** pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et suivi tout au long de cette thèse dans la continuité de mon stage de DEA avec autant de patience et de rigueur scientifique.*

*Je tiens également à remercier Docteur **Laurent ETTOUATI** pour son encadrement ainsi que pour ses conseils et remarques pertinentes. Merci aussi de m'avoir appris tant de choses en informatique.*

*Je suis vivement reconnaissant envers le Professeur **Pierre FULCRAND** et Docteur **Josianne THIERRY** d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements au Docteur **Atilio DI PIETRO**, Docteur **Pierre FALSON** et Docteur **Ophélie ARNAUD** pour la réalisation des tests biologiques et pour les différents échanges que nous avons eu tout au long de cette thèse. Je remercie encore Docteur **Pierre FALSON** pour sa participation dans le jury.*

*Mes remerciements s'adressent aussi au Professeur **Charles DUMONTET**, Docteur **Catherine GRENOT**, Demoiselle **Ghina ALAMÉ**, Docteur **David GUILLET**, Docteur **Imad RAAD** et Docteur **Philippe LAWTON** pour la réalisation des tests cellulaires.*

*Mes sincères remerciements s'adressent également au Docteur **Emanuelle MILLION** et Docteur **Thierry LOMBERGET** pour la lecture minutieuse de cette thèse et pour avoir bien voulu prendre le temps de corriger les fautes et d'apporter des observations utiles et constructives lors de la rédaction de ce manuscrit ainsi que lors de la préparation de la présentation orale. Je remercie encore Docteur **Thierry LOMBERGET** pour ses conseils pratiques et sa disponibilité.*

*Je tiens à remercier le Professeur **Roland BARRET** ainsi que tout l'équipe du laboratoire de chimie organique pour leur gentillesse, et leur disponibilité.*

*Je tiens aussi à remercier le Professeur **Bernard FENET**, Madame **Marie-France CADOT** et Monsieur **Christophe GILBERT** pour la réalisation des spectres de résonance magnétique nucléaire, à Monsieur **Denis BOUCHUT** pour la réalisation des spectres de masse, à Madame **Laure GUY** de l'école normale supérieure de Lyon et à Monsieur **Jacques GENTILI** pour la mesure des pouvoirs rotatoires.*

*Merci à Marion **FRICHET**, Julie **PLANTAMURA** et Thibaut **ACKERMANN** pour leur participation à la synthèse de certains produits.*

Aux thésards du laboratoire, Zahia, Nelly et Cho, bonne chance pour la suite.

Merci aux nombreux amis de Lyon, Sobh, Jahjah, Alamé, Ghina (pour le pot), Mirna, Rita, Hneino (pour le power-point), Adla (pour les gateaux), Rabih (pour les photos), Samir, Mazen, karout, Hussein, Nader, Nada, Ola, Stéphanie, Graziella et Sarah. Grâce à vous je garderai un excellent souvenir de ces trois années de thèse.

ABRÉVIATIONS	11
INTRODUCTION	15
CHAPITRE I - CIBLES BIOLOGIQUES - SÉLECTION DES STRUCTURES DE MODULATEURS POTENTIELS DE PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA CHIMIORÉSISTANCE	17
I - CIBLES BIOLOGIQUES	19
A - Introduction	19
B - Protéines de transport	19
1 - La glycoprotéine P (P-gp)	19
a - Localisation	20
b - Fonctions	20
c - Substrats	21
d - Inhibiteurs	21
i - Le vérapamil	22
ii - Les alcaloïdes	22
iii - Les flavonoïdes	22
iv - Les stéroïdes	23
v - Les coumarines	23
vi - Les inhibiteurs peptidiques	24
2 - La « Breast cancer resistance Protein » (BCRP)	26
a - Localisation	26
b - Fonctions	26
c - Substrats	26
d - Inhibiteurs	27
i - Inhibiteurs spécifiques de BCRP	27
ii - Inhibiteurs non spécifiques de BCRP	28
II - SÉLECTION DES STRUCTURES	29
A - Introduction	29
1- Modifications au niveau de la liaison peptidique	31
2 - Modifications au niveau des chaînes latérales	31
3 - Dipeptides de type Tyr-Gly	34
CHAPITRE II - PSEUDOPEPTIDES DE TYPE AMINOMÉTHYLÈNE $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$	35
I - BIBLIOGRAPHIE	37
A - Propriétés et intérêt en thérapeutique	37
B - Voies d'accès	38
1 - Synthèse au moyen de la réaction d'amination réductrice	38

a - Préparation des aminoaldéhydes N^α -protégés	38
i - Préparation par réduction de l'amide de Weinreb	39
ii - Préparation par réduction du thioester	40
iii - Préparation par oxydation de l'aminoalcool	40
b - Réaction d'amination réductrice	42
2 - Synthèse au moyen de la réaction d'amination directe	44
3 - Synthèse au moyen de la réaction de Mitsunobu	45
4 - Synthèse par ouverture d'une aziridine	46
II - TRAVAUX PERSONNELS	47
A - Synthèse des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092	48
1 - Préparation des alcools dérivés des acides aminés	48
a - Utilisation du complexe borane-tétrahydrofurane	49
b - Réduction de l'anhydride mixte dérivé de l'acide aminé	49
2 - Préparation des aldéhydes dérivés des acides aminés	52
3 - Couplage des aldéhydes avec la lysine	53
B - Synthèse des analogues monoréduits de la réversine 213	54
1 - Préparation de l'aldéhyde dérivé de l'acide glutamique doublement estérifié	55
a - Préparation du diol par dihydroxylation de la double liaison	57
b - Préparation de l'aldéhyde par coupure oxydative du diol	57
2 - Couplage de l'aldéhyde avec l'acide glutamique doublement estérifié	58
a - Amination réductrice entre l'aldéhyde 8 et le H-Glu(OBn)-OBn. <i>p</i> -TsOH	58
b - Synthèse du H-Glu(ODmp)-OBn 11	60
c - Amination réductrice entre l'aldéhyde 8 et le H-Glu(ODmp)-OBn 11	61
d - Synthèse de H-Glu(OcHex)-OBn 13	62
e - Amination réductrice entre l'aldéhyde 8 et le H-Glu(OcHex)-OBn 13	63
3 - Couplage de l'aldéhyde avec l'acide aspartique doublement estérifié	63
Amination réductrice entre l'aldéhyde 8 et le H-Asp(OBn)-OBn. <i>p</i> -TsOH	64
III - PARTIE EXPÉRIMENTALE	65
A - Matériels et méthodes	65
B - Réactifs	67
CHAPITRE III - PSEUDOPEPTIDES DE TYPE CÉTOMÉTHYLÈNE $\psi(\text{CO-CH}_2)$	84
I - BIBLIOGRAPHIE	85
A - Propriétés et intérêt en thérapeutique	85

B - Voies d'accès	85
1 - Méthodes de synthèse des dérivés cétométhyléniques de type Aaa-ψ(CO-CH₂)-Gly	86
a - Synthèse <i>via</i> une β -cétosulfone	86
b - Synthèse par réaction de Grignard	86
c - Synthèse par réaction de Dakin-West modifiée	89
d - Synthèse <i>via</i> un cétophosphonate	90
e - Synthèse par réaction d'un carbénoïde sur un β -cétoester	91
2 - Méthodes de synthèse des dérivés cétométhyléniques de type Aaa₁-ψ(CO-CH₂)-Aaa₂	92
a - Synthèse <i>via</i> des malonates	92
b - Synthèse <i>via</i> un β -cétoester	95
c - Synthèse <i>via</i> des lactones	98
II - TRAVAUX PERSONNELS	100
A - Synthèse du dérivé N^{α}-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Gly-Lys(Z)-OtBu	100
1 - Stratégie <i>via</i> une β-cétosulfone	100
a - Synthèse de la N ^{α} -Boc-Hse(TBDMS)-OMe	102
b - Préparation de la β -cétosulfone	105
c - Préparation du dérivé bromé de la lysine	106
d - Couplage de la β -cétosulfone avec le dérivé bromé de la lysine	106
e - Synthèse du 2-bromoacétate d'allyle	108
f - Couplage de la β -cétosulfone avec le 2-bromoacétate d'allyle	108
g - Désulfonation avec le diiodure de samarium (SmI ₂)	109
2 - Stratégie <i>via</i> la réaction de Grignard	110
a - Synthèse de l'amide de Weinreb dérivé de l'homosérine doublement protégée : N ^{α} -Boc-Hse(TBDMS)-N(OMe)Me	112
b - Obtention du dérivé cétométhylénique par la réaction de Grignard	112
c - Fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine	113
d - Détermination de la pureté optique du N ^{α} -Boc-Asp(OBn)-(CH ₂) ₂ -CH=CH ₂	115
e - Clivage oxydatif de la double liaison par la méthode de Sharpless	115
f - Couplage de l'acide avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale	116
g - Essai de synthèse du dérivé cétométhylénique 36 à partir de l'amide de Weinreb dérivé du N ^{α} -Boc-Asp(OBn)-OH	117
B - Synthèse du dérivé N^{α}-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Lys(Z)-OBn	118
1 - Synthèse du β-cétoester allylique dérivé de l'acide aspartique (synthon A)	119
2 - Synthèse du triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de <i>tert</i>-butyle (synthon B)	120
a - Synthèse de l'alcool dérivé de la lysine protégée sur les fonctions acides et amines en ϵ	121
b - Synthèse de l'alcool dérivé de la lysine protégée sur la fonction amine en ϵ	122
c - Estérification de l'acide dérivé de la lysine 39	123
3 - Synthèse du triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de benzyle (synthon C)	124

a - Estérification de l'acide 39	124
b - Préparation du triflate 41	125
4 - Couplage du β-cétoester allylique (synthon A) avec le triflate (synthon C)	126
III - PARTIE EXPÉRIMENTALE	128
CHAPITRE IV - SYNTHÈSE DES RÉVERSESINES DE RÉFÉRENCE, DE LEURS ANALOGUES ET DES DÉRIVÉS DU DIPEPTIDE Tyr-Gly	147
I - TRAVAUX PERSONNELS	149
A - Synthèse des réversines de référence 213, 121 et 1092	150
1 - Synthèse de la réversine 213	150
2 - Synthèse des réversines 121 et 1092	151
B - Synthèse d'un ester modifié de la réversine 213	152
C - Synthèse des dérivés modifiés de la réversine 121	152
1 - Synthèse du N^α-Boc-Asp(OBn)-Gly-OtBu	152
2 - Synthèse du N^α-Boc-Gly-Lys(Z)-OtBu	153
D - Synthèse des analogues de la réversine 1092	153
1 - Modification de la chaîne latérale en position N-terminale	153
a - Synthèse du N^α -Boc-Glu(ODmp)-Lys(Z)-OtBu	154
b - Synthèse du N^α -Boc-Glu(OcHex)-Lys(Z)-OtBu	155
c - Synthèse du N^α -Boc-Glu(OtBu)-Lys(Z)-OtBu	155
d - Synthèse du N^α -Boc-Hse(COR)-Lys(Z)-OtBu	156
i - Synthèse de la N^α -Boc-Hse-OAllyl	157
ii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(COR)-OAllyl	157
iii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(COR)-OH	158
iv - Synthèse du N^α -Boc-Hse(COR)-Lys(Z)-OtBu	158
e - Synthèse du N^α -Boc-Hse(Bn)-Lys(Z)-OtBu	159
i - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OAllyl	159
ii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse-OBn	160
iii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OBn	161
iv - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OH	161
v - Synthèse du N^α -Boc-Hse(Bn)-Lys(Z)-OtBu	162
f - Synthèse du N^α -Boc-Aad(OBn)-Lys(Z)-OtBu	163
g - Synthèse du N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-Lys(Z)-OtBu	164
i - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn	165
ii - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-OBn	165
iii - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-OH	165
iv - Synthèse du N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-Lys(Z)-OtBu	166
2 - Synthèse des dérivés contraints	167
a - Synthèse du N^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(COR)-Lys(Z)-OtBu	167

i - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp-OAllyl	168
ii - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(COR)-OAllyl	168
iii - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(COR)-OH	168
iv - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(COR)-Lys(Z)-OtBu	169
b - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(Bn)-Lys(Z)-OtBu	169
c - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(CH ₂ CHex)-Lys(Z)-OtBu	169
i - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(CH ₂ CHex)-OH	170
ii - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(CH ₂ CHex)-Lys(Z)-OtBu	171
d - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(Bn)-ψ(CH ₂ -NH)-Lys(Z)-OtBu	171
i - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(Bn)-N(OMe)Me	172
ii - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(Bn)-al	172
iii - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc- <i>trans</i> -4-Hyp(Bn)-ψ(CH ₂ -NH)-Lys(Z)-OtBu	172
E - Synthèse d'un analogue de la réversine 121 :	
<i>N</i>^α-Boc-Asp(OBn)-Lys-OtBu	173
1 - Synthèse de la H-Lys(Alloc)-OtBu	174
2 - Synthèse du <i>N</i>^α-Boc-Asp(OBn)-Lys(Alloc)-OtBu	175
3 - Synthèse du <i>N</i>^α-Boc-Asp(OBn)-Lys-OtBu	175
F - Synthèse des dérivés Tyr-Lys et Tyr-Gly	176
1 - Synthèse du <i>N</i>^α-Boc-Tyr(<i>t</i>Bu)-Lys(Z)-OtBu	176
2 - Synthèse du <i>N</i>^α-Boc-Tyr(<i>t</i>Bu)-ψ(CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu	176
a - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc-Tyr(<i>t</i> Bu)-N(OMe)Me	177
b - Synthèse de la <i>N</i> ^α -Boc-Tyr(<i>t</i> Bu)-al	177
c - Synthèse du <i>N</i> ^α -Boc-Tyr(<i>t</i> Bu)-ψ(CH ₂ -NH)-Lys(Z)-OtBu	178
3 - Synthèse du <i>N</i>^α-Boc-Tyr(<i>t</i>Bu)-ψ(CH₂-NH)-Gly-OtBu	178
II - PARTIE EXPÉRIMENTALE	180
CHAPITRE V - TESTS ET RÉSULTATS BIOLOGIQUES	217
I - TESTS BIOLOGIQUES	219
II - RÉSULTATS BIOLOGIQUES	220
A - Activité des dérivés peptidiques sur la P-gp	220
1 - 1^{er} modèle cellulaire	220
a - Activité des réversines 121 et 1092 et de leurs dérivés modifiés au niveau de la liaison peptidique	220
b - Activité de la réversine 213 et de ses dérivés	222
c - Activité de la réversine 121 et de ses analogues modifiés au niveau des chaînes latérales	223
d - Activité des analogues de la réversine 1092	224
i - Activité de la réversine 1092 et de ses analogues modifiés au niveau de la chaîne latérale <i>N</i> -terminale	224
ii - Activité des dérivés contraints	226
e - Activité des dérivés du dipeptide Tyr-Gly	227

2 - 2^{ème} modèle cellulaire	228
a - Activité des réversines 121 et 1092 et de leurs dérivés modifiés au niveau de la liaison peptidique	228
b - Activité de la réversine 213 et de son analogue 49	229
c - Activité des analogues de la réversine 1092	230
i - Activité de la réversine 1092 et de ses analogues modifiés au niveau de la chaîne latérale <i>N</i> -terminale	230
ii - Activité des dérivés contraints	231
d - Activité des dérivés du dipeptide Tyr-Gly	232
3 - Conclusion	233
B - Activité des dérivés peptidiques sur BCRP	234
C - Conclusion générale	234
CONCLUSION	237
RÉFÉRENCES	239
PRODUITS DU CHAPITRE II	247
PRODUITS DU CHAPITRE III	248
PRODUITS DU CHAPITRE III (suite)	249
PRODUITS DU CHAPITRE IV	250
PRODUITS DU CHAPITRE IV (suite)	251
PRODUITS DU CHAPITRE IV (suite)	252

ABRÉVIATIONS*

A

Å : Angström
Aaa : acide aminé
Aad : acide α -aminoadipique
ABC : ATP Binding Cassette
Ac : acétyle
ACE : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
AcOEt : acétate d'éthyle
Ala : alanine
Alloc : allyloxycarbonyle
Arg : arginine
Asp : acide aspartique
ATP : adénosine triphosphate

B

BCRP : Breast Cancer Resistance Protein
Bn : benzyle
Boc : *tert*-butyloxycarbonyle
BOP : hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yloxy-tris(diméthylamino) phosphonium
Bu : butyle
Bz : benzoyle

C

calc. : calculé
CDI : 1,1'-Carbonyldiimidazole
cHex : cyclohexyle
CI50 : concentration de l'inhibiteur nécessaire pour obtenir 50 % d'inhibition
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
Coll. : collaborateurs
Conf. : conforme

D

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCC : *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide
DEAD : azodicarboxylate de diéthyle
DIEA : diisopropyléthylamine
DMAP : 4-(*N,N*-diméthylamino)pyridine
DME : diméthoxyéthane
DMF : *N,N*-diméthylformamide
Dmp : 2,4-diméthylpent-3-yle
DMSO : diméthylsulfoxyde

* IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). *Eur. J. Biochem.*, **1984**, 138(1), 9-37.

E

EP : éther de pétrole

éq : équivalent

Et : éthyle

F

F : point de fusion

Fmoc : fluorén-9-ylméthoxycarbonyl

G

GITC : isothiocyanate de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyle

Gln : glutamine

Glu : acide glutamique

Gly : glycine

H

h : heure

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMPA : hexaméthylphosphoramide

HOBt : 1-hydroxybenzotriazole

HR : haute résolution

Hse : homosérine

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence

Hyp : 4-hydroxyproline

I

i-Bu : isobutyle

i-Pr : isopropyle

IR : infra-rouge

L

LDA : diisopropylamidure de lithium

Leu : leucine

litt. : littérature

Lys : lysine

M

M : molaire (mol/L)
MDR : Multi Drug Resistance
Me : méthyle
MHz : mégahertz
min : minute
 M_r : masse molaire

N

NBS : *N*-bromosuccinimide
Nle : norleucine
NMM : *N*-méthylmorpholine
NMO : oxyde de *N*-méthylmorpholine
Nva : norvaline

O

O : *ortho*

P

p : *para*
PDC : dichromate de pyridinium
PFP : pentafluorophényle
P-gp : glycoprotéine P
Ph : phényle
Phe : phénylalanine
Pro : proline

R

Rdt : rendement

S

Ser : sérine
SM : Spectrométrie de Masse
SN2 : substitution nucléophile d'ordre 2
Su : succinimidyle

T

t.a. : température ambiante

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

TBDMSCl : chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle

TBTU : tétrafluoroborate de 2-(1-hydroxy-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-Tétra-hydrouonium

t-Bu : *tert*-butyle

Tf : trifluorométhanesulfonyle (triflyle)

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

TM : trade mark (marque commerciale)

Tos : tosyle

TPAP : perruthénate de tétrapropylammonium

Tr : triphénylméthyle (trityle)

Trp : tryptophane

Tyr : tyrosine

U

UV : ultra-violet

V

Val : valine

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Z

Z : Benzyloxycarbonyle

INTRODUCTION

La chimiothérapie est l'un des traitements utilisés pour lutter contre le cancer ; son efficacité est souvent limitée par la résistance que développent les cellules cancéreuses. Cette résistance a pour origine notamment l'expression massive de protéines de transport appartenant à la famille « ATP-Binding Cassette » (ABC) dont le rôle est d'expulser les agents chimiothérapeutiques hors de la cellule maligne. Des auteurs hongrois ont décrit des di- ou tripeptides hydrophobes appelés **réversines** possédant des propriétés inhibitrices de l'activité d'une protéine de transport, la glycoprotéine P (P-gp), et cela sans effet toxique aux doses efficaces utilisées.

L'objectif de notre travail est d'élaborer des analogues de ces réversines afin d'augmenter leur activité ainsi que leur biodisponibilité et de préciser les requis structuraux nécessaires à l'activité vis-à-vis de deux protéines de transport cibles : la glycoprotéine P (P-gp) et la « *Breast Cancer Resistance Protein* » (BCRP).

Dans un premier temps, afin d'évaluer l'influence de la liaison peptidique, nous avons synthétisé des analogues aminométhyléniques et cétométhyléniques des réversines les plus actives.

Dans un second temps, nous avons entrepris la synthèse d'autres dérivés, modifiés au niveau de la chaîne latérale du côté *N*-terminal de la réversine 1092, ainsi que des dérivés contraints de cette chaîne latérale afin d'explorer l'espace conformationnel dans cette région de liaison aux protéines de type ABC.

Les effets des analogues synthétisés ont été évalués sur les deux protéines de transport de type ABC, P-gp et BCRP, dans le cadre de collaborations avec le laboratoire des protéines de résistance aux agents chimiothérapeutiques (Dr A. DI PIETRO et Dr P. FALSON – IBCP, UMR5086 CNRS, Lyon) et le laboratoire de cytologie analytique (Pr C. DUMONTET – INSERM U590, Lyon).

Ce mémoire de thèse est constitué de cinq chapitres :

Dans un premier chapitre, nous présentons les cibles biologiques en rappelant quelques données sur les protéines de transport, leurs substrats et leurs inhibiteurs et en précisant les différentes modifications structurales envisagées sur les réversines.

Le deuxième chapitre de ce mémoire est consacré aux pseudopeptides de type aminométhylène $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$. Nous présentons tout d'abord les différentes voies d'accès à la liaison amide réduite ainsi que ses propriétés et son intérêt en thérapeutique, puis la synthèse des dérivés aminométhyléniques de différentes réversines.

Dans un troisième chapitre, après avoir précisé les propriétés et l'intérêt des pseudopeptides de type cétométhylène $\psi(\text{CO-CH}_2)$, nous recensons les principales méthodes qui permettent leur préparation. Ensuite, nous présentons nos recherches personnelles conduisant à la synthèse des dérivés cétométhyléniques de la réversine 121.

Dans le quatrième chapitre, nous exposons nos travaux personnels aboutissant à la synthèse des réversines de référence, de leurs différents analogues ainsi que des dérivés du dipeptide Tyr-Gly.

Dans un cinquième et dernier chapitre, nous présentons les tests et les résultats biologiques de tous les composés finaux synthétisés ainsi que les relations structure-activité.

CHAPITRE I
CIBLES BIOLOGIQUES - SÉLECTION DES
STRUCTURES DE MODULATEURS POTENTIELS
DE PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA
CHIMIORÉSISTANCE

I - CIBLES BIOLOGIQUES

A - Introduction

L'efficacité du traitement des cancers par chimiothérapie rencontre un obstacle de taille : la résistance des cellules tumorales¹. Un mécanisme qui est souvent utilisé par les cellules cancéreuses pour s'adapter aux composés cytotoxiques est l'expression massive de certaines protéines appartenant à la famille des transporteurs de type ABC « ATP-Binding Cassette² » qui expulsent les médicaments anticancéreux hors de la cellule maligne.

Plusieurs protéines de transport ont été identifiées chez l'Homme, surexprimées à des degrés divers suivant les tissus, telles la glycoprotéine P (P-gp)³ encore appelée MDR1 ou ABCB1, et plus récemment, la « Breast Cancer Resistance Protein » (BCRP)⁴ encore appelée ABCG2 ou ABCP ou MXR (mitoxantrone résistance). Ces protéines, localisées dans la membrane plasmique, utilisent l'énergie libérée lors de l'hydrolyse d'ATP pour effluer des molécules de natures très différentes, d'où le nom de résistance multiple aux « xénobiotiques » (Multidrug Resistance, MDR). Nous limitons notre sujet à l'étude de la localisation, des fonctions, des substrats et des inhibiteurs de la P-gp et de la BCRP.

B - Protéines de transport

1 - La glycoprotéine P (P-gp)

Cette protéine, composée de 1280 acides aminés, est le transporteur ABC le plus étudié. Elle permet de modifier la perméabilité des cellules d'où son nom de P-gp.

¹ a) SZAKÁCS G., PATERSON J. K., LUDWIG J. A., BOOTH-GENTHE C., GOTTESMAN M. M. *Nature Rev. Drug Discov.*, **2006**, 5(3), 219-234. b) FILIPITS M. *Drug Discov. Today: Disease Mechanisms*, **2004**, 1(2), 229-234.

² SAURIN W., HOFNUNG M., DASSA E., *J. Mol. Evol.*, **1999**, 48(1), 22-41.

³ GOTTESMAN M. M., LING V. *FEBS Lett.*, **2006**, 580(4), 998-1009.

⁴ a) DOYLE L. A., YANG W., ABRUZZO L. V., KROGMANN T., GAO Y., RISHI A. K., ROSS D. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95(26), 15665-15670. b) ROCCHI E., KHODJAKOV A., VOLK E. L., YANG C.-H., LITMAN T., BATES S. E., SCHNEIDER E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2000**, 271(1), 42-46.

a - Localisation

Dans les tissus sains⁵, la P-gp est présente dans la membrane plasmique des cellules spécialisées dans des fonctions de sécrétion ou d'excrétion (rein, testicule, intestin...), des cellules trophoblastiques du placenta et des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. La P-gp est également présente au niveau des cellules épithéliales de la cornée, des barrières hémato-encéphalique et hémato-testiculaire et au niveau des fibres musculaires cardiaques et squelettiques.

La P-gp a été détectée dans les cellules de nombreuses tumeurs chez l'Homme⁶ : leucémies, tumeurs coliques, rénales et dans des carcinomes surrénaliens et plus rarement dans des cancers pulmonaires et certaines tumeurs des cellules germinales.

b - Fonctions

La P-gp joue essentiellement un rôle de protection de différents organes⁷. Ainsi, elle participe au mécanisme moléculaire permettant la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique⁸. Ainsi, plusieurs agents anticancéreux, comme la doxorubicine et les vinca-alcaloïdes sont activement rejetés hors des cellules par la glycoprotéine P⁹. Ceci permet d'expliquer l'efficacité limitée de la chimiothérapie dans le traitement des tumeurs cérébrales.

Au niveau des testicules, la P-gp permet la protection des cellules germinales contre les composés xénobiotiques¹⁰. La présence de la P-gp au niveau du placenta témoigne de son rôle de régulateur du transfert de xénobiotiques de la mère au fœtus¹¹. De nombreux médicaments sont des substrats de la P-gp (paclitaxel, daunorubicine, mitoxantrone,...). Cette protéine intervient également dans la biodisponibilité des médicaments¹².

⁵ THIEBAUT F., TSURUO T., HAMADA H., GOTTESMAN M. M., PASTAN I., WILLINGHAM M. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1987**, 84(21), 7735-7738.

⁶ CORDON-CARDO C., O'BRIEN J. P., BOCCIA J., CASALS D., BERTINO J. R., MELAMED M. R. *J. Histochem. Cytochem.*, **1990**, 38(9), 1277-1287.

⁷ LESLIE E. M., DEELEY R. G., COLE S. P. C. *Toxicol. App. Pharmacol.*, **2005**, 204(3), 216-237.

⁸ a) KUSUHARA H., SUGIYAMA Y. *Drug Disc. Today*, **2001**, 6(3), 150-156. b) KUSUHARA H., SUGIYAMA Y. *Drug Discov. Today*, **2001**, 6(4), 206-212.

⁹ TSUJI A. *Ther. Drug Monit.*, **1998**, 20(5), 588-590.

¹⁰ MELAINE N., LIÉNARD M.-O., DORVAL I., LE GOASCOGNE C., LEJEUNE H., JÉGOU B. *Biol. Reprod.*, **2002**, 67(6), 1699-1707.

¹¹ USHIGOME F., TAKANAGA H., MATSUO H., YANAI S., TSUKIMORI K., NAKANO H., UCHIUMI T., NAKAMURA T., KUWANO M., OHTANI H., SAWADA Y. *Eur. J. Pharmacol.*, **2000**, 408(1), 1-10.

¹² SPARREBOOM A., VAN ASPEREN J., MAYER U., SCHINKEL A. H., SMIT J. W., MEIJER D. K. F., BORST P., NOOIJEN W. J., BEJINEN J. H., VAN TELLINGEN O. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1997**, 94(5), 2031-2035.

c - Substrats

Un très grand nombre de substrats se lie à la glycoprotéine P. Cela pourrait être due à la présence de plusieurs sites d'interaction (au moins deux) au niveau de la P-gp¹³.

Les substrats de la P-gp possèdent tous en commun une hydrophobie élevée, un caractère amphiphile ainsi qu'une charge positive. Cependant, des composés neutres comme les peptides hydrophobes peuvent être aussi des substrats de la P-gp¹⁴. Seelig¹⁵ suggère que la seule exigence pour qu'une molécule soit un substrat de la glycoprotéine P est son degré de liaison hydrogène dans une conformation spatiale précise, ainsi que la présence d'une région aromatique plane.

Le daunorubicine ainsi que son énantiomère sont expulsés de la même manière par P-gp ce qui pourrait indiquer que la chiralité de la molécule ne joue pas de rôle significatif dans le transport de la daunorubicine¹⁶.

Les substrats peuvent se lier à la P-gp puis être transportés ou non par celle-ci à l'extérieur de la cellule. Les substrats de la P-gp peuvent être classés en trois groupes¹⁵ : faibles substrats (cisplatine, méthotrexate...), bons substrats (ciclosporine A, GF120918, mitoxantrone, vérapamil...) et des substrats qui impliquent la surexpression de la P-gp (colchicine, daunorubicine, dauxorubicine, taxol...).

d - Inhibiteurs

La glycoprotéine P est à l'origine de la résistance à des médicaments variés, en particulier à des agents anticancéreux. Ainsi, l'utilisation d'inhibiteurs de cette protéine pourrait permettre d'améliorer l'efficacité des chimiothérapies.

Lorsqu'elle est surexprimée, la glycoprotéine P – fonctionnant comme une pompe énergie-dépendante – va entraîner une diminution de la concentration en médicaments dans les cellules d'où l'intérêt d'inhiber cette protéine.

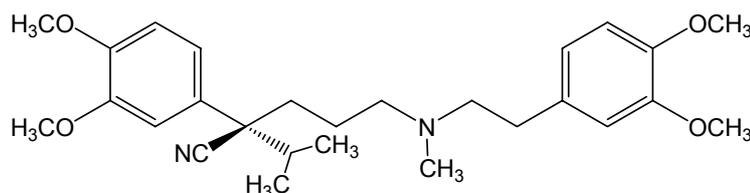
¹³ a) LU L., LEONESSA F., CLARKE R., WAINER I. W. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, 59(1), 62-68. b) GARRIGOS M., MIR L. M., ORLOWSKI S. *Eur. J. Biochem.*, **1997**, 244(2), 664-673.

¹⁴ FRÉZARD F., PEREIRA-MAIA E., QUIDU P., PRIEBE W., GARNIER-SUILLEROT A. *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268(6), 1561-1567.

¹⁵ SEELIG A. *Eur. J. Biochem.*, **1998**, 251(1-2), 252-261.

¹⁶ LOETCHUTINAT C., HEYWANG C., PRIEBE W., GARNIER-SUILLEROT A. *Biochem. Pharmacol.*, **2001**, 62(5), 561-567.

i - Le vérapamil

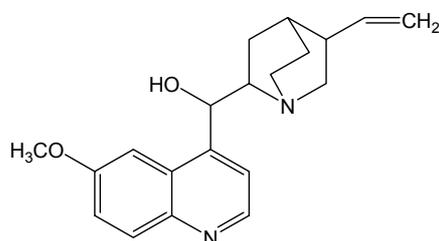


(R)-vérapamil

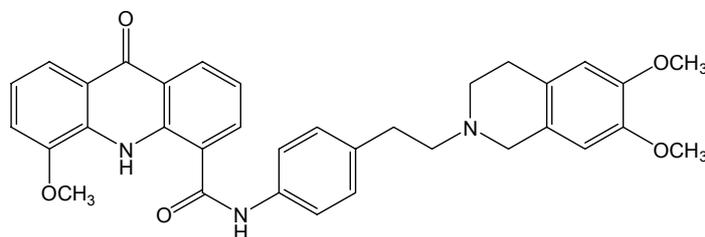
Le vérapamil¹⁷ est le premier composé décrit comme inhibiteur de la P-gp *in vitro*. L'énantiomère (*R*) est le plus sélectif et présente moins d'effets cardiovasculaires. Cependant, la concentration efficace pour inhiber la P-gp entraîne une cardiotoxicité.

ii - Les alcaloïdes

L'activité inhibitrice de la quinine et de ses dérivés vis-à-vis de la P-gp a entraîné la synthèse et l'étude des composés renfermant dans leur structure un noyau quinoléine et/ou d'autres hétérocycles. Le GF120918¹⁸ est l'un des inhibiteurs le plus actif et le plus sélectif. Le R101933¹⁹ est un inhibiteur potentiel par voie orale qui n'a pas d'influence sur la pharmacocinétique du médicament anticancéreux²⁰.



Quinine



GF120918

iii - Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques présents en abondance dans les fruits et les légumes. Certains flavonoïdes et isoflavonoïdes permettent de moduler l'activité de la P-gp. Une série d'analogues halogénés de flavone²¹ a

¹⁷ TSURUO T., IIDA H., TSUKAGOSHI S., SAKURAI Y. *Cancer Res.*, **1981**, 41(5), 1967-1972.

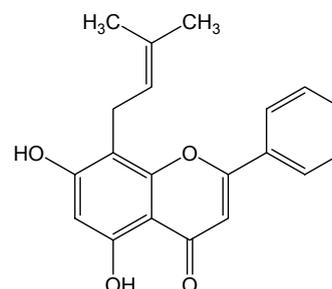
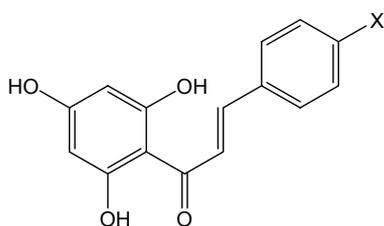
¹⁸ DODIC N., DUMAITRE B., DAUGAN A., PIANETTI P. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38(13), 2418-2426.

¹⁹ WOUTERS W., JANSSENS F., VAN DUN J., KREKELS M., SMETS G. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1999**, 40, 4374-4377.

²⁰ VAN ZUYLEN L., SPARREBOOM A., VAN DER GAAST A., VAN DER BURG M. E. L., VAN BEURDEN V., BOL C. J., WOESTENBORGH S., PALMER P. A., VERWEIJ J. *Clin. Cancer Res.*, **2000**, 6(4), 1365-1371.

²¹ BOIS F., BENEY C., BOUMENDJEL A., MARIOTTE A.-M., CONSEIL G., DI PIETRO A. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41(21), 4161-4164.

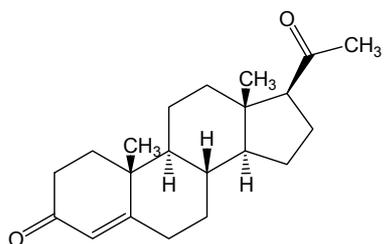
présenté une grande affinité pour la P-gp. Le 8-(1,1-diméthylallyl)chryisine²² obtenu après une C-isoprénylation de la chryisine, est un inhibiteur plus actif que la ciclosporine A.



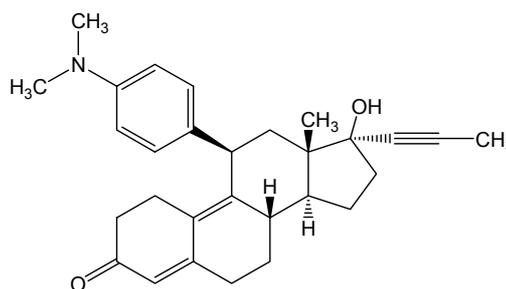
Analogue de flavone halogéné (X = halogène) 8-(1,1-diméthylallyl)chryisine

iv - Les stéroïdes

La progestérone qui est de nature hydrophobe, peut se lier à la glycoprotéine P mais n'est pas transportée par celle-ci. L'acétate de mégestrol²³ et la mifépristone (RU486)²⁴, composé encore plus lipophile, montrent une activité inhibitrice plus puissante que la progestérone en interagissant directement avec les sites de fixation des stéroïdes de la P-gp²⁵.



progestérone



mifépristone

v - Les coumarines

Des coumarines isolées de *Calophyllum dispar* (Clusiacées) puis substituées par un résidu α -(hydroxyisopropyl)dihydrofurane, présentent une activité inhibitrice de la P-gp²⁶.

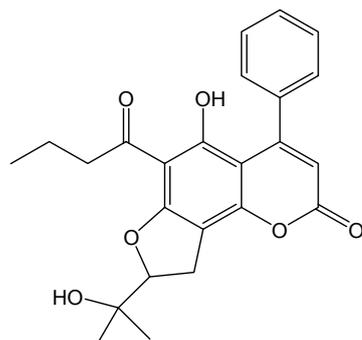
²² COMTE G., DASKIEWICZ J.-B., BAYET C., CONSEIL G., VIORNERY-VANIER A., DUMONTET C., DI PIETRO A., BARRON D. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44(5), 763-768.

²³ WOOD L., PALMER M., HEWITT J., URTASUM R., BRUERA E., RAPP E., THAELL J. F., *Br. J. Cancer*, **1998**, 77, 627-631.

²⁴ PAYEN L., DELUGIN L., COURTOIS A., TRINQUART Y., GUILLOUZO A., FARDEL O. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1999**, 258(3), 513-518.

²⁵ DAYAN G., JAULT J.-M., BAUBICHON-CORTAY H., BAGGETO L. G., RENOIR J.-M., BAULIEU E.-E., GROS P., DI PIETRO A. *Biochem.*, **1997**, 36(49), 15208-15215.

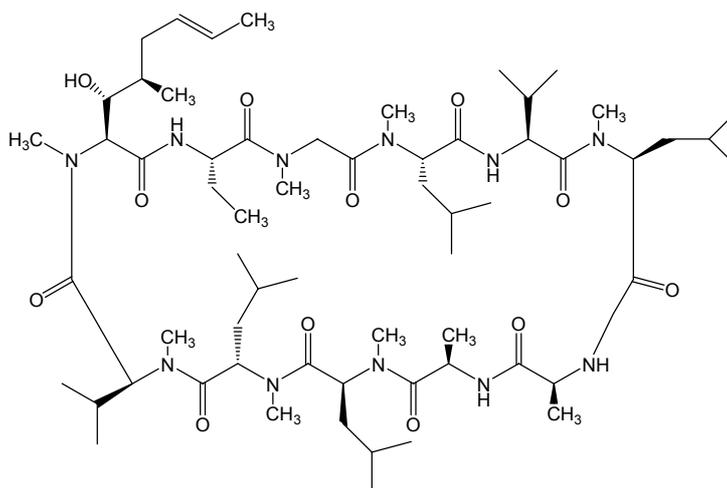
²⁶ RAAD I., TERREUX R., RICHOMME P., MATERA E.-L., DUMONTET C., RAYNAUD J., GUILLET D. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14(20), 6979-6987.



dérivé de la coumarine inhibiteur de la P-gp

vi - Les inhibiteurs peptidiques

La ciclosporine A est un undécapéptide cyclique connu pour ses propriétés immunosuppressives, mais c'est également un inhibiteur de la P-gp. Plusieurs dérivés de la ciclosporine A, comme le PSC-833 (valsopodar)²⁷ et le FR 901459²⁸, figurent parmi les inhibiteurs les plus puissants de ce transporteur. Le PSC-833 ne possède pas d'effet immunosuppressif et présente une bonne biodisponibilité.



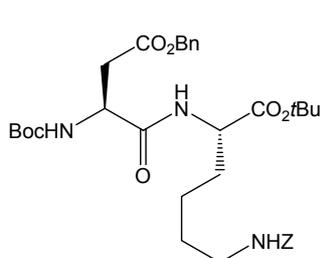
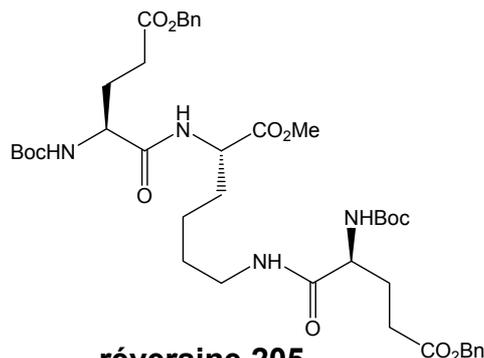
ciclosporine A

Une famille de peptides hydrophobes appelés réversines²⁹ a été décrite pour leur capacité inhibitrice vis-à-vis de la P-gp. Les réversines 121 et 205 sont disponibles commercialement.

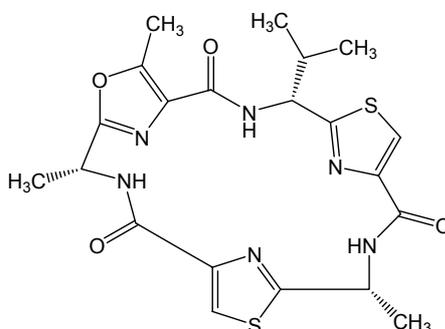
²⁷ ROBINSON C., CASTANER J. *Drug Future*, **1995**, 20, 1010-1017.

²⁸ TIBERGHIE F., WENANDY T., LOOR F. *J. Antibiotics*, **2000**, 53, 509-515.

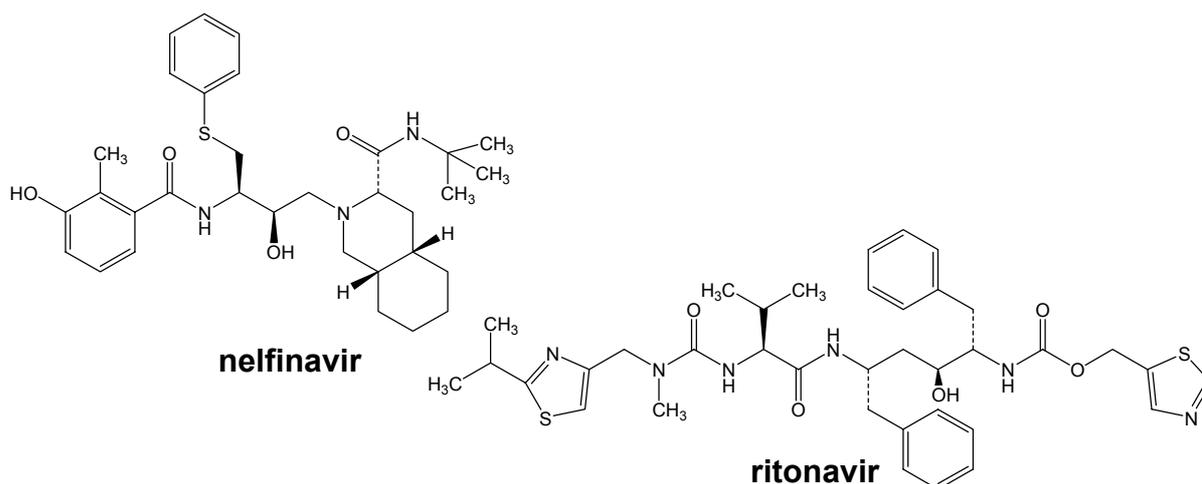
²⁹ SHAROM F. J., YU X., LU P., LIU R., CHU J. W. K., SZABÓ K., MÜLLER M., HOSE C. D., MONKS A., VÁRADI A., SEPRÓDI J., SARKADI B. *Biochem. Pharmacol.*, **1999**, 58(4), 571-586.

**réversine 121****réversine 205**

Récemment, d'autres peptides cycliques, comme la dendroamide A³⁰ et l'auréobasidine A³¹ ont été identifiés pour leur activité inhibitrice vis-à-vis de la P-gp.

**dendroamide A**

Des peptidomimétiques inhibiteurs de la protéase de VIH³² (nelfinavir, ritonavir...) possèdent une activité inhibitrice de la P-gp supérieure à celle de PSC-833.

**nelfinavir****ritonavir**

³⁰ XIA Z., SMITH C. D., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66(10), 3459-3466.

³¹ a) KUROME T., TAKESAKO K., KATO I., TSURUO T. *J. Antibiotics*, **1998**, 51(3), 353-358. b) TIBERGHEN F., KUROME T., TAKESAKO K., DIDIER A., WENANDY T., LOOR F. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43(13), 2547-2556.

³² a) STORCH C. H., THEILE D., LINDENMAIER H., HAEFELI W. E., WEISS J. *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, 73(10), 1573-1581. b) DREWE J., GUTMAN H., FRICKER G., TÖRÖK M., BEGLINGER C., HUWYLER J. *Biochem. Pharmacol.*, **1999**, 57(10), 1147-1152.

2 - La « Breast cancer resistance Protein » (BCRP)

La BCRP, découverte en 1998, est une protéine composée de 655 acides aminés. Elle est connue pour la résistance qu'elle confère vis-à-vis de plusieurs agents anticancéreux, notamment la mitoxantrone³³.

La BCRP est étudiée en particulier par le laboratoire des protéines de résistance aux agents chimiothérapeutiques³⁴ (Dr A. DI PIETRO et Dr P. FALSON – IBCP, UMR5086 CNRS, Lyon) qui évaluent les effets des molécules décrites dans ce travail.

a - Localisation

Elle est présente dans la membrane plasmique des cellules. Cette protéine a été découverte dans le placenta³⁵ puis dans les cellules cancéreuses du sein. Le taux de BCRP dans le placenta est 100 fois supérieur à celui retrouvé dans le cerveau, la prostate, le petit intestin, les testicules, les ovaires, le colon et le foie.

b - Fonctions

La BCRP est associée à la multi-résistance de certaines cellules cancéreuses mais assure aussi différentes fonctions physiologiques. En effet, elle contribue à l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion de certains xénobiotiques. D'autre part, la BCRP participerait significativement au transport des substances naturelles comme les polyphénols des plantes³⁶ et à la protection du fœtus contre certaines substances toxiques du sang maternel. La BCRP réduit l'absorption du topotécan³⁷ au niveau intestinal ; cette protéine intervient donc dans la pharmacocinétique des médicaments.

c - Substrats

La BCRP est capable de transporter un grand nombre de substrats parmi lesquels on retrouve aussi bien des produits naturels tels que le phéophorbide A, des

³³ ROSS D. D., YANG W., ABRUZZO L. V., DALTON W. S., SCHNEIDER E., LAGE H., DIETEL M., GREENBERGER L., COLE S. P. C., DOYLE L. A. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1999**, 91(5), 429-433.

³⁴ POZZA A., PEREZ-VICTORIA J. M., SARDO A., AHMED-BELKACEM A., DI PIETRO A. *Cell. Mol. Life Sci.*, **2006**, 63, 1912-1922.

³⁵ ALLIKMENTS R., SCHRIML L. M., HUTCHINSON A., ROMANO-SPICA V., DEAN M. *Cancer Res.*, **1998**, 58(23), 5337-5339.

³⁶ COORAY H. C., JANVILISRI T., VAN VEEN H. W., HLADKY S. B., BARRAND M. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2004**, 317(1), 269-275.

³⁷ JONKER J. W., SMIT J. W., BRINKHUIS R. F., MALIEPAARD M., BEIJNEN J.H., SCHELLENS J. H. M., SCHINKEL A. H. *J. Natl. Cancer Inst.*, **2000**, 92(20), 1651-1656.

agents anticancéreux (topotécan, mitoxantrone, doxorubicine...)³⁸. Ce sont principalement des molécules hydrophobes avec une charge positive ou négative.

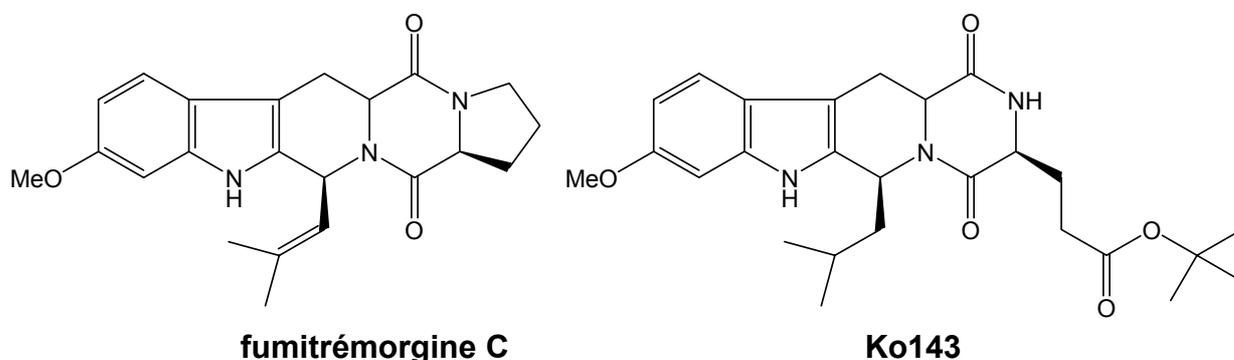
d - Inhibiteurs

La BCRP est insensible à la plupart des inhibiteurs de la P-gp³⁸ comme le vérapamil, la ciclosporine A et le PSC-833. De fait, BCRP a été retrouvée de manière relativement abondante dans des tumeurs traitées avec des inhibiteurs de la P-gp. Les inhibiteurs de BCRP peuvent être classés en deux groupes : inhibiteurs spécifiques et inhibiteurs non spécifiques.

i - Inhibiteurs spécifiques de BCRP

Il n'existe que très peu d'inhibiteurs spécifiques de BCRP. Le premier est la fumitrémorgine C (FTC)³⁹, une molécule naturelle isolée du champignon *Aspergillus fumigatus*, appartenant à une classe de dicétopipérazines. La FTC peut même inhiber à une concentration de 1 μ M le transport de la mitoxantrone et de la dauxorubicine. Cependant, sa neurotoxicité empêche son utilisation.

Allen et coll.⁴⁰ ont développé des analogues de la FTC dont le Ko143, un analogue tétracyclique non toxique qui inhibe non seulement le transport des substrats mais également l'activité ATPasique de la protéine.



Une étude de relation structure-activité réalisée par Ahmed-Belkacem et coll.⁴¹ sur les flavonoïdes a permis d'identifier des analogues spécifiques de BCRP.

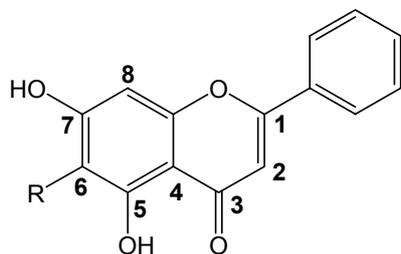
³⁸ DOYLE L. A., ROSS D. D. *Oncogene*, **2003**, 22(47), 7340-7358.

³⁹ a) RABINDRAN S. K., ROSS D. D., DOYLE L. A., YANG W., GREENBERGER L. M. *Cancer Res.*, **2000**, 60(1), 47-50. b) RABINDRAN S. K., HE H., SINGH M., BROWN E., COLLINS K. I., ANNABLE T., GREENBERGER L. M. *Cancer Res.*, **1998**, 58(24), 5850-5858.

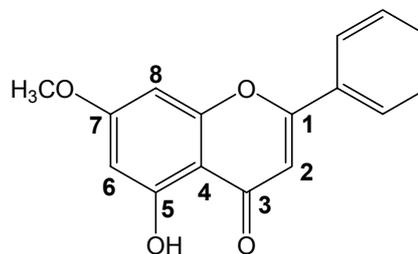
⁴⁰ ALLEN J. D., VAN LOEVEZIJN A., LAKHAI J. M., VAN DER VALK M., VAN TELLINGEN O., REID G., SCHELLENS J. H. M., KOOMEN G.-J., SCHINKEL A. H. *Mol. Cancer. Ther.*, **2002**, 1(6), 417-425.

⁴¹ AHMED-BELKACEM A., POZZA A., MUÑOZ-MARTÍNEZ F., BATES S. E., CASTANYS S., GAMARRO F., DI PIETRO A., PÉREZ-VICTORIA J. M. *Cancer Res.*, **2005**, 65(11), 4852-4860.

D'après un screening réalisé par ces auteurs, les flavones se sont révélées plus efficaces par rapport aux flavonols, isoflavones et flavonones. Des dérivés différemment substitués du noyau flavone ont montré l'importance du groupement OH en position 5 par rapport aux positions 3 et 7.



chrysin R = H
6-prénylchrysin R = prényle



tectochrysin

De plus, le groupement méthoxy en position 7 ainsi que le groupement prényle en position 6 ont permis d'obtenir deux inhibiteurs spécifiques de la BCRP : la tectochrysin et la 6-prénylchrysin respectivement.

Contrairement aux autres inhibiteurs de la BCRP, la tectochrysin et la 6-prénylchrysin inhibent le transport des substrats sans inhiber l'activité ATPasique de la BCRP. Cela pourrait indiquer que le mécanisme d'inhibition n'est pas le même et que les dérivés de la chrysin se lieraient sur un site différent que celui du GF120918, de la FTC et de son analogue le Ko143.

ii - Inhibiteurs non spécifiques de BCRP

Le GF120918 (structure page 22) est un inhibiteur efficace de deux protéines de transport (P-gp et BCRP)⁴². Cependant, l'inhibition de la BCRP nécessite une concentration plus élevée du GF120918 que celle nécessaire pour inhiber la P-gp. Cet inhibiteur ne présente pas de neurotoxicité et permet d'augmenter la biodisponibilité du topotécan⁴³.

D'autres types d'inhibiteurs tels que les inhibiteurs de tyrosine kinase (TKIs) et de protéases du VIH ont montré une éventuelle interaction avec P-gp et BCRP.

Quatre inhibiteurs de tyrosine kinase (CI1033, ZD1839, EKI-785 et STI-571) ont présenté une activité inhibitrice de la BCRP⁴⁴.

⁴² DE BRUIN M., MIYAKE K., LITMAN T., ROBEY R., BATES S. E. *Cancer Lett.*, **1999**, 146(2), 117-126.

⁴³ KRUIJTZER C. M. F., BEIJNEN J. H., ROSING H., TEN BOKKEL HUIJINK W. W., SCHOT M., JEWELL R. C., PAUL E. M., SCHELLENS J. H. M. *J. Clin. Onc.*, **2002**, 20(13), 2943-2950.

⁴⁴ ÖZVEGY-LACZKA C., CSEREPES J., ELKIND N. B., SARKADI B. *Drug Resist. Updat.*, **2005**, 8, 15-26.

Les inhibiteurs de la protéase du VIH présentant une activité inhibitrice de la P-gp (ritonavir, séquinavir et nelfinavir) peuvent légèrement inhiber la BCRP⁴⁵.

II - SÉLECTION DES STRUCTURES

A - Introduction

Même si le développement d'inhibiteurs des transporteurs ABC de type MDR est une voie majeure pour lutter contre la chimiorésistance des cancers, ce concept reste perfectible car il repose essentiellement sur la recherche de composés capables d'entrer en compétition avec le substrat au niveau du site de transport de ces protéines. La contrainte majeure de cette approche est que les inhibiteurs ainsi sélectionnés peuvent devenir les substrats d'autres transporteurs MDR, capables d'adapter leur site de transport, intrinsèquement poly-spécifique. Dans ce contexte, nous nous sommes engagés dans la recherche d'inhibiteurs qui évitent cet écueil en adoptant une pharmacomodulation sur des molécules de nature peptidomimétique.

Ces molécules présentent l'intérêt d'être mimétiques de structure peptidique, famille chimique qui comportent de nombreux inhibiteurs⁴⁶, faciles à synthétiser, accessibles à des modulations structurales favorables à une sélectivité et peu toxiques. Parmi les peptides qui inversent la chimiorésistance (ciclosporine A, peptides linéaires de 5 à 9 acides aminés) nous nous sommes intéressés à des di- ou tripeptides dénommés réversines^{47,48} en particulier les réversines les plus actives : 121, 1092 et 213. Ces peptides hydrophobes ont été étudiés par Sharom et coll.²⁹ et se sont avérés très affins pour la P-gp, avec une constante de fixation sub-micromolaire et une constante d'inhibition de l'ordre du micromolaire.

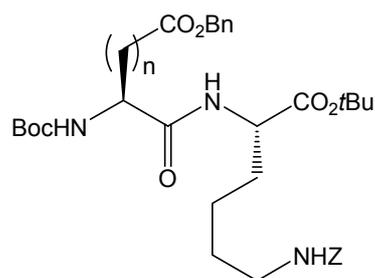
⁴⁵ GUPTA A., ZHANG Y., UNADKAT J. D., MAO Q. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2004**, 310(1), 334-341.

⁴⁶ SHAROM F. J., LU P., LIU R., YU X. *Biochem. J.*, **1998**, 333, 621-630.

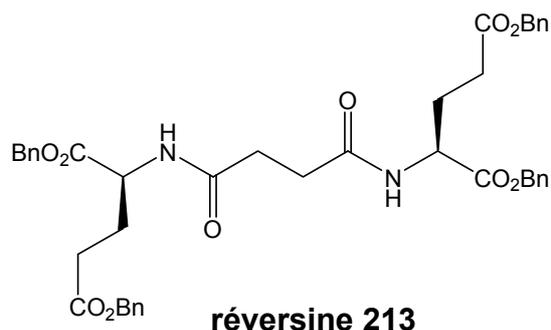
⁴⁷ SARKADI B., SEPRŐDI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZŐ I., PALYI I., TEPLÁN I., VADÁSZ Z., VINCZE B. *US 6,297,216 B1*, 2 octobre **2001**.

⁴⁸ a) SEPRŐDI J., MEZŐ I., VADÁSZ Zs., SZABÓ K., SARKADI B., TEPLÁN I. in peptides 1996, Proceedings of the Twenty-Fourth European Peptide Symposium ; September 8-13, 1996, Edinburgh, Scotland. Robert RAMAGE and Roger EPTON (Eds), **1998**, pp 801-802. b) VADÁSZ Z., SZABÓ K., SARKADI B., TEPLÁN I., MAK M., IDEI M., GYORFFY E., SEPRŐDI J. in peptides 1998, Proceedings of the Twenty-Fifth European Peptide Symposium ; 1998, Budapest, Hungary. Bajusz SANDOR and Hudecz FERENC (Eds), **1999**, pp 640-641.

²⁹ SHAROM F. J., YU X., LU P., LIU R., CHU J. W. K., SZABÓ K., MULLER M., HOSE C. D., MONKS A., VARADI A., SEPRŐDI J., SARKADI B. *Biochem. Pharmacol.*, **1999**, 58(4), 571-586.



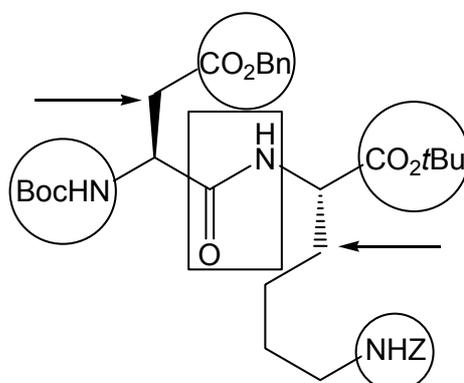
n = 1 réversine 121
n = 2 réversine 1092



réversine 213

Les requis structuraux nécessaires à l'activité de ces réversines ne sont pas encore connus. Cependant, Sepródi et coll.^{48a} notent dans leurs travaux que tous les peptides hydrophobes ayant un effet sur l'activité ATPasique de la P-gp, renferment dans leurs structures un ou plusieurs groupements Boc, Z, OMe, OtBu, OBn en position *N* ou *C*-terminale et/ou sur la chaîne latérale des résidus Asp, Glu et Lys respectivement. En outre, les réversines les plus actives sont celles qui renferment dans leurs structures deux ou plusieurs résidus d'acide aminé et deux ou plusieurs noyaux aromatiques.

Trois types de modification structurale peuvent être effectués sur ces réversines pour réaliser une étude de structure-activité.

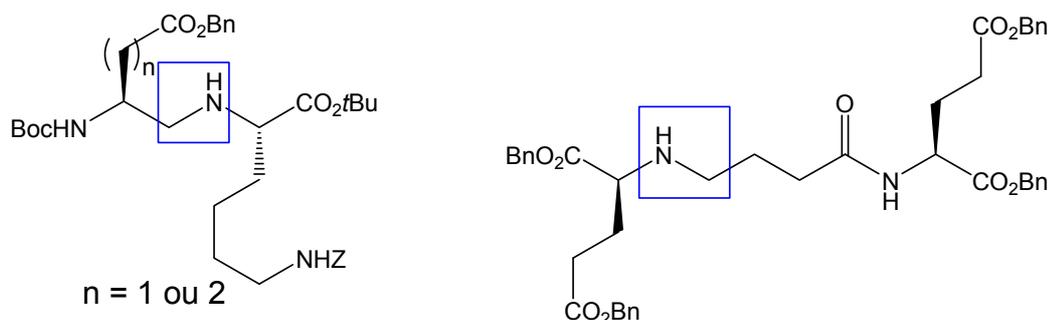


- Modification de la liaison peptidique (liaison amide réduite, cétométhylène...)
- Modification des différents groupements protecteurs (autre types d'esters et de carbamates, éthers...)
- Modification de la chaîne latérale de l'un ou des deux résidus d'acide aminé (longueur, contrainte conformationnelle ...)

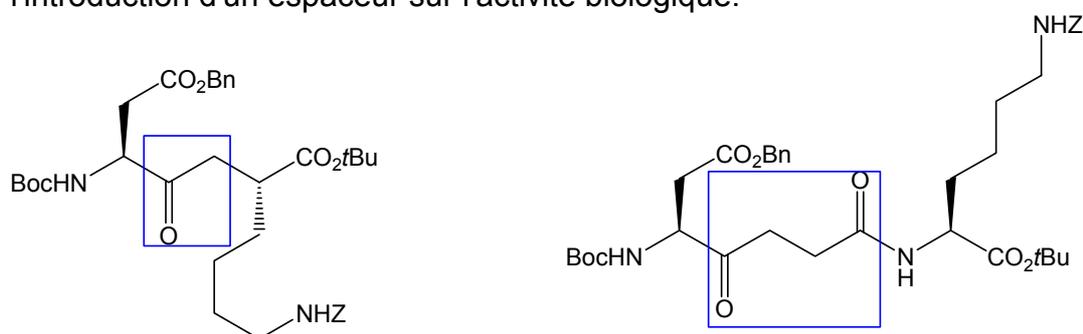
^{48a} SEPRÓDI J., MEZŐ I., VADÁSZ Zs., SZABÓ K., SARKADI B., TEPLÁN I. in peptides 1996, Proceedings of the Twenty-Fourth European Peptide Symposium ; September 8-13, 1996, Edinburgh, Scotland. Robert RAMAGE and Roger EPTON (Eds), **1998**, pp 801-802.

1- Modifications au niveau de la liaison peptidique

- Synthèse des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092 ainsi qu'un analogue monoréduit de la réversine 213 afin d'étudier s'il y aurait une éventuelle interaction de la liaison peptidique avec le site de liaison de la P-gp. Cette modification pourrait être susceptible d'augmenter l'activité et la biodisponibilité de la molécule.

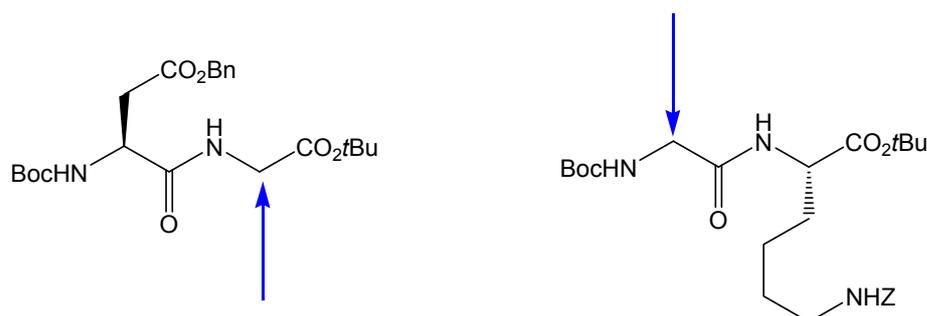


- Synthèse de l'analogue cétométhylénique de la réversine 121 et du dérivé cétométhylénique ayant une glycine insérée entre les deux résidus Asp et Lys afin d'évaluer l'effet de la liaison cétométhylénique ainsi que l'introduction d'un espaceur sur l'activité biologique.

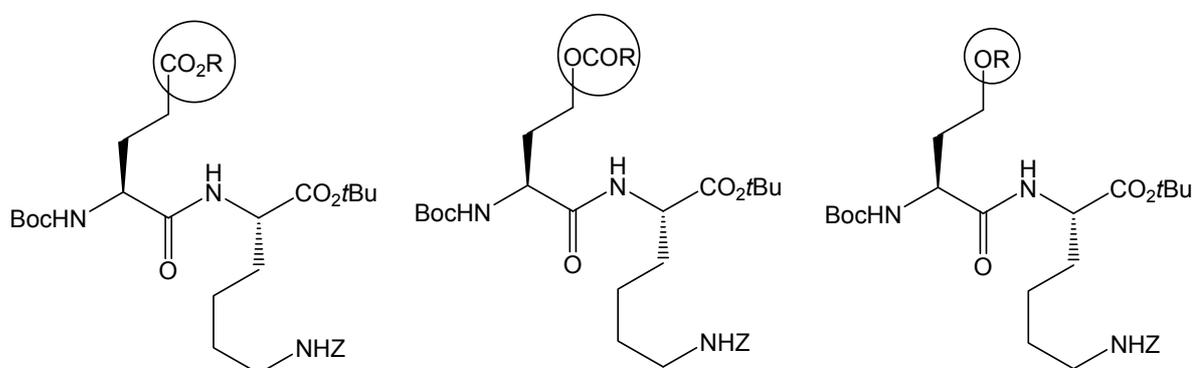


2 - Modifications au niveau des chaînes latérales

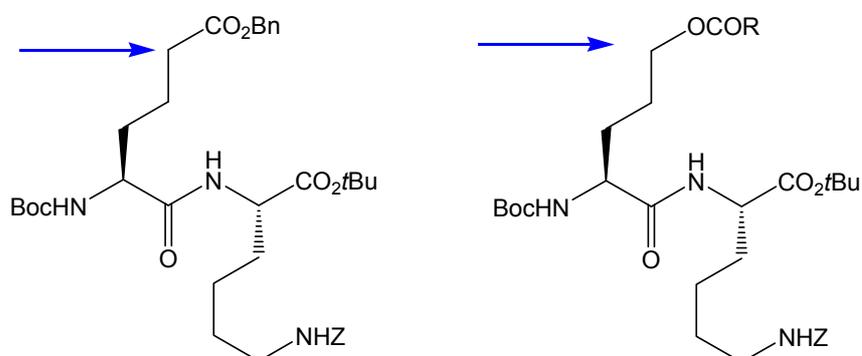
- Suppression de l'une des deux chaînes
La synthèse des deux dérivés Asp-Gly et Gly-Lys permettrait d'étudier lequel des deux résidus (Asp et Lys) est le plus important pour la liaison aux protéines ABC.



- Modifications de l'ester de la chaîne latérale en position *N*-terminale
Trois modifications sont envisageables : remplacement de l'ester benzyle de la réversine 1092 par un autre ester (-CO₂R), par un ester « inversé » de type (-OCOR) ou bien par un éther (-OR) comme indiqué ci-dessous.



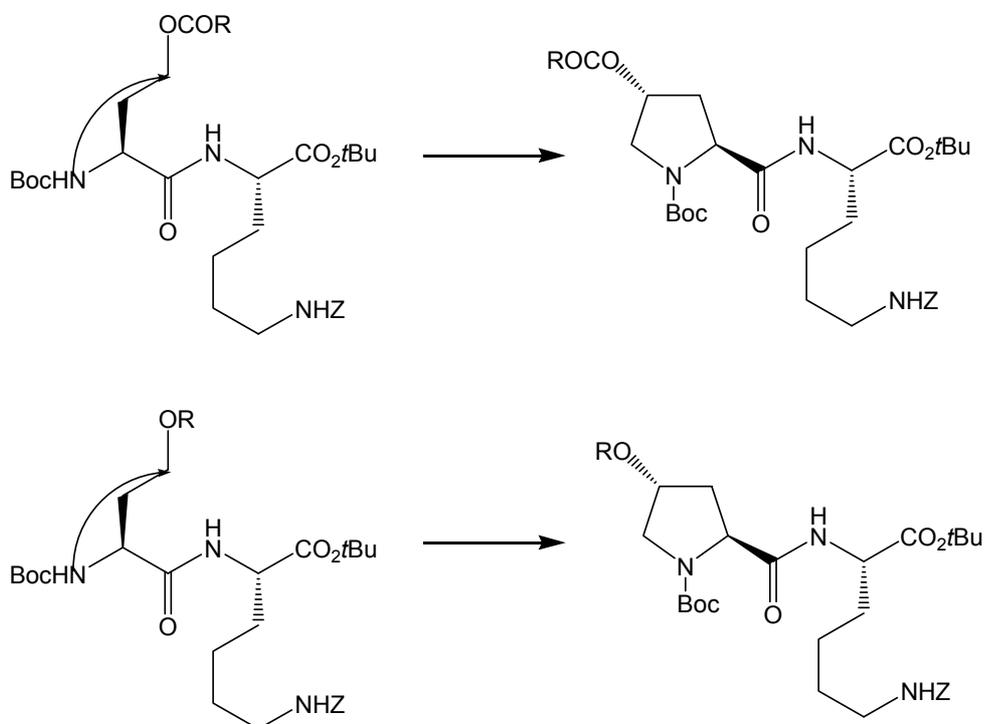
- Augmentation de la longueur de la chaîne
L'augmentation de la longueur de la chaîne d'un chaînon carboné permettrait d'évaluer l'importance de la longueur de la chaîne en position *N*-terminale.



- Contrainte conformationnelle
La détermination de la conformation bioactive d'une molécule est l'un des problèmes majeurs liés à l'étude de l'activité biologique des peptides. Le fait de contraindre la chaîne latérale d'un ou plusieurs résidus permet de changer la topologie de ces chaînes latérales, modifiant ainsi les caractéristiques des surfaces pouvant interagir avec les récepteurs⁴⁹.
La synthèse des dérivés contraints de la réversine 121 permettrait d'explorer l'espace conformationnel de celui-ci. En effet, la réduction du

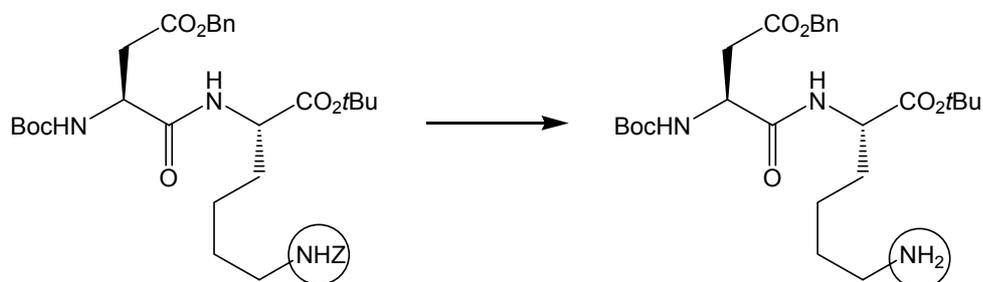
⁴⁹ HRUBY V. J., AL-OBEIDI F., KAZMIERSKI W. *Biochem. J.*, **1990**, 268, 249-262.

degré de liberté conformationnelle des chaînes latérales pourrait peut être permettre de gagner en sélectivité vis-à-vis de la protéine cible (P-gp ou BCRP).



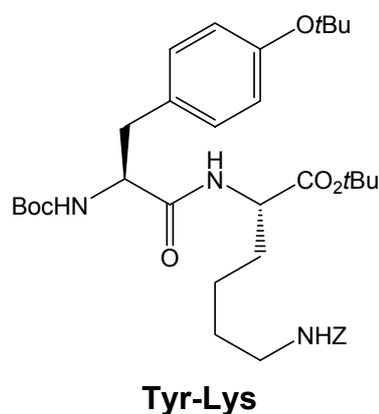
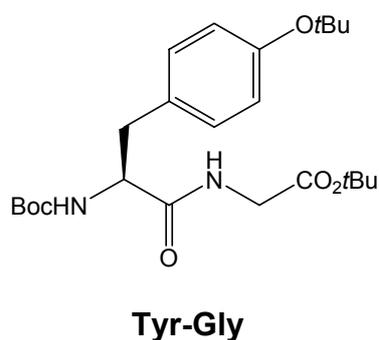
- Déprotection de l'amine de la lysine

Afin de tester l'affinité de la P-gp ou BCRP envers les molécules plus hydrophiles, une augmentation de l'hydrophilie de la réversine devrait être envisagée. Cette hydrophilie peut être augmentée par déprotection de l'un des groupements esters ou carbamates. Suite à cette idée, une synthèse de la réversine 121 ayant l'amine de la chaîne latérale de la lysine libre pourrait être entreprise.



3 - Dipeptides de type Tyr-Gly

Des dérivés Tyr-Gly préparés antérieurement au laboratoire par Charrier et coll.⁵⁰ dans le cadre d'un autre projet, comportent des éléments structuraux en commun avec les réversines 121 et 1092. Il a semblé intéressant de les soumettre à un screening afin d'évaluer leur activité biologique. Après les premiers résultats encourageants enregistrés et afin d'émettre des hypothèses sur l'influence de différents paramètres structuraux, une synthèse de dérivés de type Tyr-Gly a été envisagée.



⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.

CHAPITRE II
PSEUDOPEPTIDES DE TYPE AMINOMÉTHYLÈNE
 $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$

I - BIBLIOGRAPHIE

A - Propriétés et intérêt en thérapeutique

La modification de la liaison peptidique **CONH** par une liaison réduite $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$ est largement utilisée dans la synthèse des pseudopeptides à activité inhibitrice et antagoniste.

Le concept de l'amide réduit est exploité par Szelke et coll. pour la découverte des inhibiteurs d'une aspartylprotéase : la rénine⁵¹.

Le groupement aminométhylène est ultérieurement introduit dans le squelette d'autres inhibiteurs d'aspartylprotéases comme la gastrine⁵², la rhizopuspepsine⁵³, la protéase du VIH⁵⁴, la Sap2⁵⁵ et la β -secrétase (BACE-1)⁵⁶.

La liaison amide réduite $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$ possède plusieurs caractéristiques :

- elle est plus flexible que la liaison amide,
- elle est résistante à la dégradation enzymatique,
- le proton de l'amine secondaire est plus basique que le proton de l'amide et par la suite meilleur donneur de liaison hydrogène,
- l'amine peut être protonée dans des conditions physiologiques pour former le lien $\psi(\text{CH}_2\text{-N}^+\text{H}_2)$ ⁵⁷.

En solution, la forme neutre de la liaison amide réduite est assez flexible. La forme protonée, telle qu'elle existe généralement dans un milieu biologique, est plus rigide et peut adopter une conformation repliée due à la formation d'une liaison hydrogène entre l'ammonium $-\text{N}^+\text{H}_2-$ et le carbonyle d'une liaison amide voisine. Ces interactions électrostatiques conduisent dans ce cas précis à une structure similaire à un coude de type β .

⁵¹ SZELKE M., LECKIE B., HALLETT A., JONES D. M., SUEIRAS J., ATRASH B., LEVER A. F. *Nature*, **1982**, 299(5883), 555-557.

⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.

⁵³ SUGUNA K., PADLAN E. A., SMITH C. W., CARLSON W. D., DAVIES D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1987**, 84(20), 7009-7013.

⁵⁴ WEBER J., MAJER P., LITERA J., URBAN J., SOUČEK M., VONDRÁŠEK J., KONVALINKA J., NOVEK P., SEDLÁČEK J., ŠTROP P., KRÄUSSLICH H.-G., PICHOVÁ I. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1997**, 341(1), 62-69.

⁵⁵ SKRBEC D., ROMEO D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2002**, 297(5), 1350-1353.

⁵⁶ COBURN C. A., STACHEL S. J., JONES K. G., STEELE T. G., RUSH D. M., DIMUZIO J., PIETRAK B. L., LAI M.-T., HUANG Q., LINEBERGER J., JIN L., MUNSHI S., HOLLOWAY M. K., ESPESETH A., SIMON A., HAZUDA D., GRAHAM S. L., VACCA J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(14), 3635-3638.

⁵⁷ MA S., SPATOLA A. F. *Int. J. Peptide Prot. Res.*, **1993**, 41(2), 204-206.

Afin d'évaluer l'influence de la liaison amide réduite sur l'activité biologique des réversines, nous avons choisi de synthétiser les analogues aminométhyléniques des réversines 121, 1092 et 213.

B - Voies d'accès

Plusieurs méthodes de synthèse des pseudopeptides aminométhyléniques (ou peptides « réduits ») ont été décrites dans la littérature. L'accès à ces peptides « réduits » peut être réalisé principalement par une réaction d'amination réductrice.

1 - Synthèse au moyen de la réaction d'amination réductrice

L'amination réductrice se déroule en milieu légèrement acide (pH \approx 6) entre un aldéhyde et une amine primaire. L'iminium ainsi formé est ensuite réduit pour former la liaison réduite $\psi(\text{CH}_2\text{-NH})$ (Schéma 1). La réduction de l'iminium peut s'effectuer soit en présence d'un agent réducteur, le plus souvent le cyanoborohydrure de sodium⁵⁸, soit par hydrogénation catalytique⁵⁹. Cependant l'hydrogénation catalytique n'est pas utilisable dans le cas des composés renfermant une double ou une triple liaison carbone-carbone ou d'autres groupements insaturés (nitro, cyano...) ainsi que des groupements protecteurs (Boc, Z...), la réduction en présence d'un agent réducteur restant alors la méthode la plus fiable.

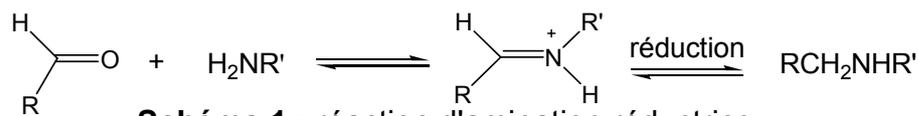


Schéma 1 : réaction d'amination réductrice

Les dérivés réduits sont préparés à partir d'aminoaldéhydes N^α -protégés : il a donc été nécessaire de trouver des voies de synthèse permettant d'obtenir des aminoaldéhydes N^α -protégés optiquement purs.

a - Préparation des aminoaldéhydes N^α -protégés

Les aminoaldéhydes N^α -protégés⁶⁰ sont très utilisés dans la synthèse des analogues peptidiques renfermant une liaison amide réduite.

⁵⁸ BORCH R. F., BERNSTEIN M. D., DURST H. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93(12), 2897-2904.

⁵⁹ FACHE F., VALOT F., MILENKOVIC A., LEMAIRE M. *Tetrahedron*, **1996**, 52(29), 9777-9784.

⁶⁰ JURCZAK J., GOŁĘBIEWSKI A. *Chem. Rev.*, **1989**, 89(1), 149-164.

Généralement, ces aminoaldéhydes s'épimérisent facilement en chromatographie sur colonne de gel de silice.

Ito et coll.⁶¹ ont proposé le mécanisme d'épimérisation suivant :

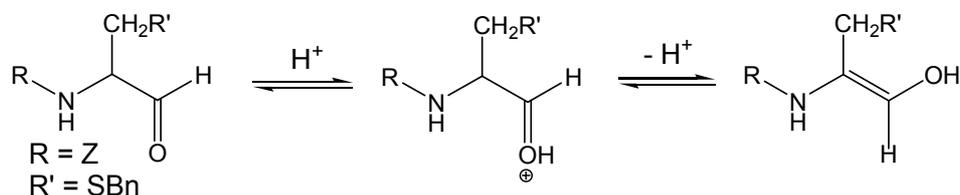


Schéma 2 : mécanisme d'épimérisation des aminoaldéhydes

Une méthode qui permet de purifier sur colonne de gel de silice des aminoaldéhydes N^α -protégés en minimisant l'épimérisation, implique l'utilisation de solvants d'élution contenant 0,1 % de pyridine⁶².

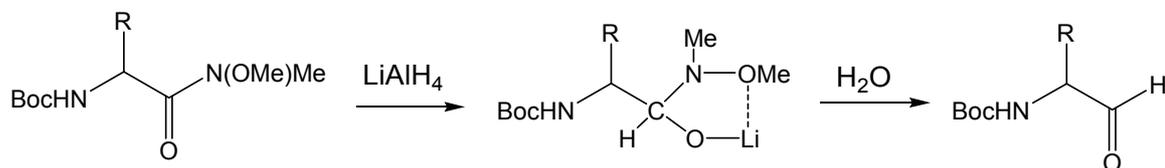
Les aminoaldéhydes N^α -protégés sont essentiellement préparés par :

- réduction de l'amide de Weinreb dérivé de l'acide aminé N^α -protégé,
- réduction du thioester dérivé de l'acide aminé N^α -protégé,
- oxydation de l'aminoalcool dérivé de l'acide aminé N^α -protégé.

i - Préparation par réduction de l'amide de Weinreb

Cette méthode décrite pour la première fois par Nahm et Weinreb⁶³ puis généralisée par Fehrentz et Castro⁶⁴, permet d'obtenir des aminoaldéhydes N^α -protégés sans épimérisation.

L'amide de Weinreb dérivé de l'acide aminé est réduit en aldéhyde en présence d'hydrure de lithium et d'aluminium. La formation du complexe intramoléculaire très stable avec le lithium empêche toute nouvelle addition d'hydrure et donc toute formation d'alcool (schéma 3).



R = chaîne latérale de l'acide aminé

Schéma 3 : réduction de l'amide de Weinreb

⁶¹ ITO A., TAKAHASHI R., BABA Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **1975**, 23(12), 3081-3087.

⁶² HO P. T., NGU K.-Y. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58(8), 2313-2316.

⁶³ NAHM S., WEINREB S. *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22(39), 3815-3818.

⁶⁴ FEHRENTZ J.-A., CASTRO B. *Synthesis*, **1983**, 676-678.

ii - Préparation par réduction du thioester

Fukuyama et coll.⁶⁵ ont décrit la réduction du thioester d'un acide aminé en aldéhyde avec des rendements compris entre 80 et 97 % en présence de triéthylsilane et de palladium sur charbon en quantité catalytique ; cette réaction est utilisable pour la préparation d'α-aminoaldéhyde à chaîne latérale de type acide glutamique (Schéma 4).

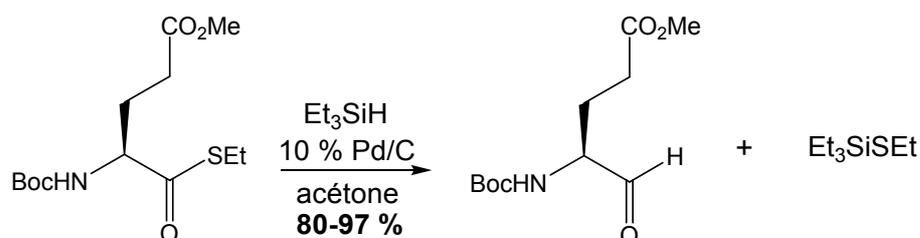


Schéma 4 : réduction du thioester

iii - Préparation par oxydation de l'α-aminoalcool

- Synthèse de l'α-aminoalcool

Stanfield et coll.⁶⁶ ont décrit une méthode de synthèse de l'α-aminoalcool dérivé du N^{α} -Boc-Asp(OBn)-OH avec un rendement de 75 % au moyen du complexe borane-tétrahydrofurane ($BH_3 \cdot THF$).

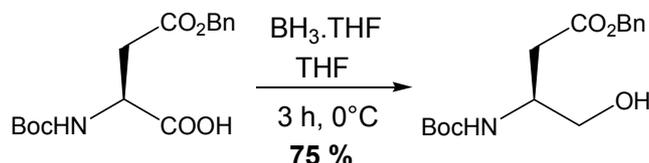


Schéma 5 : préparation de l'α-aminoalcool en une étape

Kokotos⁶⁷ a proposé une procédure générale pour la préparation des α-aminoalcools protégés. Les acides aminés protégés sont convertis en α-aminoalcool par une réduction chimiosélective des anhydrides mixtes correspondants en présence de borohydrure de sodium dans du THF et du méthanol.

⁶⁵ FUKUYAMA T., LIN S.-C., LI L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112(19), 7050-7051.

⁶⁶ STANFIELD C. F., PARKER J.E., KANELIS P. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4799-4800.

⁶⁷ KOKOTOS G. *Synthesis*, **1990**, 299-301.

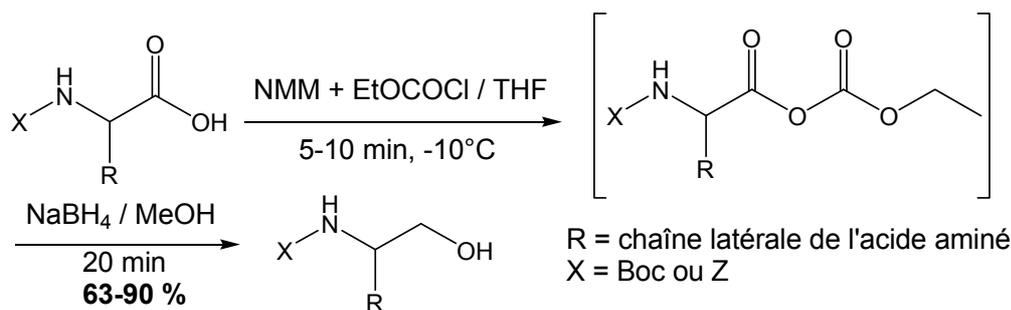


Schéma 6 : préparation de l'alcool en deux étapes « one-pot »

Guo et coll.⁶⁸ présentent une variation de cette méthode pour la synthèse de l'alcool dérivé du *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OH.

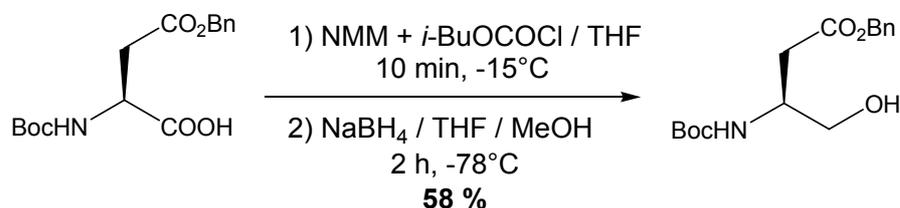


Schéma 7 : préparation de l'alcool en deux étapes « one-pot »

Lors de leurs travaux, ces auteurs ont obtenu l'alcool sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 58 % après purification par chromatographie sur colonne.

- Oxydation de l'aminoolcool

Hamada et Shioiri⁶⁹ ont pu synthétiser des aminoaldéhydes à partir des aminoalcools correspondants par oxydation en utilisant le complexe pyridine-trioxyde de soufre (Py.SO₃) comme activateur du DMSO en présence de triéthylamine. Dans le cas de l'aldéhyde dérivé du *N*^α-Boc-Glu(OBn)-OH, ils ont obtenu le composé désiré avec un bon rendement de 88 %.

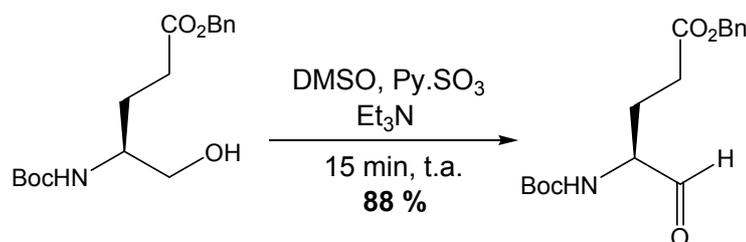


Schéma 8 : préparation de l'aldéhyde par la méthode de Doering

⁶⁸ GUO Z., XIAN M., ZHANG W., MCGILL A., WANG P. G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9(1), 99-106.

⁶⁹ HAMADA Y., SHIOIRI T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30(5), 1921-1924.

Guo et coll.⁶⁸ ont décrit l'oxydation de l'alcool dérivé du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH selon la méthode de Swern⁷⁰. Ils ont obtenu l'aldéhyde correspondant sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 82 % après purification par chromatographie sur colonne.

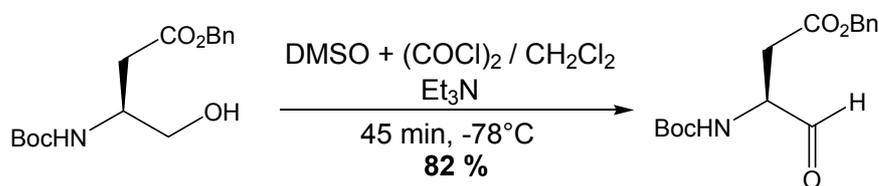


Schéma 9 : préparation de l'aldéhyde par la méthode de Swern

Les deux aminoaldéhydes décrits (Schéma 8 et Schéma 9) sont par conséquent des précurseurs projetés de la synthèse par amination réductrice des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092.

b - Réaction d'amination réductrice

Martinez et coll.⁵² ont décrit l'une des premières synthèses de dérivés peptidiques aminométhyléniques par amination réductrice.

Dans les conditions décrites, la réaction est effectuée avec un excès d'aldéhyde (1,3 éq) dans un mélange méthanol / acide acétique (99 : 1) en présence de cyanoborohydrure de sodium - un réducteur hygroscopique et toxique - entraînant la formation du cyanure d'hydrogène (HCN).

En 2005, Cho et coll.⁷¹ ont effectué la réaction d'amination réductrice en présence de borohydrure de sodium, activé par un acide comme réducteur et dans des conditions sans solvant.

Les acides activateurs utilisés sont, soit organiques comme l'acide *para*-toulènesulfonique monohydraté et l'acide benzoïque, soit inorganiques comme l'acide borique (H_3BO_3).

⁶⁸ GUO Z., XIAN M., ZHANG W., MCGILL A., WANG P. G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9(1), 99-106.

⁷⁰ MANCUSO A. J., SWERN D. *Synthesis*, **1981**, 165-185.

⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.

⁷¹ CHO B. T., KANG S. K. *Tetrahedron*, **2005**, 61(24), 5725-5734.

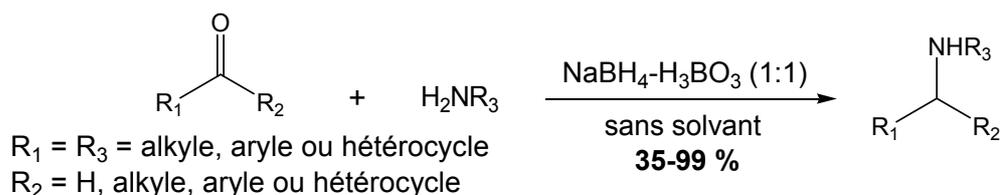


Schéma 10 : amination réductrice en présence de NaBH₄ activé

Cette méthode simple, propre et rapide permet la réduction chimiosélective des imines en présence d'autres fonctions (cétone, ester, amide, acide carboxylique...).

Alinezhad et coll.⁷² ont réalisé la réaction d'amination réductrice en utilisant le complexe *N*-méthylpipéridine-borohydrure de zinc (ZBNMPP), réducteur plus stable et moins toxique que le cyanoborohydrure de sodium.



Schéma 11 : amination réductrice en présence de ZBNMPP

La réaction est effectuée avec un excès d'amine et le pH du milieu réactionnel est maintenu neutre par addition d'une solution d'acide chlorhydrique à 10 %. Dans ces conditions, le ZBNMPP ne réduit pas l'aldéhyde engagé dans la réaction.

Kangasmetsä et Johnson⁷³ décrivent l'effet du chauffage par micro-onde sur la durée de la réaction d'amination réductrice en présence de dichlorure de dibutylétain (Bu₂SnCl₂) comme catalyseur et de phénylsilane (PhSiH₃) comme réducteur.

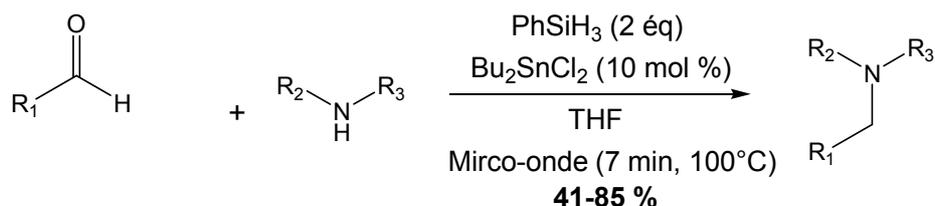


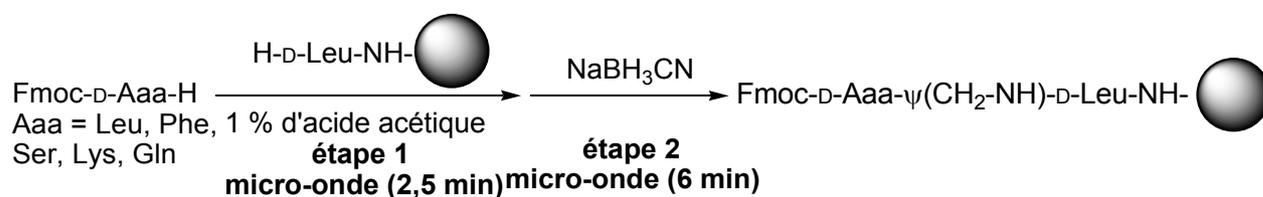
Schéma 12 : amination réductrice catalytique sous micro-onde

⁷² ALINEZHAD H., TAJBAKSH M., ZAMANI R. *Synlett*, **2006**, 431-434.

⁷³ KANGASMETSÄ J. J., JOHNSON T. *Org. Lett.*, **2005**, 7(25), 5653-5655.

Le chauffage par micro-onde réduit la durée de la réaction d'amination réductrice catalytique de quelques heures à quelques minutes.

Park et coll.⁷⁴ ont étudié la possibilité d'augmenter le rendement et la vitesse de la réaction d'amination réductrice sur phase solide sous l'effet de l'irradiation par micro-onde (tableau ci-dessous).



Séquence	Avec micro-onde		Sans micro-onde	
	Temps (min)	Rdt (%)	Temps (min)	Rdt (%)
Fmoc-Leu-Ψ(CH ₂ -NH)-Leu-CONH ₂	8,5	92	300	88
Fmoc-Phe-Ψ(CH ₂ -NH)-Leu-CONH ₂	8,5	98	300	89
Fmoc-Ser-Ψ(CH ₂ -NH)-Leu-CONH ₂	8,5	90	300	85
Fmoc-Lys-Ψ(CH ₂ -NH)-Leu-CONH ₂	8,5	92	300	85
Fmoc-Gln-Ψ(CH ₂ -NH)-Leu-CONH ₂	8,5	90	300	82

2 - Synthèse au moyen de la réaction d'amination directe

L'amination directe est la méthode la plus simple pour la synthèse des dérivés aminométhyléniques. Elle est généralement réalisée entre une amine primaire et un halogénure d'alkyle⁷⁵ ou un alcool⁷⁶, toutefois cette réaction ne s'arrête pas à la mono-*N*-alkylation et conduit à des amines tertiaires et des sels d'ammonium quaternaires ce qui limite son utilisation.

Salvatore et coll.⁷⁷ ont développé la réaction d'amination directe en employant l'hydroxyde de césium comme base. Ce sel de césium permet non seulement la mono-*N*-alkylation de l'amine primaire de départ mais aussi l'inhibition de la formation de l'amine tertiaire à partir de l'amine secondaire obtenue.

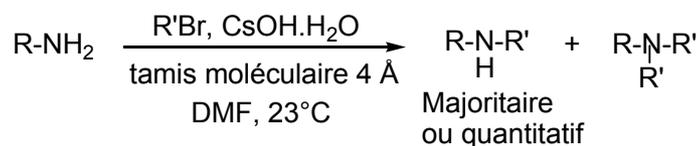


Schéma 13 : amination directe en présence de CsOH.H₂O

⁷⁴ PARK M.-S., OH H.-S., CHO H., LEE K.-H. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48(6), 1053-1057.

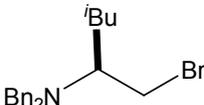
⁷⁵ MOHRI K., SUZUKI K., USUI M., ISOBE K., TSUDA Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **1995**, 43(1), 159-161.

⁷⁶ VALOT F., FACHE F., JACQUOT R., SPAGNOL M., LEMAIRE M. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(19), 3689-3692.

⁷⁷ SALVATORE R. N., NAGLE A. S., SCHMIDT S. E., JUNG K. W. *Org. Lett.*, **1999**, 1(12), 1893-1896.

De plus, cette méthode est chimiosélective : des essais sur des α -aminoalcools ont uniquement abouti aux produits mono-*N*-alkylés correspondants sans toucher la fonction alcool.

Dans le cas des bromures d'alkyle les plus actifs *via* la réaction d'alkylation comme le bromure de benzyle et le bromure d'allyle, une quantité catalytique d'hydroxyde de césium (0,1 éq) est suffisante pour réaliser la réaction de *N*-alkylation (tableau suivant).

Rdt du produit mono- <i>N</i> -alkylé	Conditions	Bromure d'alkyle (R'Br)	Amine (RNH ₂)
74 %	0,1 éq de CsOH 12 h	BnBr	Valinol
60 %	1 éq de CsOH 14 h		Leucinol

3 - Synthèse au moyen de la réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu s'effectue entre l'alcool dérivé de l'acide aminé et l'amine monoprotégée de l'autre acide aminé.

Falkiewicz et coll.⁷⁸ ont utilisé la réaction de Mitsunobu pour synthétiser des pseudo-peptides à partir de l'alcool dérivé d'un acide aminé et de la glycine dont l'amine est monoprotégée avec l'*ortho*-nitrobenzènesulfonyle (*o*-NBS).

Le pseudo-peptide aminométhylénique est ensuite obtenu après déprotection de l'*o*-NBS en présence de thiophénol et de carbonate de potassium dans l'acétonitrile.

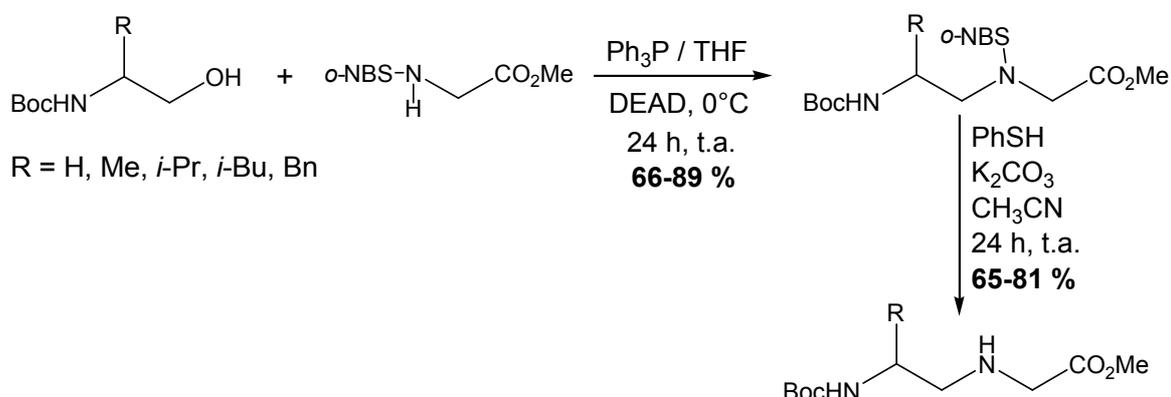


Schéma 14 : réaction de Mitsunobu

⁷⁸ FALKIEWICZ B., KOŁODZIEJCZYK A. S., LIBEREK B., WISNIEWSKI K. *Tetrahedron*, **2001**, 57(37), 7909-7917.

4 - Synthèse par ouverture d'une aziridine

Song et coll.⁷⁹ ont synthétisé des pseudopeptides aminométhyléniques par ouverture d'une aziridine au moyen d'un α -aminoacide. L'aziridine peut être obtenue à partir de l' α -aminoalcool correspondant par une réaction de Mitsunobu, ensuite l'ouverture de l'aziridine est réalisée en présence d'une amine et de perchlorate de lithium (LiClO_4) à reflux de l'acétonitrile.

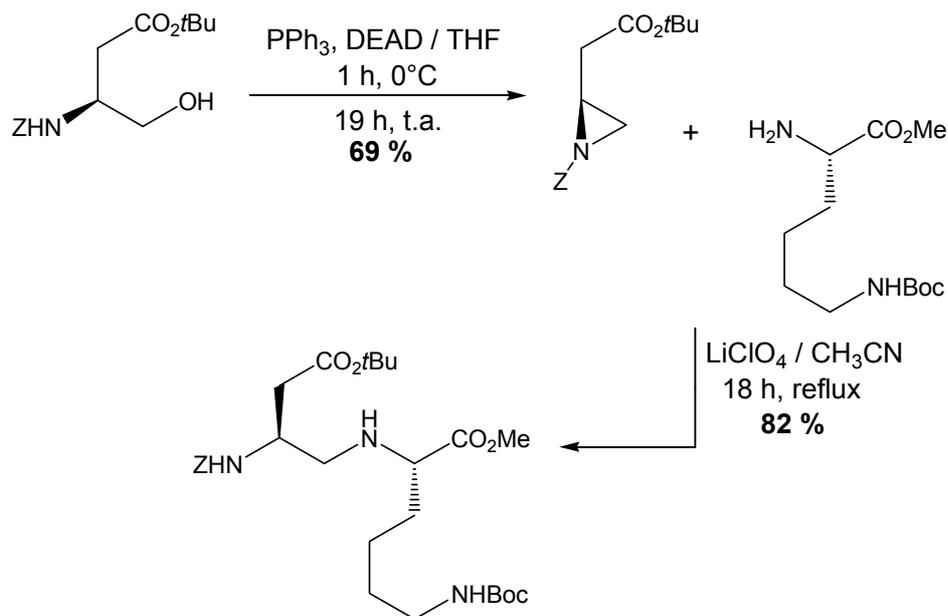
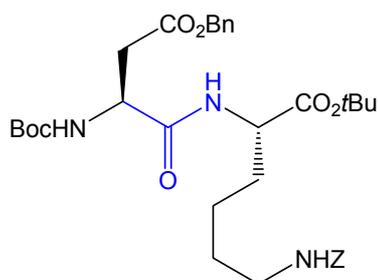


Schéma 15 : synthèse par ouverture d'une aziridine

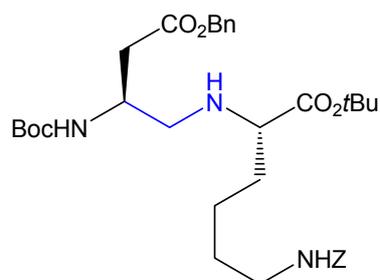
⁷⁹ SONG L., VINCENT S., THIERRY J. *Tetrahedron*, **2006**, 62(15), 3509-3516.

II - TRAVAUX PERSONNELS

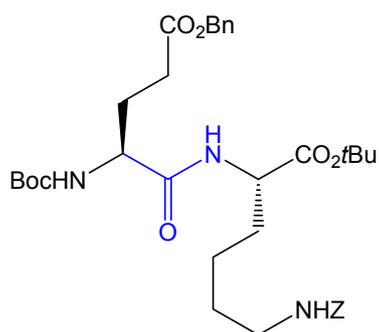
Dans cette partie, nous allons exposer nos travaux personnels ayant conduit à la synthèse des analogues aminométhyléniques souvent dénommés « réduits » des réversines 121 et 1092 ainsi que des différents analogues aminométhyléniques de la réversine 213 comme indiqué ci-dessous.



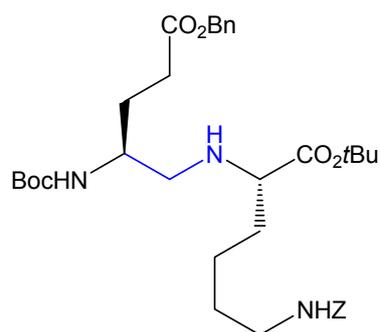
réversine 121
***N*^α-Boc-Asp(OBn)-Lys(Z)-OtBu**



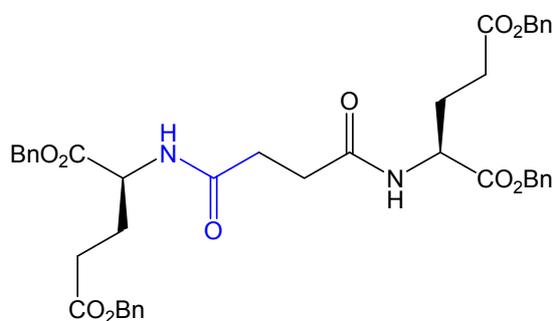
Analogue « réduit » de la réversine 121
***N*^α-Boc-Asp(OBn)-ψ(CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu**



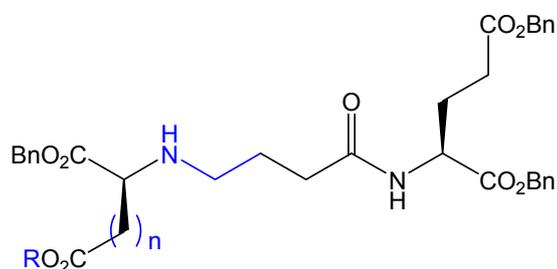
réversine 1092
***N*^α-Boc-Glu(OBn)-Lys(Z)-OtBu**



Analogue « réduit » de la réversine 1092
***N*^α-Boc-Glu(OBn)-ψ(CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu**



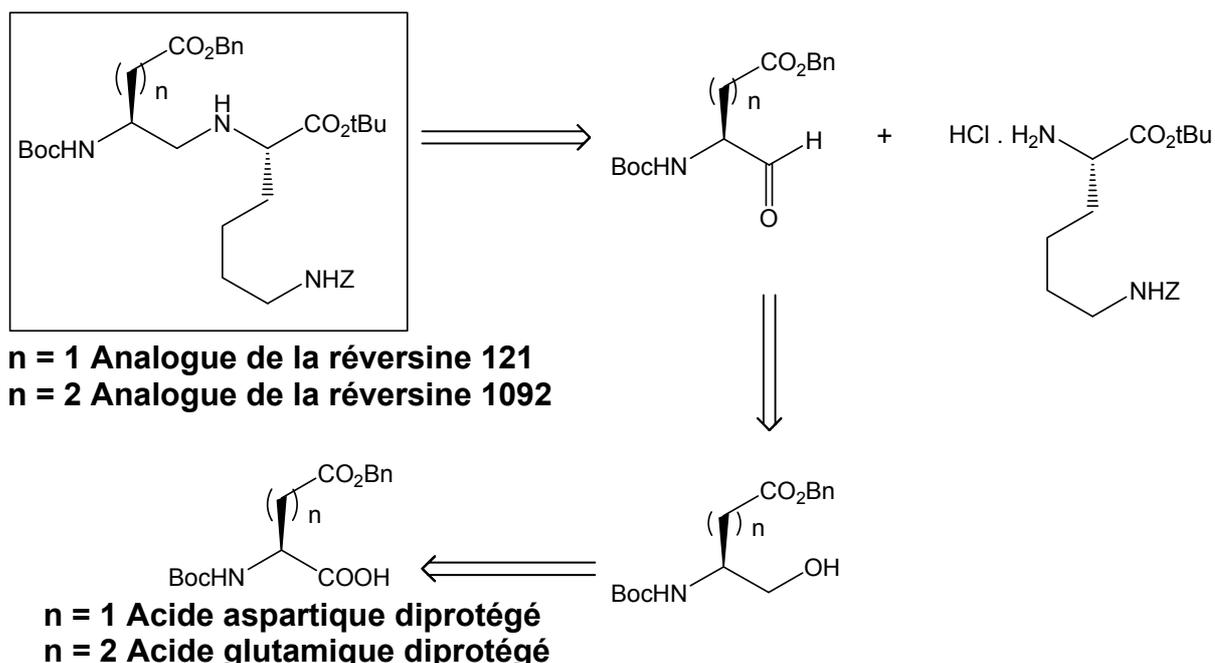
réversine 213
Succinyl-bis[Glu(OBn)₂]



Analogues « monoréduits » de la réversine 213
n = 1 R = Bn
n = 2 R = Dmp, cHex

A - Synthèse des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092

La stratégie de synthèse des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092 met en jeu une réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde dérivé de l'acide aspartique ou de l'acide glutamique doublement protégé et la lysine protégée selon le schéma rétrosynthétique ci-dessous.



La lysine protégée utilisée dans cette réaction est commerciale alors que l'aldéhyde doit être synthétisé. Après analyse de la littérature, nous avons choisi l'oxydation de l'aminoalcool préparé à partir de l'acide aspartique ou glutamique doublement protégé.

1 - Préparation des alcools dérivés des acides aminés

Deux méthodes, décrites dans la littérature, ont été utilisées sur l'acide aspartique ou l'acide glutamique, doublement protégé sur l'amine et l'acide de la chaîne latérale.

a - Utilisation du complexe borane-tétrahydrofurane

Nous avons essayé tout d'abord la méthode de Stanfield et coll.⁶⁶ utilisant le complexe borane-tétrahydrofurane (BH₃.THF) en solution.

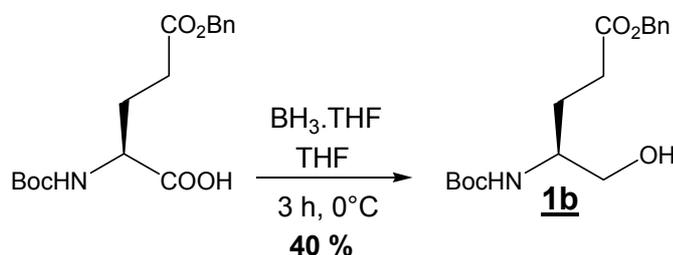


Schéma 16 : préparation de l'alcool en une étape

Nous n'avons pas pu reproduire complètement cette réaction : en effet, il reste toujours du produit de départ. Nous avons cependant obtenu le produit **1b** pur mais avec un rendement moyen de 40 %.

b - Réduction de l'anhydride mixte dérivé de l'acide aminé

Dans cette méthode l'alcool est préparé en deux étapes « one-pot » :

- préparation de l'anhydride mixte à partir de l'acide,
- réduction de l'anhydride mixte en alcool par le borohydrure de sodium.

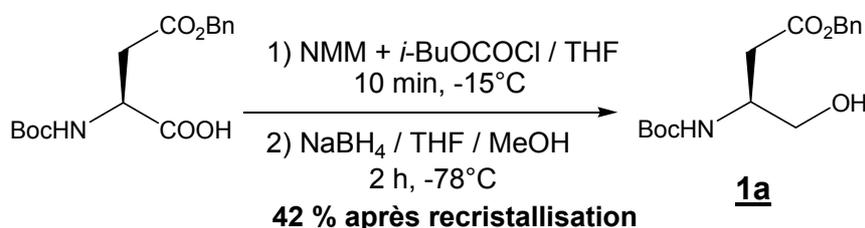


Schéma 17 : préparation de l'alcool en deux étapes « one-pot »

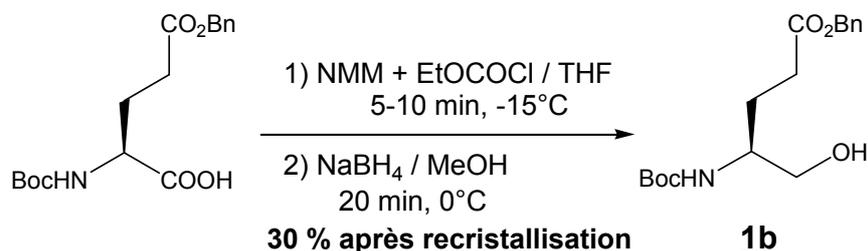
Nous avons utilisé le mode opératoire décrit par Guo et coll.⁶⁸ avec la *N*-méthylmorpholine comme base. Le problème de cette réaction réside dans la purification de l'alcool : en effet, cette réaction donne un sous-produit moins polaire, difficilement séparable de l'alcool par chromatographie sur colonne.

L'alcool **1a** dérivé de l'acide aspartique a cependant été obtenu après recristallisation dans l'éther de pétrole avec un rendement de 42 %.

⁶⁶ STANFIELD C. F., PARKER J.E., KANELIS P. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4799-4800.

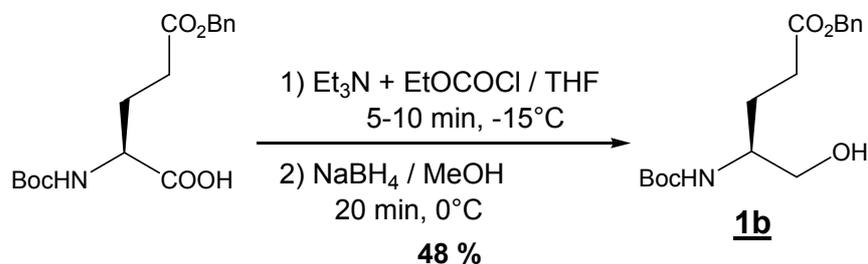
⁶⁸ GUO Z., XIAN M., ZHANG W., MCGILL A., WANG P. G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9(1), 99-106.

Nous avons essayé un autre mode opératoire, décrit par Kokotos,⁶⁷ impliquant en particulier des températures et des durées de réaction différentes.



De même cette réaction engendre un sous-produit difficilement séparable par chromatographie sur gel de silice. On obtient ainsi l'alcool **1b** après recristallisation dans l'éther de pétrole avec un rendement faible de 30 %.

Le spectre IR et le spectre de RMN ¹H de l'alcool non complètement purifié ont montré des signaux qui correspondent à la *N*-méthylmorpholine : par conséquent nous avons pensé que cette impureté provient de la base utilisée. Nous avons donc répété le mode opératoire de Kokotos avec comme base tertiaire la triéthylamine à la place de la *N*-méthylmorpholine en espérant ainsi éliminer plus facilement l'impureté dérivée de la base.



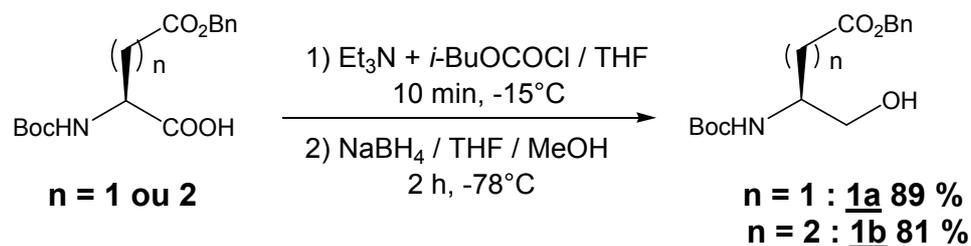
Cette réaction a également engendré un sous-produit mais cette fois facilement séparable de l'alcool désiré par chromatographie sur gel de silice. On obtient ainsi l'alcool **1b** sous forme d'un solide blanc avec un rendement moyen de 48 %.

Nous avons constaté d'après le spectre de RMN ¹H que les deux sous-produits obtenus dans les deux réactions précédentes proviennent de l'amine tertiaire utilisée.

Dans le but d'améliorer le rendement de la réaction, nous avons pensé refaire la réaction mais cette fois avec la triéthylamine comme base tertiaire et dans les conditions de température et de durée du premier essai, c'est-à-dire 10 min à

⁶⁷ KOKOTOS G. *Synthesis*, **1990**, 299-301.

-15°C pour la première étape et deux heures à -78°C pour la seconde étape.



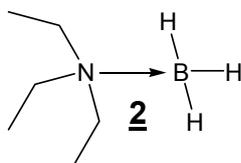
Nous avons pu ainsi facilement obtenir l'alcool après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un bon rendement de 89 % dans le cas de 1a et de 81 % dans le cas de 1b.

Nous avons résumé dans le tableau suivant les différents essais réalisés :

Alcool	Base	Durée	T°	Rdt
<u>1a</u>	NMM	2 h	-78°C	42 % après recristallisation
<u>1b</u>	NMM	20 min	0°C	30 % après recristallisation
<u>1b</u>	Et ₃ N	20 min	0°C	48 % après chromatographie
<u>1a et 1b</u>	Et ₃ N	2 h	-78°C	<u>1a</u> : 89 % <u>1b</u> : 81 % après chromatographie

Nous avons pu isoler par chromatographie le sous-produit formé au cours de la réaction avec la triéthylamine comme base. Ce sous-produit se présente sous la forme d'un liquide incolore inodore et est obtenu avec un rendement de 19 % calculé par rapport à NaBH₄.

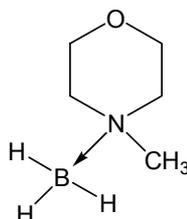
D'après les spectres IR, de RMN ¹H et de RMN ¹³C, nous proposons comme structure de ce sous-produit, celle du complexe borane-triéthylamine 2. Le spectre IR montre une bande de déformation caractéristique de la liaison BH ($\delta_{\text{BH}} = 1168 \text{ cm}^{-1}$).



Ce complexe est sans doute issu de la réaction suivante⁸⁰ :



Le sous-produit dérivé de la *N*-méthylmorpholine a probablement la même structure que celui dérivé de la triéthylamine mais nous n'avons pas pu le purifier complètement.



2 - Préparation des aldéhydes dérivés des acides aminés

Nous avons retenu deux méthodes afin de réaliser l'oxydation de l'alcool **1**.

- **Méthode d'oxydation de Doering :**

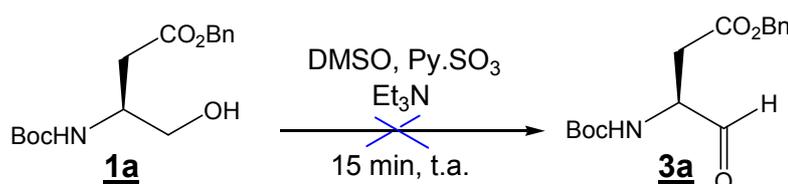


Schéma 18 : préparation de l'aldéhyde par la méthode de Doering

Nous avons utilisé cette méthode selon le mode opératoire de Hamada et Shioiri⁶⁹. La méthode de Doering implique l'utilisation du complexe pyridine-trioxyde de soufre (Py.SO₃) comme activateur du DMSO. Dans notre cas, nous avons récupéré uniquement l'alcool de départ.

- **Méthode d'oxydation de Swern :**

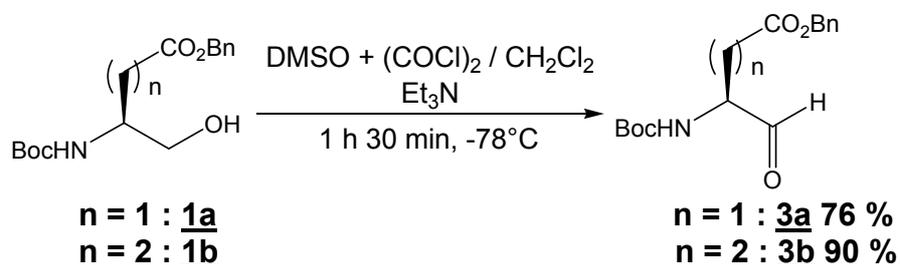


Schéma 19 : préparation de l'aldéhyde par la méthode de Swern

⁸⁰ SCHAEFFER G. W., ANDERSON E. R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71(6), 2143-2145.

⁶⁹ HAMADA Y., SHIOIRI T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30(5), 1921-1924.

Dans leurs travaux, Guo et coll.⁶⁸ ont réalisé la réaction sur **1a** pour une durée de réaction de 45 minutes. En travaillant dans les conditions décrites, nous avons obtenu l'aldéhyde avec un rendement de 41 %. Pour améliorer le rendement, nous avons pensé réaliser la réaction en allongeant le temps de réaction à 1 h 30 min. Nous avons ainsi obtenu l'aldéhyde **3a** avec un rendement de 76 % et **3b** avec un rendement de 90 %.

3 - Couplage des aldéhydes avec la lysine

Le couplage se fait par amination réductrice des aldéhydes convenablement protégés avec la lysine protégée et commercialisée sous forme de chlorhydrate.

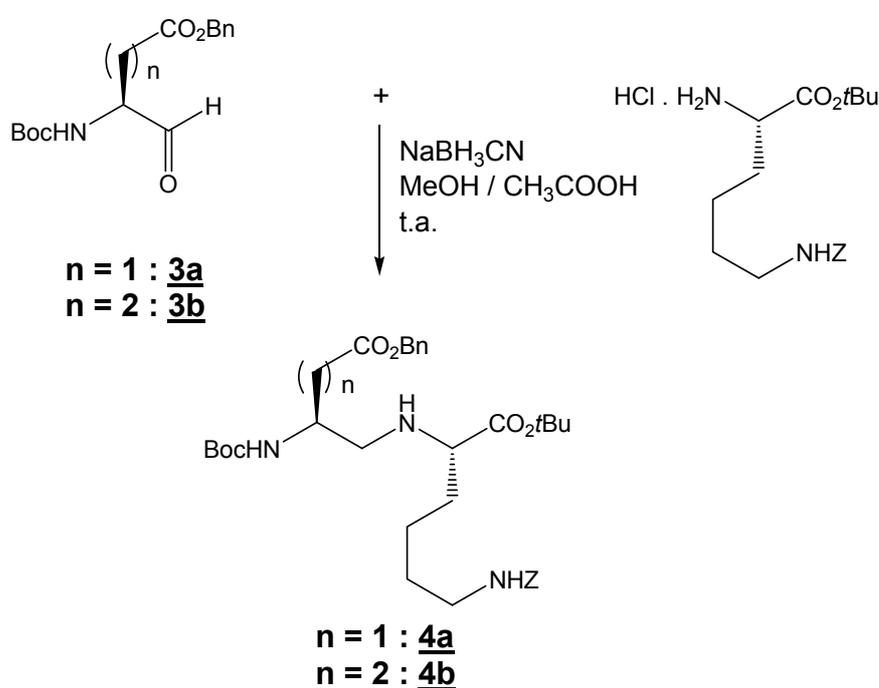


Schéma 20 : obtention des analogues aminométhyléniques des réversines 121 et 1092

Dans les conditions de Martinez et coll.⁵² la réaction est réalisée avec un excès d'aldéhyde (1 éq pour 0,6 éq d'amine) pendant une heure à température ambiante. En travaillant dans ces conditions, nous avons obtenu le produit **4a** avec un rendement de 52 % et le produit **4b** avec un rendement de 57 %.

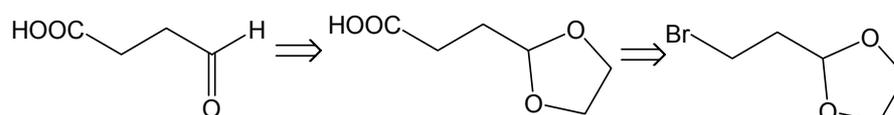
⁶⁸ GUO Z., XIAN M., ZHANG W., MCGILL A., WANG P. G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9(1), 99-106.

⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.

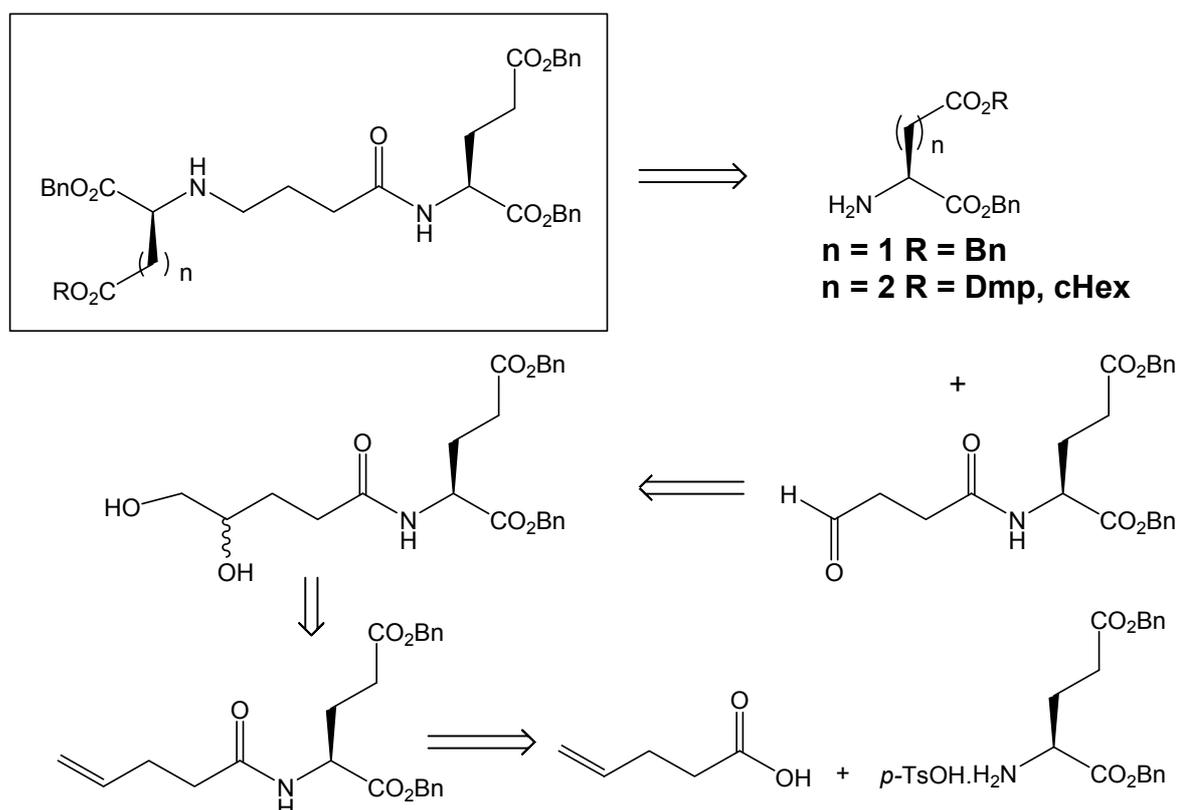
En effectuant la réaction avec l'aldéhyde dérivé de l'acide aspartique pendant 24 h, le produit **4a** a été isolé avec un meilleur rendement de 71 %. Les différents spectres sont en accord avec les structures, cependant les spectres de RMN ^{13}C présentent au niveau des carbonyles des deux esters un dédoublement des signaux, ce qui pourrait indiquer une épimérisation au niveau des carbones α . Il sera nécessaire de réaliser des études complémentaires pour mesurer la pureté diastéréoisomérique des composés obtenus.

B - Synthèse des analogues monoréduits de la réversine 213

Plusieurs stratégies de synthèse peuvent être envisagées, l'une utilisant l'aldéhyde dérivé de l'acide succinique (schéma ci-dessous), une autre utilisant un aldéhyde dérivé de l'acide glutamique doublement estérifié.



Nous avons choisi la deuxième stratégie en raison des difficultés de synthèse de l'aldéhyde dérivé de l'acide succinique. Cette stratégie de synthèse des analogues monoréduits de la réversine 213 met en jeu une réaction d'amination réductrice entre un aldéhyde, dérivé de l'acide glutamique doublement estérifié, et l'acide glutamique ou aspartique doublement estérifié.



1 - Préparation de l'aldéhyde dérivé de l'acide glutamique doublement estérifié

Nous sommes partis de l'acide pent-4-énoïque qui est d'abord activé sous forme de pent-4-énoate de *N*-succinimide⁸¹ **5** puis couplé avec l'acide glutamique doublement estérifié, composé disponible commercialement sous forme de *para*-tosylate, en présence de diisopropyléthylamine comme base.

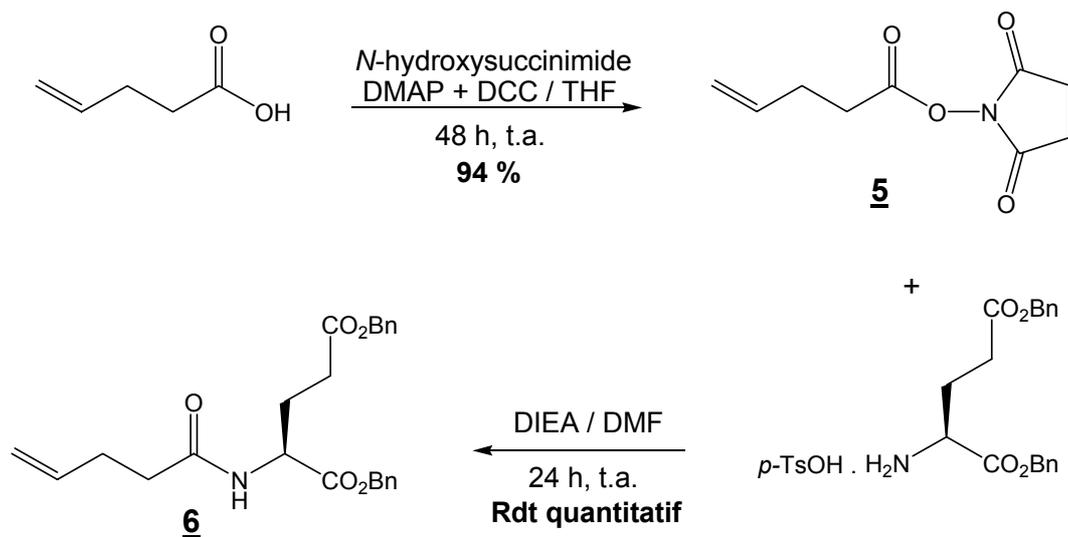


Schéma 21 : couplage de l'acide pent-4-énoïque avec le H-Glu(OBn)-(OBn).*p*-TsOH

Ensuite l'accès à l'aldéhyde par clivage de la double liaison du composé **6** peut être réalisé principalement, soit par ozonolyse^{82,83}, soit par dihydroxylation de la double liaison suivie de la coupure oxydative du diol.

L'ozonolyse n'étant pas réalisable dans notre laboratoire, nous avons décidé d'employer la deuxième méthode.

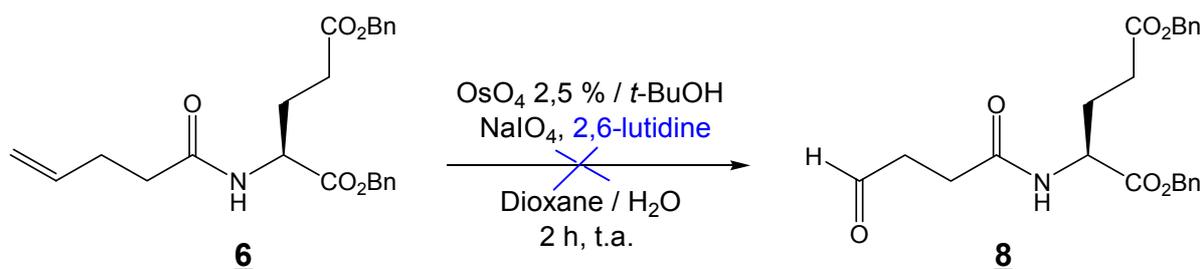
Dans un premier temps, nous avons tenté le clivage en deux étapes « one-pot » selon le mode opératoire décrit par Yu et coll.⁸⁴ utilisant le tétraoxyde d'osmium (OsO_4) et le periodate de sodium (NaIO_4), en présence de 2,6-lutidine, pendant deux heures à température ambiante.

⁸¹ BILIANG Z., ZHIYONG C. WO 03/059926 A2, 24 juillet 2003.

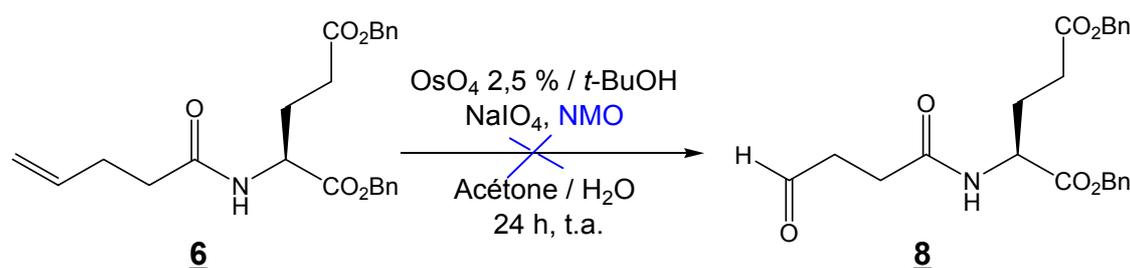
⁸² GHOSEZ L., YANG G., CAGNON J. R., LE BIDEAU F., MARCHAND-BRYNAERT J. *Tetrahedron*, **2004**, 60(35), 7591-7606.

⁸³ PAQUETTE L. A., CHANG J., LIU Z. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69(19), 6441-6448.

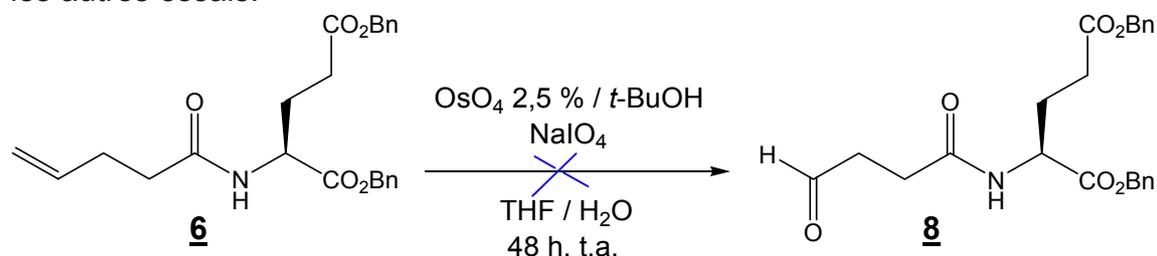
⁸⁴ YU W., MEI Y., KANG Y., HUA Z., JIN Z., *Org. Lett.*, **2004**, 6(19), 3217-3219.



Cette réaction n'a pas permis d'isoler l'aldéhyde désiré. Nous avons alors essayé un autre mode opératoire décrit par Bouzbouz et Cossy⁸⁵ utilisant l'oxyde de *N*-méthylmorpholine comme base.



De même, cette réaction n'a pas conduit à l'aldéhyde désiré et le spectre de RMN ^1H du produit obtenu est identique à celui du produit obtenu lors du premier essai. Nous avons ensuite testé une méthode décrite par Snider et Lobera⁸⁶ qui se déroule en absence de base. Cette méthode conduit au même produit que dans les autres essais.

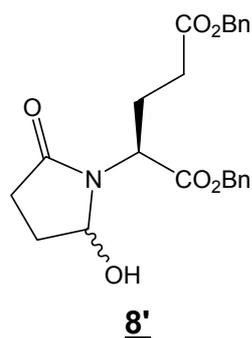


La structure du produit isolé a été déterminée par une étude approfondie des spectres de RMN ^1H , de RMN ^{13}C , de HSQC et de HMBC. Il s'agit d'un hémiaminal sous forme de deux diastéréoisomères. Le spectre de HSQC montre deux protons (2CH_α) à 4,5 et 4,7 ppm qui couplent avec deux carbones (2CH_α) à 54,35 et 54,73 ppm et deux autres protons (2CHOH) à 5,3 ppm couplés avec deux autres carbones (2CHOH) à 82 et 84,38 ppm.

⁸⁵ BOUZBOUZ S., COSSY J. *Org. Lett.*, **2001**, 3(25), 3995-3998.

⁸⁶ SNIDER B. B., LOBERA M., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45(26), 5015-5018.

L'hémiaminal obtenu a la structure suivante :



Après ces différents essais, nous avons mis en œuvre une autre méthode en deux étapes : synthèse et isolement du diol puis coupure oxydative par le periodate de sodium.

a - Préparation du diol par dihydroxylation de la double liaison

Le diol **7** est préparé selon le mode opératoire décrit par Van Rheenen et coll.⁸⁷ utilisant le tétr oxyde d'osmium en solution dans le *t*-BuOH. Les deux diastéréoisomères obtenus sont utilisés sans séparation dans l'étape suivante.

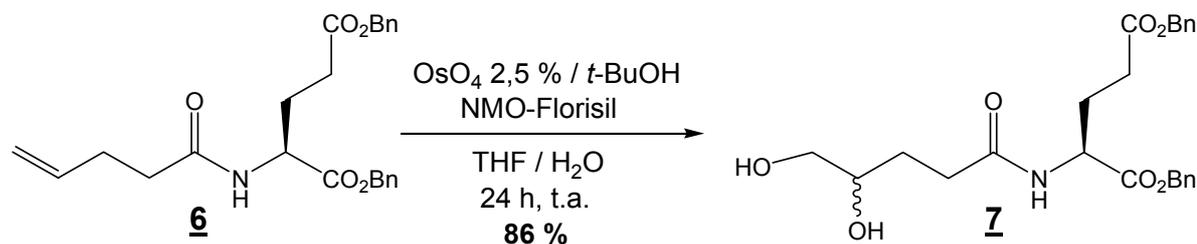


Schéma 22 : formation du diol

b - Préparation de l'aldéhyde par coupure oxydative du diol

La coupure oxydative du diol **7** se fait avec le periodate de sodium à -5°C. L'aldéhyde **8** ainsi obtenu est en équilibre avec sa forme hémiaminal **8'** (Schéma 23), le spectre de RMN ¹H montrant la présence des deux formes.

⁸⁷ VAN RHEENEN V., KELLY R. C., CHA D. Y. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 17(23), 1973-1976.

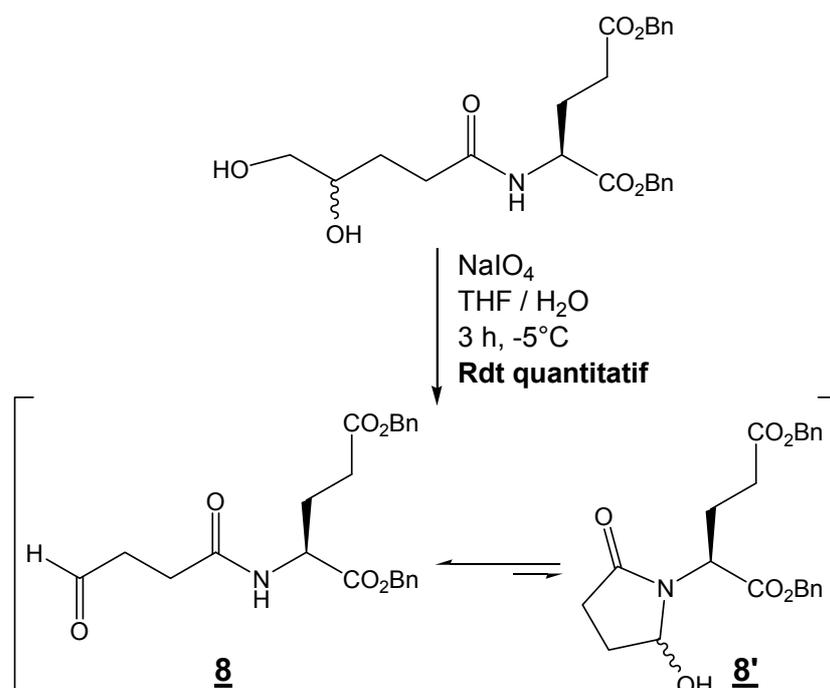


Schéma 23 : formation de l'aldéhyde

Cet équilibre, comme décrit dans la littérature pour des réactions similaires^{88,89}, n'a pas défavorisé le couplage de l'aldéhyde avec l'amine dans l'étape suivante. Ceci peut être expliqué par le déplacement de l'équilibre dans le sens de formation de l'aldéhyde au cours de la réaction d'amination réductrice.

2 - Couplage de l'aldéhyde avec l'acide glutamique doublement estérifié

Le couplage se fait par amination réductrice entre l'aldéhyde **8** et l'acide glutamique estérifié sur les deux fonctions acides.

a - Amination réductrice entre l'aldéhyde **8** et le H-Glu(OBn)-OBn.p-TsOH

Dans un premier temps, nous avons décidé de faire le couplage entre l'aldéhyde **8** et l'acide glutamique doublement estérifié sous forme de benzyle, composé commercial sous forme de *para*-tosylate, afin d'obtenir l'analogue « monoréduit » de la réversine 213.

⁸⁸ BUSNEL O., BI L., BAUDY-FLOC'H M. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46(41), 7073-7075.

⁸⁹ DELCROS J-G., TOMASI S., CARRINGTON S., MARTIN B., RENAULT J., BLAGBROUGH I. S., URIAC P. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(23), 5098-5111.

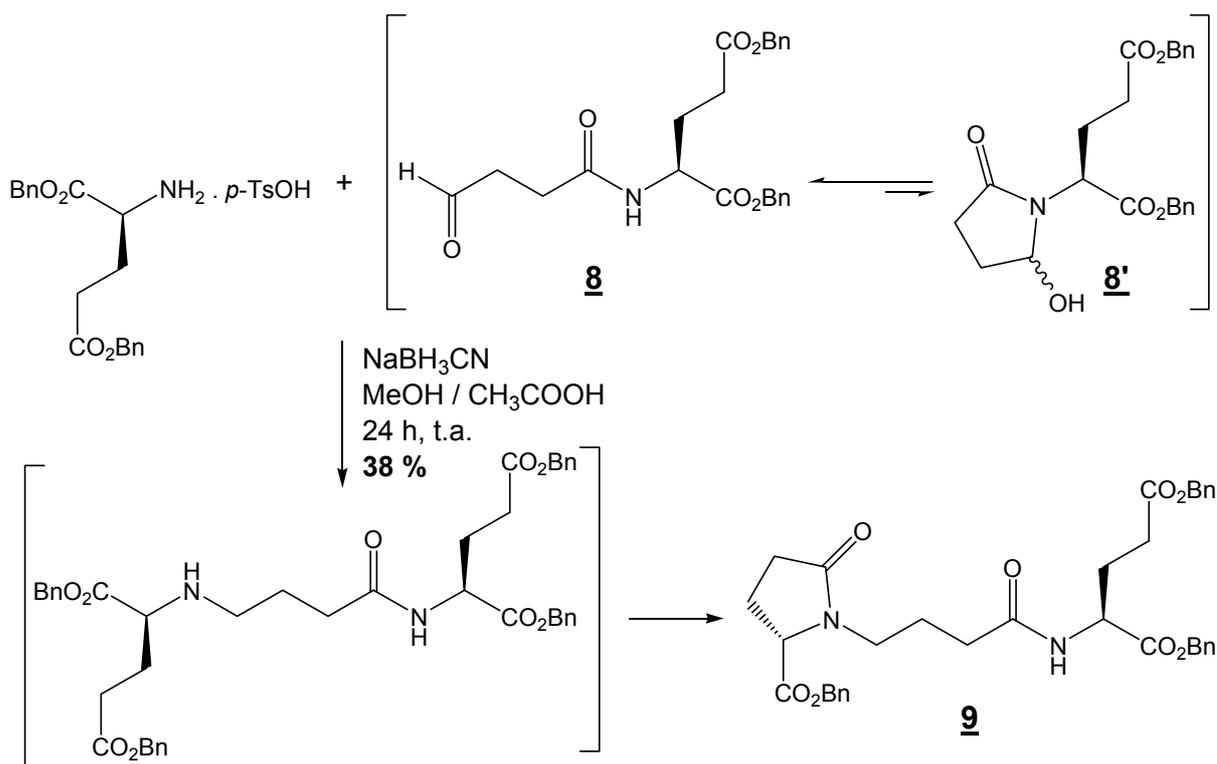


Schéma 24 : amination réductrice avec le H-Glu(OBn)-OBn.*p*-TsOH

Dans les conditions de Martinez et coll.⁵², la réaction est réalisée avec un excès d'aldéhyde (1 éq pour 0,6 éq d'amine) dans un mélange de méthanol et d'acide acétique (99 : 1). En travaillant dans ces conditions, nous n'avons pas obtenu le produit désiré car le produit souhaité se cyclise spontanément dès sa formation par attaque nucléophile de l'amine sur l'ester benzylique. Nous avons ainsi obtenu le lactame **9** avec un rendement de 38 %. Cette cyclisation spontanée a été notée par Gareau et coll.^{90a} ainsi que par Felluga et coll.^{90b}

Pour empêcher cette cyclisation spontanée, nous avons utilisé les données de la littérature concernant la formation d'aspartimides à partir de l'acide aspartique. Il a été montré que les groupements 2,4-diméthylpent-3-yle (Dmp)⁹¹ et cyclohexyle (cHex)⁹² empêchent la cyclisation intramoléculaire. Par conséquent, nous avons envisagé de répéter la réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde et l'acide

⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.

⁹⁰ a) GAREAU Y., ZAMBONI R., WONG A. W. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58(6), 1582-1585. b) FELLUGA F., PITACCO G., PRODAN M., PRICL S., VISINTIN M., VALENTIN E. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12(23), 3241-3249.

⁹¹ KARLSTRÖM A., UNDÉN A. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(22), 3909-3912.

⁹² TAM J. P., WONG T-W., RIEMEN M. W., TJOENG F-S., MERRIFIELD R. B. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20(42), 4033-4036.

glutamique dont l'acide de la chaîne latérale est estérifié sous forme de 2,4-diméthylpent-3-yle ou de cyclohexyle. Dans ce cas, les acides aminés H-Glu(ODmp)-OBn et H-Glu(OcHex)-OBn mis en réaction doivent être synthétisés.

b - Synthèse du H-Glu(ODmp)-OBn 11

Cette synthèse se fait en deux étapes à partir du N^α -Boc-Glu-OBn commercial.

- estérification de la fonction acide de l'acide glutamique en ester 2,4-diméthylpent-3-yle,
- déprotection de l'amine.

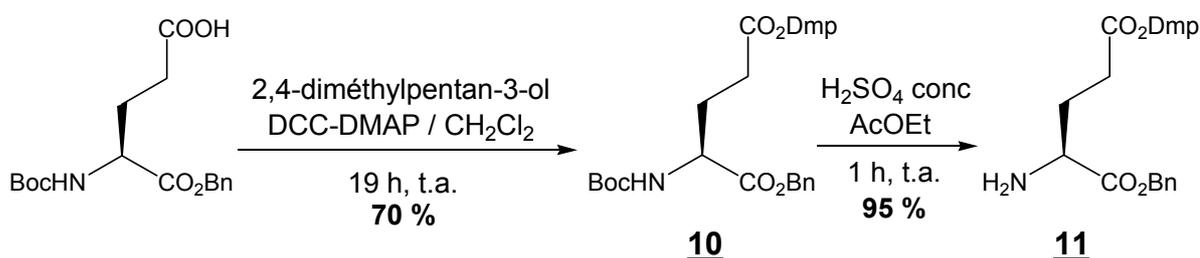


Schéma 25 : synthèse du H-Glu(ODmp)-OBn

Dans leurs travaux, Karlström et Undén⁹¹ ont estérifié le N^α -Boc-Asp-OBn par action du 2,4-diméthylpentan-3-ol en présence de DCC et de DMAP pendant 19 heures à température ambiante. En appliquant ces conditions sur le N^α -Boc-Glu-OBn, nous avons obtenu l'ester 10 avec un rendement de 70%.

Pour la déprotection de l'amine, nous avons d'abord tenté les méthodes classiques utilisant l'acide trifluoroacétique (TFA)⁹³ ou l'acide chlorhydrique 3 M⁹⁴. Dans les deux cas, nous n'avons récupéré que le produit de départ intact.

Dans leurs travaux, Lin et coll.⁹⁵ utilisent l'acide sulfurique concentré dans l'acétate de *tert*-butyle à température ambiante pour déprotéger le Boc d'un α -aminoacide dont la fonction acide est estérifiée sous forme de *tert*-butyle.

Dans notre cas, la réaction est réalisée dans l'acétate d'éthyle à la place de l'acétate de *tert*-butyle pendant une heure à température ambiante et l'amine 11 est obtenue avec un rendement de 95 %.

⁹¹ KARLSTRÖM A., UNDÉN A. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(22), 3909-3912.

⁹³ LEE B. H., GERFEN G. J., MILLER M. J. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49(13), 2418-2423.

⁹⁴ STAHL G. L., WALTER R., SMITH C. W., *J. Org. Chem.*, **1978**, 43(11), 2285-2286.

⁹⁵ LIN L. S., LANZA JR. T., DE LASZLO S. E., TRUONG Q., KAMENECKA T., HAGMANN W. K., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41(36), 7013-7016.

c - Amination réductrice entre l'aldéhyde **8** et le H-Glu(ODmp)-OBn **11**

L'amination réductrice est réalisée dans les mêmes conditions de Martinez et coll.⁵² décrites précédemment (1 éq d'aldéhyde pour 0,6 éq d'amine).

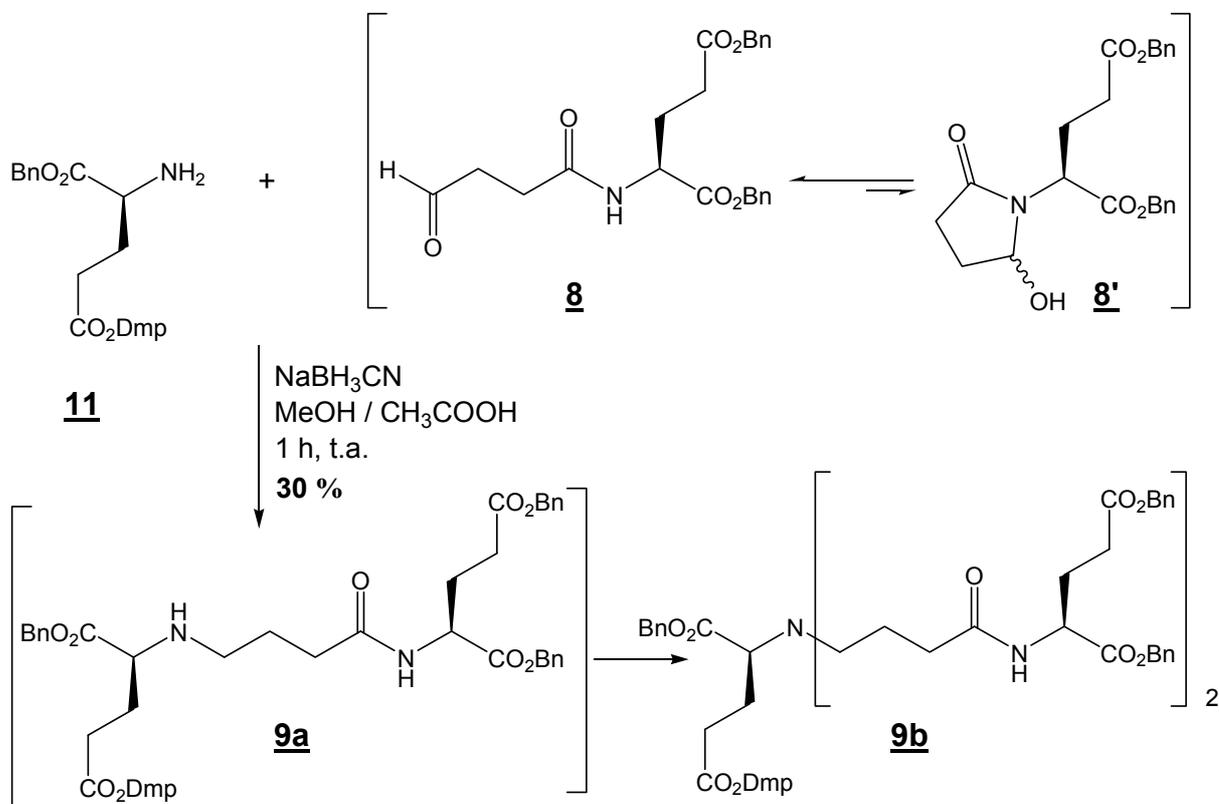


Schéma 26 : amination réductrice avec le H-Glu(ODmp)-OBn

Dans ce cas, nous avons uniquement obtenu le produit dialkylé **9b** avec un rendement de 30 %. L'obtention de cette amine tertiaire **9b** peut être expliquée par la réactivité de l'amine secondaire **9a** avec l'excès d'aldéhyde pour former l'énamine qui est ensuite réduite par le cyanoborohydrure de sodium.

Salvi et coll.⁹⁶ ont aussi noté dans leurs travaux la formation d'un produit dialkylé en réalisant l'amination réductrice avec la glycine en présence d'un excès de *N*^α-Fmoc-Glycinal.

Chhabra et coll.⁹⁷ réalisent la réaction d'amination réductrice sur l'aldéhyde dérivé de la glycine avec un excès d'amine (1,1 éq pour 0,9 éq d'aldéhyde) afin de limiter la réaction de dialkylation.

⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.

⁹⁶ SALVI J-P., WALCHSHOFER N., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35(8), 1181-1184.

⁹⁷ CHHABRA S. R., MAHAJAN A., CHAN W. C. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(12), 4017-4029.

Pour empêcher la dialkylation, nous avons testé à nouveau la réaction mais cette fois avec un excès d'amine (3 éq pour 1 éq d'aldéhyde). Après une heure de réaction à température ambiante nous n'avons obtenu que le produit monoalkylé **9a** désiré avec un rendement de 38 %.

Nous pouvons ainsi conclure que l'amination réductrice réalisée avec un aldéhyde ayant un méthylène en α (Schéma 26 page précédente), entraîne préférentiellement une dialkylation alors que celle réalisée avec un aldéhyde dont le carbone en α est substitué (Schéma 20 page 53), donne un produit monoalkylé. À la suite de ce résultat, nous avons synthétisé un deuxième analogue « monoréduit » de la réversine 213 en remplaçant l'ester 2,4-diméthylpent-3-yle par l'ester cyclohexylique afin de comparer l'activité des deux analogues sur la glycoprotéine P (P-gp).

d - Synthèse de H-Glu(OcHex)-OBn **13**

Cette synthèse se fait en deux étapes à partir du N^α -Boc-Glu(OcHex)-OH disponible commercialement.

- estérification de l'acide en α en ester benzylique,
- déprotection de l'amine.

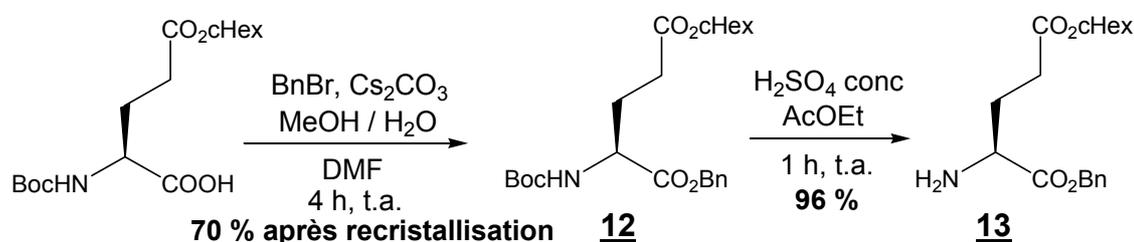


Schéma 27 : synthèse du H-Glu(OcHex)-OBn

L'estérification du N^α -Boc-Glu(OcHex)-OH est réalisée selon la méthode décrite par Våbenø et coll.⁹⁸ utilisant le bromure de benzyle et le carbonate de césium comme base. L'ester **12** est obtenu sous forme de cristaux blancs brillants, après recristallisation à 45°C dans l'éther de pétrole, avec un rendement de 70 %.

L'amine est ensuite déprotégée en présence d'acide sulfurique concentré pour donner le produit **13** avec un rendement de 96 %.

⁹⁸ VÅBENØ J., NIELSEN C. U., INGEBRIGTSEN T., LEJON T., STEFFANSEN B., LUTTMAN K. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4755-4765.

e - Amination réductrice entre l'aldéhyde **8** et le H-Glu(OcHex)-OBn **13**

L'amine **13** ainsi synthétisée est engagée, en excès (3 éq), dans une réaction d'amination réductrice avec l'aldéhyde **8** pendant deux heures à température ambiante. L'analogue monoalkylé **9c** souhaité est ainsi obtenu avec un rendement de 43 %.

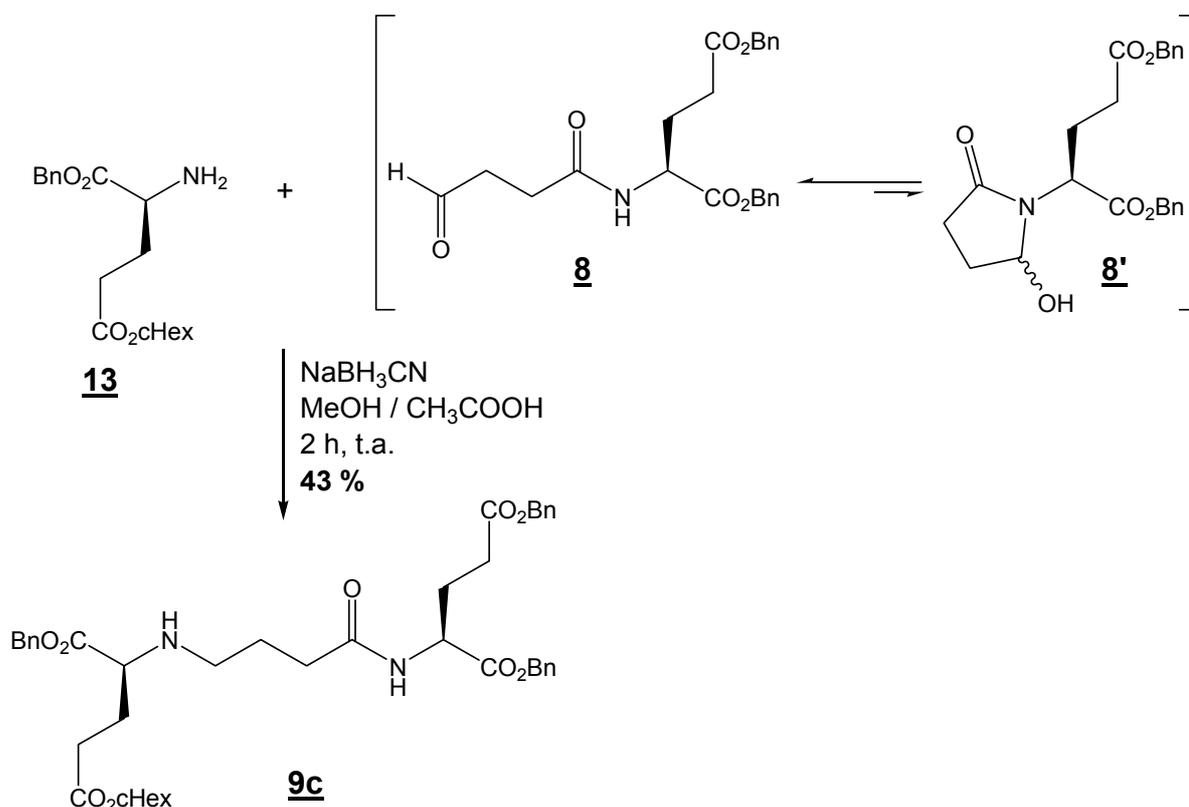


Schéma 28 : amination réductrice avec le H-Glu(OcHex)-OBn

3 - Couplage de l'aldéhyde avec l'acide aspartique doublement estérifié

Nous avons aussi pensé synthétiser un troisième analogue « monoréduit » de la réversine 213 en gardant l'ester benzylique de la chaîne latérale de l'acide glutamique. Pour cela nous avons tenté l'amination réductrice avec l'acide aspartique dont les deux fonctions acides sont estérifiées sous forme de benzyle en espérant ne pas avoir de cyclisation du fait que la formation du cycle à 4 chaînons est défavorisée.

Amination réductrice entre l'aldéhyde **8** et le H-Asp(OBn)-OBn.*p*-TsOH

L'aldéhyde **8** est engagé dans une réaction d'amination réductrice avec un excès (3 éq) d'acide aspartique doublement estérifié sous forme de benzyle : composé commercial sous forme de *para*-tosylate.

Le produit **9d** non cyclisé attendu est obtenu après deux heures de réaction à température ambiante avec un rendement de 32 %.

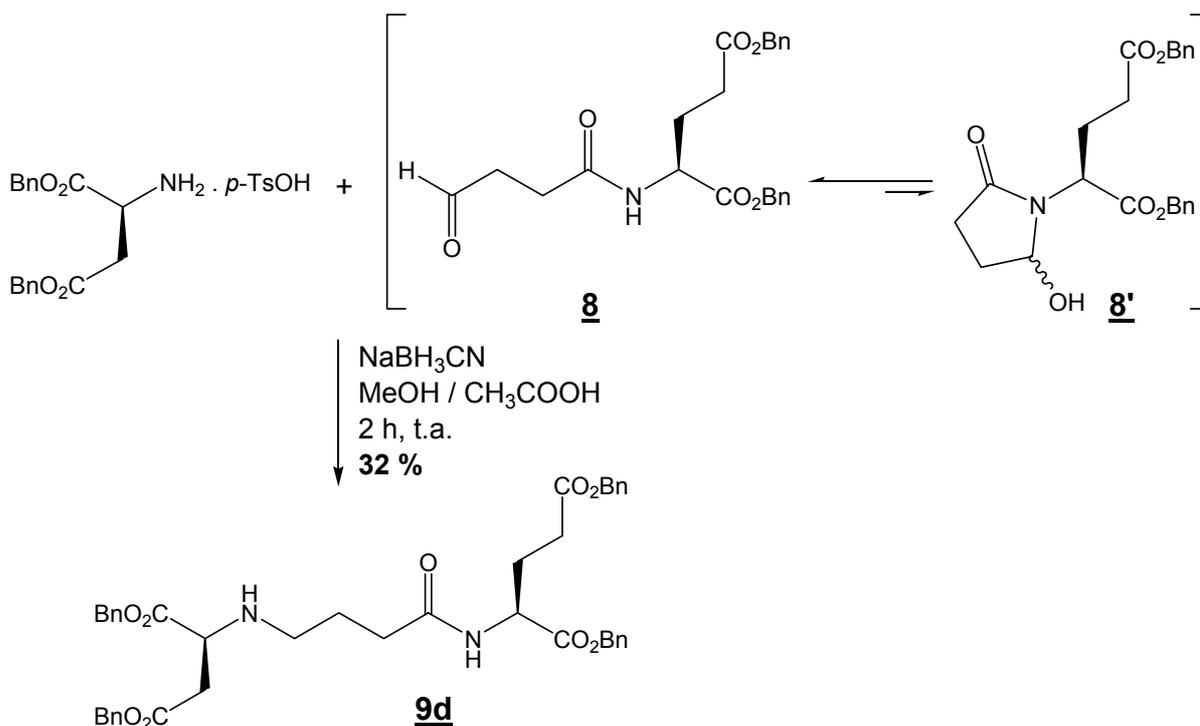


Schéma 29 : amination réductrice avec le H-Asp(OBn)-OBn.*p*-TsOH

Nous avons pu obtenir les deux dérivés aminométhyléniques **4a** et **4b** des réversines 121 et 1092 respectivement à partir des aldéhydes dérivés de l'acide aspartique ou glutamique par une réaction d'amination réductrice sur la lysine. Cette stratégie de synthèse a donné en trois étapes les deux analogues avec un rendement global de 48 et 41 % respectivement. Nous avons aussi pu montrer au cours de la synthèse des aminoalcools la formation d'un complexe du borane avec l'amine ce qui n'est pas mentionné dans la littérature.

Nous avons pu par ailleurs synthétiser *via* la même stratégie trois analogues monoréduits **9a**, **9c** et **9d** de la réversine 213 avec un rendement global de 31, 35 et 26 % respectivement.

III - PARTIE EXPÉRIMENTALE

A - Matériels et méthodes

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de silice 60 F254 Merck sur feuille d'aluminium.

La détection se fait sous une lampe UV (254 nm) et la révélation par pulvérisation d'une solution de ninhydrine dans l'éthanol ou d'une solution d'acide sulfomolybdique puis chauffage.

Les purifications par chromatographie flash sont effectuées sur gel de silice 60 Å (40-63 µm) de marque Merck.

Les points de fusion (F en °C) sont déterminés en tube capillaire à l'aide d'un appareil Electrothermal 9200.

Les pouvoirs rotatoires ($[\alpha]_D^{T^\circ C}$) sont réalisés à température ambiante dans le solvant indiqué entre parenthèses à une concentration c exprimée en g / 100 mL. Les angles de rotation sont mesurés à 589 nm (raie du sodium) à l'aide d'un polarimètre ADP 220 de marque Bellingham + Stanley Ltd au laboratoire ou d'un polarimètre JASCO P-1010 à l'École Normale Supérieure de Lyon (ENS).

Les pouvoirs rotatoires sont ensuite calculés selon la formule suivante :

$$[\alpha]_D^{T^\circ C} = \alpha \cdot 1000 / c \cdot l$$

α : l'angle de rotation

c : la concentration en g / L

l : la longueur du tube = 1 dm

L'indice de réfraction ($n_D^{T^\circ C}$) est mesuré sur un réfractomètre d'Abbe A. Krüss Optronic.

Les spectres infra-rouge (IR) sont réalisés en film sur pastille de chlorure de sodium pour les huiles ou après pastillage dans du bromure de potassium pour les solides.

L'appareil de mesure est un spectromètre Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR. Les vibrations de valence (ν) ou de déformations (δ) sont exprimées en cm^{-1} .

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) sont réalisés dans le solvant spécifié entre parenthèses et les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm).

- **RMN ^1H** : Les spectres sont enregistrés sur un appareil Brüker ALS 300 (300,17 MHz) ou AC 200 (200,11 MHz).
Les multiplicités sont : singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), multiplet (m) et massif (M) et les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz).
- **RMN ^{13}C** : Les spectres sont enregistrés sur un appareil Brüker DRX 300 (75,44 MHz) ou AC 200 (50,29 MHz).
- **RMN ^{19}F** : Les spectres sont enregistrés sur un appareil Brüker DRX 300 (282,23 MHz).

Les spectres de masse (SM) ESI (Electrospray Ionization = ionisation par électronébulisation) sont enregistrés sur un LCQ-Advantage de marque Thermo-Finnigan et le solvant utilisé est le dichlorométhane.

Chromatographie liquide à haute performance analytique (CLHP)

Les analyses ont été réalisées sur l'appareillage suivant :

- Colonne analytique phase inverse C-18 VYDAC 218TP54 (RP-C18 ; taille des particules = $5\ \mu\text{m}$; $d = 0,46\ \text{cm}$; $l = 25\ \text{cm}$). Les chromatogrammes ont été enregistrés à $\lambda = 214\ \text{nm}$
- Pompe : PUMP 400 KONTRON INSTRUMENTS
- Détecteur UV : DETECTOR 432 KONTRON INSTRUMENTS
- Eluant : solvant A (eau / TFA 1000 : 1) et solvant B (CH_3CN / eau / TFA 600 : 400 : 1).

B - Réactifs

Réactifs pour la révélation des chromatographies sur couches minces (CCM)

- Réactif à la ninhydrine : La ninhydrine est généralement utilisée pour la révélation des acides aminés, des peptides et des amines.

Le révélateur est préparé par dissolution de 0,3 g de ninhydrine dans 100 mL d'éthanol et 3 mL d'acide acétique glacial.

Les composés sont révélés en pulvérisant la plaque de CCM avec le réactif puis en la chauffant à 110 °C pendant quelques minutes. Les acides aminés, les peptides et les amines sont révélés en rose ou jaune

- Réactif à l'acide sulfomolybdique : Ce réactif est universel.

Le révélateur est préparé par dissolution d'un gramme de molybdate d'ammonium dans 90 mL d'eau et 10 mL d'acide sulfurique concentré.

Les composés sont révélés en pulvérisant la plaque de CCM avec le réactif puis en la chauffant à 90 °C pendant quelques minutes. Les acides aminés et les peptides sont révélés en jaune orangé.

Préparation du diiodure de samarium SmI_2

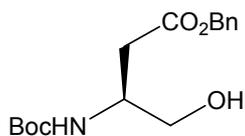
À une suspension de samarium (1 éq) dans du THF anhydre, est ajouté du diiode (0,9 éq) d'un seul coup. Le mélange est chauffé à 65°C pendant 90 minutes. La couleur de la réaction passe du rouge brique fumant au jaune et ensuite au bleu vert intense indiquant la formation du diiodure de samarium.

Préparation du tétrakis(triphénylphosphine) palladium (0) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ⁹⁹

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant et d'un septum, on introduit 500 mg de chlorure de palladium (II) PdCl_2 (2,82 mmol ; 1 éq) et 3,70 g de triphénylphosphine (14,1 mmol ; 5 éq) dans 30 mL de DMSO. On chauffe ensuite à 165 °C jusqu'à l'obtention d'un milieu limpide orange. On retire le bain d'huile et on ajoute goutte à goutte 550 μL d'hydrazine monohydratée (11,40 mmol ; 4 éq) (attention ! violent dégagement d'azote). On arrête l'agitation et on laisse revenir le mélange à température ambiante (le complexe $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ cristallise lentement). Le solide obtenu est alors filtré sur fritté, lavé trois fois avec 10 mL d'éthanol absolu et

⁹⁹ COULSON D. R. *Inorg. Synth.*, **1974**, 13, 121-123.

deux fois avec 10 mL d'éther éthylique. Après séchage sous vide, on obtient 2,99 g d'un solide jaune vif, en forme de paillettes (Rdt = 92 %).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-hydroxy-butanoate de benzyle 1a**C₁₆H₂₃NO₅****M_r = 309 g.mol⁻¹****Rdt = 89 %****F = 65°C****(litt. 62-63,8°C)¹⁰⁰****[α]_D^{24,2°C} = -5****(c = 1 ; MeOH)****(litt. -6 c = 1 ;
MeOH)¹⁰⁰**

À une solution de *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OH commercial (6,2 mmol ; 2 g) dans 100 mL de THF anhydre à -15°C, sont ajoutés 3,5 mL de triéthylamine (24,8 mmol ; 4 équ) suivis de 800 μL de chloroformiate d'isobutyle (6,2 mmol ; 1 équ).

Après 10 minutes d'agitation, le mélange est ajouté sous atmosphère d'azote à une suspension de 400 mg de borohydrure de sodium (10,54 mmol ; 1,7 équ) dans 40 mL de THF anhydre et 10 mL de MeOH à -78°C.

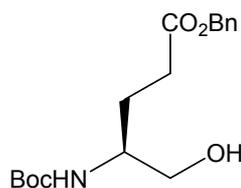
Après 2 heures à -78°C, le mélange est traité avec 140 mL d'une solution d'HCl 1 M, extrait deux fois avec 200 mL d'AcOEt et lavé avec 200 mL d'une solution saturée de Na₂CO₃. La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune clair obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50). Le produit (5,5 mmol ; 1,7 g) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3402 (ν_{OH} et ν_{NH}) ; 3067 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2934 (ν_{CH}) ; 1693 (ν_{C=O}) ; 1515 et 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1250 (ν_{C-C-O asym}) ; 1168 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,43 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,66 (2H, d, *J* = 6,0 Hz, CH₂CO₂Bn) ; 3,71 (2H, t, *J* = 5,6 Hz, CH₂OH) ; 4,02 (1H, m, CH_α) ; 5,13 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,21 (1H, m, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph).

¹⁰⁰ SIBRIAN-VAZQUEZ M., SPIVAK D. A. *Synlett.*, **2002**, 1105-1106.

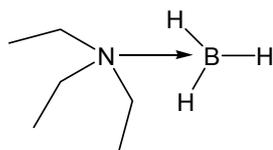
(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-hydroxy-pentanoate de benzyle 1b**C₁₇H₂₅NO₅****M_r = 323 g.mol⁻¹****Rdt = 81 %****F = 78-81°C
(litt. 76-77°C)¹⁰¹****[α]_D^{25,7°C} = -12
(c = 1 ; MeOH)**

Cet alcool est préparé selon le même mode opératoire que pour l'alcool 1a à partir du N^α-Boc-Glu(OBn)-OH commercial (2,967 mmol ; 1 g).

Le résidu huileux jaune clair obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50). Le produit (2,414 mmol ; 780 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3346 (ν_{OH} et ν_{NH}) ; 3011 (ν_{φCH}) ; 2982, 2970 et 2947 (ν_{CH}) ; 1728 et 1685 (ν_{C=O}) ; 1526, 1482 et 1451 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1369 (δ_{CH₃} t-Bu) ; 1251 (ν_{C-C-O} asym) ; 1165 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,43 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,85 (2H, m, CH_{2β}) ; 2,47 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH_{2γ}) ; 3,61-3,67 (3H, m, CH_α et CH_{2OH}) ; 4,82 (1H, M, NH) ; 5,13 (2H, s, CH₂Ph) ; 7,36 (5H, s, Ph).

Complexe borane triéthylamine BH₃.Et₃N 2**C₆H₁₈BN****M_r = 115 g.mol⁻¹****Rdt (par rapport à****NaBH₄) = 19 %****n_D^{24°C} = 1,4430
(litt. n_D^{20°C} =
1,4420)¹⁰²**

Le produit 2 est un sous-produit provenant de la préparation de l'alcool 1b, beaucoup moins polaire que ce dernier. Ce complexe borane-triéthylamine est isolé par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50) puis purifié par la même technique (AcOEt / EP 10 : 90).

Le complexe (0,941 mmol ; 108,3 mg) est obtenu sous la forme d'un liquide incolore et inodore.

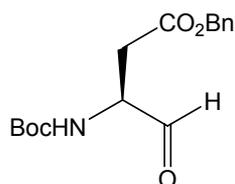
IR (NaCl ; film) : 2979 et 2945 (ν_{C-H}) ; 2348 (ν_{BH} asym) ; 2279 (ν_{BH} sym) ; 1465 (δ_{CH₂} et δ_{CH₃} asym) ; 1390 (δ_{CH₃} sym) ; 1168 (δ_{BH}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,15 (9H, t, J = 7,1 Hz, 3CH₃CH₂) ; 2,73 (6H, q, J = 7,2 Hz, 3CH₃CH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 50 MHz) : 8,62 (3CH₃) ; 52,40 (3CH₂).

¹⁰¹ HO M., CHUNG J. K. K., TANG N. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34(41), 6513-6516.

¹⁰² *Catalogue Aldrich*, 2007-2008, Ref. 178977, Borane-triethylamine complex, p. 425.

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-oxo-butanoate de benzyle 3a**C₁₆H₂₁NO₅****M_r = 307 g.mol⁻¹****Rdt = 76 %****[α]_D^{20,1°C} = -6****(c = 1 ; CH₂Cl₂)****(litt. +7,7 c = 1 ;
CH₂Cl₂)¹⁰³**

365 μL de chlorure d'oxalyle (4,18 mmol ; 2,5 éq) sont dissous dans 3 mL de CH₂Cl₂. La solution ainsi préparée est refroidie à -78°C sous atmosphère d'azote puis 0,6 mL de DMSO (8,35 mmol ; 5 éq) est ajouté goutte à goutte.

Après 10 minutes d'agitation, l'alcool 1a (1,67 mmol ; 0,517 g) en solution dans 10 mL de CH₂Cl₂ est ajouté goutte à goutte. Le mélange est agité pendant une heure à -78°C puis 2,1 mL de triéthylamine (15,03 mmol ; 9 éq) sont ajoutés. L'agitation est maintenue 30 minutes de plus à -78°C puis 15 minutes à température ambiante.

Le milieu réactionnel est dilué avec 50 mL de CH₂Cl₂ et la solution est lavée avec 100 mL d'eau. La phase aqueuse est extraite deux fois avec 75 mL de CH₂Cl₂, les phases organiques sont rassemblées, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

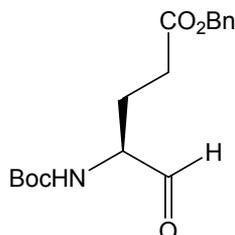
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 70 : 30 + 0,1 % de pyridine).

Le produit (1,27 mmol ; 0,39 g) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3374 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O}) ; 1504 et 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1255 (ν_{C-C-O asym}) ; 1165 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,46 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 3,0 (2H, dd, J = 4,7 Hz et J = 8,4 Hz, CH_{2β}) ; 4,39 (1H, m, CH_α) ; 5,13 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,65 (1H, d, J = 6,9 Hz, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph) ; 9,65 (1H, s, CHO).

¹⁰³ STANFIELD C. F., PARKER J. E., KANELIS P. J. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4797-4798.

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-oxo-pentanoate de benzyle 3b**C₁₇H₂₃NO₅****M_r = 321 g.mol⁻¹****Rdt = 90 %****[α]_D^{26°C} = +14****(c = 7 ; CH₂Cl₂)****(litt. +6,2****c = 1 ; CH₂Cl₂)¹⁰³ ;
+24,9****c = 1 ; CH₂Cl₂)⁶⁹**

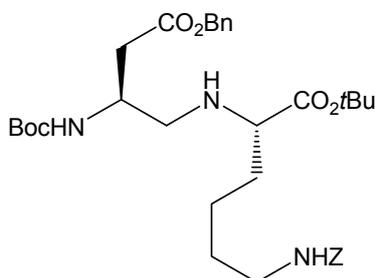
Cet aldéhyde est préparé selon le même mode opératoire que pour l'aldéhyde 3a (page précédente) à partir de l'alcool 1b (0,278 mmol ; 90 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60 + 0,1 % de pyridine).

Le produit (0,249 mmol ; 0,08 g) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3366 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1732 et 1714 (ν_{C=O}) ; 1514 et 1455 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1251 (ν_{C-C-O asym}) ; 1168 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,44 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,94 (2H, m, CH_{2β}) ; 2,48 (2H, m, CH_{2γ}) ; 4,30 (1H, m, CH_α) ; 5,12 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,21 (1H, m, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph) ; 9,58 (1H, s, CHO).

N^α-Boc-L-Asp(OBn)-ψ(CH₂-NH)-L-Lys(Z)-OfBu 4a**C₃₄H₄₉N₃O₈****M_r = 627 g.mol⁻¹****Rdt = 71 %****[α]_D^{25,3°C} = -9****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

L'aldéhyde 3a (1,3 mmol ; 0,4 g) est dissous dans 10 mL d'un mélange de MeOH / CH₃COOH (99 : 1) contenant 0,3 g de H-Lys(Z)-OfBu.HCl (0,78 mmol ; 0,6 éq).

65 mg de cyanoborohydrure de sodium (1,04 mmol ; 0,8 éq) sont ensuite ajoutés par petites portions, d'environ 4 à 5 mg durant 45 minutes sous agitation.

Après 24 heures d'agitation sous atmosphère d'azote, le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée puis 60 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés suivis de 80 mL d'AcOEt.

La phase organique est récupérée, lavée avec 40 mL d'eau, séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60). Le produit (0,55 mmol ; 0,35 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3351 (ν_{NH}) ; 2977 et 2933 (ν_{CH}) ; 1715 (ν_{C=O}) ; 1520 et 1455 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1249 (ν_{C-C-O asym}) ; 1162 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 200 MHz) : 1,44 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 2,62-3,18 (10H, m, 3CH₂ Lys, CH₂CO₂Bn et CH₂N) ; 3,69 (1H, m, CH_αCO₂tBu) ; 4,03 (1H, m, CH_αNHBoc) ;

¹⁰³ STANFIELD C. F., PARKER J. E., KANELIS P. J. *Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4797-4798.

⁶⁹ HAMADA Y., SHIOIRI T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30(5), 1921-1924.

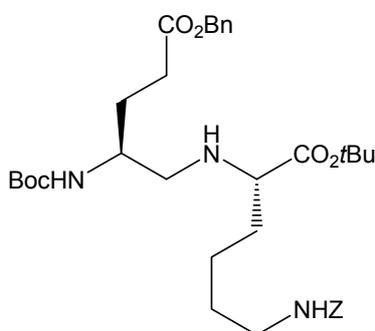
CH_2Ph) ; 7,34 (10H, s, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) : 28,40 (6 CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 22,90, 29,62 et 32,81 (3 CH_2 Lys) ; 33,01 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 40,85 et 50,75 (2 CH_2N) ; 62,05 (2 CH_α) ; 66,43 et 66,55 (2 CH_2Ph) ; 81,18 et 81,23 (2 C-O Boc et *t*-Bu) ; 128,11, 128,26, 128,28, 128,51 et 128,60 (10 CH 2Ph) ; 135,79 (2 C_q 2Ph) ; 155,43, 155,45, 155,74 et 156,50 (2 CO Boc et Z) ; 171,18, 171,37, 171,54 et 171,60 (2 CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 628,2 $[\text{MH}]^+$; 572,2 $[\text{MH}]^+ - t\text{-Bu}$; 516,1 $[\text{MH}]^+ - 2t\text{-Bu}$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 628,36065 $[\text{MH}]^+$ (calc. 628,3598)

N^α -Boc-L-Glu(OBn)- ψ ($\text{CH}_2\text{-NH}$)-L-Lys(Z)-OtBu **4b**



$\text{C}_{35}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_8$

$M_r = 641 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 57 %

$[\alpha]_D^{24,7^\circ\text{C}} = -8$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

L'aldéhyde **3b** (0,778 mmol ; 0,25 g) est dissous dans 6 mL d'un mélange de MeOH / CH_3COOH (99 : 1) contenant 174 mg de H-Lys(Z)-OtBu.HCl (0,466 mmol ; 0,6 éq).

40 mg de cyanoborohydrure de sodium (0,622 mmol ; 0,8 éq) sont ensuite ajoutés par petites portions, d'environ 4 à 5 mg durant 45 minutes sous agitation.

Après une heure d'agitation sous atmosphère d'azote, le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée puis 37 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 sont ajoutés suivis de 50 mL d'AcOEt. La phase organique est récupérée, lavée avec 25 mL d'eau, séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,207 mmol ; 0,13 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3348 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{CH}) ; 2976 et 2934 (ν_{CH}) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1524 et 1435 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 ($\delta_{\text{CH}_3} t\text{-Bu}$) ; 1248 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1163 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

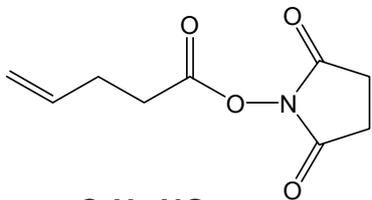
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,44 (18H, s, 2C(CH_3)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,85-3,20 (12H, m, 3 CH_2 Lys, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$ et CH_2N) ; 3,57-3,67 (2H, m, 2 CH_α) ; 4,90 (2H, M, 2NH) ; 5,10 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,12 (2H, s, CH_2Ph) ; 7,34 (10H, s, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) : 28,16 et 28,43 (6 CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 23,0, 29,64 et 31,0 (3 CH_2 Lys) ; 32,75 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 33,07 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 40,88 et 51,54 (2 CH_2N) ; 62,10 (2 CH_α) ; 66,35 et 66,45 (2 CH_2Ph) ; 81,18 et 81,26 (2 C-O Boc et *t*-Bu) ; 128,07, 128,24, 128,52 et 128,57 (10 CH 2Ph) ; 135,98 et 136,73 (2 C_q 2Ph) ; 155,86 et 156,49 (2 CO Boc et Z) ; 173,26, 173,38, 174,48 et 174,55 (2 CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 642,2 $[\text{MH}]^+$; 586,2 $[\text{MH}]^+ - t\text{-Bu}$; 530,1 $[\text{MH}]^+ - 2t\text{-Bu}$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 642,37470 [MH]⁺ (calc. 642,3754).

Pent-4-énoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle **5**



C₉H₁₁NO₄

M_r = 197 g.mol⁻¹

Rdt = 94 %

F = 122-124°C

L'acide pent-4-énoïque commercial (10 mmol ; 1,025 mL), 1,3 g de *N*-hydroxysuccinimide (11 mmol ; 1,1 éq), 0,14 g de DMAP (1,1 mmol ; 0,11 éq) et 2,3 g de DCC (11 mmol ; 1,1 éq) sont solubilisés dans 50 mL de THF à 0°C et sous atmosphère d'azote pendant 10 minutes.

Le milieu réactionnel est remonté à température ambiante et agité pendant 48 heures, puis il est gardé au congélateur pendant la nuit.

La dicyclohexylurée précipitée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé sous pression réduite.

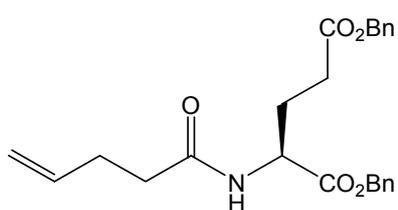
Le résidu huileux plus ou moins incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (0,02 % de MeOH dans CH₂Cl₂).

Le produit (9,4 mmol ; 1,85 g) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3083, 3070 et 3009 (ν_{CH₂=CH}) ; 2979, 2952 et 2925 (ν_{CH}) ; 1818, 1788 et 1726 (ν_{C=O}) ; 1643 (ν_{C=C}) ; 1204 et 1070 (ν_{NO}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 2,40-2,60 (2H, q, CH₂COO) ; 2,70 (2H, t, CH₂-CH=CH₂) ; 2,80-3 (4H, s, CH₂CH₂CON) ; 5,0-5,20 (2H, t, CH=CH cis) ; 5,60-5,85 (1H, m, CH=CH trans).

(2S)-(Pent-4-énoylamino)-pentanedioate de dibenzyle **6**



C₂₄H₂₇NO₅

M_r = 409 g.mol⁻¹

Rdt quantitatif

À une solution du composé **5** (2,538 mmol ; 0,5 g) et de 1,9 g de H-Glu(OBn)-OBn.*p*-TsOH (3,807 mmol ; 1,5 éq) dans 60 mL de DMF, sont ajoutés 1,8 mL de diisopropyléthylamine (10,152 mmol ; 4 éq). Le mélange est agité pendant la nuit à température ambiante et sous atmosphère d'azote.

20 mL d'eau et 20 mL d'HCl 1 M sont ajoutés puis le mélange obtenu est extrait trois fois avec 60 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées deux fois avec 80 mL d'une solution saturée de Na₂CO₃, deux fois avec 80 mL d'une solution d'HCl 1 M, une fois avec 80 mL d'eau et une fois avec 80 mL d'une solution saturée de NaCl.

La phase organique finale obtenue est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

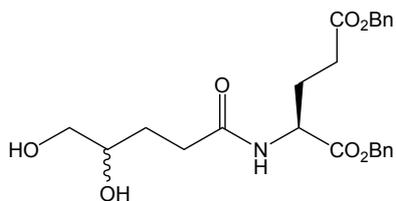
Le produit (2,54 mmol ; 1,04 g) est obtenu sous la forme d'une huile orangée qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3298 (ν_{NH}) ; 3066 (ν_{CH}) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1662 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide et $\nu_{\text{C=C}}$) ; 1537 et 1498 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1168 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) : 2,09 (1H, m, CH_β) ; 2,21-2,47 (7H, m, CH_β , CH_2CONH , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$ et $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 4,72 (1H, m, CH_α) ; 5,03 (2H, m, $\text{CH}_2=\text{CH}$) ; 5,16 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,20 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,80 (1H, m, $\text{CH}_2=\text{CH}$) ; 6,23 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, NH) ; 7,31 (10H, s, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 27,64 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 29,78 (CH_2CONH) ; 30,67 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 35,92 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2$) ; 53,0 (CH_α) ; 66,96 (CH_2Ph) ; 67,76 (CH_2Ph) ; 116,11 ($\text{CH}_2=\text{CH}$) ; 128,67, 128,69, 128,75, 128,93, 129,0 et 129,06 (10 CH 2Ph) ; 135,54 (C_q Ph) ; 136,08 (C_q Ph) ; 137,23 ($\text{CH}_2=\text{CH}$) ; 172,22, 172,70 et 173,09 (CO amide et 2 CO ester).

(2S)-(4,(5RS)-Dihydroxy-pentanoylamino)-pentanedioate de dibenzyle 7



$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{NO}_7$

$M_r = 443 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 86 %

Le produit **6** (2,5 mmol ; 1,05 g) est dissous dans 20 mL de THF et 10 mL d'eau. Ensuite 5,4 g d'oxyde de *N*-méthylmorpholine (38,5 mmol ; 15,4 éq) et 1,56 mL d'une solution de tétraoxyde d'osmium à 2,5 % dans le *t*-BuOH (0,125 mmol ; 0,05 éq) sont ajoutés. La solution devient verdâtre. Après 24 heures de réaction, 0,75 g de Florisil (7,5 mmol ; 3 éq), 10 mL d'eau et 0,1 g d'hydrogénosulfite de sodium (0,925 mmol ; 0,37 éq) sont ajoutés. Après 10 minutes d'agitation, le mélange réactionnel est filtré puis neutralisé avec une solution d'HCl 1 M. La solution est concentrée sous pression réduite puis extraite avec de l'AcOEt après acidification à pH = 1 avec une solution d'HCl 1 M et saturation avec une solution saturée de NaCl.

La phase organique est séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux brun obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt pur puis AcOEt + 5 % de MeOH).

Le produit (2,14 mmol ; 950 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3367 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 3066 (ν_{CH}) ; 2932 (ν_{CH}) ; 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1650 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1537 et 1498 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1169 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

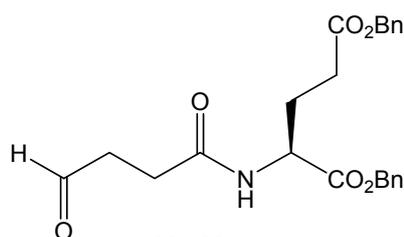
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,67 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 2,01 (2H, m, CH_2CHOH) ; 2,31 (4H, m, 2 CH_2CO) ; 3,41 (2H, m, CH_2OH) ; 3,57-3,64 (2H, m, OH et NH) ; 4,57 (1H, m, CH_α) ; 5,02 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,07 (2H, s, CH_2Ph) ; 6,56 (1H, t, $J = 6,7$ Hz, OH) ; 7,33 (10H, s, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 27,38 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 27,42

($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CONH}$) ; 30,71 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 32,79 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CHOH}$) ; 52,24 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_\alpha$) ; 60,83 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{OH}$) ; 67,03 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 67,80 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 71,84 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{OH}$) ; 128,67, 128,76, 128,92, 129,0 et 129,04 ($10\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$ 2Ph) ; 135,53 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{q}}$ Ph) ; 136,03 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{q}}$ Ph) ; 172,22 et 172,32 ($2\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ amide 2 dia) ; 173,13 et 173,16 ($2\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ ester 2 dia) ; 174,18 et 174,21 ($2\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ ester 2 dia).

SM (ESI ; mode positif) : 908,9 [$2\text{M}+\text{Na}$]⁺ ; 886,8 [$2\text{M}+\text{H}$]⁺ ; 466,3 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ ; 444,1 [MH]⁺.

(2S)-(4-Oxo-butanoylamino)-pentanedioate de dibenzyle **8**



C₂₃H₂₅NO₆

M_r = 411 g.mol⁻¹

Rdt quantitatif

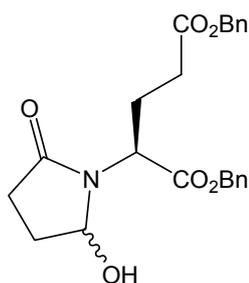
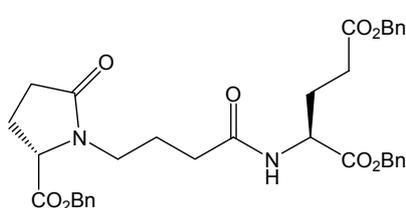
Dans un ballon de 100 mL, une solution du diol **7** (0,835 mmol ; 370 mg) dans 18 mL de THF est refroidie à -5°C. Une solution de 720 mg de periodate de sodium (3,34 mmol ; 4 éq) dans 6 mL d'eau est ajoutée goutte à goutte. Après 24 heures d'agitation à -5°C, 60 mL d'eau sont directement ajoutés et le mélange est extrait deux fois avec de l'Et₂O. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

Le produit (0,82 mmol ; 340 mg) est obtenu sous la forme d'une huile brune qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3322 (ν_{NH}) ; 3065 et 3034 ($\nu_{\varphi\text{CH}}$) ; 2953 (ν_{CH}) ; 2733 (ν_{CHO}) ; 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1660 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1538, 1498 et 1455 ($\nu_{\varphi\text{C=C}}$) ; 1263 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1170 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 2,0-2,82 (8H, m, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CONH}$, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CHO}$ et $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 4,66 (1H, m, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_\alpha$) ; 5,12 (2H, s, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 5,17 (2H, s, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 6,37 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, $\underline{\text{N}}\underline{\text{H}}$) ; 7,39 (10H, s, 2Ph) ; 9,78 (1H, s, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{O}$).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 27,54 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_{2\beta}$) ; 28,58 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CHO}$) ; 30,11 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CONH}$) ; 39,23 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 52,25 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_\alpha$) ; 67,13 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 68,26 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 128,62, 128,69, 128,72, 128,94, 129 et 129,06 ($10\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$ 2Ph) ; 135,58 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{q}}$ Ph) ; 136,10 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{q}}$ Ph) ; 171,78, 172,05 et 173,12 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ amide et $2\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ ester) ; 201,08 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}$ aldéhyde).

(2S)-((2RS)-Hydroxy-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)-pentanedioate de dibenzyle 8'**C₂₃H₂₅NO₆****M_r = 411 g.mol⁻¹**L'hémiaminal 8' est en équilibre avec l'aldéhyde 8.**IR (NaCl ; film)** : 3412 (ν_{OH}) ; 3066 (ν_{φCH}) ; 2954 (ν_{CH}) ; 1738 (ν_{C=O} ester) ; 1674 (ν_{C=O} amide) ; 1538, 1498 et 1455 (ν_{φC=C}) ; 1263 (ν_{C-C-O} asym) ; 1170 (ν_{O-C-C} asym).**RMN ¹H (2 diastéréoisomères) (CDCl₃ ; 300 MHz)** : 1,80-2,80 (16H, m, 2CH₂CH₂CO₂Bn et 2CH₂CH₂CON) ; 3,41 (1H, d, J = 7,8 Hz OH éch.) ; 4,32 (1H, d, J = 4,5 Hz, OH éch.) ; 4,64 (1H, t, J = 7,1 Hz, CH_α) ; 4,77 (1H, dd, J = 4,5 Hz et J = 9,8 Hz, CH_α) ; 5,12 (4H, m, 2CH₂Ph) ; 5,18 (4H, m, 2CH₂Ph) ; 5,31 (2H, m, 2CHOH) ; 7,36 (20H, m, 4Ph).**RMN ¹³C (2 diastéréoisomères) (CDCl₃ ; 75 MHz)** : 24,62, 25,70, 28,81, 29,08, 29,37, 29,55, 30,09 et 31,30 (2CH₂CH₂CO₂Bn et 2CH₂CH₂CON) ; 54,35 (CH_α) ; 54,73 (CH_α) ; 67,01, 67,14, 67,88 et 68,30 (4CH₂Ph) ; 81,98 et 84,38 (2CHOH) ; 128,63, 128,74, 128,82, 128,92, 129,02, 129,07 et 129,10 (20CHPh) ; 135,18, 135,54, 135,91 et 136,06 (4C_qPh) ; 171,0, 172,81, 173,17, 173,72, 175,83 et 176,30 (6CO).**SM (ESI ; mode négatif)** : 856,9 [2M+Cl]⁻ ; 446 [M+Cl]⁻.**(2S)-[4-((2S)-Benzyloxycarbonyl-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)-butanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 9****C₃₅H₃₈N₂O₈****M_r = 614 g.mol⁻¹****Rdt = 38 %****[α]_D^{28°C} = -11****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**L'aldéhyde 8 (0,652 mmol ; 268 mg) est dissous dans 5 mL de MeOH / CH₃COOH (99 : 1) contenant 0,2 g de H-Glu(OBn)-OBn.p-TsOH (0,3912 mmol ; 0,6 éq).

35 mg de cyanoborohydrure de sodium (0,521 mmol ; 0,8 éq) sont ajoutés par petites portions pendant 45 minutes et sous agitation.

Après agitation pendant la nuit à température ambiante, le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée, puis 30 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés suivis de 40 mL d'AcOEt.La phase organique est séparée, lavée avec 20 mL d'eau puis séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux gris obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 70 : 30).

Le produit (0,148 mmol ; 91 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

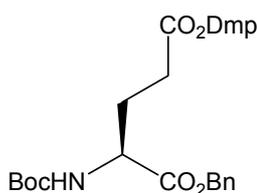
IR (NaCl ; film) : 3301 (ν_{NH}) ; 3065 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2928 (ν_{CH}) ; 1739 (ν_{C=O} ester) ; 1679 (ν_{C=O} amide) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1261 (ν_{C-C-O} asym).**RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz)** : 1,75 (2H, m, CH₂CH₂CONH) ;

1,92-2,52 (10H, m, CH_2N , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$, $\text{CH}_2\text{CHCO}_2\text{Bn}$, CH_2CONH , CH_2CON) ; 3,24 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 4,10 (1H, dd, $J = 2,3$ Hz et $J = 8,2$ Hz, CH_α) ; 4,63 (1H, m, CH_α) ; 5,12 (6H, 3s, $3\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 7,20 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, NH) ; 7,34 (15H, m, 3Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 50 MHz) : 23,30, 23,55 et 27,13 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$, $\text{CH}_2\text{CHCO}_2\text{Bn}$) ; 29,73 et 30,40 (CH_2CONH et CH_2CON) ; 33,30 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 41,54 (CH_2N) ; 51,86 (CH_α) ; 60,32 (CH_α) ; 66,50, 67,22 et 67,40 ($3\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 128,28, 128,35, 128,44, 128,49, 128,61 et 128,79 (15CH 3Ph) ; 135,07, 135,39 et 135,85 (3C_q 3Ph) ; 171,77 et 171,92 (2CO amide) ; 172,54 (2CO ester) ; 176,29 (CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1228,8 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$; 615,2 [MH] $^+$.

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-pentanedioate de 1-benzyle et de 5-2,4-diméthylpent-3-yle **10**



$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_6$

$M_r = 435 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 70 %

Le N^α -Boc-Glu-OBn commercial (3 mmol ; 1 g) est dissous dans un volume minimal de CH_2Cl_2 contenant 1,26 mL de 2,4-diméthylpentan-3-ol (9 mmol ; 3 éq) puis 310 mg de DCC (1,5 mmol ; 0,5 éq) sont ajoutés. Après 15 minutes, 18 mg de DMAP (0,15 mmol ; 0,05 éq) sont ajoutés et la réaction est agitée pendant 3 heures.

310 mg de DCC (1,5 mmol ; 0,5 éq) sont de nouveau ajoutés et la réaction est agitée pendant 16 heures à température ambiante.

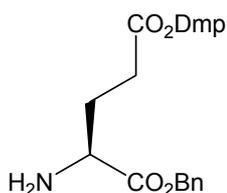
La dicyclohexylurée précipitée est éliminée par filtration, le solvant est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt puis lavé trois fois avec chacune des solutions suivantes : 0,1 M d'HCl, 0,1 M de NaHCO_3 et une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 10 : 90).

Le produit (2,105 mmol ; 916 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3370 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{CH}) ; 2969 et 2877 (ν_{CH}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1390 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1168 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,83 (12H, t, $J = 7,3$ Hz, $2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ Dmp) ; 1,41 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,83-2,0 (2H, m, 2CH *i*-Pr), 2,15 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 2,44 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,38 (1H, m, CH_α) ; 4,64 (1H, t, $J = 6,4$ Hz, CH-O Dmp), 5,10 (1H, M, NH) ; 5,15 (1H, d, $J = 12,8$ Hz, CH_2Ph) ; 5,21 (1H, d, $J = 12,8$ Hz, CH_2Ph) ; 7,35 (5H, s, Ph).

(2S)-Amino-pentanedioate de 1-benzyle et de 5-2,4-diméthylpent-3-yle 11**C₁₉H₂₉NO₄****M_r = 335 g.mol⁻¹****Rdt = 95 %**

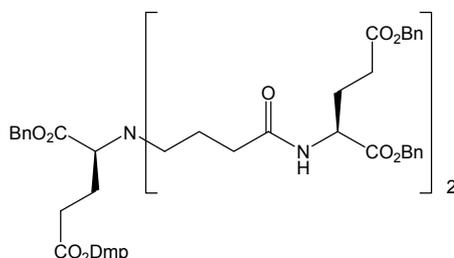
Le *N*^α-Boc-Glu(ODmp)-OBn **10** (1 mmol ; 429 mg) est dissous dans le minimum d'AcOEt puis 160 μL d'acide sulfurique concentré (3 mmol ; 3 éq) sont ajoutés.

La réaction est agitée pendant une heure à température ambiante, puis le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution saturée de NaHCO₃ et la solution obtenue est extraite avec de l'AcOEt.

Le produit (0,95 mmol ; 318 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3388 et 3323 (ν_{NH2}) ; 3067 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2966 et 2935 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1256 (ν_{C-O asym}) ; 1179 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,77 (12H, t, *J* = 6,5 Hz, 2CH(CH₃)₂ Dmp) ; 1,73-1,86 (3H, m, 2CH *i*-Pr et CH_β) ; 2,02 (1H, m, CH_β) ; 2,42 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, CH_{2γ}) ; 3,43 (1H, dd, *J* = 5,2 Hz et *J* = 8,2 Hz, CH_α) ; 4,52 (1H, t, *J* = 6,4 Hz, CH-O Dmp) ; 5,10 (2H, système AB, *J* = 12,4 Hz, CH₂Ph) ; 7,31 (5H, s, Ph).

(2S)-(4-[[[(1S)-Benzyloxycarbonyl-3-(1-isopropyl-2-méthyl-propyloxycarbonyl)-propyl]-[3-((1S),3-bis-benzyloxycarbonyl-propylcarbamoyl)-propyl]-amino]-butanoylamino)-pentanedioate de dibenzyle 9b**C₆₅H₇₉N₃O₁₄****M_r = 1125 g.mol⁻¹****Rdt = 30 %**

[α]_D^{27,3°C} = -10
(c = 1 ; CH₂Cl₂)

L'aldéhyde **8** (0,6 mmol ; 250 mg) est dissous dans 5 mL de MeOH / CH₃COOH (99 : 1) contenant 121 mg de **11** (0,36 mmol ; 0,6 éq).

32 mg de cyanoborohydrure de sodium (0,48 mmol ; 0,8 éq) sont ajoutés par petites portions pendant 45 minutes et sous agitation.

Après agitation pendant une heure à température ambiante, le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée, puis 30 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés suivis de 40 mL d'AcOEt.

La phase organique est séparée, lavée avec 20 mL d'eau puis séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux brun obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (0,109 mmol ; 123 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3307 (ν_{NH}) ; 3065 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2964 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O ester}) ; 1652 (ν_{C=O amide}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1167 (ν_{O-C-C asym}).

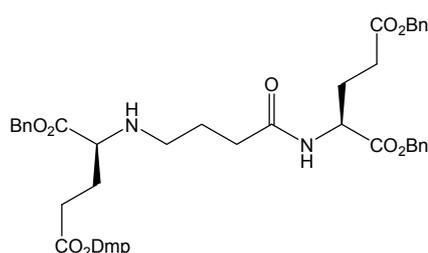
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,73-0,77 (12H, m,

2CH(CH₃)₂ Dmp) ; 1,77-2,0 (12H, m, 2CH *i*-Pr, CH₂CH₂CO₂Dmp, 2CH₂CH₂CO₂Bn, (CH₂CH₂)₂N) ; 2,0-2,40 (10H, m, 5CH₂CO) ; 2,41-2,47 (4H, m, (CH₂)₂N) ; 3,39 (1H, m, CH_αN(CH₂)₂) ; 4,50 (1H, t, *J* = 6,1 Hz, CH-O Dmp) ; 4,52-4,59 (2H, m, 2CH_αNHCO) ; 4,99 (4H, s, 2CH₂Ph) ; 5,04-5,06 (6H, m, 3CH₂Ph) ; 6,60 (2H, d, *J* = 8,0 Hz, 2NHCO) ; 7,24 (25H, m, 5Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 17,62 17,72 et 19,95 (2CH(CH₃)₂) ; 24,74, 25,45 et 27,47 ((CH₂CH₂)₂N, CH₂CH₂CO₂Dmp, 2CH₂CH₂CO₂Bn et 2CH *i*-Pr) ; 30,76, 31,38 et 34,05 (5CH₂CO) ; 50,50 ((CH₂)₂N) ; 52,07 (2CH_αNHCO) ; 62,28 (CH_αN(CH₂)₂) ; 66,86 (5CH₂Ph) ; 83,19 (CH-O Dmp) ; 128,63, 128,64, 128,68, 128,74, 128,81, 128,97 et 128,99 (25CH 5Ph) ; 135,70, 136,01, 136,15 et 136,26 (5C_q 5Ph) ; 171,72, 172,28, 172,82, 172,96, 173,09, 173,71 et 173,81 (8CO).

SM (ESI ; mode positif) : 1148,4 [M+Na]⁺ ; 1126,5 [MH]⁺.

(2S)-{4-[(1S)-Benzyloxycarbonyl-3-(1-isopropyl-2-méthyl-propyloxy-carbonyl)-propylamino]-butanoylamino-}-pentandioate de dibenzyle **9a**



C₄₂H₅₄N₂O₉

M_r = 730 g.mol⁻¹

Rdt = 38 %

[α]_D^{22,2°C} = +3

(c = 1 ; CH₂Cl₂)

L'aldéhyde **8** (0,318 mmol ; 130 mg) est dissous dans 5 mL de MeOH / CH₃COOH (99 : 1) contenant 320 mg de **11** (0,955 mmol ; 3 éq).

17 mg de cyanoborohydrure de sodium (0,254 mmol ; 0,8 éq) sont ajoutés par petites portions pendant 45 minutes et sous agitation. Après agitation pendant une heure à température ambiante, le ballon est plongé dans un bain d'eau glacée, puis 15 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés suivis de 20 mL d'AcOEt. La phase organique est séparée, lavée avec 10 mL d'eau puis séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux brun obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60). Le produit (0,121 mmol ; 89 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3065 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2964 et 2934 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O} ester) ; 1679 (ν_{C=O} amide) ; 1532 et 1498 (ν_{φC=C}) ; 1168 (ν_{O-C-C} asym).

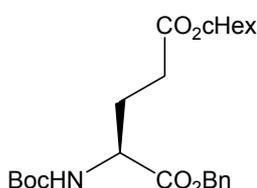
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,74-0,79 (12H, m, 2CH(CH₃)₂ Dmp) ; 1,77-2,0 (8H, m, 2CH *i*-Pr, CH₂CH₂CO₂Dmp, CH₂CH₂CO₂Bn et CH₂CH₂NH) ; 2,09-2,60 (8H, m, 3CH₂CO et CH₂NH) ; 3,18 (1H, dd, *J* = 5,6 Hz et *J* = 8,2 Hz, CH_αNHCH₂) ; 4,50 (1H, t, *J* = 6,2 Hz, CH-O Dmp) ; 4,59 (1H, m, CH_αNHCO) ; 5,01 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,07-5,11 (4H, m, 2CH₂Ph) ; 6,49 (1H, d, *J* = 8,3 Hz, NHCO) ; 7,26 (15H, m, 3Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 17,67 et 17,69 ($2\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$) ; 26,14, 27,58, 29,03, 29,54 et 29,72 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{NH}$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Dmp}$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$ et $2\text{CH } i\text{-Pr}$) ; 30,10, 30,74 et 34,12 ($3\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CO}$) ; 47,31 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NH}$) ; 52,06 ($\underline{\text{C}}\text{H}_\alpha\text{NHCO}$) ; 61 ($\underline{\text{C}}\text{H}_\alpha\text{NHCH}_2$) ; 66,92, 67,03 et 67,66 ($3\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{Ph}$) ; 83,16 ($\underline{\text{C}}\text{H}-\text{O Dmp}$) ; 128,66, 128,69, 128,71, 128,80, 128,87, 128,98 et 129,02 ($15\text{C}\underline{\text{H}}$ 3Ph) ; 135,62, 136,05 et 136,11 (3C_q 3Ph) ; 172,22, 173,01, 173,50, 173,66 et 175,29 (5CO).

SM (ESI ; mode positif) : 753,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 731,3 $[\text{MH}]^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 731,39037 $[\text{MH}]^+$ (calc. 731,3908).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-pentanedioate de 1-benzyle et de 5-cyclohexyle 12



$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_6$

$M_r = 419 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 70 %

F = 75,9°C (éther de pétrole)

Le N^α -Boc-Glu(OcHex)-OH commercial (1,518 mmol ; 500 mg) est dissous dans 9 mL de MeOH et 0,9 mL d'eau. Une solution aqueuse à 20 % de carbonate de césium est ajoutée goutte à goutte jusqu'à avoir un pH = 8.

Après évaporation des solvants sous pression réduite, 5 mL de DMF sont ajoutés puis évaporés. Cette opération est répétée une deuxième fois et le précipité blanc pateux ainsi obtenu est dissous dans 5 mL de DMF.

Ensuite 212 μL de bromure de benzyle (1,15 éq ; 1,745 mmol) sont ajoutés et la réaction est agitée pendant 4 heures à température ambiante.

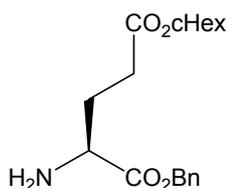
Le solvant est évaporé sous pression réduite puis 20 mL d'eau sont ajoutés et la solution aqueuse ainsi obtenue est extraite deux fois avec de l'AcOEt. Les deux phases organiques sont rassemblées, séchées sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées.

Le résidu huileux incolore obtenu est recristallisé dans l'éther de pétrole à 45°C.

Le produit (1,074 mmol ; 450 mg) est obtenu sous la forme des cristaux blancs en forme d'aiguille.

IR (KBr ; pastille) : 3379 (ν_{NH}) ; 3035 ($\nu_{\varphi\text{CH}}$) ; 2958 et 2930 (ν_{CH}) ; 1758, 1717 et 1687 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1450 ($\nu_{\varphi\text{C=C}}$) ; 1392 et 1366 ($\delta_{\text{CH}_3} t\text{-Bu}$) ; 1150 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,34-1,39 (4H, m, 2CH_2 cHex) ; 1,41 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,60-1,88 (6H, m, 3CH_2 cHex) ; 2,10 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 2,44 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,42 (1H, m, CH_α) ; 4,81 (1H, m, $\text{CH}-\text{O}$ cHex) ; 5,16 (1H, M, NH) ; 5,21 (2H, d, $J = 4,0$ Hz, CH_2Ph) ; 7,40 (5H, s, Ph).

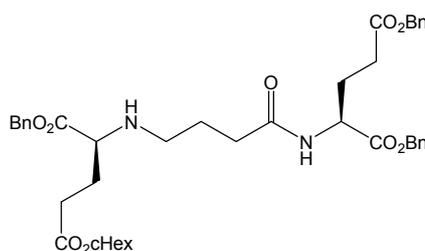
(2S)-Amino-pentanedioate de 1-benzyle et de 5-cyclohexyle 13**C₁₈H₂₅NO₄****M_r = 319 g.mol⁻¹****Rdt = 96 %**

La déprotection est effectuée selon le même mode opératoire que pour le produit 11 (page 79) à partir du Boc-Glu(OcHex)-OBn 12 (0,954 mmol ; 400 mg).

Le produit (0,912 mmol ; 291 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune qui ne nécessite pas de purification.

IR (KBr ; pastille) : 3385 et 3322 (ν_{NH2}) ; 3034 (ν_{φCH}) ; 2937 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O}) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1177 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,21-1,62 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 1,71 (2H, m, CH₂ cHex) ; 1,80-2,0 (3H, m, CH_β et CH₂ cHex) ; 2,11 (1H, m, CH_β) ; 2,47 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH_{2γ}) ; 3,53 (1H, dd, J = 5,2 Hz et J = 8,2 Hz, CH_α) ; 4,76 (1H, m, CH-O cHex) ; 5,19 (2H, s, CH₂Ph) ; 7,36 (5H, s, Ph).

(2S)-[4-((1S)-Benzyloxycarbonyl-3-cyclohexyloxycarbonyl-propylamino)-butanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 9c**C₄₁H₅₀N₂O₉****M_r = 714 g.mol⁻¹****Rdt = 43 %****[α]_D^{25°C} = -11****(c = 0,22 ; CH₂Cl₂)**

L'amination réductrice est réalisée selon le même mode opératoire que pour le produit 9a (page 80) à partir de l'aldéhyde 8 (0,294 mmol ; 121 mg) et du H-Glu(OcHex)-OBn 13 (0,881 mmol ; 281 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 80 : 20).

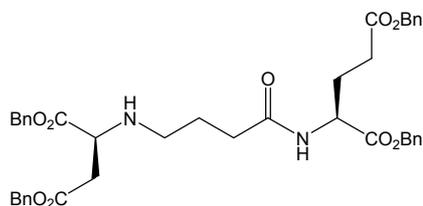
Le produit (0,127 mmol ; 91 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{φCH}) ; 2938 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O} ester) ; 1679 (ν_{C=O} amide) ; 1454 (ν_{φC=C}) ; 1169 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,90-2,32 (16H, m, 5CH₂ cHex, CH₂CH₂CO₂cHex, CH₂CH₂CO₂Bn et CH₂CH₂NH) ; 2,34-2,72 (8H, m, 3CH₂CO et CH₂NH) ; 3,30 (1H, m, CH_αNHCH₂) ; 4,64-4,79 (2H, m, CH_αNHCO et CH-O cHex) ; 5,11 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,16-5,19 (4H, m, 2CH₂Ph) ; 6,65 (1H, d, J = 7,5 Hz, NH) ; 7,35 (15H, m, 3Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 24,11, 25,74, 25,92, 27,55, 28,65 et 30,77 (5CH₂ cHex, CH₂CH₂CO₂cHex, CH₂CH₂CO₂Bn et CH₂CH₂NH) ; 31,87 (CH₂CONH) ; 31,99 (CH₂CO₂cHex) ; 33,96 (CH₂CO₂Bn) ; 47,11 (CH₂NH) ; 52,06 (CH_αNHCO) ; 61,05 (CH_αNHCH₂) ; 66,90, 67,14 et 67,63 (3CH₂Ph) ; 73,17 (CH-O cHex) ; 128,65, 128,69, 128,83, 128,86, 128,97 et 129,02 (15CH 3Ph) ; 135,64, 135,97 et 136,13 (3C_q 3Ph) ; 172,25, 172,98, 173,15, 173,47 et 174,78 (5CO).

SM (ESI ; mode positif) : 715,3 [MH]⁺ ; 737,4 [M+Na]⁺ ;

1428,6 [2M+H]⁺.**SM HR (ESI ; mode positif)** : 715,35999 [MH]⁺ (calc. 715,3595).**(2S)-[4-((1S),2-Bis-benzyloxycarbonyl-éthylamino)-butanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 9d****C₄₁H₄₄N₂O₉****M_r = 708 g.mol⁻¹****Rdt = 32 %****[α]_D^{25°C} = -7****(c = 0,35 ; CH₂Cl₂)**

L'amination réductrice est réalisée selon le même mode opératoire que pour le produit **9a** (page 80) à partir de l'aldéhyde **8** (0,336 mmol ; 138 mg) et du H-Asp(OBn)-OBn.*p*-TsOH commercial (1 mmol ; 490 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 80 : 20). Le produit (0,11 mmol ; 78 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3380 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{φCH}) ; 2953 (ν_{CH}) ; 1733 (ν_{C=O} ester) ; 1674 (ν_{C=O} amide) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1168 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,70-2,34 (4H, m, CH₂CH₂CO₂Bn et CH₂CH₂NH) ; 2,35-2,86 (8H, m, 2CH₂CO₂Bn, CH₂CONH et CH₂NH) ; 3,69 (1H, dd, J = 5,6 Hz et J = 7,9 Hz, CH_αNHCH₂) ; 4,67 (1H, m, CH_αNHCO) ; 5,09 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,14 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,15 (2H, système AB, J = 9,7 Hz, CH₂Ph) ; 6,62 (1H, d, J = 7,7 Hz, NH) ; 7,35 (20H, m, 4Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 26,13 (CH₂CH₂N) ; 27,50 (CH₂CH₂CO₂Bn) ; 30,84 (CH₂CONH) ; 33,84 (CH₂CH₂CO₂Bn) ; 38,30 (CH_αCH₂CO₂Bn) ; 46,82 (CH₂NH) ; 52,07 (CH_αNHCO) ; 57,95 (CH_αNHCH₂) ; 67,09 (4CH₂Ph) ; 128,66, 128,70, 128,73, 128,76, 128,85, 128,97 et 129,02 (20CH 4Ph) ; 135,66, 135,84, 135,97 et 136,14 (4C_q 4Ph) ; 171,34, 172,28, 172,98, 173,62 et 173,69 (5CO).

SM (ESI ; mode positif) : 709,2 [MH]⁺ ; 1417,9 [2M+H]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 731,29490 [M+Na]⁺ (calc. 731,2945).

CHAPITRE III
PSEUDOPEPTIDES DE TYPE CÉTOMÉTHYLÈNE
 $\psi(\text{CO-CH}_2)$

I - BIBLIOGRAPHIE

A - Propriétés et intérêt en thérapeutique

Les pseudopeptides de type cétométhylénique sont obtenus par le remplacement de la liaison amide **CONH** par un fragment cétométhylène $\psi(\text{CO-CH}_2)$.

Les premiers cétométhylènes naturels isolés sont l'Arg- $\psi(\text{CO-CH}_2)$ -Phe et l'Arg- $\psi(\text{CO-CH}_2)$ -Tyr (arphaménines A et B)¹⁰⁴.

Afin de stabiliser les peptides biologiquement actifs vis-à-vis des peptidases et d'augmenter leur biodisponibilité, les chercheurs ont entrepris la synthèse des pseudopeptides cétométhyléniques. Ainsi, les pseudopeptides cétométhyléniques ont été utilisés dans l'inhibition de certaines enzymes comme l'aminopeptidase^{105,106} et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)¹⁰⁷, qui intervient dans la régulation de la tension artérielle.

Récemment, un tripeptide cétométhylénique, le rupintrivir¹⁰⁸, a été développé dans le traitement du rhume banal. Ce composé appartient à la classe d'inhibiteurs de protéase des virus comme celle du rhinovirus^{109,110}.

Afin d'évaluer l'influence de la liaison cétométhylénique sur l'activité biologique des réversines, nous avons choisi de synthétiser des dérivés cétométhyléniques de la réversine 121.

B - Voies d'accès

Différentes méthodes ont été mises en œuvre dans la littérature pour accéder à la liaison cétométhylénique. Nous allons présenter ces méthodes en deux parties :

- 1- Méthodes permettant d'accéder uniquement à des dérivés cétométhyléniques de type Aaa- $\psi(\text{CO-CH}_2)$ -Gly.

¹⁰⁴ a) UMEZAWA H., AOYAGI T., OHUCHI S., OKUYAMA A., SUDA H., TAKITA T., HAMADA M., TAKEUCHI T. *J. Antibiotics*, **1983**, 36(11), 1572-1575. b) MIURA K., SAWA T., TAKEUCHI T., UMEZAWA H. *J. Antibiotics*, **1986**, 39(5), 734-735.

¹⁰⁵ HARBESON S. L., RICH D. H. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32(6), 1378-1392.

¹⁰⁶ MANSOUR T. S., *Synthetic Commun.*, **1989**, 19(384), 659-665.

¹⁰⁷ a) REDELINGHUY S. P., NCHINDA A. T., CHIBALE K., STURROCK E. D. *Biol. Chem.*, **2006**, 387(4), 461-466. b) ALMQUIST R. G., CHAO W.-R., JUDD A. K., MITOMA C., ROSSI D. J., PANESOVICH R. E., MATTHEWS R. J. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31(3), 561-567.

¹⁰⁸ TAO J., HU S., TIAN Q., NAYYAR N., BABU S. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16(3), 699-703.

¹⁰⁹ DRAGOVICH P. S., PRINS T. J., ZHOU R., FUHRMAN S. A., PATICK A. K., MATTHEWS D. A., FORD C. E., MEADOR J. W., III, FERRE R. A., WORLAND S. T. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42(7), 1203-1212.

¹¹⁰ WEBBER S. E., OKANO K., LITTLE T. L., REICH S. H., XIN Y., FUHRMAN S. A., MATTHEWS D. A., LOVE R. A., HENDRICKSON T. F., PATICK A. K., MEADOR, III J. W., FERRE R. A., BROWN E. L., FORD C. E., BINFORD S. L., WORLAND S. T. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41(15), 2786-2805.

2- Méthodes permettant d'accéder à des dérivés cétométhyléniques de type $Aaa_1-\psi(CO-CH_2)-Aaa_2$.

1 - Méthodes de synthèse des dérivés cétométhyléniques de type $Aaa-\psi(CO-CH_2)-Gly$

a - Synthèse *via* une β -cétosulfone

Lygo et Rudd¹¹¹ ont développé une synthèse *via* une β -cétosulfone. Le N^α -Boc-aminoester réagit avec le dianion de la méthylphénylsulfone à -78°C pour donner une β -cétosulfone qui, par réaction avec un dérivé bromé en présence de carbonate de potassium puis désulfonation par le diiodure de samarium, aboutira au dérivé cétométhylénique.

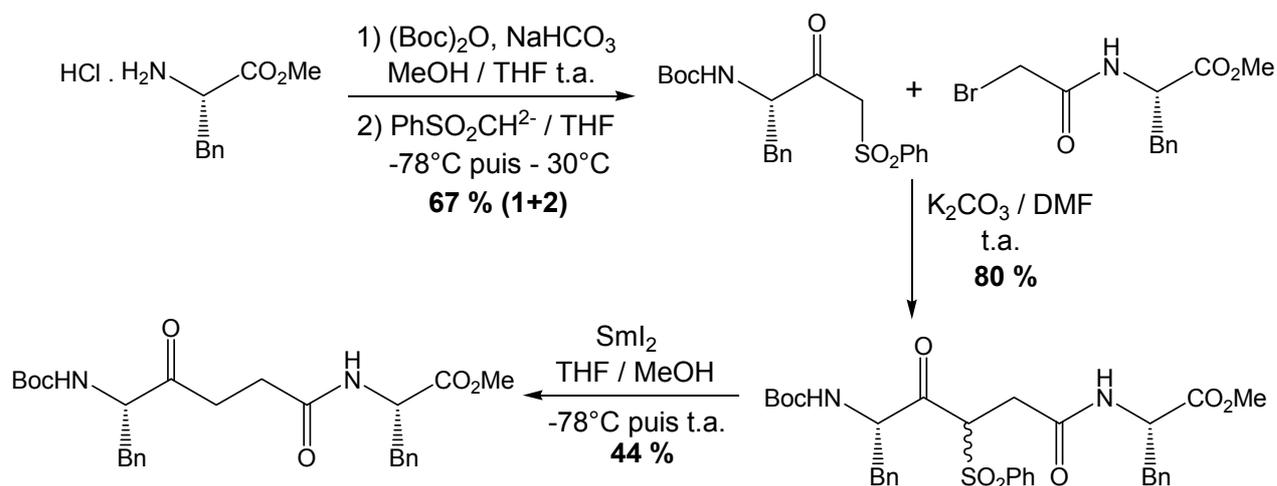


Schéma 30 : synthèse *via* une β -cétosulfone

b - Synthèse par réaction de Grignard

Almquist et coll.¹¹² ont décrit la synthèse du dérivé cétométhylénique N^α -Bz-Phe- $\psi(CO-CH_2)-Gly$ par réaction d'un organomagnésien sur un thioester dérivé de la phénylalanine dont l'amine est protégée sous forme de phtaloyle. Le groupement protecteur benzoyle (Bz) n'est pas stable vis-à-vis du réactif de Grignard ce qui a conduit les auteurs à utiliser la protection phtaloyle.

¹¹¹ LYGO B., RUDD C. N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(20), 3577-3580.

¹¹² ALMQUIST R. G., CHAO W.-R., ELLIS M. E., JOHNSON H. L. *J. Med. Chem.*, **1980**, 23(12), 1392-1398.

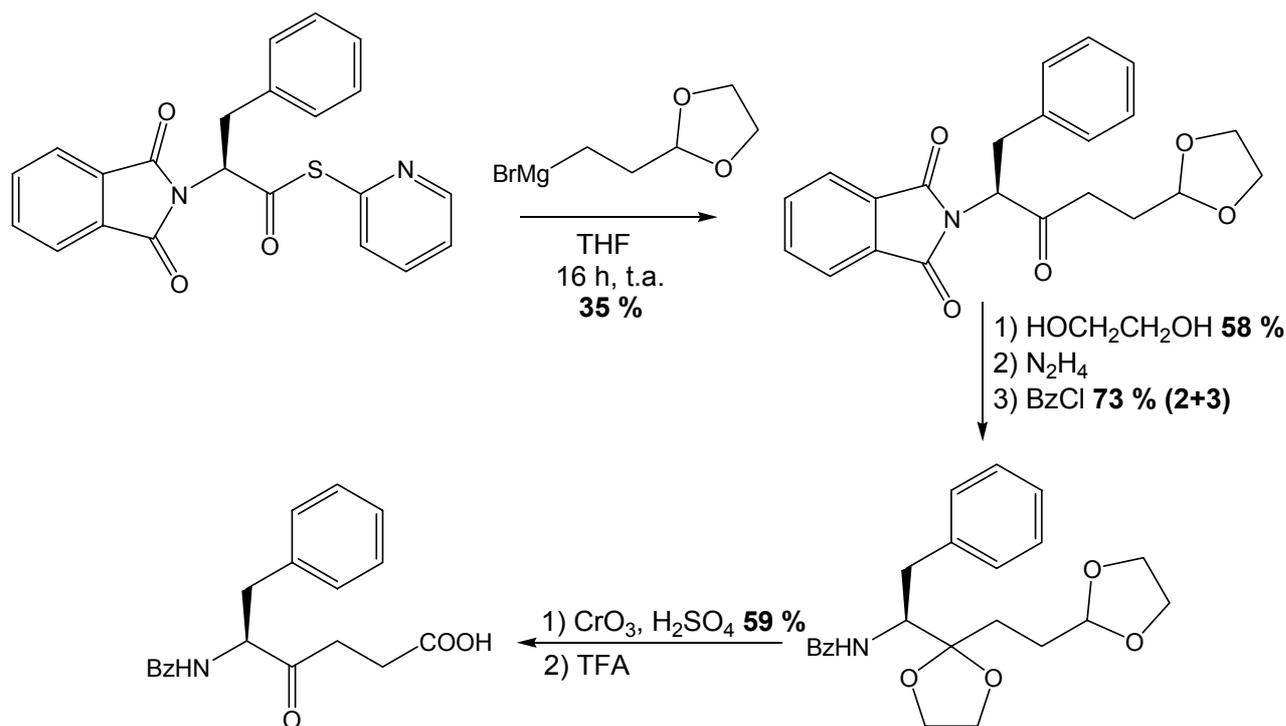


Schéma 31 : synthèse par réaction de Grignard sur un thioester

Après protection de la cétone obtenue en acétal, le groupement phthaloyl est clivé par action de l'hydrazine et l'amine libérée est benzoylée. Une oxydation de l'acétal C-terminal par le réactif de Jones suivie d'une régénération de la cétone en présence de l'acide trifluoroacétique fournit le pseudopeptide cétométhylénique N^{α} -Bz-Phe- ψ (CO-CH₂)-Gly-OH.

Il est également possible de remplacer la fonction thioester par un amide de Weinreb. Dimaio et coll.¹¹³ se sont intéressés aux hydroxamates, décrits pour la première fois par Nahm et Weinreb⁶³ puis développés par Fehrentz et Castro⁶⁴.

La réaction de l'amide de Weinreb dérivé de l'arginine diprotégée, en présence de 10 équivalents de bromure de but-3-énylmagnésium, suivie d'une oxydation de Sharpless¹¹⁴ a permis à Dimaio et coll. d'aboutir au pseudopeptide cétométhylénique N^{α} -Boc-Arg(Tos)- ψ (CO-CH₂)-Gly-OH.

¹¹³ DIMAIO J., GIBBS B., LEFEBVRE J., KONISHI Y., MUNN D., YUE S. Y. *J. Med. Chem.*, **1992**, 35(18), 3331-3341.

⁶³ NAHM S., WEINREB S. *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22(39), 3815-3818.

⁶⁴ FEHRENTZ J.-A., CASTRO B. *Synthesis*, **1983**, 676-678.

¹¹⁴ CARSLÉN P. H. J., KATSUKI T., MARTIN V. S., SHARPLESS K. B. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(19), 3936-3938.

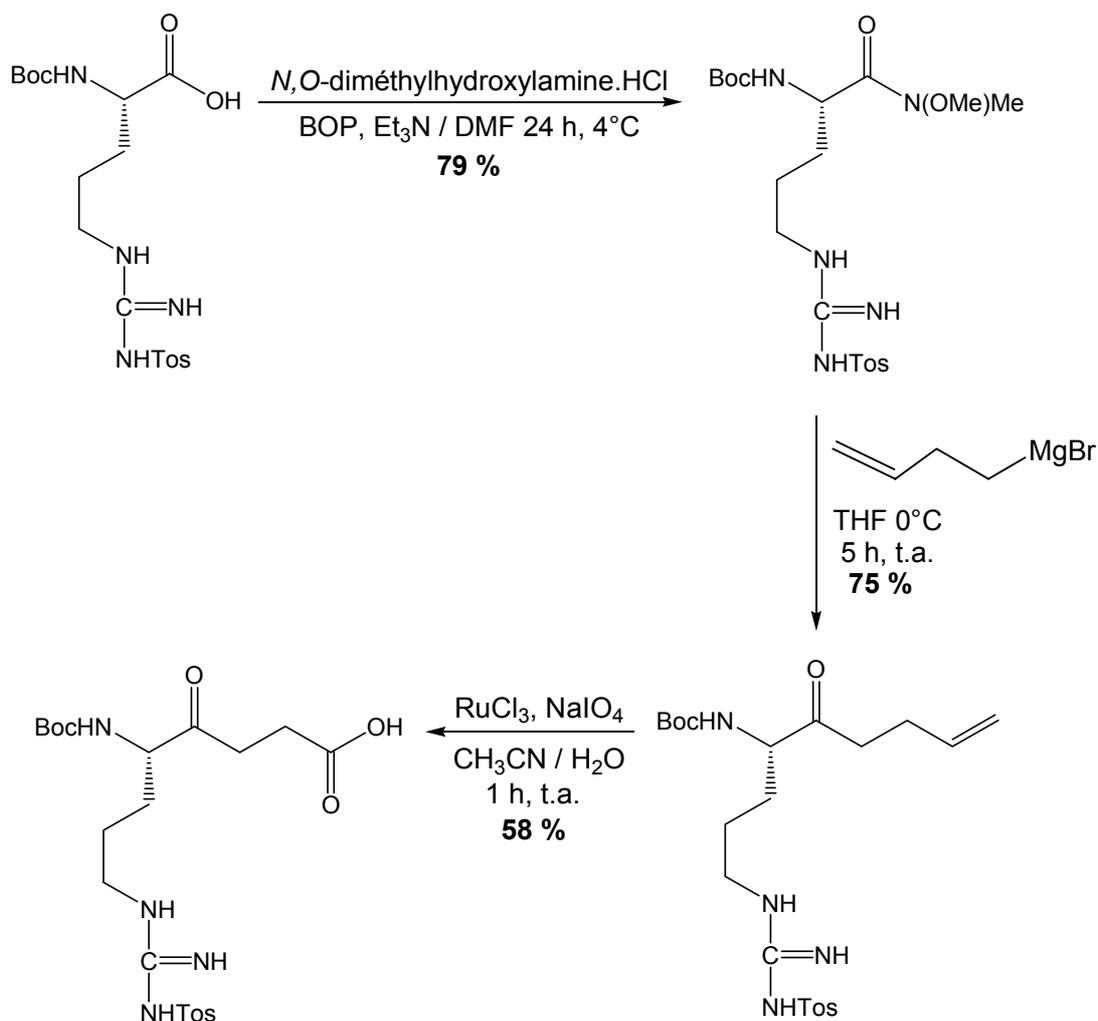
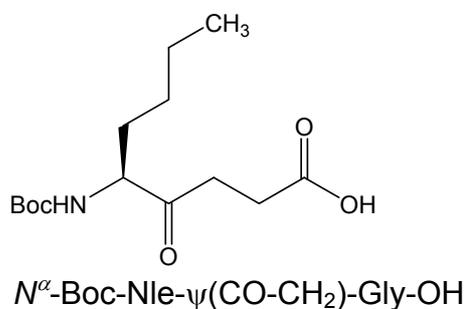


Schéma 32 : synthèse par réaction de Grignard sur un amide de Weinreb

Kaiser et coll.¹¹⁵ ont décrit plus récemment l'addition du bromure de but-3-énylmagnésium sur l'amide de Weinreb dérivé de la norleucine dont l'amine est protégée sous forme d'un Boc avec un rendement de 94 %. L'oxydation de Sharpless fournit le pseudopeptide cétométhylénique ci-dessous avec un rendement de 83 %.



¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, **2003**, 5(19), 3435-3437.

Hansford et coll.¹¹⁶ ont synthétisé des cétones homoallyliques en faisant réagir un excès de bromure de vinylmagnésium sur des esters méthyliques en présence d'un sel de cuivre ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ou CuCN) et les ont obtenues avec des rendements compris entre 26 et 77 %.

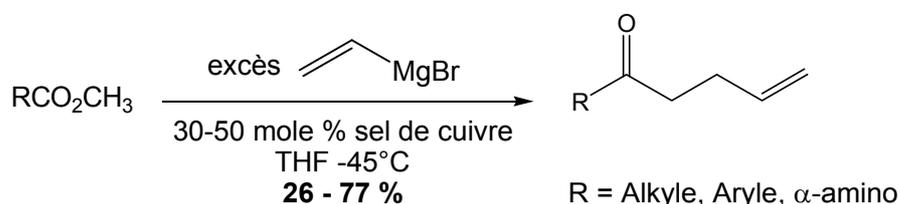


Schéma 33 : synthèse par réaction de Grignard sur un ester méthylique

c - Synthèse par réaction de Dakin-West modifiée

McMurray et Dyckes¹¹⁷, adoptant une modification de la réaction de Dakin-West¹¹⁸, ont préparé des pseudopeptides cétométhyléniques avec de très bons rendements en chauffant entre 40 et 50°C des acides aminés ou oligopeptides et l'anhydride de monométhylsuccinate en présence de triéthylamine et de DMAP. L'utilisation du DMAP comme catalyseur a été développée par Steglisch et Höfle¹¹⁹. En effet, elle permet d'effectuer la réaction sur des peptides à des températures de 40-50°C.

Casimir et coll.¹²⁰ ont synthétisé un tripeptide cétométhylénique en stratégie Fmoc par la réaction de Dakin-West modifiée.

Le dipeptide N^α -Fmoc-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-OH est d'abord préparé avec un rendement de 75 % par couplage peptidique du N^α -Fmoc-Asp(OtBu)-OSu avec la H-Tyr(tBu)-OH dans un mélange de DMF et de DMSO.

La réaction de Dakin-West réalisée entre le dipeptide obtenu et l'anhydride convenablement protégé conduit au dérivé cétométhylénique sous forme de deux diastéréoisomères, non séparables par chromatographie sur colonne de gel de silice. Enfin, le clivage de l'ester allylique par le Pd(0) en présence de 2-éthylhexanoate de potassium aboutit au tripeptide cétométhylénique N^α -Fmoc-Asp(OtBu)-(R,S)Tyr(tBu)- ψ (CO-CH₂)-Gly-OH.

¹¹⁶ HANSFORD K. A., DETTWILER J. E., LUBELL W. D. *Org. Lett.*, **2003**, 5(25), 4887-4890.

¹¹⁷ Mc MURRAY J. S., DYCKES D. F. *J. Org. Chem.*, **1985**, 50(7), 1112-1115.

¹¹⁸ DAKIN H. D., WEST R. *J. Biol. Chem.*, **1928**, 78(3), 745-756.

¹¹⁹ STEGLISCH W., HÖFLE G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1968**, 7(1), 61.

¹²⁰ CASIMIR J. R., TURETTA C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(27), 4797-4800.

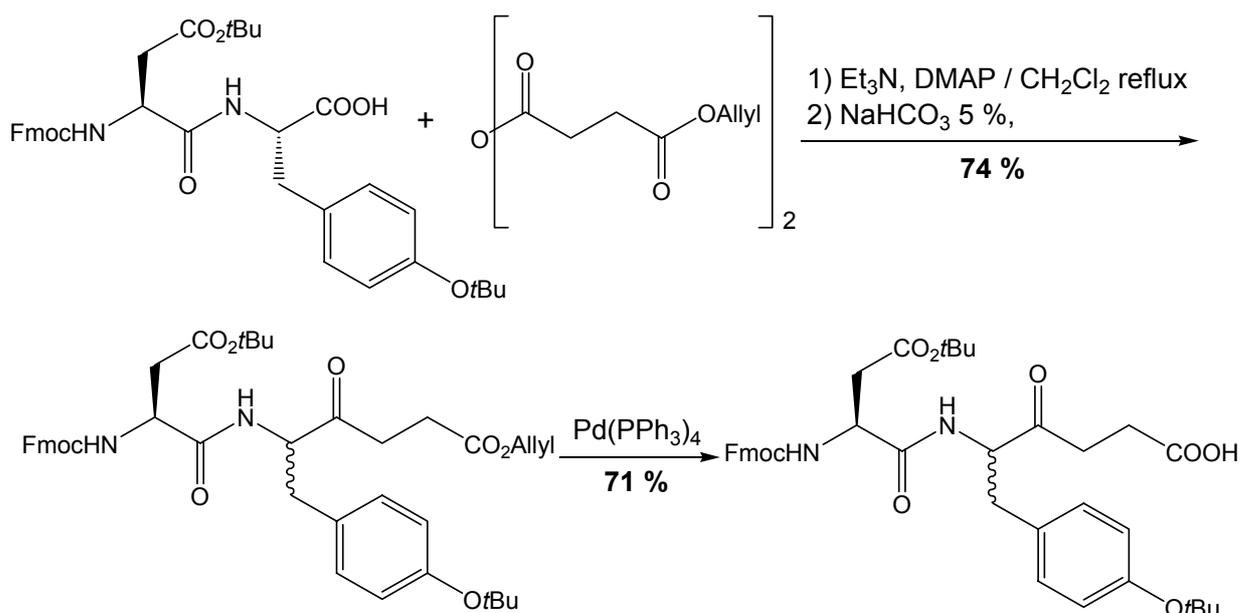


Schéma 34 : synthèse par réaction de Dakin-West

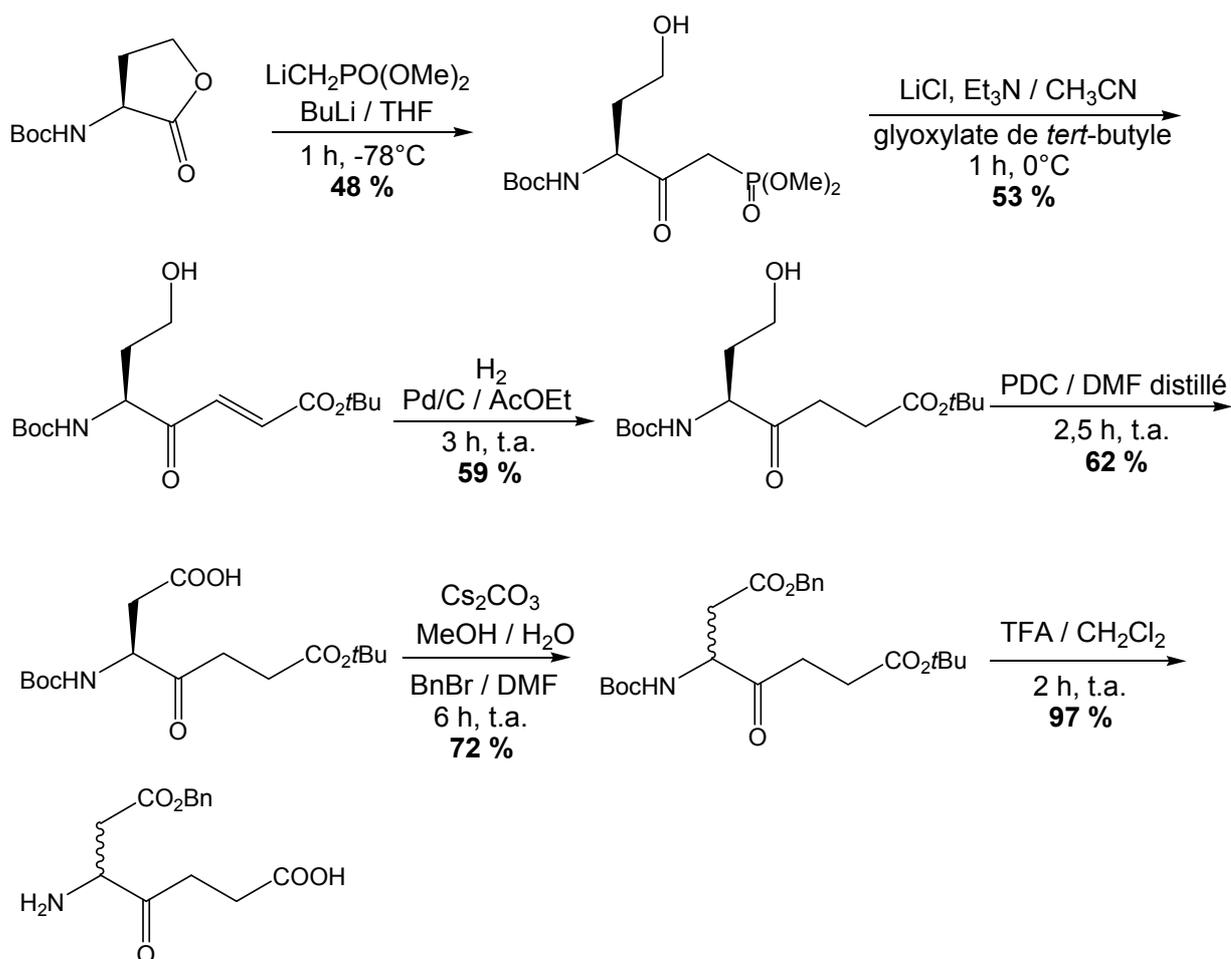
d - Synthèse *via* un cétophosphonate

Våbenø et coll.⁹⁸ ont décrit la synthèse d'un pseudopeptide cétométhylénique *via* un cétophosphonate à partir de la *N*^α-Boc-butylolactone (Schéma 35 page suivante).

Le cétophosphonate est ensuite converti en cétoester insaturé par la réaction de Horner-Wadsworth-Emmons puis l'hydrogénation catalytique du cétoester libère le dérivé cétométhylénique correspondant. La fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine suivie de l'hydrolyse de l'ester et la déprotection de l'amine aboutit au pseudopeptide cétométhylénique H-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Gly-OH.

Il faut signaler qu'une racémisation est observée après estérification de l'acide de la chaîne latérale de l'acide aspartique.

⁹⁸ VÅBENØ J., NIELSEN C. U., INGEBRIGTSEN T., LEJON T., STEFFANSEN B., LUTTMAN K. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4755-4765.

Schéma 35 : synthèse *via* un cétophosphonate

e - Synthèse par réaction d'un carbénoïde sur un β -cétoester

L'équipe de Zercher¹²¹ a réalisé la synthèse de pseudopeptides cétométhyléniques par réaction d'un carbénoïde sur un β -cétoester dérivé d'un acide aminé, en une seule étape et sans épimérisation.

Cette méthode de synthèse a été mise en oeuvre sur des acides aminés dont la fonction amine est protégée sous forme de carbamate (Boc, Z, Fmoc) ou d'amide (Bz).

Deux β -cétoesters peuvent être utilisés, le β -cétoester méthylique ou le β -cétoester benzylique.

¹²¹ a) THEBERGE C. R., ZERCHER C. K. *Tetrahedron*, **2003**, 59(9), 1521-1527. b) LIN W., TRYDER N., SU F., ZERCHER C. K., JASINSKI J. P., BUTCHER R. J. *J. Org. Chem.*, **2006**, 71(21), 8140-8145.

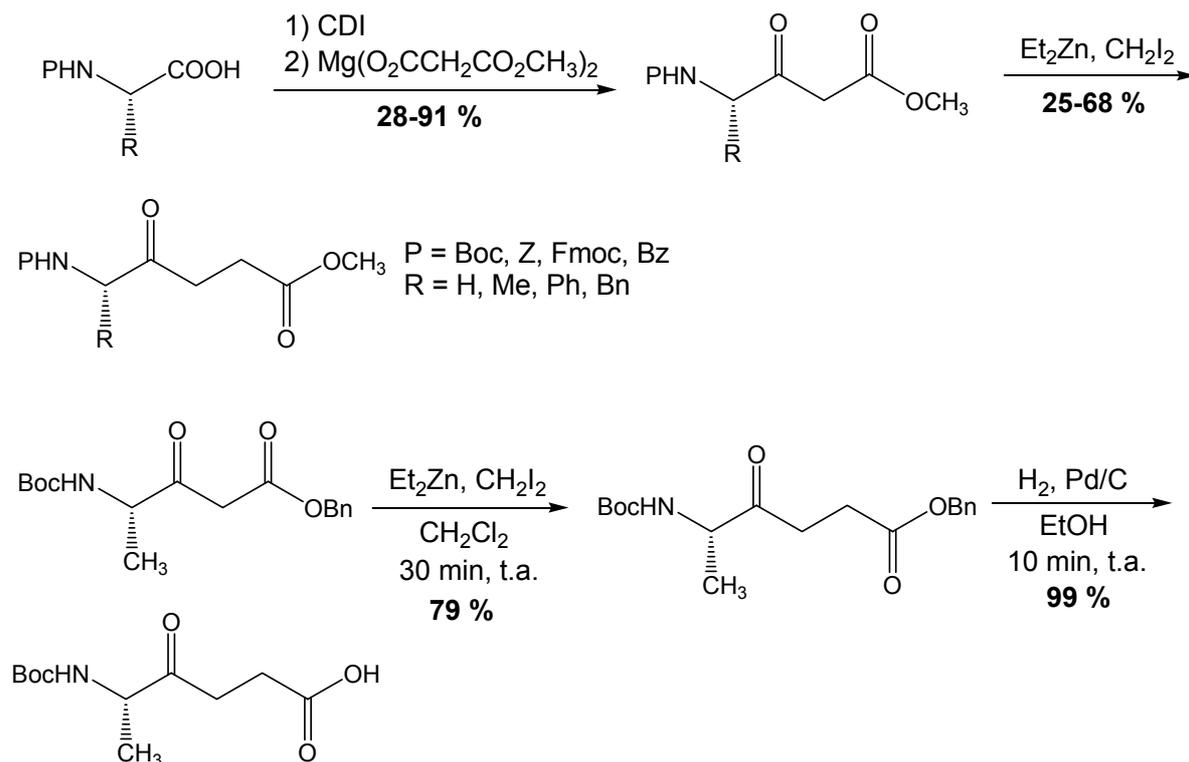


Schéma 36 : synthèse par réaction d'un carbénoïde sur un β-cétoester

2 - Méthodes de synthèse des dérivés cétométhyléniques de type Aaa₁-ψ(CO-CH₂)-Aaa₂

a - Synthèse *via* des malonates

Les pseudopeptides cétométhyléniques peuvent être préparés par alkylation du carbanion d'un diester malonique avec un bromoacétate convenable. Ce procédé est appelé « *méthode de Szelke*¹²² ».

Harbeson et Rich¹⁰⁵ ont appliqué cette méthodologie à la préparation de pseudopeptides cétométhyléniques.

¹²² SZELKE M., JONES D. M., HALLETT A. *Eur. Pat. Appl.* EP 45665, **1982**.

¹⁰⁵ HARBESON S. L., RICH D. H. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32(6), 1378-1392.

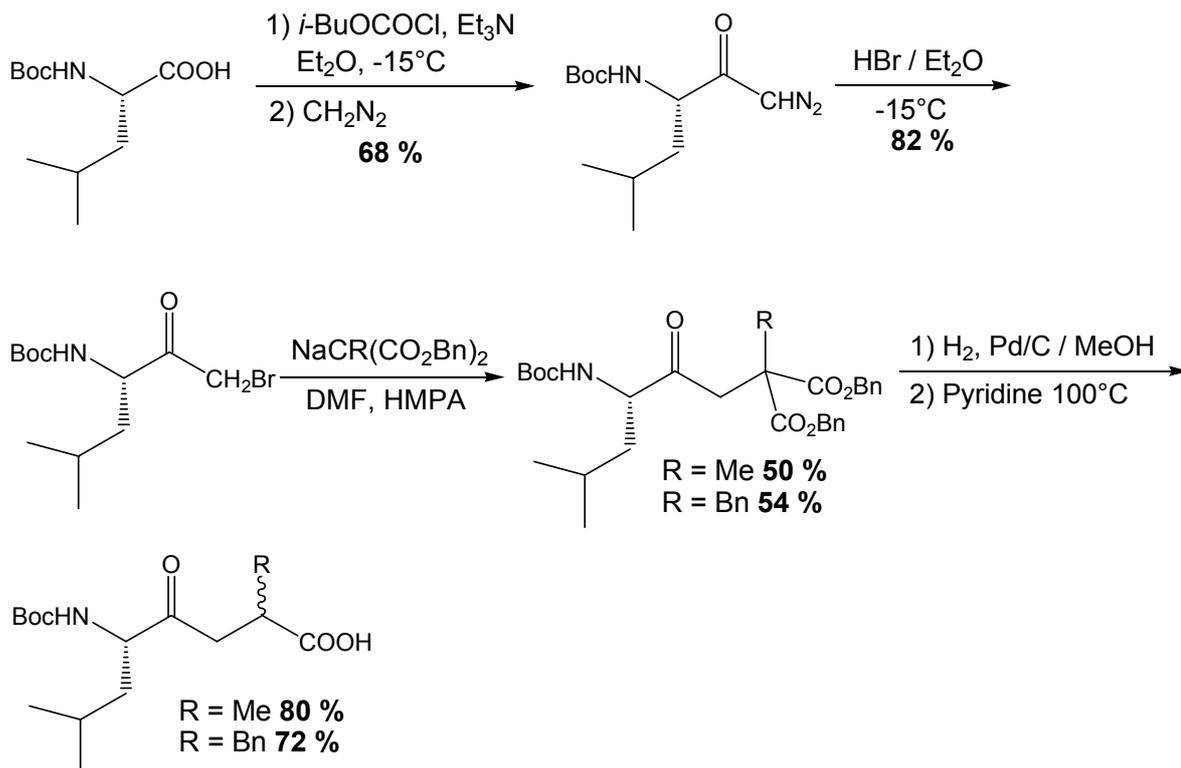
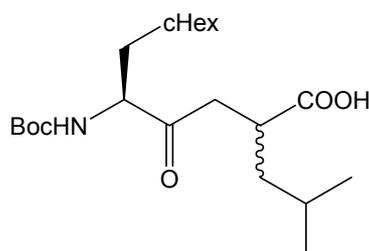


Schéma 37 : synthèse *via* un malonate

L'anhydride mixte formé par la réaction entre la N^α -Boc-Val-OH et le chloroformiate d'isobutyle réagit avec le diazométhane pour donner la diazométhylcétone. Ce dernier composé est transformé en bromocétone qui réagit avec le dibenzylmalonate de sodium pour donner le diester. Après purification par CLHP, l'hydrogénolyse suivie d'une réaction de décarboxylation dans la pyridine à 100°C conduit au pseudopeptide céto-méthylénique sous forme de deux diastéréoisomères séparables en chromatographie liquide sous moyenne pression (CLMP).

Cette même méthodologie a été utilisée par Kaltenbronn et coll.¹²⁴ en stratégie Boc pour la synthèse du dipeptide cétométhylénique ci-dessous, précurseur d'inhibiteurs de la rénine.



b - Synthèse *via* un β -cétoester

En 1992, Hoffman et Kim¹²⁵ ont synthétisé le pseudopeptide cétométhylénique N^{α} -Z-Phe- ψ (CO-CH₂)-Gly-OEt par réaction d'un énolate d'un β -cétoester *tert*-butylique avec le 2-bromoacétate d'éthyle selon un mécanisme de substitution nucléophile suivie d'une étape de déprotection et de décarboxylation.

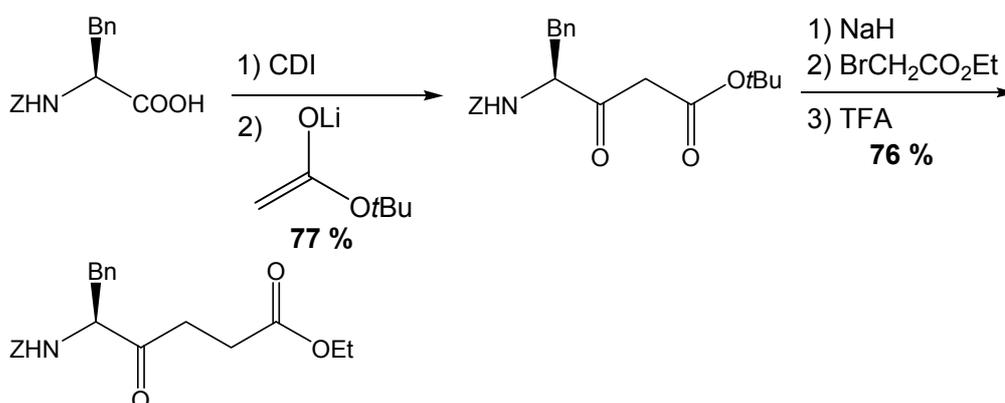


Schéma 39 : S_N2 entre un dérivé bromé et un β -cétoester *tert*-butylique

En 1997, Hoffman et Tao¹²⁶ ont décrit la condensation de deux acides aminés modifiés. La réaction de formation du cétométhylène est de même une réaction de substitution nucléophile entre l'énolate d'un β -cétoester *tert*-butylique et un triflate dérivé d'un acide aminé estérifié.

¹²⁴ KALTENBRONN J. S., HUDSPETH J. P., LUNNEY E. A., MICHNIEWICZ B. M., NICOLAIDES E. D., REPINE J. T., ROARK W. H., STIER M. A., TINNEY F. J., WOO P. K. W., ESSENBURG A. D. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33(2), 838-845.

¹²⁵ HOFFMAN R. V., KIM H.-O. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33(25), 3579-3582.

¹²⁶ HOFFMAN R. V., TAO J. *Tetrahedron*, **1997**, 53(21), 7119-7126.

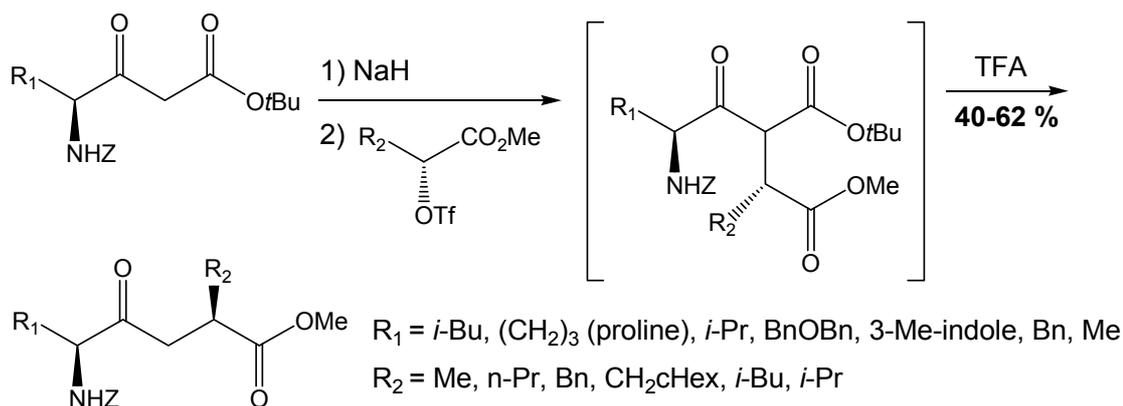


Schéma 40 : SN2 entre un triflate et un β -cétoester *tert*-butylique

Le β -cétoester *tert*-butylique est synthétisé par réaction d'un acyle imidazole, dérivé d'un acide aminé, avec un énolate lithié, créé à partir de l'acétate de *tert*-butyle.

Le triflate dérivé d'un acide aminé estérifié est synthétisé à partir d'un acide aminé transformé en α -hydroxy-acide. L'acide est ensuite estérifié et l'alcool est transformé en triflate.

Cette étude a été réalisée avec des β -cétoesters *tert*-butyliques et des triflates dérivés des acides aminés à chaîne latérale non fonctionnalisés.

Plus récemment, Hoffman et coll. ont synthétisé des pseudopeptides cétométhyléniques à partir des acides aminés dont la fonction amine est protégée sous forme d'un trityle¹²⁷ ou d'un Boc¹²⁸ (Schéma 41 page suivante). Ces groupements protecteurs peuvent être clivés dans les conditions de décarboxylation décrites précédemment (TFA). Dans ce cas, les auteurs ont remplacé le β -cétoester *tert*-butylique par un β -cétoester allylique pour réaliser la condensation avec un triflate. L'ester allylique est finalement clivé par le Pd(0) qui catalyse également l'étape de décarboxylation.

¹²⁷ HOFFMAN R. V., TAO J. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64(1), 126-132.

¹²⁸ HOFFMAN R. V., MASLOUH N., CERVANTES-LEE F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(4), 1045-1056.

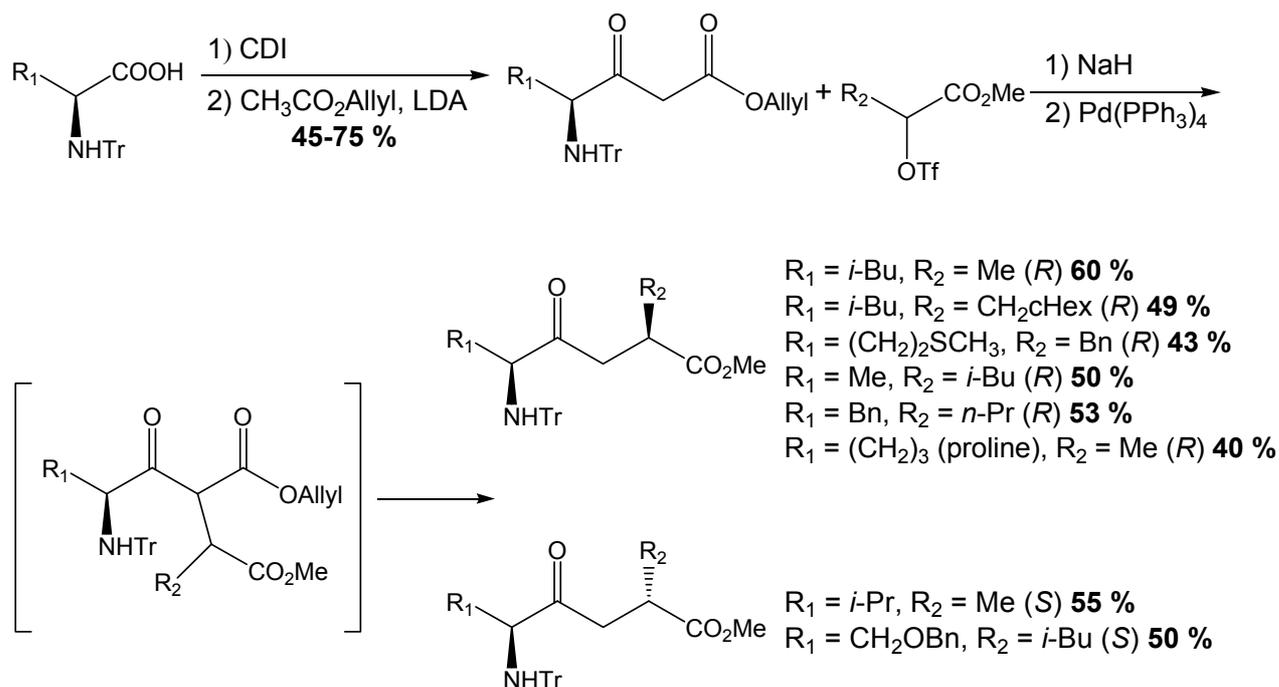


Schéma 41 : SN2 entre un triflate et un β-cétoester allylique

En 2005, Shie et coll.¹²⁹ ont décrit une synthèse d'un pseudopeptide cétométhylénique impliquant la condensation d'un β-cétoester *tert*-butylique et d'un triflate, synthétisé à partir de la L-sérine transformée en époxyester.

En présence de bromure cuivreux (CuBr), le bromure de 4-fluorophénylmagnésium réagit avec l'époxyester d'une manière régiosélective pour donner l'alcool correspondant qui est ensuite transformé en triflate.

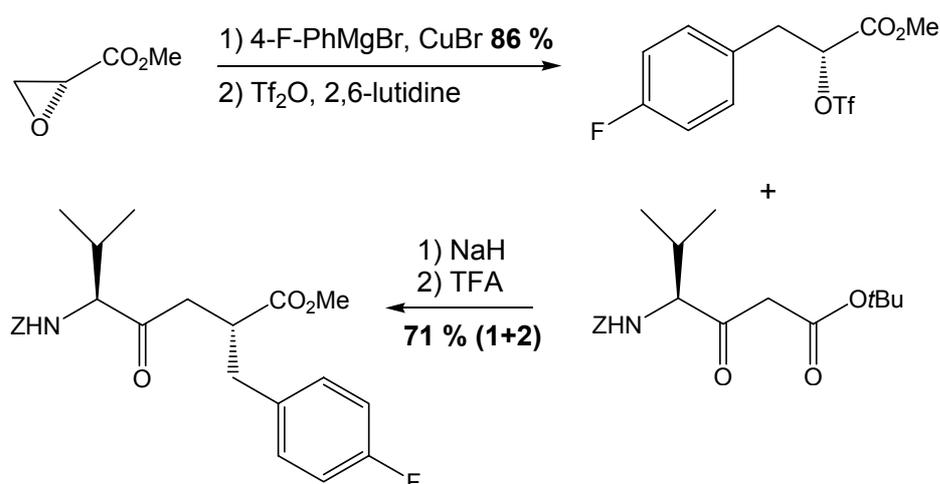


Schéma 42 : SN2 entre un triflate et un β-cétoester *tert*-butylique

¹²⁹ SHIE J.-J., FANG J.-M., KUO T.-H., KUO C.-J., LIANG P.-H., HUANG H.-J., WU Y.-T., JAN J.-T., CHENG Y.-S. E., WONG C.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13(17), 5240-5252.

c - Synthèse *via* des lactones

Dargovich et coll.¹⁰⁹ ont synthétisé un pseudopeptide cétométhylénique par hydrolyse basique puis oxydation d'une amino- γ -lactone.

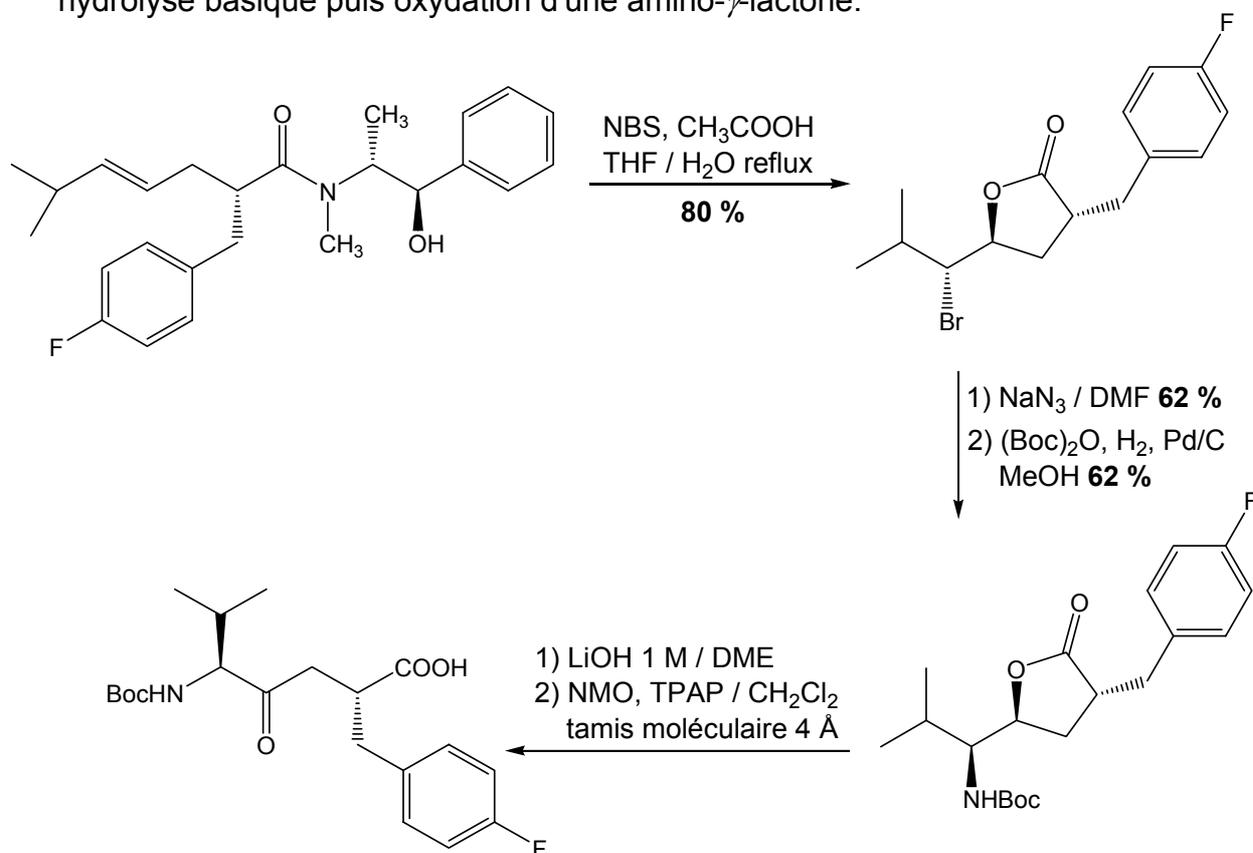


Schéma 43 : synthèse *via* une lactone

Le passage à la lactone se fait par réaction de l'amide avec le *N*-bromosuccinimide en milieu acide à reflux du THF. La bromo- γ -lactone obtenue est transformée en amino- γ -lactone protégée par un groupement Boc qui après hydrolyse par l'hydroxyde de lithium puis oxydation en présence d'oxyde de *N*-méthylmorpholine conduit au pseudopeptide cétométhylénique : *N* ^{α} -Boc-Val- ψ (CO-CH₂)-Phe(4-F)-OH.

¹⁰⁹ DRAGOVICH P. S., PRINS T. J., ZHOU R., FUHRMAN S. A., PATICK A. K., MATTHEWS D. A., FORD C. E., MEADOR J. W., III, FERRE R. A., WORLAND S. T. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42(7), 1203-1212.

Ghosh et coll.¹³⁰ ont synthétisé un hydroxyéthylène précurseur potentiel d'un pseudo-peptide céto-méthylénique *via* une lactone.

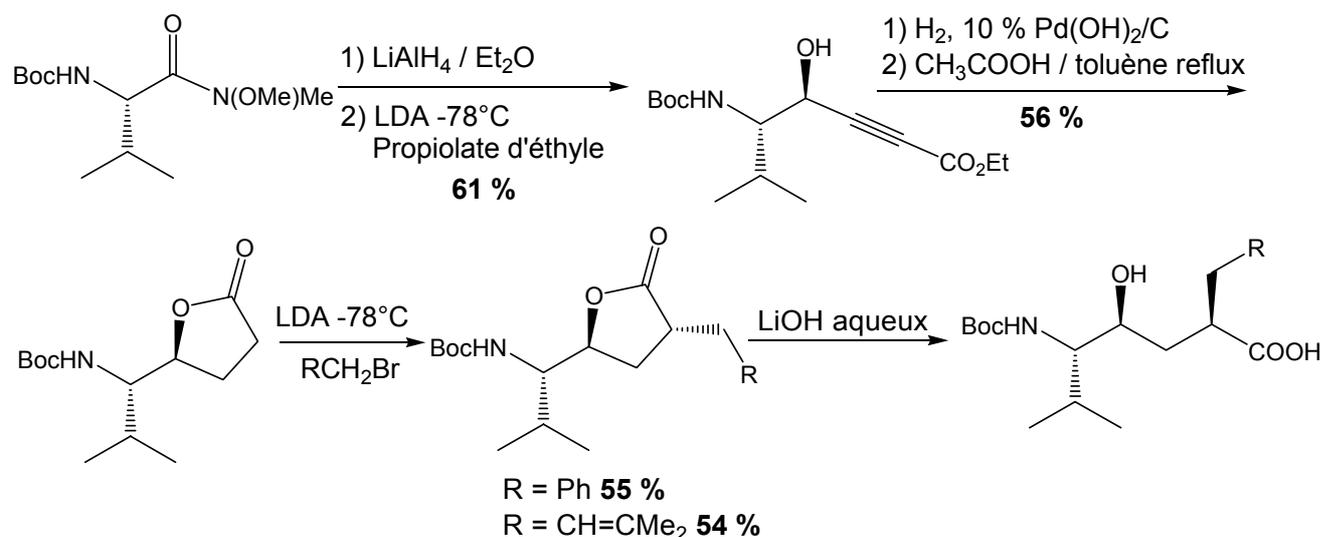


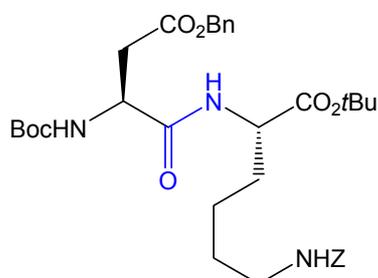
Schéma 44 : synthèse *via* une lactone

L'amide de Weinreb, dérivé de la valine protégée, est réduit en présence d'hydrure de lithium et d'aluminium. L'aldéhyde obtenu réagit avec le propiolate de lithium pour former l'alcool correspondant qui, après hydrogénation catalytique et une lactonisation à reflux du toluène en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique, conduit à la γ -lactone. L'alkylation de la γ -lactone suivie d'une hydrolyse basique libère l'hydroxyéthylène. L'oxydation de l'hydroxyéthylène pourrait conduire au dérivé céto-méthylénique correspondant.

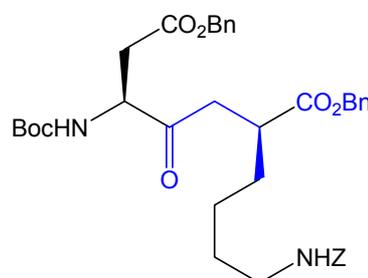
¹³⁰ GHOSH A. K., XI K., RATIA K., SANTARSIERO B. D., FU W., HARCOURT B. H., ROTA P. A., BAKER S. C., JOHNSON M. E., MESECAR A. D. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48(22), 6767-6771.

II - TRAVAUX PERSONNELS

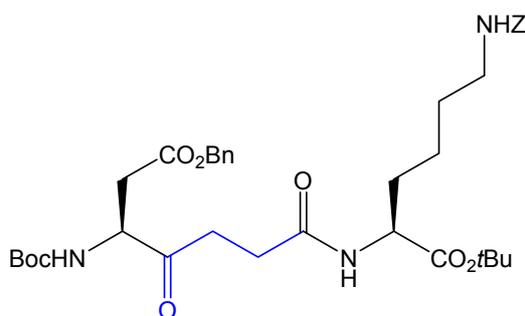
Dans ce chapitre, nous allons exposer nos travaux personnels ayant conduit à la synthèse des dérivés cétométhyléniques de la réversine 121 comme indiqué ci-dessous.



réversine 121
***N*^α-Boc-Asp(OBn)-Lys(Z)-OtBu**



Dérivé cétométhylénique de la réversine 121
***N*^α-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Lys(Z)-OBn**



Dérivé cétométhylénique modifié de la réversine 121
***N*^α-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Gly-Lys(Z)-OtBu**

Nous commençons par la synthèse du dérivé cétométhylénique ayant une glycine insérée entre les deux résidus Asp et Lys, étant donné l'expérience du laboratoire dans la synthèse des dérivés de type Aaa-ψ(CO-CH₂)-Gly-OH.

A - Synthèse du dérivé *N*^α-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Gly-Lys(Z)-OtBu

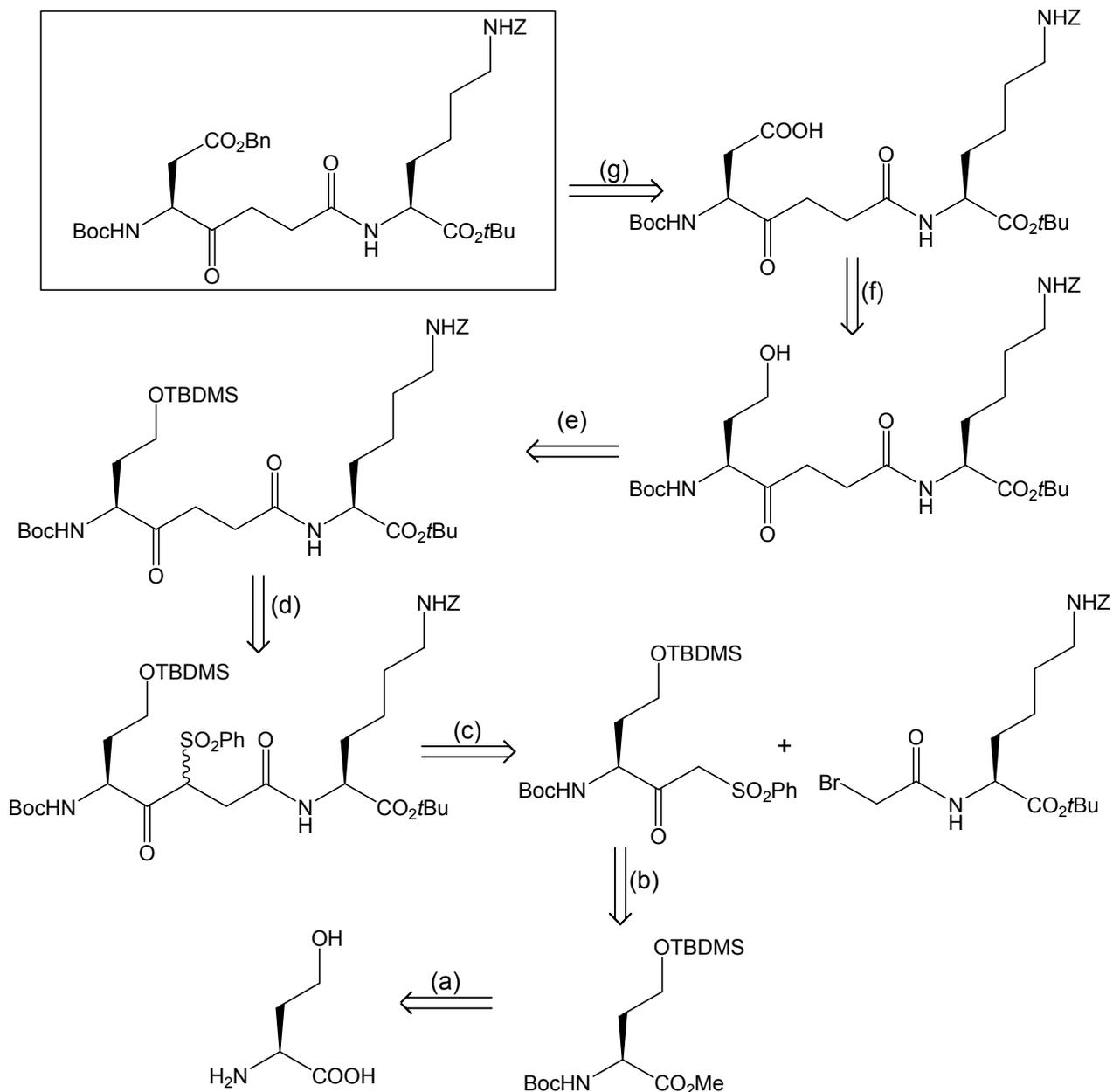
1 - Stratégie *via* une β-cétosulfone

Nous avons d'abord choisi de mettre en œuvre la méthode décrite par Lygo et Rudd¹¹¹ *via* une β-cétosulfone. Cette méthode a été déjà utilisée avec succès au laboratoire par Charrier et coll.⁵⁰ pour la synthèse de carba-peptides.

¹¹¹ LYGO B., RUDD C. N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(20), 3577-3580.

⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.

La stratégie de synthèse présentée ci-dessous, met en jeu une réaction de couplage entre la β -cétosulfone dérivée de l'homosérine, protégée sur l'amine et l'alcool, et un dérivé bromé de la lysine (c). La désulfonation (d) suivie de la fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine (e, f et g) doivent permettre d'isoler le dérivé cétométhylénique souhaité.



La β -cétosulfone est préparée à partir de l'ester méthylique dérivé de l'homosérine protégée sur l'amine et l'alcool : N^{α} -Boc-Hse(TBDMS)-OMe.

a - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(TBDMS)-OMe

Au début de ce travail, nous avons essayé la méthode décrite par Wolfe et coll.¹³¹ *via* le sel de triéthylammonium de la N^α -Boc-L-homosérine.

L'amine de la L-homosérine est d'abord protégée sous la forme d'un groupement Boc dans l'acétone aqueuse en présence de triéthylamine ; le sel obtenu est traité par l'iodure de méthyle pour former l'ester méthylique correspondant avec un rendement de 94 %. En travaillant dans les mêmes conditions, nous avons obtenu quantitativement le sel **14** et l'ester méthylique **15** désiré avec un rendement faible de 27 %.

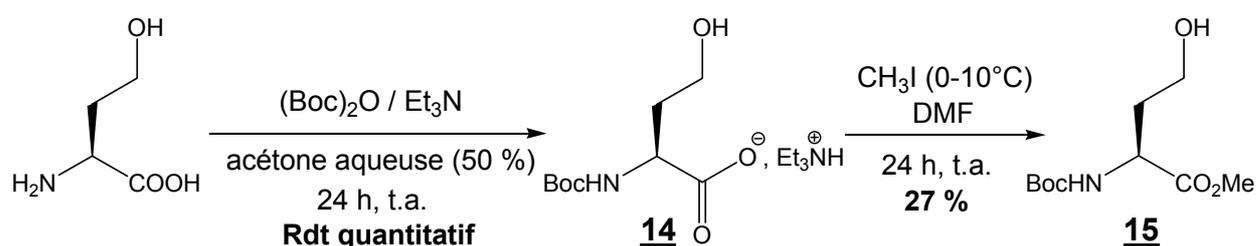


Schéma 45 : synthèse de l'ester méthylique *via* le sel de triéthylammonium de la N^α -Boc-L-homosérine

Nous avons ensuite envisagé un autre mode opératoire décrit par Kuwahara et coll.¹³² utilisant comme intermédiaire le sel de dicyclohexylammonium de la N^α -Boc-L-homosérine. Ce dernier, obtenu avec un rendement de 83 %, est traité par le bromure d'éthyle pour former l'ester éthylique correspondant avec un rendement de 91 %.

Dans notre cas, nous avons pu reproduire la synthèse du sel de dicyclohexylammonium de la N^α -Boc-L-homosérine **16** avec un rendement de 85 %. Ce dernier traité par l'iodure de méthyle ou par le bromure d'éthyle, donne dans les deux cas un mélange de produits difficilement séparables par chromatographie sur colonne (Schéma 46).

¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.

¹³² KUWAHARA M., ARIMITSU M., SISIDO M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121(1), 256-257.

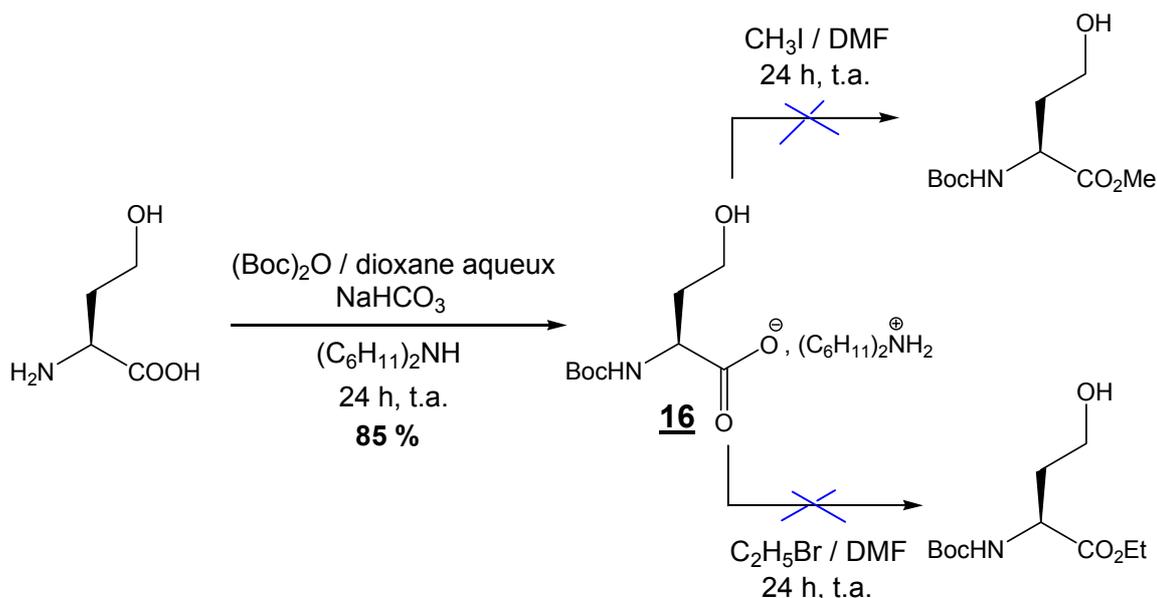


Schéma 46 : synthèse de l'ester méthylique et éthylique *via* le sel de dicyclohexylammonium de la N^α -Boc-L-homosérine

Kline et coll.¹³³ ont estérifié l'acide de la DL-homosérine après protection de l'alcool sous forme de *tert*-butyldiméthylsilyle. La protection de l'alcool est effectuée avec un rendement de 55 % en présence de 3,5 équivalents de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle et 3,4 équivalents de DBU comme base pendant 30 minutes à température ambiante.

En travaillant dans ces mêmes conditions sur la L-homosérine, nous avons obtenu l'alcool protégé **17** avec un rendement faible de 18 %.



Schéma 47 : protection de l'alcool de la L-homosérine

Après ces différents résultats décevants, nous avons alors essayé le mode opératoire décrit par Orsini et coll.¹³⁴ sur la L-sérine. Ces auteurs ont obtenu

¹³³ KLINE T., ANDERSEN N. H., HARWOOD E. A., BOWMAN J., MALANDA A., ENDSLEY S., ERWIN A. L., DOYLE M., FONG S., HARRIS A. L., MENDELSON B., MDLULI K., RAETZ C. R. H., STOVER K., WITTE P. R., YABANNAVAR A., ZHU S. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(14), 3112-3129.

¹³⁴ ORSINI F., PELIZZONI F., SISTI M., VEROTTA L. *Org. Prep. Proc. Int.*, **1989**, 21(4), 505-508.

l'alcool protégé de la L-sérine avec un rendement de 74 % en présence de 1,5 équivalents de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle et de 1,5 équivalents de DBU pendant 24 heures à température ambiante.

Dans le cas de la L-homosérine nous avons ainsi obtenu l'alcool protégé **17** avec un rendement de 49 %.

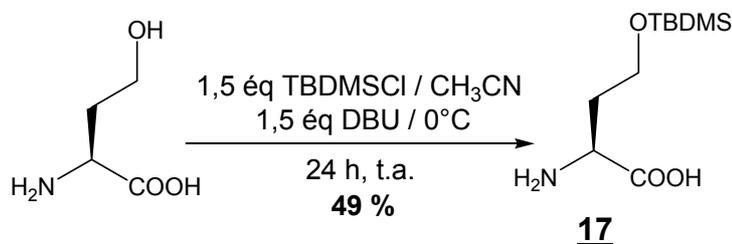


Schéma 48 : protection de l'alcool de la L-homosérine

Pour améliorer ce rendement, nous avons pensé refaire la réaction dans les mêmes conditions mais cette fois avec un excès plus important de réactifs (3,5 équivalents au lieu de 1,5 équivalents). Dans ce cas, nous avons obtenu l'alcool protégé de la L-homosérine **17** avec un meilleur rendement de 82 %.

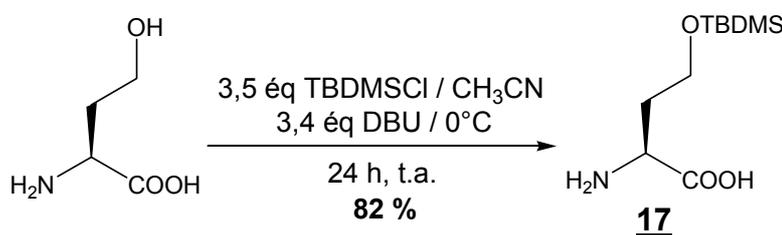
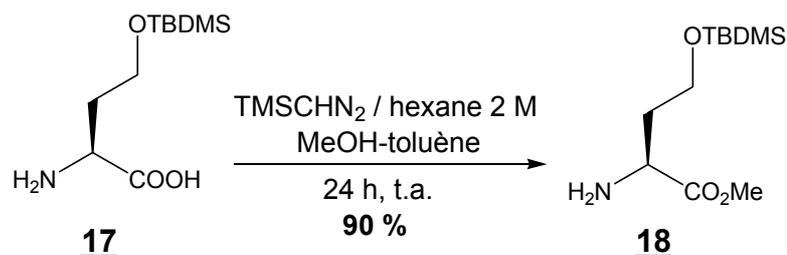


Schéma 49 : protection de l'alcool de la L-homosérine

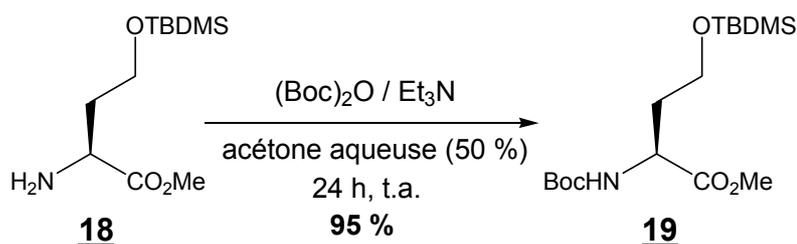
Kline et coll.¹³³ réalisent ensuite l'estérification de la H-DL-Hse(TBDMS)-OH avec un rendement quantitatif en employant le triméthylsilyldiazométhane (TMSCHN₂), réactif moins toxique que le diazométhane et disponible commercialement en solution dans l'hexane.

Ces auteurs effectuent cette réaction dans un mélange de méthanol et de benzène. Dans notre cas, le benzène a été remplacé par le toluène et l'ester méthylique **18** désiré est obtenu avec un rendement de 90 %, sous forme d'une huile jaune ne nécessitant pas de purification (Schéma 50).

¹³³ KLINE T., ANDERSEN N. H., HARWOOD E. A., BOWMAN J., MALANDA A., ENDSLEY S., ERWIN A. L., DOYLE M., FONG S., HARRIS A. L., MENDELSON B., MDLULI K., RAETZ C. R. H., STOVER K., WITTE P. R., YABANAVAR A., ZHU S. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(14), 3112-3129.

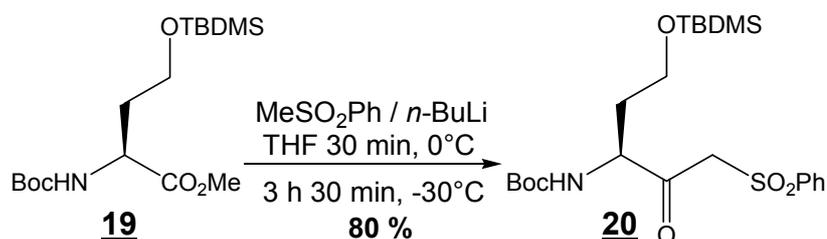
**Schéma 50** : estérification avec le TMSCHN₂

L'amine de l'ester **18** ainsi obtenu est ensuite protégée par un groupement Boc selon le mode opératoire décrit par Wolfe et coll.¹³¹ avec un rendement de 95 %.

**Schéma 51** : protection de l'amine

b - Préparation de la β-cétosulfone

Dans les conditions de Lygo¹³⁵, la première étape de cette réaction d'homologation consiste à former le dianion de la méthylphénylsulfone au moyen de deux équivalents de *n*-butyllithium à 0°C. L'ester méthylique dérivé de l'acide aminé est ensuite ajouté au milieu réactionnel à -78°C pour former la β-cétosulfone. Dans notre cas l'ester **19** est ajouté à -30°C afin d'optimiser le rendement de la réaction⁵⁰. La β-cétosulfone **20** est obtenue avec un rendement de 80%.

**Schéma 52** : préparation de la β-cétosulfone

¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.

¹³⁵ LYGO B. *Synlett*, **1992**, 793-795.

⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.

c - Préparation du dérivé bromé de la lysine

Cette réaction est effectuée selon le mode opératoire décrit par Lygo et Rudd¹¹¹ à partir du bromure de bromoacétyle et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale en présence de triéthylamine. Le dérivé bromé de la lysine **21** est obtenu avec un rendement correct de 66 %.

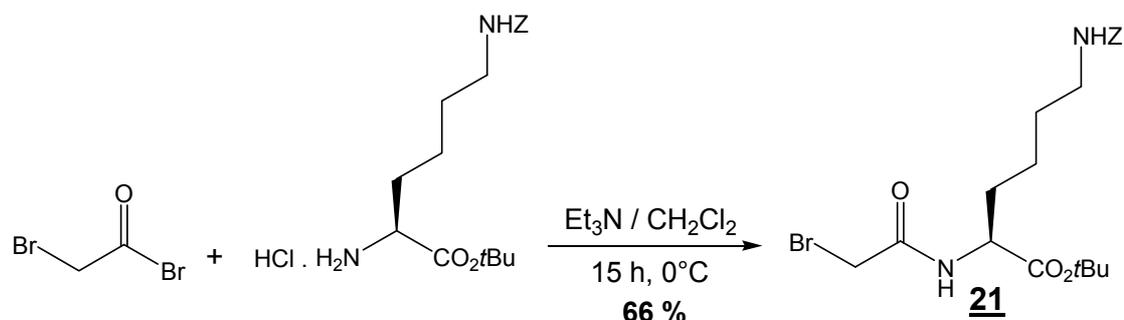


Schéma 53 : préparation du dérivé bromé de la lysine

d - Couplage de la β-cétosulfone avec le dérivé bromé de la lysine

Dans leurs travaux, Lygo et Rudd¹¹¹ ont réalisé le couplage avec des dérivés des acides aminés à chaîne latérale du type de la valine, de la phénylalanine et de la tyrosine en présence de carbonate de potassium.

En réalisant le couplage entre la β-cétosulfone **20** et le dérivé bromé de la lysine **21**, nous n'avons cependant récupéré que les produits de départ intacts.

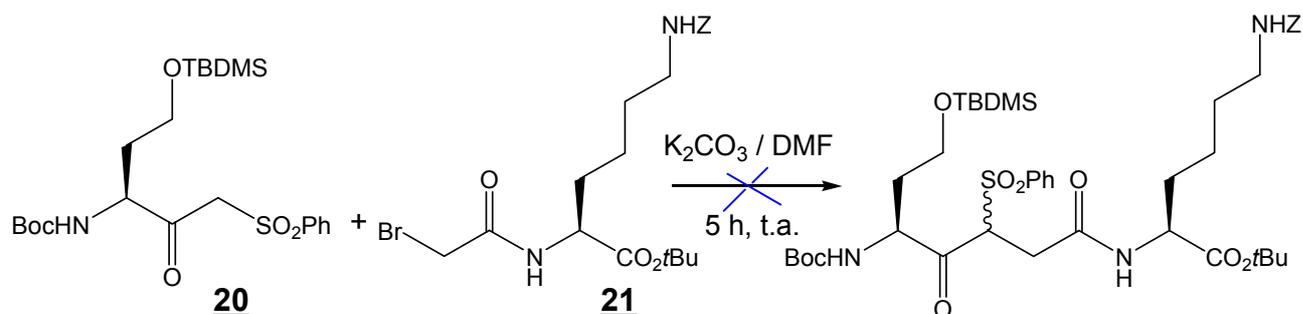
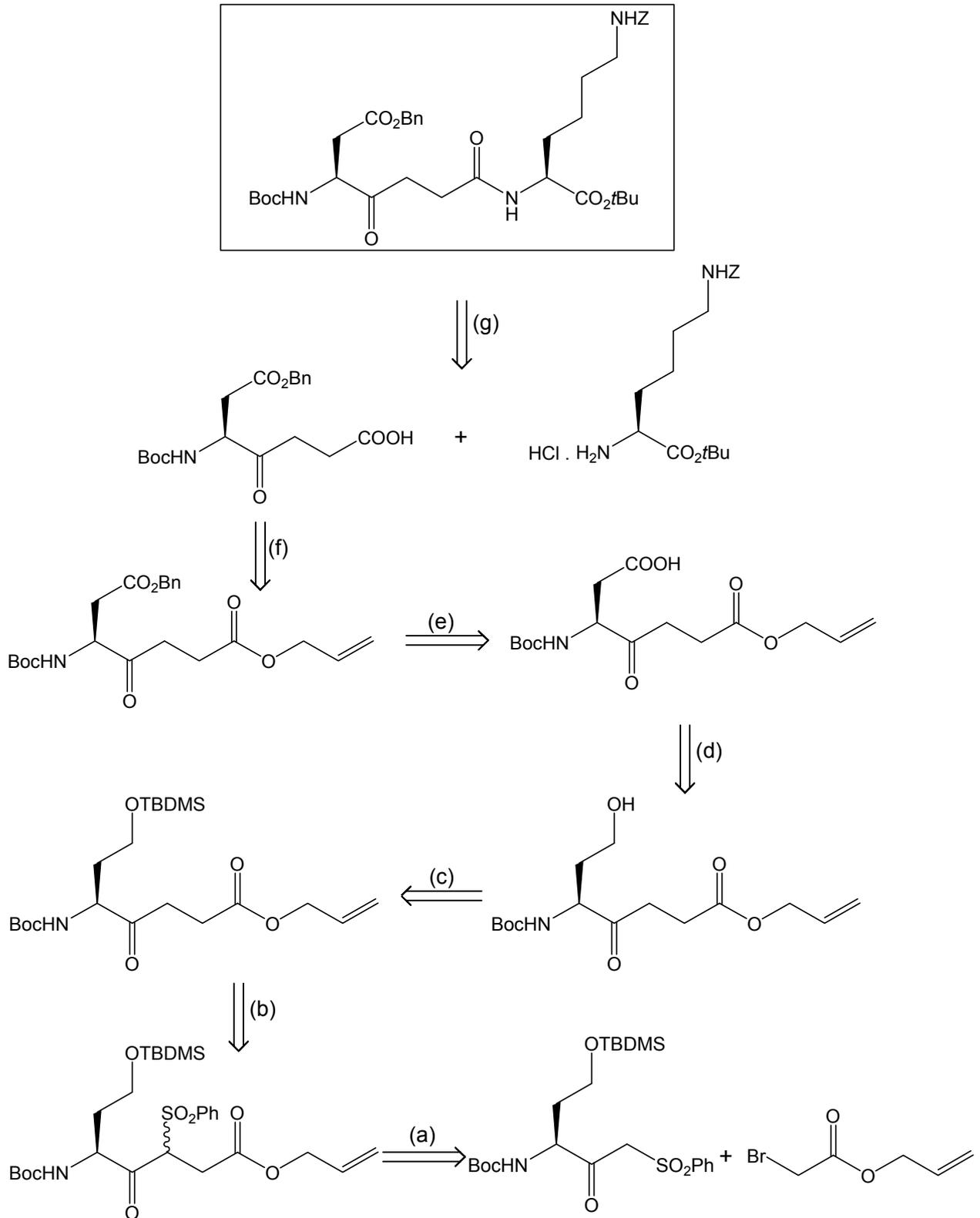


Schéma 54 : couplage de la β-cétosulfone avec le dérivé bromé de la lysine

À la suite de cet échec, nous avons pensé entreprendre le couplage avec le 2-bromoacétate d'allyle (a) (page suivante), composé facile à synthétiser et moins encombré que le dérivé bromé de la lysine. Le clivage de l'ester allylique (f) après désulfonation (b) et fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine (c, d et e) donne l'acide correspondant qui, par couplage avec le dérivé de la lysine

¹¹¹ LYGO B., RUDD C. N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(20), 3577-3580.

commercial (g), aboutira au produit final désiré.



e - Synthèse du 2-bromoacétate d'allyle

Gellerman et coll.¹³⁶ ont décrit la synthèse du 2-bromoacétate d'allyle à partir du chlorure de bromoacétyle et de l'alcool allylique avec un rendement brut de 97 %. Nous avons mis en oeuvre la réaction entre l'alcool allylique et le bromure de bromoacétyle. L'ester **22** souhaité est obtenu sous la forme d'un liquide incolore avec un rendement de 84 % après distillation sous vide.

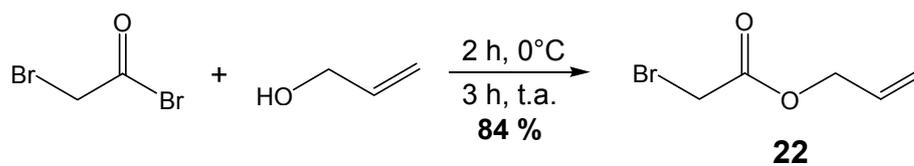


Schéma 55 : synthèse du 2-bromoacétate d'allyle

f - Couplage de la β -céetosulfone avec le 2-bromoacétate d'allyle

Nous avons réalisé le couplage entre la β -céetosulfone **20** et le 2-bromoacétate d'allyle **22** dans le DMF en présence de carbonate de potassium pendant cinq heures à température ambiante. Cette fois, le couplage a abouti au produit souhaité avec un rendement satisfaisant de 87 %.

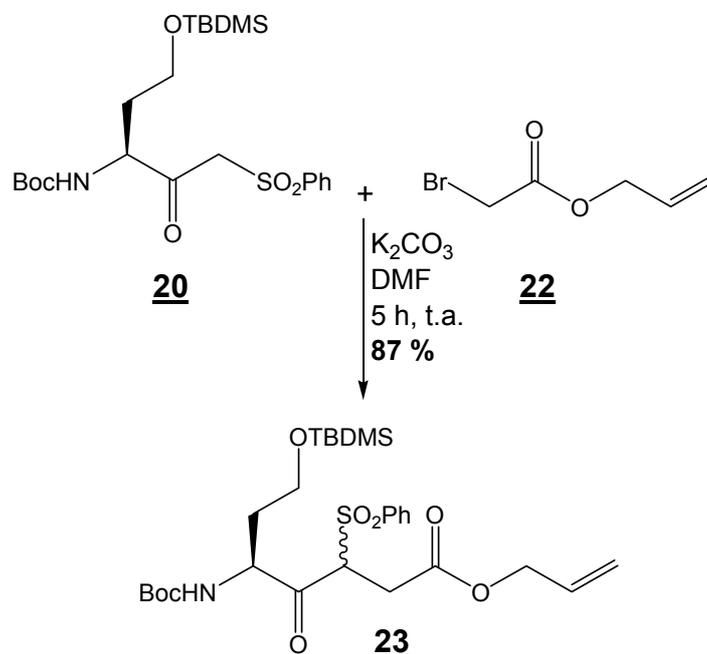


Schéma 56 : couplage de la β -céetosulfone avec le 2-bromoacétate d'allyle

¹³⁶ GELLERMAN G., ELGAVI A., SALITRA Y., KRAMER M. *J. Peptide Res.*, **2001**, 57(4), 277-291.

g - Désulfonation avec le diiodure de samarium (SmI_2)

Pour la désulfonation, Lygo et Rud¹¹¹ ont d'abord employé l'aluminium amalgamé au reflux du méthanol mais les rendements obtenus sont non reproductibles et parfois très faibles en raison de la difficulté d'extraction du produit du milieu réactionnel hétérogène.

Ces auteurs ont finalement réalisé la désulfonation avec le diiodure de samarium fraîchement préparé en solution dans le THF, réactif chimiosélectif dans des conditions neutres et ne nécessitant pas de milieu aqueux.

Dans un premier temps, nous avons décidé d'effectuer la réaction avec le diiodure de samarium commercial en solution dans le THF selon le mode opératoire décrit par Molander et Hahn¹³⁷. Cependant, cet essai n'a pas abouti dans le cas de notre substrat au produit désiré et nous avons récupéré le produit de départ intact.

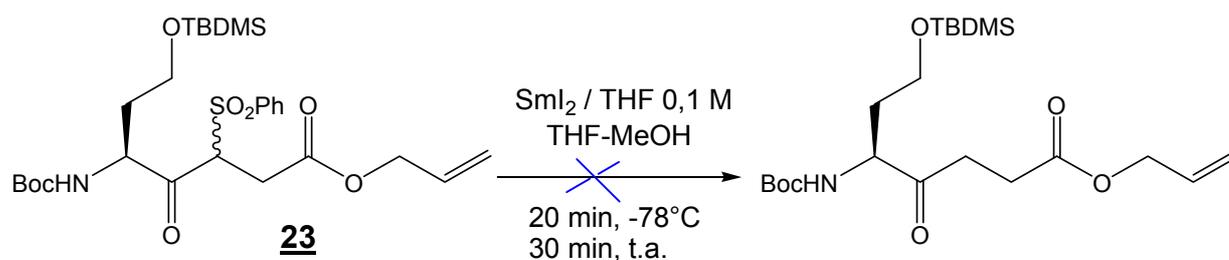


Schéma 57 : désulfonation par le diiodure de samarium commercial

Dans un second temps, nous avons pensé préparer le diiodure de samarium en solution dans le THF selon la méthode décrite par Molander et Hahn¹³⁷ puis l'engager directement en réaction avec la cétone **23**. Après deux essais dans les conditions décrites, nous n'avons pas réussi à obtenir la couleur bleue intense indiquant la formation du diiodure de samarium.

Un autre mode opératoire décrit par Keck et coll.¹³⁸ a été mis en oeuvre. En travaillant dans ces conditions, nous sommes arrivés à préparer le diiodure de samarium. Ce dernier est directement mis en réaction avec la cétone **23** pendant 30 minutes à -78°C puis pendant une heure à température ambiante. Cependant, nous n'avons à nouveau récupéré que le produit de départ intact.

¹¹¹ LYGO B., RUDD C. N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(20), 3577-3580.

¹³⁷ MOLANDER G. A., HAHN G. J. *J. Org. Chem.*, **1986**, 51(7), 1135-1138.

¹³⁸ KECK G. E., SAVIN K. A., WEGLARZ M. A. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60(10), 3194-3204.

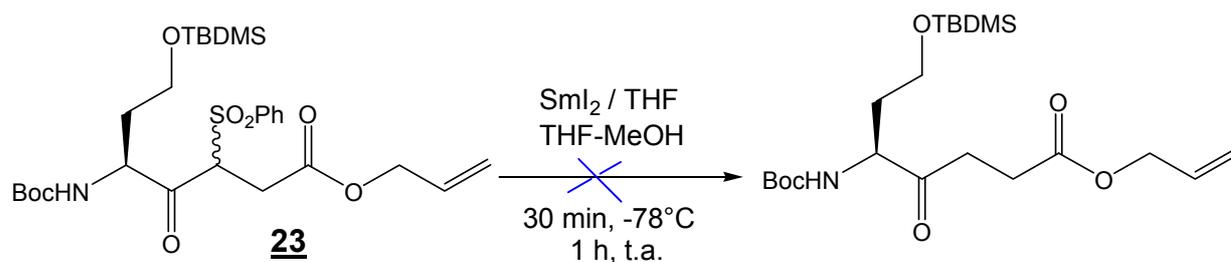


Schéma 58 : désulfonation par le diiodure de samarium fraîchement préparé

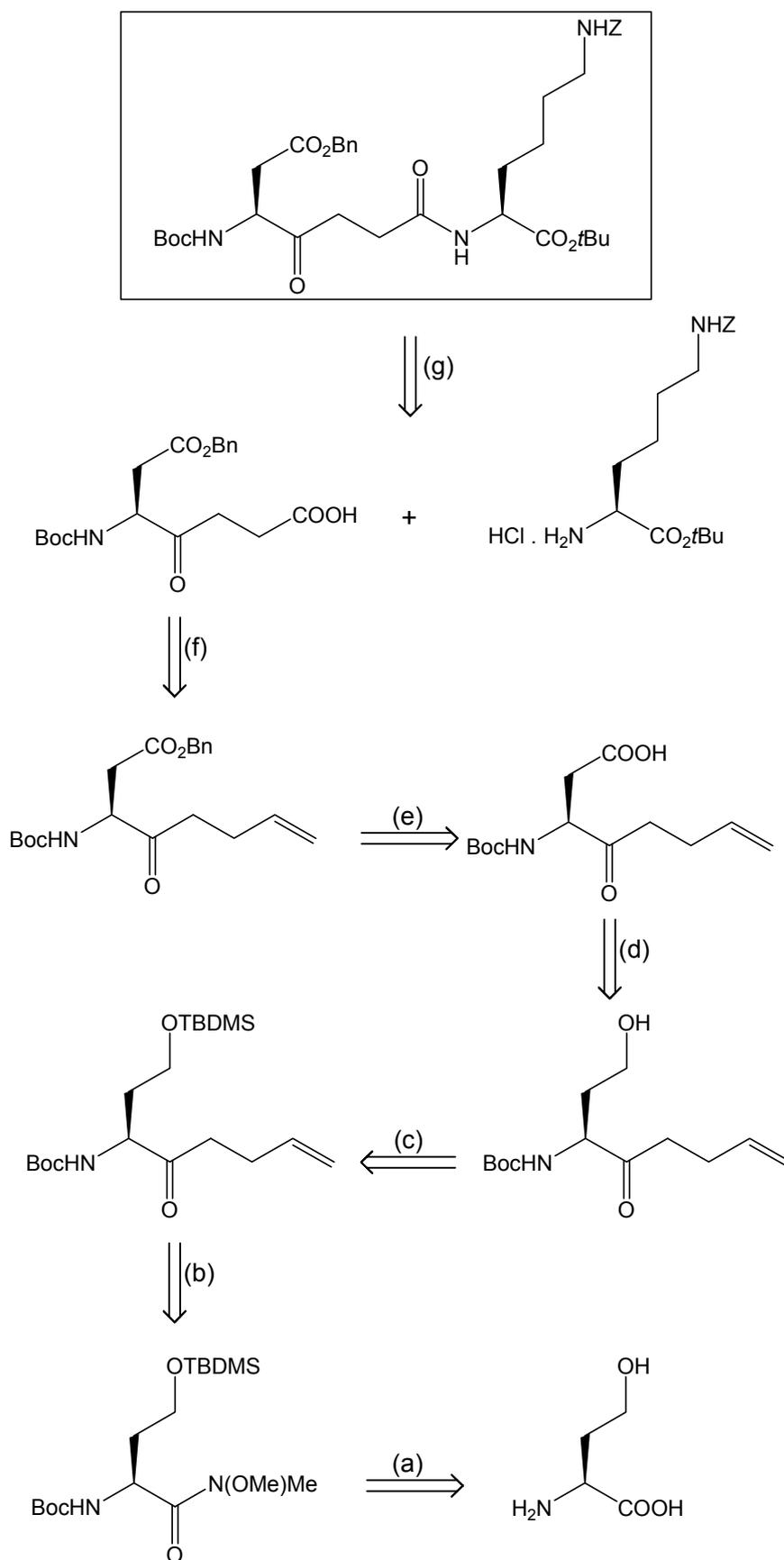
L'échec au niveau de cette étape nous a alors amené à entrevoir une autre stratégie de synthèse.

2 - Stratégie *via* la réaction de Grignard

Cette stratégie est basée sur la méthode décrite par Kaiser et coll.¹¹⁵ L'accès au dérivé cétométhylénique se fait par addition du bromure de but-3-énylmagnésium sur l'amide de Weinreb dérivé de l'homosérine protégée sur l'amine et l'alcool (b) (page suivante). Le clivage oxydatif de la double liaison (f) après fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine (c, d et e) donne l'acide correspondant qui par couplage avec le dérivé de la lysine commercial (g) aboutit au composé cétométhylénique cible.

Cette stratégie comporte moins d'étapes que la stratégie décrite *via* la β -cétosulfone.

¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, **2003**, 5(19), 3435-3437.



a - Synthèse de l'amide de Weinreb dérivé de l'homosérine doublement protégée : N^α -Boc-Hse(TBDMS)-N(OMe)Me

Nous sommes partis de la L-homosérine dont la fonction alcool est protégée par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (synthèse décrite page 103).

L'amine est ensuite protégée par un groupement Boc avec un rendement quantitatif selon le mode opératoire décrit par Wolfe et coll.¹³¹

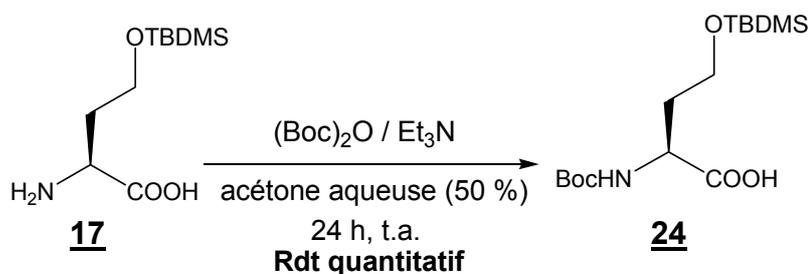


Schéma 59 : protection de l'amine

Kaiser et coll.¹¹⁵ ont synthétisé l'amide de Weinreb de la N^α -Boc-Nle-OH avec un rendement de 82 %. En réalisant la réaction sur la N^α -Boc-Hse(TBDMS)-OH **24**, nous avons ainsi obtenu l'amide de Weinreb **25** correspondant avec un rendement de 61 %.

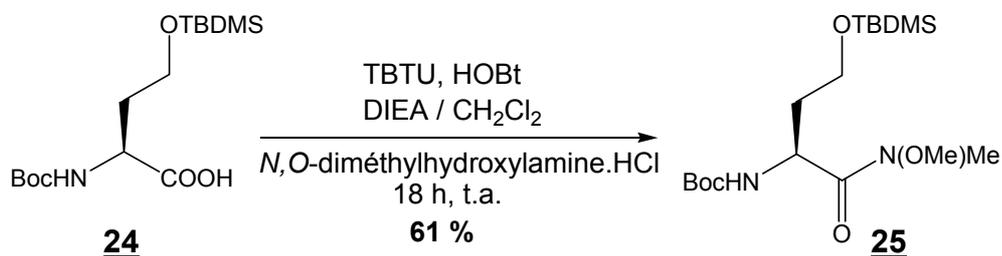


Schéma 60 : préparation de l'amide de Weinreb

b - Obtention du dérivé cétométhylénique par la réaction de Grignard

Kaiser et coll.¹¹⁵ ont décrit l'addition du bromure de but-3-énylmagnésium sur l'amide de Weinreb de la N^α -Boc-Nle-OH avec un rendement de 94 %. Cette réaction est effectuée avec 5 équivalents de bromure de but-3-énylmagnésium dans le THF anhydre pendant 3 heures à température ambiante.

¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.

¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, **2003**, 5(19), 3435-3437.

Dans notre cas, la réaction est réalisée sur l'amide de Weinreb **25** avec 5 équivalents de bromure de but-3-énymagnésium non dosés, pendant 4 heures à température ambiante et le rendement obtenu pour la cétone **26** est de 55 %.

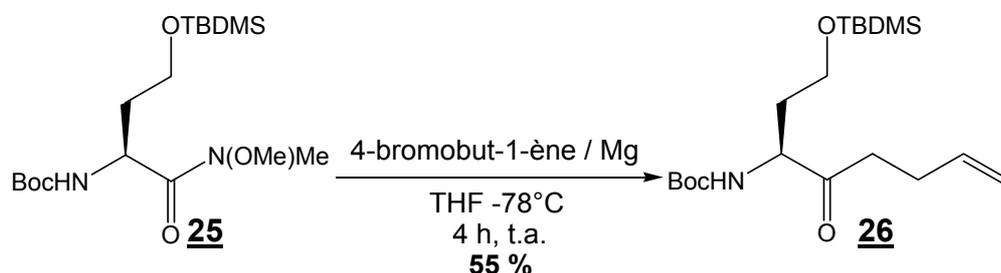


Schéma 61 : obtention du céto-méthylène par la réaction de Grignard

c - Fonctionnalisation de la chaîne latérale de l'homosérine

L'alcool de la cétone **26** est d'abord déprotégé selon le mode opératoire décrit par Davis et Prasad¹³⁹. L'alcool **27** est obtenu avec un rendement de 87 % après une heure de réaction à température ambiante, en présence de fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) en solution dans le THF.

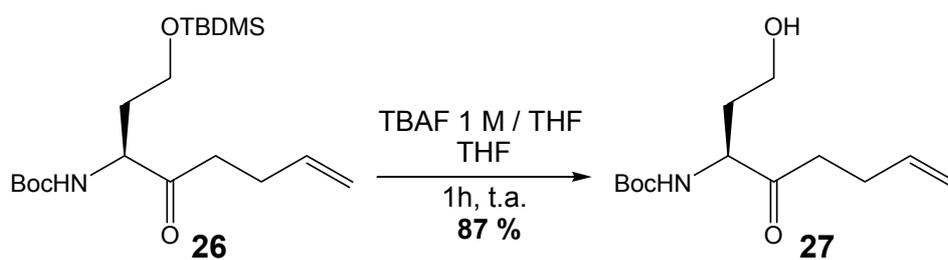


Schéma 62 : déprotection de l'alcool par le TBAF

L'alcool **27** est ensuite oxydé par le dichromate de pyridinium (PDC)¹⁴⁰ dans le DMF distillé pendant 3 heures à température ambiante selon le mode opératoire décrit par Våbenø et coll.⁹⁸ L'acide **28** est ainsi obtenu avec un rendement de 71 % après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (Schéma 63).

¹³⁹ DAVIS F. A., PRASAD K. R. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(19), 7249-7253.

¹⁴⁰ COREY E. J., SCHMIDT G. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20(5), 399-402.

⁹⁸ VÅBENØ J., NIELSEN C. U., INGEBRIGTSEN T., LEJON T., STEFFANSEN B., LUTHMAN K. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4755-4765.

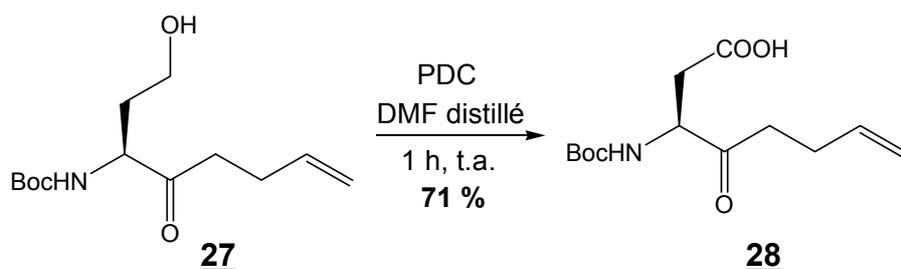


Schéma 63 : oxydation de l'alcool par le PDC

L'acide **28** est enfin estérifié avec le bromure de benzyle en présence de carbonate de césium comme base dans du DMF pendant 4 heures et à température ambiante avec un rendement satisfaisant de 86 % selon la méthode décrite par Våbenø et coll.⁹⁸ pour l'estérification de la fonction acide d'un dérivé similaire.

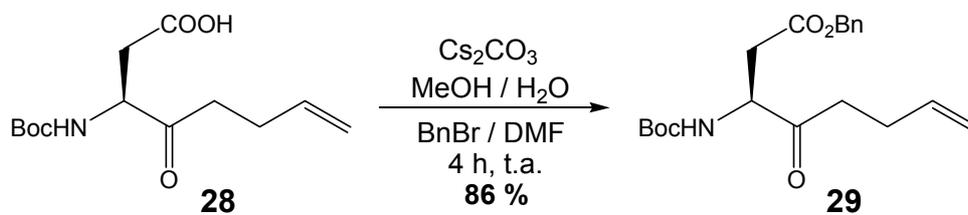


Schéma 64 : estérification de l'acide avec le bromure de benzyle

Cette méthode d'estérification décrite pour la première fois par Wang et coll.¹⁴¹ permet l'obtention des esters dérivés des acides aminés protégés dans des conditions neutres et sans épimérisation. Cependant, Våbenø et coll.⁹⁸ ont noté dans leurs travaux une racémisation au cours de l'estérification de l'acide suivant :

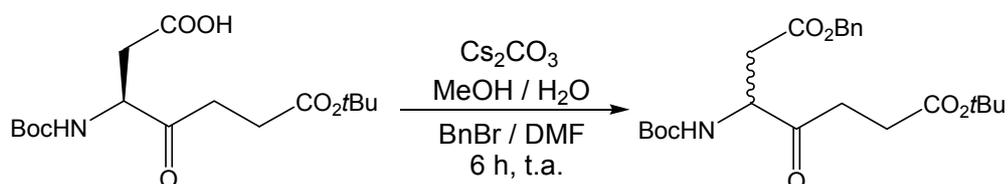


Schéma 65 : racémisation décrite par Våbenø et coll. au cours de l'estérification d'un acide

Cette observation nous a conduit à vérifier la pureté optique de notre ester **29**.

⁹⁸ VÅBENØ J., NIELSEN C. U., INGEBRIGTSEN T., LEJON T., STEFFANSEN B., LUTHMAN K. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4755-4765.

¹⁴¹ WANG S.-S., GISIN B. F., WINTER D. P., MAKOFKSKE R., KULESHA I. D., TZOUGRAKI C., MEIENHOFER J. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42(8), 1286-1290.

d - Détermination de la pureté optique du N^α -Boc-Asp(OBn)-(CH₂)₂-CH=CH₂

Afin de déterminer le degré d'épimérisation au cours de cette dernière réaction, l'amine du produit **29** est déprotégée par l'acide trifluoroacétique (TFA) puis couplée avec l'isothiocyanate de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyle (GITC) en présence de triéthylamine pour former le dérivé de la thiourée **31** selon le procédé décrit par Nimura et coll.¹⁴² La fonction thiourée absorbe fortement en UV ce qui facilite la détection du produit **31** à la sortie de la colonne.

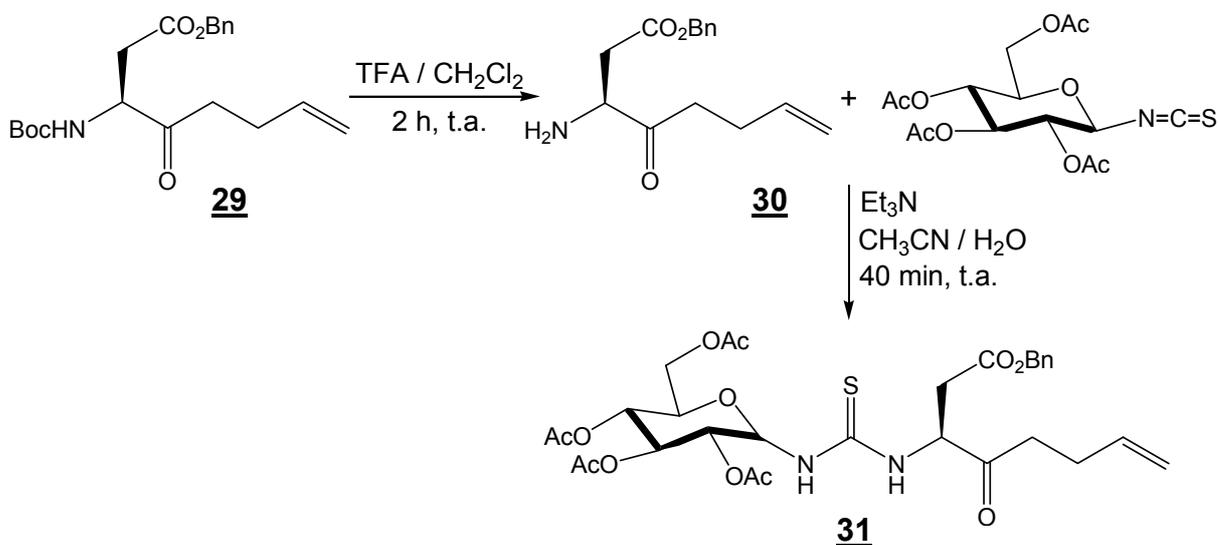


Schéma 66 : couplage avec le GITC

Le chromatogramme (CLHP) du composé **31** ne montre qu'un seul signal à $t_R = 10,23$ minutes ce qui pourrait indiquer l'absence d'épimérisation.

Pour confirmer ce résultat, il faudrait coupler l'autre énantiomère de l'amine **30** avec le GITC et ensuite comparer les temps de rétention.

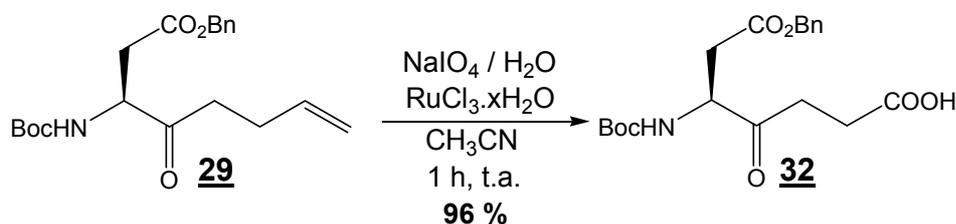
e - Clivage oxydatif de la double liaison par la méthode de Sharpless

La double liaison du dérivé **29** est clivée par oxydation de Sharpless selon le mode opératoire décrit par Kaiser et coll.¹¹⁵ Ces auteurs ont clivé la double liaison de la N^α -Boc-Nle-(CH₂)₂CH=CH₂ en présence de periodate de sodium et de chlorure de

¹⁴² NIMURA N., OGURA H., KINOSHITA T. *Journal of Chromatography A*, **1980**, 202(3), 375-379.

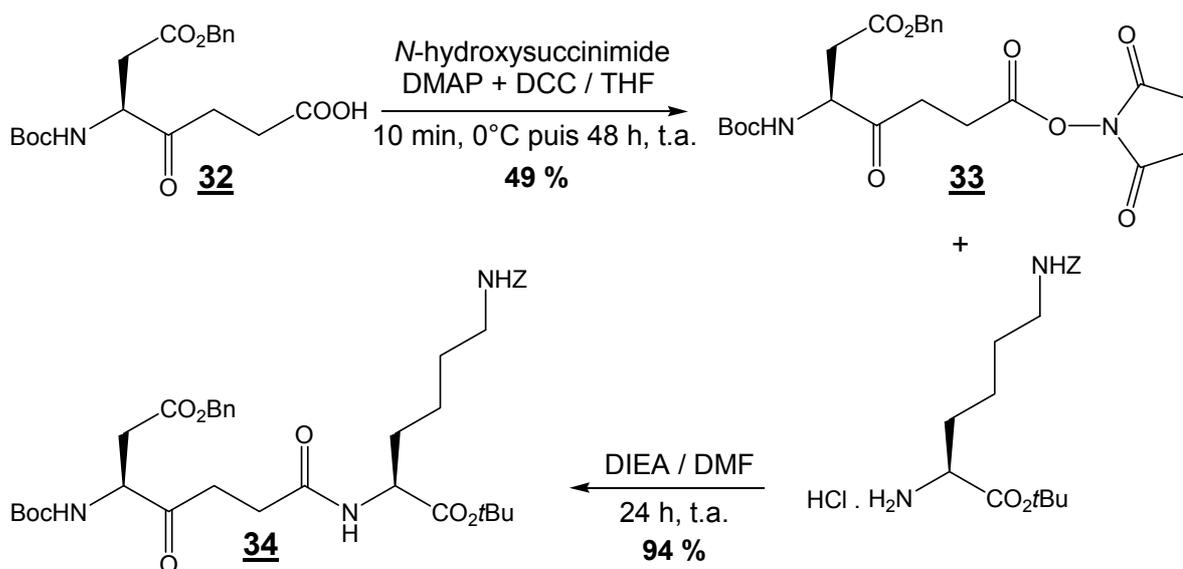
¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, **2003**, 5(19), 3435-3437.

ruthénium hydraté dans l'acétonitrile aqueux pendant 75 minutes à température ambiante avec un rendement de 83 %. En travaillant dans les mêmes conditions, nous avons obtenu l'acide **32** avec un très bon rendement de 96 %.



f - Couplage de l'acide avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale

L'acide **32** ainsi obtenu est activé sous forme d'un ester *N*-succinimidylique **33** avec un rendement de 49 % selon le mode opératoire de Biliang et Zhiyong⁸¹ puis couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale pour donner le produit cétométhylénique **34** cible avec un rendement de 94 %.



En conclusion, nous avons synthétisé le dérivé cétométhylénique modifié **34** de la réversine 121 avec un rendement global de 6 % en 10 étapes. Les spectres IR, de RMN ¹H, de RMN ¹³C et de SM sont en accord avec la structure.

⁸¹ BILIANG Z., ZHIYONG C. WO 03/059926 A2, 24 juillet 2003.

g - Essai de synthèse du dérivé cétométhylénique 34 à partir de l'amide de Weinreb dérivé du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH

Nous avons pensé faire réagir le bromure de but-3-énylmagnésium sur l'amide de Weinreb dérivé du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH 35 afin de tester si on pourrait accéder au dérivé cétométhylénique 29 *via* une synthèse plus courte que la précédente.

L'amide de Weinreb 35 est préparé avec un rendement de 91 % à partir du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH commercial selon le mode opératoire de Fehrentz et Castro⁶⁴.

Ces auteurs utilisent le BOP comme agent de couplage, dans notre cas ce dernier a été remplacé par le TBTU.

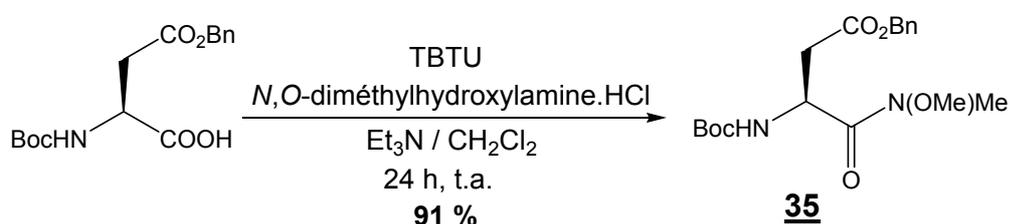


Schéma 69 : préparation du N^α -Boc-Asp(OBn)-N(OMe)Me

Afin d'étudier correctement la réactivité de l'amide de Weinreb 35 vis-à-vis du bromure de but-3-énylmagnésium, nous avons dosé ce magnésien en présence de phénylhydrazone dérivée de l'aldéhyde salicylique comme indicateur, selon la procédure décrite par Love et Jones¹⁴³.

Ces auteurs préparent la phénylhydrazone dérivée de l'aldéhyde salicylique avec un rendement de 82 %. Nous avons pu reproduire la synthèse de ce dérivé avec un rendement de 71%.

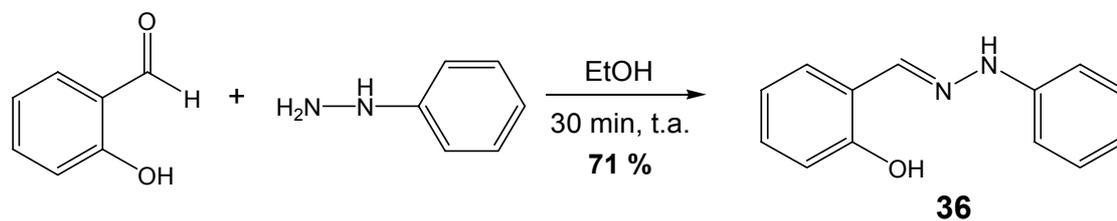


Schéma 70 : synthèse de la phénylhydrazone dérivée de l'aldéhyde salicylique

⁶⁴ FEHRENTZ J.-A., CASTRO B. *Synthesis*, **1983**, 676-678.

¹⁴³ LOVE B. E., JONES E. G. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64(10), 3755-3756.

Trois essais ont été effectués sur l'amide de Weinreb **35**, une première fois en présence de deux équivalents de bromure de but-3-énylmagnésium, une deuxième fois en présence de trois équivalents et une troisième fois en présence de cinq équivalents. Dans les trois cas nous n'avons récupéré que l'amide de départ intact.

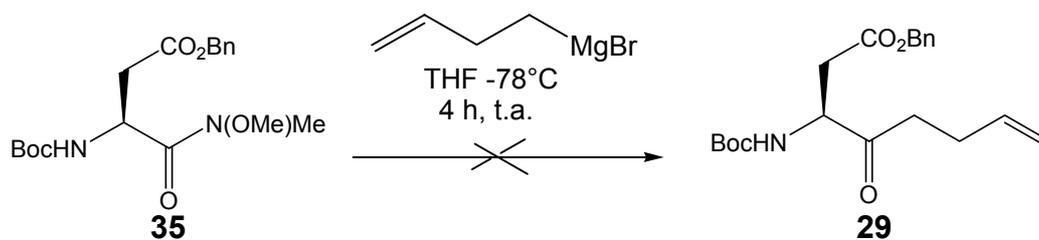


Schéma 71 : réactivité du magnésien sur le N^{α} -Boc-Asp(OBn)-N(OMe)Me

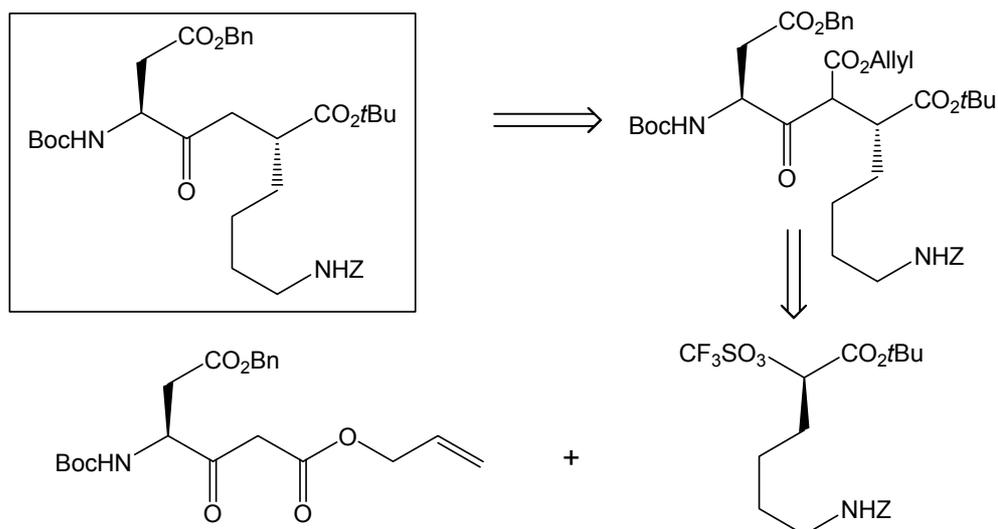
Une différence de réactivité d'un autre amide de Weinreb vis-à-vis d'organométallique selon le solvant utilisé a été observée au laboratoire. Par conséquent, cette réaction pourrait être testée dans l'éther éthylique. Dans le cas de ce travail, nous n'avons pas réalisé cet essai du fait de contrainte de temps.

B - Synthèse du dérivé N^{α} -Boc-Asp(OBn)- ψ (CO-CH₂)-Lys(Z)-OBn

Pour la synthèse du dérivé cétométhylénique correspondant de la réversine 121, nous avons retenu la méthode d'Hoffman et coll.¹²⁸ présentée précédemment dans la bibliographie. Ces auteurs ont réalisé la condensation entre un β -cétoester allylique et un triflate dérivé d'un acide aminé estérifié et à chaîne latérale non fonctionnalisée.

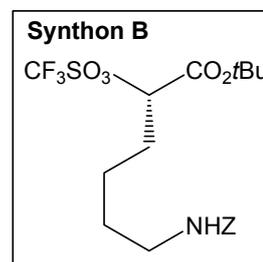
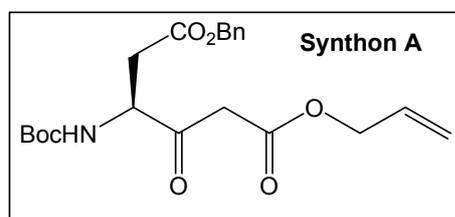
Dans notre cas, la condensation doit être effectuée entre le β -cétoester allylique dérivé de l'acide aspartique et le triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de *tert*-butyle selon la stratégie de synthèse représentée page suivante.

¹²⁸ HOFFMAN R. V., MASLOUH N., CERVANTES-LEE F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(4), 1045-1056.



Lors de l'étape de substitution nucléophile clé, il se produit une inversion de configuration. Pour obtenir l'analogue voulu, il faut par conséquent partir de la D-lysine. Mais pour des raisons économiques, afin de pouvoir effectuer différents essais, nous avons travaillé sur la L-lysine, produit moins onéreux que sa forme D et disponible au laboratoire.

Cette méthode nécessite la préparation des deux synthons suivants :



1- Synthèse du β -cétoester allylique dérivé de l'acide aspartique (synthon A)

Hoffman et coll.¹²⁸ ont préparé des β -cétoesters allyliques dérivés des acides aminés (Ala, Val, Phe, Asp...) et dont la fonction amine est protégée par un groupement Z, Boc ou Fmoc avec des rendements compris entre 90 et 94 %.

Le β -cétoester allylique est synthétisé à partir de l'énolate lithié de l'acétate d'allyle, préparé par addition du *n*-butyllithium et de l'acétate d'allyle sur le diisopropylamine dans le THF, et de l'acyl imidazole dérivé de l'acide aminé,

¹²⁸ HOFFMAN R. V., MASLOUH N., CERVANTES-LEE F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(4), 1045-1056.

obtenu par addition du 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI) à une solution de l'acide aminé dans le THF. Dans le cas du dérivé de l'acide aspartique N^{α} -Boc-Asp(OBn)-OH, nous avons obtenu le β -cétoester allylique correspondant **37** avec un rendement de 32 %.

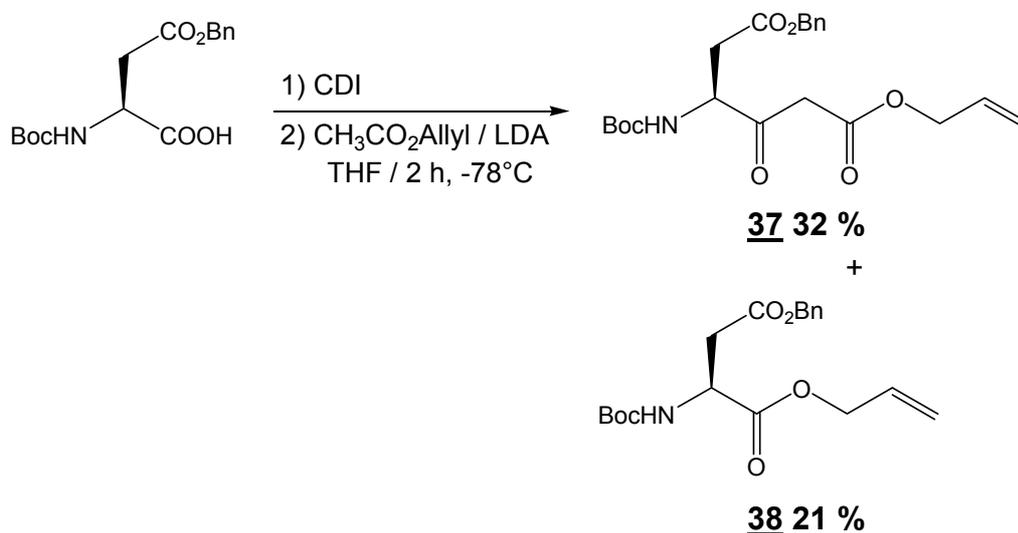


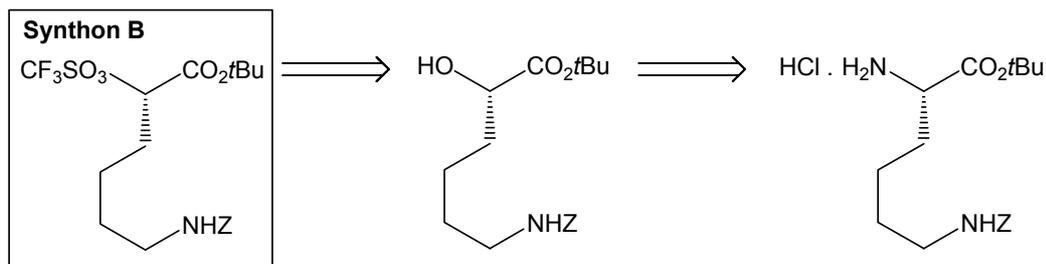
Schéma 72 : préparation du β -cétoester allylique

Cette réaction engendre l'ester allylique **38** comme sous-produit avec un rendement de 21 %. L'obtention de ce sous-produit peut être expliquée par une transestérification de l'acide aminé de départ.

2 - Synthèse du triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de *tert*-butyle (synthon B)

Hoffman et Tao¹⁴⁴ décrivent le passage de l'amine à l'alcool puis une estérification de l'acide avant la triflation de l'alcool sur des acides aminés avec des chaînes latérales non fonctionnalisées. Dans notre cas, nous avons pensé synthétiser le synthon B en deux étapes selon la stratégie ci-dessous à partir de la lysine protégée sur les fonctions acides et amines en ϵ , composé commercial sous forme de chlorhydrate. Le passage de l'alcool au triflate peut ensuite être réalisé dans les mêmes conditions que celles d'Hoffman et Tao.

¹⁴⁴ HOFFMAN R. V., TAO J. *Methods in Molecular Medicine*, Vol. 23 : Peptidomimetics Protocols; Humana Press, W. M. Kazmierski. Ed. Totowa, p. 106-121.



a - Synthèse de l'alcool dérivé de la lysine protégée sur les fonctions acides et amines en ϵ

Karnewsky et coll.¹⁴⁵ ont préparé l'alcool dérivé de la lysine à partir de la lysine non protégée dans l'acide sulfurique à 10 % et en présence de nitrite de sodium. En travaillant dans les mêmes conditions sur la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale, nous n'avons récupéré que l'amine de départ intacte.

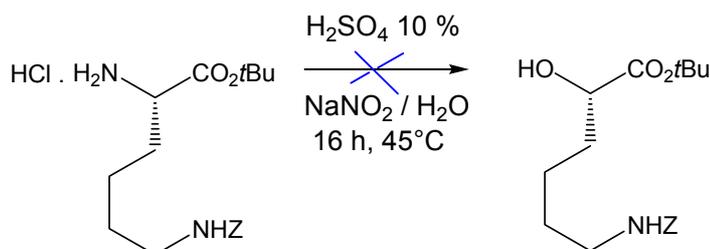
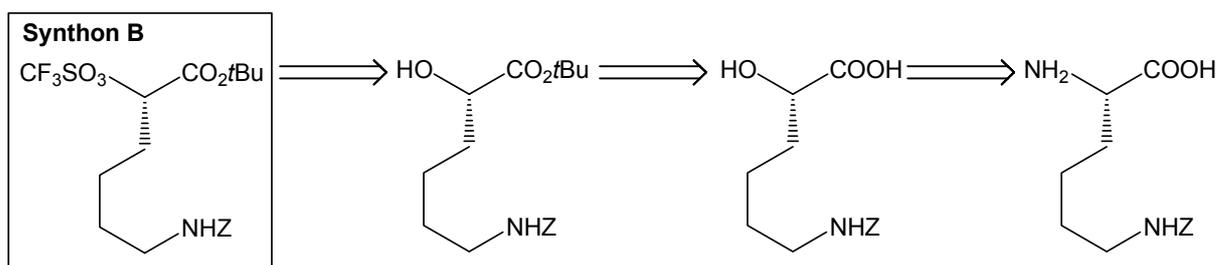


Schéma 73 : synthèse de l'alcool dérivé de la lysine doublement protégée

Suite à cet échec, nous avons pensé partir de la lysine protégée uniquement sur la fonction amine en ϵ selon la stratégie de synthèse suivante :



¹⁴⁵ KARANEWSKY D. S., BADIA M. C., CUSHMAN D. W., DEFORREST J. M., DEJNEKA T., LOOTS M. J., PERRI M. G., PETRILLO, Jr. E. W., POWELL J. R. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31(1), 204-212.

b - Synthèse de l'alcool dérivé de la lysine protégée sur la fonction amine en ϵ

Nous avons réessayé la méthode de Karanewsky et coll.¹⁴⁵ mais cette fois sur la lysine dont l'amine de la chaîne latérale est protégée par un groupement benzyloxycarbonyle et dont l'acide en α est libre, composé disponible commercialement. Cependant, nous avons eu des problèmes de solubilité de la lysine protégée dans l'acide sulfurique à 10 % et la transformation de l'amine en alcool ne se faisait pas.

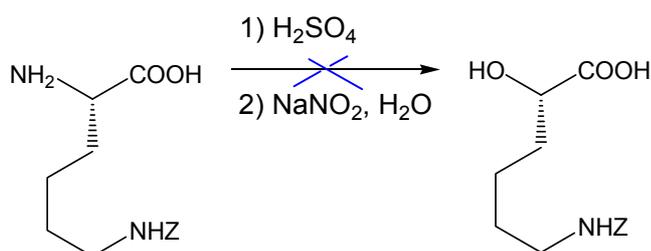


Schéma 74 : synthèse de l'alcool dérivé de la lysine monoprotégée

Shin et coll.¹⁴⁶ ont synthétisé l'alcool dérivé de la lysine dont l'amine en ϵ est protégée par un groupement benzyloxycarbonyle avec un rendement de 95 % en utilisant l'acide acétique à 50 %. En travaillant dans ces conditions, nous avons obtenu l'alcool désiré **39** de manière quantitative mais dont la pureté en RMN ^1H nous semble sujette à caution. Il a été cependant utilisé sous sa forme brute du fait des difficultés de purification.

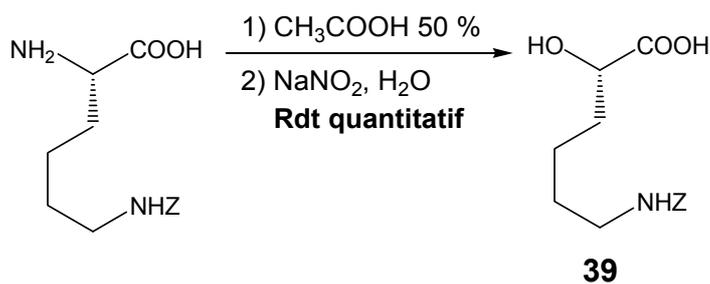


Schéma 75 : synthèse de l'alcool dérivé de la lysine monoprotégée

¹⁴⁵ KARANEWSKY D. S., BADIA M. C., CUSHMAN D. W., DEFORREST J. M., DEJNEKA T., LOOTS M. J., PERRI M. G., PETRILLO E. W., POWELL J. R. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31(1), 204-212.

¹⁴⁶ SHIN I., LEE M.-R., LEE J., JUNG M., LEE W., YOON J. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65(22), 7667-7675.

c - Estérification de l'acide dérivé de la lysine **39**

Pour l'estérification d'un acide en présence d'un alcool, il faut généralement protéger préalablement l'alcool pour éviter toute réaction parasite.

Cependant, Rossello et coll.¹⁴⁷ ont estérifié l'acide 4-amino-2-hydroxy-butanoïque dont l'amine est protégée par un groupement benzyloxycarbonyle en réalisant la réaction avec le *N*-(di-*tert*-butoxyméthyl)-*N,N*-diméthylamine dans le toluène pendant 3 heures à 95°C. En travaillant dans les mêmes conditions sur l'acide **39**, nous n'avons récupéré que le produit de départ intact.

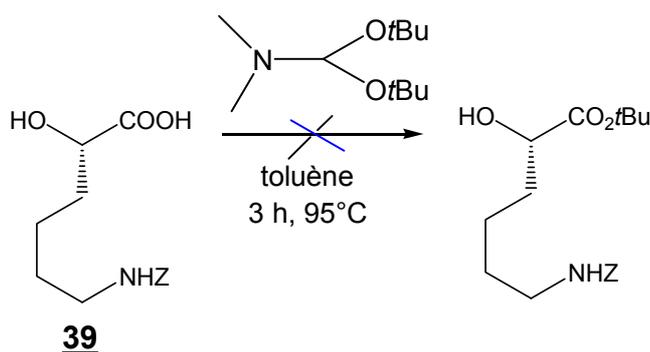
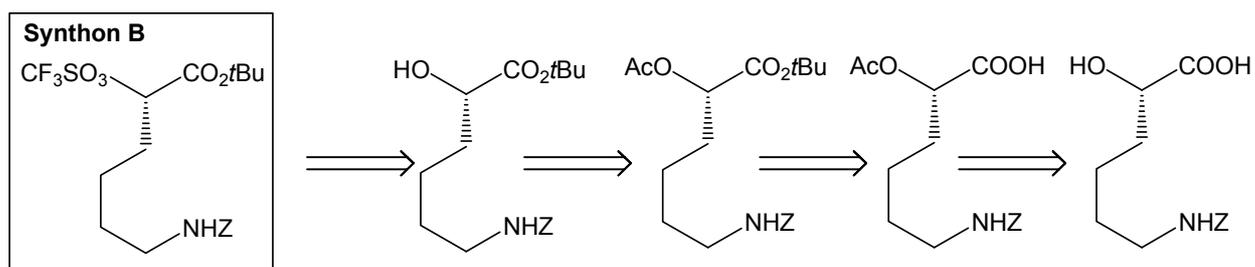


Schéma 76 : estérification de l'acide dérivé de la lysine

Yang et coll.¹⁴⁸ ont estérifié l'acide d'un α -hydroxy-acide en ester *tert*-butylique après protection de l'alcool en α sous forme d'acétate. L'alcool est finalement déprotégé dans le méthanol aqueux en présence de carbonate de potassium.

Dans le cas du synthon B, la stratégie de synthèse est la suivante :

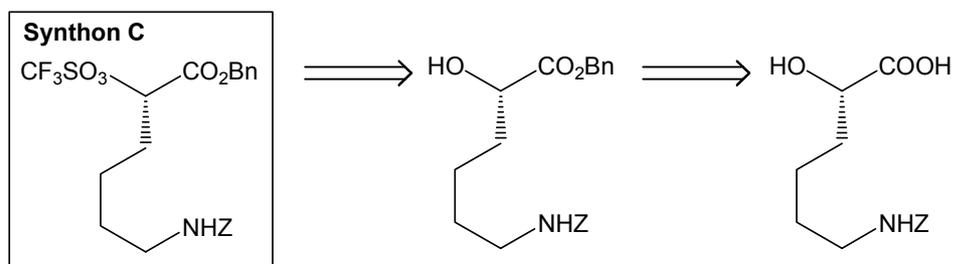


Cette stratégie paraît longue et étant donné le temps disponible, nous avons décidé de remplacer l'ester *tert*-butylique par un autre ester dont la synthèse est réalisable dans des conditions ne touchant pas l'alcool.

¹⁴⁷ a) ROSSELLO A., NUTI E., CARELLI P., ORLANDINI E., MACCHIA M., NENCETTI S., ZANDOMENEGHI M., BALZANO F., BARRETTA G. U., ALBINI A., BENELLI R., CERCIGNANI G., MURPHY G., BALSAMO A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15(5), 1321-1326. b) TUCCINARDI T., MARTINELLI A., NUTI E., CARELLI P., BALZANO F., UCCELLO-BARRETTA G., MURPHY G., ROSSELLO A. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14(12), 4260-4276.

¹⁴⁸ YANG D., LI B., NG F.-F., YAN Y.-L., QU J., WU Y.-D. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66(22), 7303-7312.

Thierry et coll.¹⁴⁹ ont synthétisé le triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de benzyle et dont l'amine en ϵ est protégée par un groupement benzyloxycarbonyle. Nous avons pensé par conséquent mettre à profit la synthèse décrite par ces auteurs pour synthétiser le triflate correspondant selon la stratégie suivante.



3 - Synthèse du triflate dérivé de la lysine estérifiée sous forme de benzyle (synthon C)

Cette synthèse se fait en deux étapes à partir de l'acide **39** :

- estérification de l'acide en ester benzylique,
- préparation du triflate.

a - Estérification de l'acide **39**

Nous avons suivi le mode opératoire décrit par Thierry et coll.¹⁴⁹ L'estérification est effectuée avec le bromure de benzyle, dans de l'acétone, en présence de triéthylamine pendant 6 heures à température ambiante. Le spectre IR confirme la disparition de la fonction acide et le spectre de RMN ^1H est en accord avec la structure. Le rendement de cette réaction est de 40 % après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice.

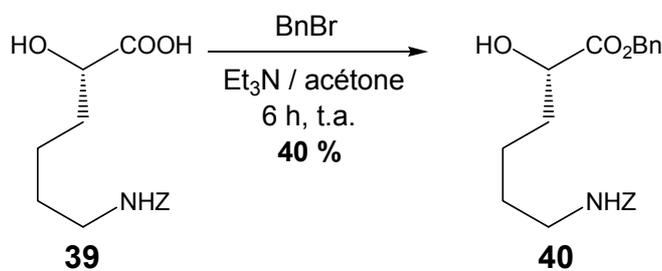


Schéma 77 : estérification de l'acide dérivé de la lysine

¹⁴⁹ WEBER I., POTIER P., THIERRY J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(39), 7083-7086.

b - Préparation du triflate 41

Pour la préparation du triflate, nous avons d'abord utilisé la méthode d'Hoffman et Tao¹⁴⁴. L'alcool 40 a été mis en réaction dans le dichlorométhane avec de l'anhydride triflique (Tf₂O) et de la 2,6-lutidine à 0°C pendant deux heures. Le problème de cette réaction est que le groupement triflate est un très bon groupe partant¹⁵⁰ ce qui rend le produit cible peu stable.

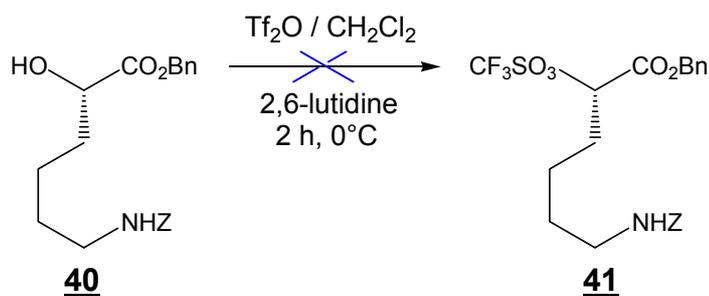


Schéma 78 : synthèse du triflate selon Hoffman et Tao

Nous avons donc pensé, dans un premier temps, utiliser le triflate obtenu sous sa forme brute pour ne pas risquer de le détruire.

Mais des sels de lutidine se forment au cours de la réaction et d'après la publication d'Hoffman et Tao, il est indispensable d'éliminer ces sels pour que le couplage entre le synthon A et le synthon C ait lieu. Par conséquent, nous avons tenté la méthode de purification proposée par Hoffman et Tao (précipitation des sels de lutidine dans le pentane puis filtration) mais celle-ci n'était pas applicable à notre produit du fait des problèmes de solubilisation du triflate 41 dans le pentane.

Dans un second temps, nous avons fait appel à M^{me} Josiane Thierry qui nous a fait part du mode opératoire employé par son équipe pour la formation du triflate. L'alcool 40 est mis en solution dans le dichlorométhane à -78°C avec l'anhydride triflique et la 2,6-lutidine puis la solution est remontée à température ambiante pendant 4 heures. Le produit est ensuite purifié dans l'heure par chromatographie sur colonne de gel de silice. Le triflate 41 obtenu dans notre cas avec un rendement de 41 % est pur d'après les données analytiques.

¹⁴⁴ HOFFMAN R. V., TAO J. *Methods in Molecular Medicine*, Vol. 23 : Peptidomimetics Protocols; Humana Press, W. M. Kazmiński. Ed. Totowa, p. 106-121.

¹⁵⁰ STANG P. J., HANACK M., SUBRAMANIAN L. R. *Synthesis*, **1982**, 85-126.

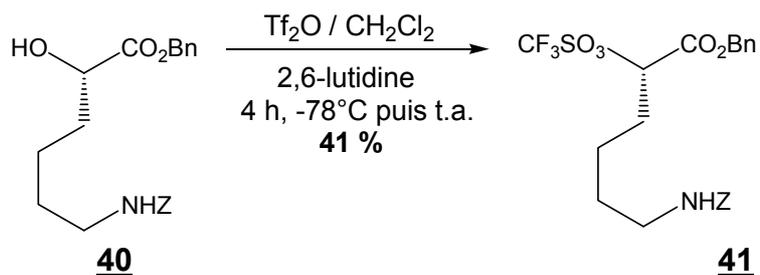


Schéma 79 : synthèse du triflate selon Thierry et coll.

4 - Couplage du β -cétoester allylique (synthon A) avec le triflate (synthon C)

La réaction de formation du cétoéthylène est une réaction de substitution nucléophile (S_N2) entre l'énolate du cétoester allylique **37** et le triflate **41**. Ce type de substitution a été réalisé pour la première fois par Hoffman et Kim¹⁵¹.

Nous avons suivi le mode opératoire décrit par Hoffman et coll.¹²⁸ Le triflate **41** est mis en réaction avec le β -cétoester allylique **37** dans le THF en présence d'hydrure de sodium pendant trois heures à température ambiante. Le produit **42** brut obtenu est directement utilisé dans l'étape suivante.

L'ester allylique du produit **42** est clivé et l'acide obtenu est décarboxylé pour obtenir à la fin le dérivé cétoéthylénique **43** désiré avec un rendement de 26 % (Schéma 80 page suivante).

¹⁵¹ HOFFMAN R. V., KIM H.-O. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34(13), 2051-2054.

¹²⁸ HOFFMAN R. V., MASLOUH N., CERVANTES-LEE F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(4), 1045-1056.

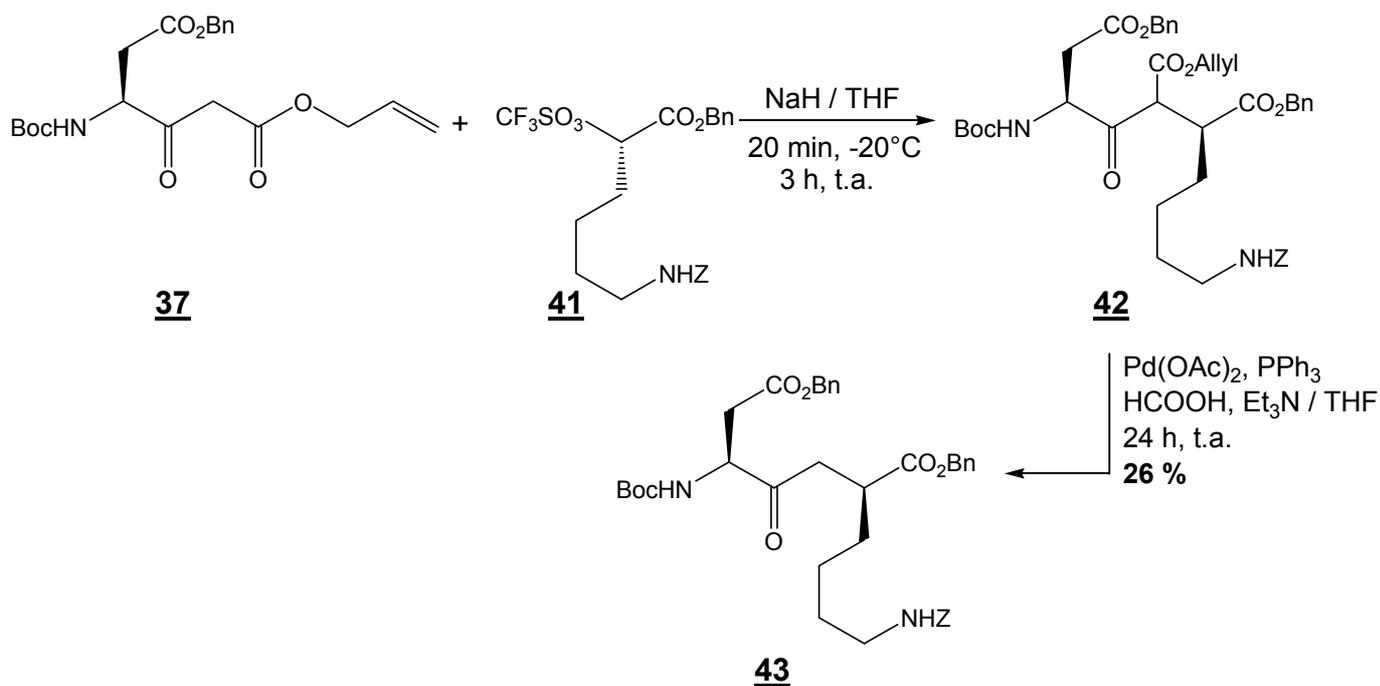


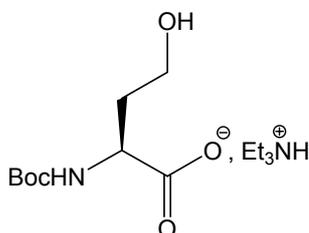
Schéma 80 : obtention du dérivé cétométhylénique

N^α-Boc-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Lys(Z)-OBn

En conclusion, nous avons préparé, en adaptant la méthode d'Hoffmann, le dérivé cétométhylénique **43** avec un rendement global de 8 % en trois étapes par rapport au *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OH commercial.

III - PARTIE EXPÉRIMENTALE

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate de triéthylammonium 14



$C_{15}H_{32}N_2O_5$

$M_r = 320 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt quantitatif

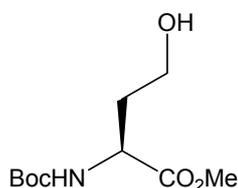
Une solution de L-homosérine commerciale (12,653 mmol ; 1,507 g) dans 15 mL d'acétone aqueuse (50 %) est traitée par 2,7 mL de triéthylamine (19 mmol ; 1,5 équ) et 3,15 g de $(\text{Boc})_2\text{O}$ (14 mmol ; 1,1 équ) à température ambiante. Le mélange est laissé sous agitation pendant la nuit puis le solvant est évaporé.

Le produit (12,65 mmol ; 4,05 g) est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse incolore non purifiée ultérieurement.

IR (NaCl ; film) : 3403 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 2978 (ν_{CH}) ; 2622 et 2495 (ν_{NH^+}) ; 1704 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1602 (δ_{NH}) ; 1391 et 1366 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1249 ($\nu_{\text{C-C-O}}$) ; 1171 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (D_2O ; 200 MHz) : 1,29 (9H, t, $J = 7,3$ Hz, 3CH_3 Et_3N) ; 1,44 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,90 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,22 (6H, q, $J = 7,2$ Hz, 3CH_2 Et_3N) ; 3,67 (2H, t, $J = 6,1$ Hz, CH_2OH) ; 4 (1H, m, CH_α).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate de méthyle 15



$C_{10}H_{19}NO_5$

$M_r = 233 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 27 %

875 μL d'iodure de méthyle (14 mmol ; 1,1 équ) sont ajoutés goutte à goutte et sous agitation à une solution de 14 (12,656 mmol ; 4,05 g) dans 30 mL de DMF à 0°C.

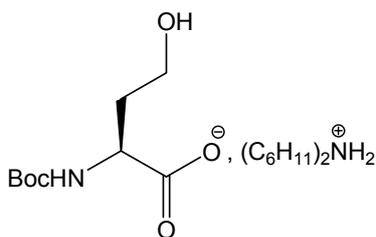
La réaction est laissée sous agitation pendant la nuit à température ambiante. La majorité du solvant est éliminée sous pression réduite et le résidu obtenu est dilué avec 45 mL d'AcOEt puis lavé avec 15 mL d'eau.

La phase aqueuse est extraite deux fois avec 15 mL d'AcOEt puis les phases organiques sont rassemblées, lavées successivement deux fois avec 15 mL d'acide citrique à 7 %, une fois avec 15 mL d'eau, une fois avec 15 mL d'une solution saturée de Na_2SO_3 , deux fois avec 15 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 et deux fois avec 15 mL d'une solution saturée de NaCl.

La phase organique finale est séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

IR (NaCl ; film) : 3375 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 2977 (ν_{CH}) ; 1694 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1602 (δ_{NH}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1251 ($\nu_{\text{C-C-O}}$) ; 1166 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) : 1,39 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,65 (1H, m, CH_β) ; 2,10 (1H, m, CH_β) ; 3,30 (1H, m, OH) ; 3,69 (2H, m, CH_2OH) ; 3,75 (3H, s, CO_2CH_3) ; 4,48 (1H, m, CH_α) ; 5,41 (1H, d, $J = 7,3$ Hz, NH).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate de dicyclohexylammonium 16**C₂₁H₄₀N₂O₅****M_r = 400 g.mol⁻¹****Rdt = 85 %****F = 151-153°C**

0,92 g de (Boc)₂O (4,08 mmol ; 1,2 éq) est dissous dans 2 mL de dioxane et la solution obtenue est ajoutée goutte à goutte à une solution de L-homosérine (3,4 mmol ; 404 mg) dans un mélange de dioxane / eau (4 mL / 6 mL) contenant 714 mg de NaHCO₃ (8,5 mmol ; 2,5 éq) à 0°C.

La solution est agitée pendant 24 heures à température ambiante puis évaporée à sec. Le résidu ainsi obtenu est dissous dans 8 mL d'eau et la phase aqueuse obtenue est lavée trois fois avec 8 mL d'Et₂O, acidifiée jusqu'à un pH = 2 avec une solution de NaHSO₄.H₂O à 5 % et extraite quatre fois avec de l'AcOEt.

Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à moitié.

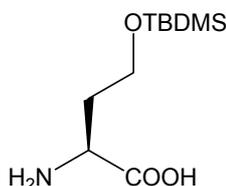
La dicyclohexylamine est ajoutée goutte à goutte jusqu'à l'obtention de la quantité maximale de précipité.

Le solide blanc pâteux ainsi obtenu est séché puis est mis dans un dessiccateur (KOH) relié à une trompe à eau pendant 2 jours.

Le produit (2,875 mmol ; 1,15 g) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3382 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 2940 (ν_{CH}) ; 2520 et 2420 (ν_{NH₂⁺}) ; 1719 (ν_{C=O}) ; 1392 et 1366 (δ_{CH₃} t-Bu) ; 1250 (ν_{C-C-O}) ; 1169 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (D₂O ; 200 MHz) : 1,10-1,29 (10H, m, 5CH₂ cHex) ; 1,42 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,64-2,03 (12H, m, 5CH₂ cHex et CH_{2β}) ; 3,21 (2H, m, 2CHNH₂⁺) ; 3,68 (2H, t, J = 6,2 Hz, CH₂OH) ; 3,91 (1H, m, CH_α).

Acide (2S)-amino-4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-butanoïque 17**C₁₀H₂₃NO₃Si****M_r = 233 g.mol⁻¹****Rdt = 82 %****F = 203-205°C**

La L-homosérine (16,8 mmol ; 2 g) est ajoutée à une solution de 9 g de TBDMSCI (58,8 mmol ; 3,5 éq) dans 20 mL de CH₃CN. La suspension obtenue est refroidie à 0°C puis 8,8 mL de DBU (57,12 mmol ; 3,4 éq) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité pendant 24 heures à température ambiante et sous atmosphère d'azote.

Le solvant est évaporé et le résidu solide obtenu est lavé plusieurs fois avec de l'Et₂O et décanté.

La phase étherée finale obtenue est lavée avec de l'eau, séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Nous avons obtenu un liquide visqueux qui se solidifie après séchage.

Le solide blanc gras obtenu est lavé plusieurs fois avec de l'Et₂O afin d'éliminer le silanol résiduel provenant du TBDMSCI.

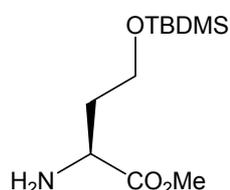
Le produit (13,734 mmol ; 3,2 g) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3434 et 3079 (ν_{NH_2} et ν_{COOH}) ; 2930 (ν_{CH}) ; 1638 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1407 (δ_{OH} acide) ; 1257 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1100 ($\nu_{\text{C-O}}$ et $\nu_{\text{C-N}}$) ; 1006 et 838 ($\nu_{\text{Si-O-C}}$) ; 776 ($\nu_{\text{Si-CH}_3}$).

RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) : -0,002 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 0,81 (9H, s, $\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,84 (1H, m, CH_β) ; 2,04 (1H, m, CH_β) ; 3,56 (1H, dd, $J = 4,5$ Hz et $J = 7,5$ Hz, CH_α) ; 3,75 (2H, t, $J = 6,2$ Hz, CH_2O) ; 4,78 (2H, s, NH_2).

RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) : -5,92 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 18,0 ($\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 25,45 ($\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 33,53 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 53,77 (CH_α) ; 60,98 (CH_2O) ; 173,25 (COOH).

(2S)-Amino-4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-butanoate de méthyle **18**



$\text{C}_{11}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{Si}$

$M_r = 247 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 90 %

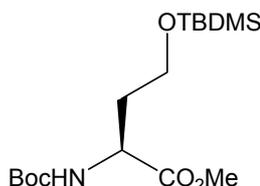
À une solution de $\text{H}_2\text{N-Hse}(\text{TBDMS})\text{-OH}$ **17** (8,6 mmol ; 2 g) dans 25 mL de MeOH et 85 mL de toluène, sont ajoutés 21,5 mL d'une solution de triméthylsilyldiazométhane 2 M / hexane (43 mmol ; 5 éq). Le mélange est agité pendant la nuit à température ambiante puis les solvants sont évaporés.

Le produit (0,77 mmol ; 190 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore ne nécessitant pas de purification supplémentaire.

IR (NaCl ; film) : 3385 (ν_{NH_2}) ; 2954 (ν_{CH_3}) ; 2930 (ν_{CH}) ; 1740 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1256 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1100 ($\nu_{\text{C-O}}$ et $\nu_{\text{C-N}}$) ; 1006 et 837 ($\nu_{\text{Si-O-C}}$) ; 777 ($\nu_{\text{Si-CH}_3}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,001 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 0,83 (9H, s, $\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,63-1,74 (3H, m, CH_β et NH_2) ; 1,93 (1H, m, CH_β) ; 3,57 (1H, dd, $J = 4,8$ Hz et $J = 7,9$ Hz, CH_α) ; 3,66 (3H, s, CO_2CH_3) ; 3,70 (2H, m, CH_2O).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-butanoate de méthyle **19**



$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{Si}$

$M_r = 347 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 95 %

Une solution de $\text{H}_2\text{N-Hse}(\text{TBDMS})\text{-OMe}$ **18** (7,7 mmol ; 1,9 g) dans 20 mL d'acétone et 20 mL d'eau est traitée par 1,6 mL de triéthylamine (11,55 mmol ; 1,5 éq) et 1,9 g de $(\text{Boc})_2\text{O}$ (8,47 mmol ; 1,1 éq) à température ambiante.

Le mélange est laissé sous agitation pendant la nuit.

Le solvant est évaporé et le résidu huileux obtenu est redissous dans 30 mL d'eau. La solution ainsi obtenue est extraite trois fois avec 60 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont ensuite rassemblées, lavées avec 100 mL d'une solution d'HCl 1 M, 100 mL d'une solution saturée de

NaCl, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

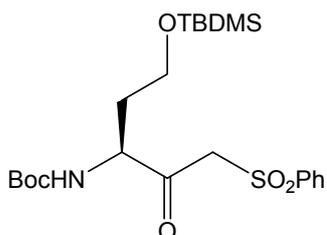
Le produit (7,35 mmol ; 2,55 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune non purifiée ultérieurement.

IR (NaCl ; film) : 3402 (ν_{NH}) ; 2956 (ν_{CH₃}) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1748 et 1721 (ν_{C=O}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1255 (ν_{C-C-O} asym) ; 1164 (ν_{O-C-C} asym) ; 1006 et 837 (ν_{Si-O-C}) ; 777 (ν_{Si-CH₃}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,032 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0,90 (9H, s, Si-C(CH₃)₃) ; 1,43 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,99 (2H, m, CH_{2β}) ; 3,71 (2H, m, CH₂O) ; 3,73 (3H, s, CO₂CH₃) ; 4,37 (1H, m, CH_α) ; 5,71 (1H, d, *J* = 7,1 Hz, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : -6,30 (Si(CH₃)₂) ; 18,60 (Si-C(CH₃)₃) ; 26,22 (Si-C(CH₃)₃) ; 28,68 (C(CH₃)₃ Boc) ; 34,15 (CH_{2β}) ; 52,35 et 52,72 (CH_α et CO₂CH₃) ; 60,05 (CH₂O) ; 79,86 (O-C(CH₃)₃) ; 155,91 (CO Boc) ; 173,43 (CO₂CH₃).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-phénylsulfone-5-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-pentan-2-one 20



C₂₂H₃₇NO₆SSi

M_r = 471 g.mol⁻¹

Rdt = 80 %

2,3 g de méthylphénylsulfone (14,64 mmol ; 2 éq) sont dissous dans 30 mL de THF anhydre sous atmosphère d'azote.

14,7 mL d'une solution de *n*-butyllithium 2,5 M / hexane (36,6 mmol ; 5 éq) sont ensuite ajoutés goutte à goutte à 0°C et la solution obtenue est agitée pendant 30 minutes sous atmosphère d'azote.

La température est abaissée à -30°C et l'ester **19** (7,32 mmol ; 2,54 g) en solution dans 15 mL de THF anhydre est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité pendant 4 heures à -30°C sous atmosphère d'azote.

Le mélange réactionnel est hydrolysé avec 3 mL d'HCl 1 M et 30 mL d'eau. La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite trois fois avec 50 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées trois fois avec 100 mL d'une solution saturée de NaCl puis séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

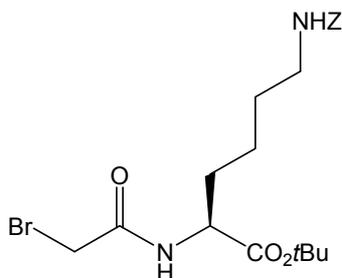
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 35 : 65). Le produit (5,73 mmol ; 2,7 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune claire.

IR (NaCl ; film) : 3382 (ν_{NH}) ; 2956 (ν_{CH}) ; 1714 (ν_{C=O}) ; 1504 et 1448 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1326 (ν_{SO₂} asym) ; 1254 (ν_{C-C-O} asym) ; 1157 (ν_{SO₂} sym et ν_{O-C-C} asym) ; 837 (ν_{Si-O-C}) ; 778 (ν_{Si-CH₃}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,001 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0,83 (9H, s, Si-C(CH₃)₃) ; 1,38 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,0 (2H, m,

$\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,66 (2H, m, CH_2O) ; 4,0-4,55 (3H, m, CH_α et $\text{CH}_2\text{SO}_2\text{Ph}$) ; 5,86 (1H, M, NH) ; 7,57 (3H, m, Ph) ; 7,88 (2H, m, Ph).

6-benzyloxycarbonyl-(2S)-(2-bromo-éthanoylamino)-hexanoate de *tert*-butyle 21



$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{BrN}_2\text{O}_5$

$M_r = 457 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 66 %

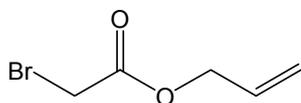
130 μL de bromure de bromoéthanoyle (1,48 mmol ; 1,1 éq) et 455 μL de triéthylamine (3,24 mmol ; 2,4 éq) sont ajoutés à une solution de H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (1,35 mmol ; 503 mg) dans 25 mL de CH_2Cl_2 . La solution ainsi obtenue est agitée pendant 15 heures à 0°C. Ensuite le mélange réactionnel est lavé trois fois avec 10 mL d'une solution d'acide chlorhydrique 1 M, trois fois avec 10 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 et une fois avec 30 mL d'eau. La phase organique est séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60). Le produit (0,897 mmol ; 410 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3335 (ν_{NH}) ; 2980, 2950 et 2870 (ν_{CH}) ; 1723 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1688 ($\nu_{\text{C=O}}$ Z) ; 1666 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1534, 1479 et 1468 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1133 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym) ; 639 ($\nu_{\text{C-Br}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 200 MHz) : 1,26-1,90 (15H, m+s, *t*-Bu, $\text{CH}_{2\beta}$, $\text{CH}_{2\gamma}$ et $\text{CH}_{2\delta}$) ; 3,18 (2H, q, $J = 6,3$ Hz, CH_2N) ; 3,87 (2H, s, CH_2Br) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 4,82 (1H, M, NH) ; 5,09 (2H, s, CH_2Ph) ; 7,01 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph).

2-Bromoacétate d'allyle 22



$\text{C}_5\text{H}_7\text{BrO}_2$

$M_r = 179 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 84 %

À 0°C, le bromure de bromoacétyle (100 mmol ; 8,9 mL) est ajouté goutte à goutte à l'aide d'un pousse seringue à une solution d'alcool allylique (600 mmol ; 41,7 mL ; 6 éq) sous agitation et sous atmosphère d'azote pendant 2 heures puis la réaction est laissée pendant 3 heures à température ambiante.

L'alcool allylique est évaporé sous pression réduite et le liquide rouge foncé résultant est dissous dans 120 mL de CH_2Cl_2 puis lavé trois fois avec 50 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 et trois fois avec 50 mL d'une solution saturée de NaCl. La solution est ensuite séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

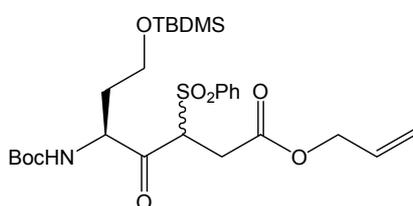
Le résidu liquide jaune foncé obtenu est distillé sous vide.

Le produit (83,80 mmol ; 15 g) est récupéré entre 68°C et 70°C sous 20 mm de Hg¹⁵² sous la forme d'un liquide incolore.

IR (NaCl ; film) : 2961 (ν_{CH}) ; 1741 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1649 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1280 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1165 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$) ; 988 ($\delta_{\text{CH}_2=\text{CH}}$).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 3,88 (2H, s, CH₂Br) ; 4,69 (2H, dd, $J = 1,1$ Hz et $J = 5,6$ Hz, CH₂O) ; 5,30 (1H, dd, $J = 1,1$ Hz et $J = 9$ Hz, CH₂=CH) ; 5,39 (1H, dd, $J = 1,5$ Hz et $J = 15,8$ Hz, CH₂=CH) ; 5,94 (1H, m, CH=CH₂).

(5S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxo-(3RS)-phénylsulfone-7-(tert-butylidiméthylsilanyloxy)-heptanoate d'allyle 23



C₂₇H₄₃NO₈SSi

M_r = 569 g.mol⁻¹

Rdt = 87 %

0,79 g de K₂CO₃ (5,73 mmol ; 1 éq) et 1,02 g de 2-bromoacétate d'allyle 22 (5,73 mmol ; 1 éq) sont ajoutés à une solution de β-cétosulfone 20 (5,73 mmol ; 2,7 g) dans 15 mL de DMF.

La réaction est agitée pendant 5 heures à température ambiante et sous atmosphère d'azote.

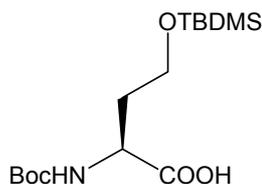
Le mélange réactionnel est dissous dans 250 mL d'AcOEt, lavé trois fois avec 100 mL d'une solution d'HCl à 10 %, séché sur du Na₂SO₄ anhydre, filtré et concentré.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 15 : 85). Le produit (4,98 mmol ; 2,83 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune claire.

IR (NaCl ; film) : 3396 (ν_{NH}) ; 3066 ($\nu_{\text{φCH}}$) ; 2956 (ν_{CH_2}) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1504 et 1448 ($\nu_{\text{φC=C}}$) ; 1367 ($\delta_{\text{CH}_3 t\text{-Bu}}$) ; 1326 ($\nu_{\text{SO}_2\text{asym}}$) ; 1252 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1173 ($\nu_{\text{SO}_2 \text{sym}}$ et $\nu_{\text{O-C-C asym}}$) ; 838 ($\nu_{\text{Si-O-C}}$) ; 778 ($\nu_{\text{Si-CH}_3}$).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,08 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0,92 (9H, s, Si-C(CH₃)₃) ; 1,50 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,90 (1H, m, CH_β) ; 2,22 (1H, m, CH_β) ; 2,90 (2H, m, CH₂CO₂allyl) ; 3,70 (2H, m, CH₂OTBDMS) ; 4,51 (2H, d, $J = 5,6$ Hz, CH₂OCO) ; 5,0 (1H, m, CHSO₂Ph) ; 5,24 (2H, m, CH₂=CH) ; 5,85 (1H, m, CH=CH₂) ; 7,63 (3H, m, Ph) ; 7,87 (2H, m, Ph).

¹⁵² TÓKE L., JÁSZAY Z. M., PETNEHÁZY I., CLEMENTIS G., VERECZKEY G. D., KÖVESDI I., ROCKENBAUER A., KOVÁTS K. *Tetrahedron*, **1995**, 51(33), 9167-9178.

Acide (2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-butanoïque 24**C₁₅H₃₁NO₅Si****M_r = 333 g.mol⁻¹****Rdt quantitatif**

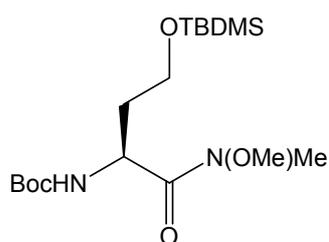
Une suspension de H-Hse(TBDMS)-OH 17 (8,58 mmol ; 2 g) dans 24 mL d'acétone et 24 mL d'eau est traitée par 1,8 mL de triéthylamine (12,87 mmol ; 1,5 éq) et 2,12 g de (Boc)₂O (9,439 mmol ; 1,1 éq) à température ambiante. Le mélange est laissé sous agitation pendant la nuit.

Le solvant est évaporé et le résidu huileux obtenu est redissous dans 40 mL d'eau. La solution obtenue est acidifiée à pH 3-4 avec une solution d'acide citrique à 5 % puis extraite trois fois avec 15 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

Le produit (7 mmol ; 2,3 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune claire ne nécessitant pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3335 (ν_{NH} et ν_{COOH}) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1715 (ν_{C=O}) ; 1393 et 1369 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1256 (ν_{C-C-O} *asym*) ; 1165 (ν_{O-C-C} *asym*) ; 1006 et 838 (ν_{Si-O-C}) ; 778 (ν_{Si-CH₃}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,103 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0,92 (9H, s, Si-C(CH₃)₃) ; 1,45 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,09 (2H, m, CH_{2β}) ; 3,82 (2H, m, CH_{2O}) ; 4,35 (1H, m, CH_α) ; 5,93 (1H, d, *J* = 6,0 Hz, NH).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-N,méthoxy-N,méthyl-butanamide 25**C₁₇H₃₆N₂O₅Si****M_r = 376 g.mol⁻¹****Rdt = 61 %****F = 38-40°C**

À un mélange de *N*^α-Boc-Hse(TBDMS)-OH 24 (6,6 mmol ; 2,2 g), de TBTU (6,6 mmol ; 2,12 g ; 1 éq), de HOBT (6,6 mmol ; 0,9 g ; 1 éq) et de diisopropyléthylamine (6,6 mmol ; 1,2 mL ; 1 éq) dans 80 mL de CH₂Cl₂, est ajouté à 0°C un mélange de 0,72 g du chlorhydrate de la *N,O*-diméthylhydroxylamine (7,26 mmol ; 1,1 éq) et de 1,3 mL de diisopropyléthylamine (7,26 mmol ; 1,1 éq) dans 40 mL de CH₂Cl₂.

Après agitation pendant la nuit à température ambiante, le solvant est éliminé sous pression réduite et le résidu huileux obtenu est redissous dans 200 mL d'AcOEt et 80 mL d'une solution de KHSO₄ à 5 %.

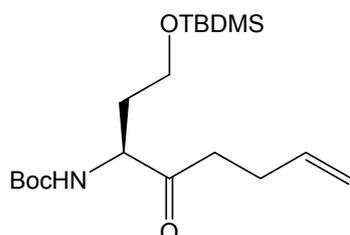
La phase organique est séparée, lavée avec 80 mL d'une solution de KHSO₄ à 5 %, 80 mL d'une solution de NaHCO₃ à 5 %, 80 mL d'une solution saturée de NaCl, séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70). Le produit (1,22 mmol ; 460 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$ Boc) ; 1668 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1391 et 1366 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1005 et 836 ($\nu_{\text{Si-O-C}}$) ; 777 ($\nu_{\text{Si-CH}_3}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,011 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 0,85 (9H, s, $\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,37 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,66 (1H, m, CH_β) ; 1,91 (1H, m, CH_β) ; 3,15 (3H, s, NCH_3) ; 3,63 (2H, m, CH_2O) ; 3,73 (3H, s, OCH_3) ; 4,69 (1H, m, CH_α) ; 5,40 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-oct-7-èn-4-one 26



$\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{Si}$

$M_r = 371 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 55 %

$[\alpha]_D^{23,1^\circ} = +21$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

La N^α -Boc-Hse(TBDMS)-N(OMe)Me **25** (1,17 mmol ; 440 mg) est dissoute dans 25 mL de THF distillé puis refroidie à -78°C sous atmosphère d'argon.

D'autre part, 0,14 g de magnésium (5,85 mmol ; 5 éq) est agité dans 1 mL de THF distillé puis une solution de 0,61 mL de 4-bromobut-1-ène (5,85 mmol ; 5 éq) dans 9 mL de THF distillé est ajoutée goutte à goutte afin de former le bromure de but-3-énylmagnésium (nous avons ajouté un peu d'iode pour activer le magnésium puis chauffé légèrement le ballon à l'aide d'un bain d'eau chaude).

Le bromure de but-3-énylmagnésium formé est alors ajouté à -78°C à la solution de Boc-Hse(TBDMS)-N(OMe)Me puis le mélange est remonté à température ambiante et agité pendant 4 heures.

75 mL d' Et_2O et 40 mL d'une solution de NH_4Cl à 5 % sont ajoutés, la phase organique est séparée, lavée avec de l'eau, séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 10 : 90). Le produit (0,641 mmol ; 238 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

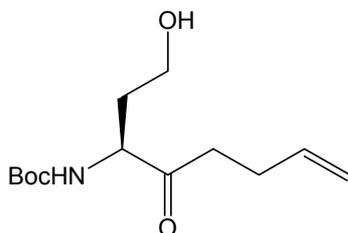
IR (NaCl ; film) : 3413 (ν_{NH}) ; 3080 (ν_{CH} vinyl) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1714 ($\nu_{\text{C=O}}$ cétone) ; 1643 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1005 et 837 ($\nu_{\text{Si-O-C}}$) ; 913 (δ_{CH} vinyl) ; 778 ($\nu_{\text{Si-CH}_3}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,054 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 0,90 (9H, s, $\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,45 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,97 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 2,34 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 2,66 (2H, m, CH_2CO) ; 3,69 (2H, t, $J = 5,8$ Hz, CH_2O) ; 4,30 (1H, q, $J = 5,6$ Hz, CH_α) ; 5,02 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,74-5,88 (2H, m+M, $\text{CH}=\text{CH}_2$ et NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : -4,90 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ; 18,54 ($\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 26,24 ($\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 27,83 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 28,71 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 33,67 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 38,86 (CH_2CO) ; 58,71 (CH_α) ; 60,24 (CH_2O) ; 79,90 ($\text{O-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 115,69

(CH=C $\underline{\text{H}}_2$) ; 137,43 (C $\underline{\text{H}}=\text{CH}_2$) ; 156,0 (C $\underline{\text{O}}$ Boc) ; 209,32 (C $\underline{\text{O}}$ cétone).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-1-hydroxy-oct-7-èn-4-one 27



$\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_4$

$M_r = 257 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 87 %

$[\alpha]_D^{23,7^\circ\text{C}} = +14$

(c = 1 ; CH $_2$ Cl $_2$)

La cétone **26** (3 mmol ; 1,124 g) est dissoute dans 60 mL de THF puis 3,6 mL de TBAF 1 M / THF (3,6 mmol ; 1,2 éq) sont ajoutés goutte à goutte.

La réaction est agitée pendant une heure à température ambiante puis diluée avec 100 mL d'Et $_2$ O, lavée avec 100 mL d'eau et 80 mL d'une solution saturée de NaCl.

La phase organique est séchée sur du Na $_2$ SO $_4$ anhydre, filtrée et concentrée.

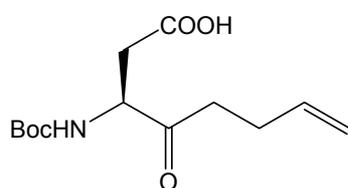
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60). Le produit (2,607 mmol ; 670 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3391 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 3080 (ν_{CH} vinyl) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1694 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1643 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1393 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1253 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 912 (δ_{CH} vinyl).

RMN ^1H (DMSO + D $_2$ O ; 300 MHz) : 1,42 (9H, s, C(CH $_3$) $_3$ Boc) ; 1,74 (2H, m, CH $_{2\beta}$) ; 2,22 (2H, m, CH $_2$ CH=CH $_2$) ; 2,57 (2H, m, CH $_2$ CO) ; 3,43 (2H, m, CH $_2$ OH) ; 4,05 (1H, dd, $J = 4,5$ Hz et $J = 9,4$ Hz, CH $_\alpha$) ; 5,01 (2H, m, CH=CH $_2$) ; 5,81 (1H, m, CH=CH $_2$).

RMN ^{13}C (DMSO ; 75 MHz) : 27,92 (CH $_{2\beta}$) ; 29,02 (C(CH $_3$) $_3$ Boc) ; 34,82 (CH $_2$ CH=CH $_2$) ; 37,80 (CH $_2$ CO) ; 57,51 (CH $_\alpha$) ; 58,08 (CH $_2$ OH) ; 78,74 (O-C(CH $_3$) $_3$) ; 115,86 (CH=CH $_2$) ; 138,42 (CH=CH $_2$) ; 156,0 (C $\underline{\text{O}}$ Boc) ; 210,75 (C $\underline{\text{O}}$ cétone).

Acide (3S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxo-oct-7-énoïque 28



$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_5$

$M_r = 271 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 71 %

$[\alpha]_D^{23,4^\circ\text{C}} = +2$

(c = 1 ; CH $_2$ Cl $_2$)

L'alcool **27** (0,78 mmol ; 200 mg) est dissoute dans 3,6 mL de DMF distillé puis 1,5 g de PDC (3,9 mmol ; 5 éq) sont ajoutés en une seule portion.

Après 3 heures d'agitation à température ambiante, la réaction est traitée avec 26 mL d'une solution saturée de NaHCO $_3$ puis le mélange est extrait une fois avec l'éther de pétrole.

La phase aqueuse est acidifiée à pH = 4 avec une solution d'HCl 1 M, puis elle est extraite deux fois avec de l'Et $_2$ O, séchée sur du Na $_2$ SO $_4$ anhydre, filtrée et concentrée.

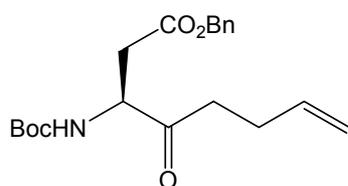
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 60 : 40 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (0,553 mmol ; 150 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3351 (ν_{NH} et ν_{COOH}) ; 2934 (ν_{CH}) ; 1714 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1394 et 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 916 (δ_{CH} vinyl).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,39 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,26 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 2,82-3,0 (4H, m, $2\text{CH}_2\text{CO}$) ; 4,37 (1H, m, CH_α) ; 4,94 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,52 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, NH) ; 5,72 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxo-oct-7-énoate de benzyle **29**



$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_5$

$M_r = 361 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 86 %

$[\alpha]_D^{24,7^\circ\text{C}} = +5$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

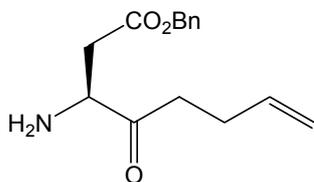
L'estérification est réalisée selon le même mode opératoire que pour le produit **12** (page 81) à partir du composé **28** (0,42 mmol ; 114 mg).

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80). Le produit (0,360 mmol ; 130 mg) est obtenu sous la forme d'une huile plus ou moins incolore.

IR (NaCl ; film) : 3369 (ν_{NH}) ; 3035 (ν_{CH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1642 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1252 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 914 (δ_{CH} vinyl).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,47 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,33 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 2,67 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$) ; 2,80 (1H, dd, $J = 4,8$ Hz et $J = 16,9$ Hz, CH_β) ; 3,05 (1H, dd, $J = 4,9$ Hz et $J = 17,3$ Hz, CH_β) ; 4,46 (1H, m, CH_α) ; 5,02 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,13 (2H, système AB, $J = 12,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,60 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, NH) ; 5,80 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 7,37 (5H, m, Ph).

(3S)-amino-4-oxo-oct-7-énoate de benzyle **30**



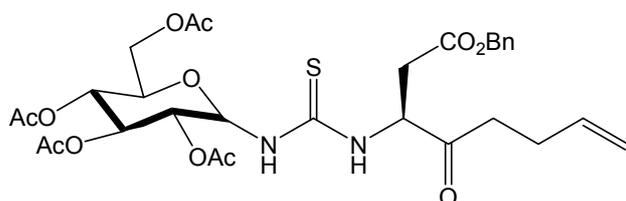
$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$

$M_r = 261 \text{ g.mol}^{-1}$

À une solution du produit **29** (0,027 mmol ; 10 mg) dans 2 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés 200 μL d'acide trifluoroacétique et la réaction est agitée pendant deux heures à température ambiante. Ensuite le solvant est évaporé et le résidu huileux obtenu est couplé sans purification avec le GITC.

RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) : 2,33 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 2,69 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$) ; 3,09 (1H, dd, $J = 6,7$ Hz et $J = 18$ Hz, CH_β) ; 3,19 (1H, dd, $J = 4,1$ Hz et $J = 18,0$ Hz, CH_β) ; 4,38 (1H, m, CH_α) ; 5,02 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,22 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,81 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 7,38 (5H, m, Ph).

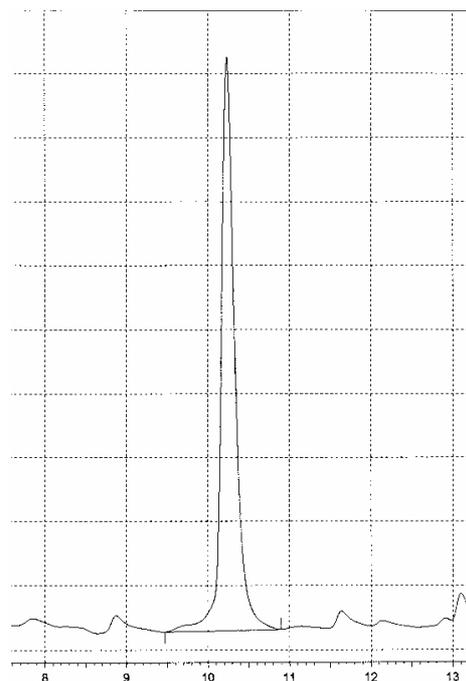
4-Oxo-3-[3-(3,4,5-triacétoxy-6-acétoxyméthyl-tétrahydropyran-2-yl)-thiouréido]-oct-7-énoate de benzyle 31



$C_{30}H_{38}N_2O_{12}S$

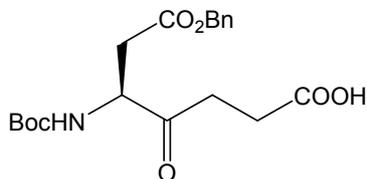
$M_r = 650 \text{ g.mol}^{-1}$

$t_R = 10,23 \text{ min}$



Chromatogramme

Ester 1-benzyle de l'acide (3S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxoheptanedioïque 32



$C_{19}H_{25}NO_7$

$M_r = 379 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 96 %

$[\alpha]_D^{23,5^\circ} = +9$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

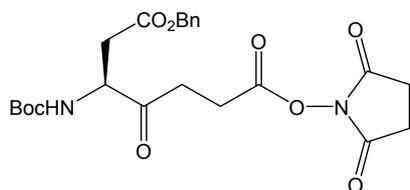
À un mélange du composé 30 (0,244 mmol ; 88 mg) dans 4 mL de CH_3CN et de periodate de sodium (1,708 mmol ; 360 mg ; 7 éq) dans 4 mL d'eau, sont ajoutés à $0^\circ C$ 5 mg de chlorure de ruthénium hydraté ($RuCl_3 \cdot xH_2O$) (0,022 mmol ; 0,09 éq).

Après agitation pendant une heure à température ambiante, 10 mL d'eau et 10 mL d' Et_2O sont ajoutés et les deux phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite une fois avec 15 mL d' Et_2O et une autre fois avec 15 mL d' $AcOEt$. Les trois phases organiques sont rassemblées, lavées avec 25 mL d'eau, séchées sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées.

Le produit (0,235 mmol ; 89 mg) est obtenu sous la forme d'une huile visqueuse ne nécessitant pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3355 (ν_{NH} et ν_{COOH}) ; 3035 ($\nu_{\phi CH}$) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1715 ($\nu_{C=O}$) ; 1456 ($\nu_{\phi C=C}$) ; 1393 et 1368 ($\delta_{CH_3 t-Bu}$) ; 1252 (ν_{C-C-O} asym) ; 1165 (ν_{O-C-C} asym).

RMN 1H ($CDCl_3$; 300 MHz) : 1,47 (9H, s, $C(CH_3)_3$ Boc) ; 2,65 (2H, t, $J = 6,7$ Hz, CH_2CO) ; 2,80-3,08 (4H, m, CH_2CO_2H et CH_2CO_2Bn) ; 4,52 (1H, m, CH_α) ; 5,13 (2H, système AB, $J = 12,8$ Hz, CH_2Ph) ; 5,62 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, NH) ; 7,36 (5H, m, Ph).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxo-heptanedioate de 1-benzyle et de 7-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle 33**C₂₃H₂₈N₂O₉****M_r = 476 g.mol⁻¹****Rdt = 49 %**

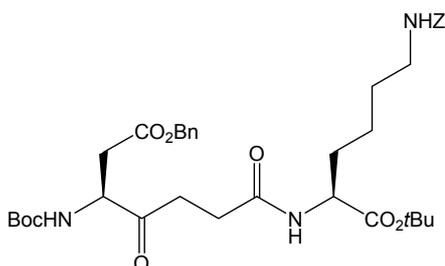
Ce produit est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit 5 (page 74) à partir du produit 32 (0,6 mmol ; 226 mg).

Le solide blanc pâteux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (0,294 mmol ; 140 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc :

IR (NaCl ; film) : 3327 (ν_{NH}) ; 2930 (ν_{CH}) ; 1817, 1785 et 1740 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1207 et 1070 (ν_{NO}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,47 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,83 (4H, s, 2CH₂CON) ; 2,87-3,16 (6H, m, CH₂CO, CH₂CO₂N et CH₂CO₂Bn) ; 4,51 (1H, m, CH_α) ; 5,12 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,60 (1H, d, J = 10,5 Hz, NH) ; 7,37 (5H, m, Ph).

N^α-Boc-L-Asp(OBn)-ψ(CO-CH₂)-Gly-L-Lys(Z)-OtBu 34**C₃₇H₅₁N₃O₁₀****M_r = 697 g.mol⁻¹****Rdt = 94 %****[α]_D^{24°C} = +14****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Le couplage peptidique est réalisé selon le même mode opératoire que pour le produit 6 (page 74) à partir du produit 33 (0,245 mmol ; 116,5 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,367 mmol ; 137 mg).

Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 60 : 40).

Le produit (0,229 mmol ; 160 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre très visqueuse.

IR (NaCl ; film) : 3326 (ν_{NH}) ; 2931 (ν_{CH}) ; 1716 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1248 (ν_{C-C-O asym}) ; 1159 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (DMSO ; 300 MHz) : 1,38 (18H, s, C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,23-1,82 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,26-2,82 (6H, m, CH₂CO, CH₂CONH et CH₂CO₂Bn) ; 2,97 (2H, q, J = 6,5 Hz, CH₂N) ; 4,02 (1H, m, CH_α Asp) ; 4,33 (1H, m, CH_α Lys) ; 4,99 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,08 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,57 (1H, d, J = 8,6 Hz, NH Lys) ; 7,34 (10H, m, 2Ph) ; 7,45 (1H, d, J = 8,2 Hz, NH Asp) ; 8,10 (1H, d, J = 9,0 Hz, NHZ).

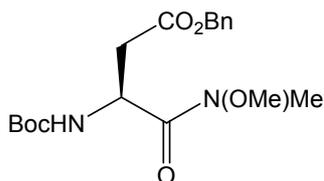
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 28,4 et 28,71 (2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 25,35, 29,73 et 30,24 (3CH₂ Lys) ; 32,56, 34,36, 36,16 et 40,99 (CH₂CO, CH₂CONH, CH₂CO₂Bn et CH₂N) ; 52,81 (CH_αNHBoc) ; 56,39 (CH_αCO₂tBu) ; 66,97 et 67,20 (2CH₂Ph) ; 80,68 et 82,52 (O-C(CH₃)₃ Boc et CO₂tBu) ; 128,46, 128,67, 128,78, 128,90 et 129,0 (10CH 2Ph) ; 135,79 et 137,07 (2Cq 2Ph) ; 155,80, 156,91 et 157,15

($\delta_{\text{CO Boc}}$, Z et amide) ; 171,96 et 172,0 ($\delta_{\text{CO}_2\text{Bn}}$ et $\delta_{\text{CO}_2t\text{Bu}}$) ; 208,03 ($\delta_{\text{CO cétone}}$).

SM (ESI ; mode positif) : 1416,7 [$2\text{M}+\text{Na}$]⁺ ; 720,2 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ ; 698 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 720,34692 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (calc. 720,3472).

Ester 1-benzyle de l'amide (3S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-N,méthoxy-N,méthyl-succinamide 35



C₁₈H₂₆N₂O₆

M_r = 366 g.mol⁻¹

Rdt = 91 %

F = 97-99°C

À une solution de *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OH commercial (1,86 mmol ; 600 mg) dans 10 mL de CH₂Cl₂, sont ajoutés 261 μL de triéthylamine (1,86 mmol ; 1 éq) suivis de 600 mg de TBTU (1,86 mmol ; 1 éq).

Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, 220 mg du chlorhydrate de la *N,O*-diméthylhydroxylamine (2,23 mmol ; 1,2 éq) sont ajoutés et à nouveau 314 μL de triéthylamine (2,23 mmol ; 1,2 éq).

La réaction est agitée à température ambiante pendant 24 heures.

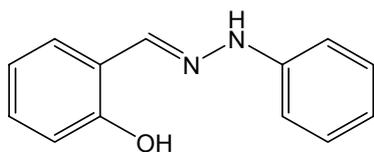
10 mL de CH₂Cl₂ sont ajoutés et la réaction est lavée trois fois avec chacune des solutions suivantes : une solution d'HCl à 10 %, une solution saturée de NaHCO₃ et une solution saturée de NaCl.

La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre filtrée et concentrée.

Le produit (1,685 mmol ; 617 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc ne nécessitant pas de purification.

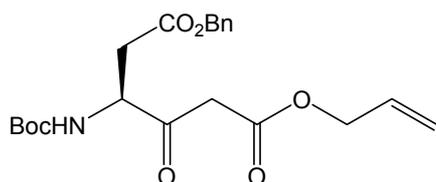
IR (KBr ; pastille) : 3325 (ν_{NH}) ; 3065 et 3034 (ν_{CH}) ; 2978 et 2939 (ν_{CH}) ; 1738 ($\nu_{\text{CO ester}}$) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O Boc}}$) ; 1667 ($\nu_{\text{C=O amide}}$) ; 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1391 et 1367 ($\delta_{\text{CH}_3 t\text{-Bu}}$) ; 1251 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1168 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,45 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,70 (1H, dd, *J* = 6,4 Hz et *J* = 15,4 Hz, CH_β) ; 2,84 (1H, dd, *J* = 5,2 Hz et *J* = 15,7 Hz, CH_β) ; 3,19 (3H, s, NCH₃) ; 3,76 (3H, s, OCH₃) ; 5,03 (1H, m, CH_α) ; 5,13 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,42 (1H, d, *J* = 9 Hz, NH) ; 7,35 (5H, m, Ph).

2-(phényl-hydrasonométhyl)-phénol 36**C₁₃H₁₂N₂O****M_r = 212 g.mol⁻¹****Rdt = 71 %****F = 141-142°C****(litt. 140-145°C)¹⁴³**

À une solution de phénylhydrazine (10 mmol ; 1,03 mL) dans 4 mL d'éthanol sous agitation est ajouté l'aldéhyde salicylique (10 mmol ; 1,06 mL) dissous dans 5 mL d'éthanol ; au cours d'une minute un précipité se forme et le mélange ainsi obtenu est agité pendant 30 minutes à température ambiante puis refroidi à -15°C. Le solide blanc est récupéré par filtration sous vide puis lavé avec de l'éthanol froid pour donner la phénylhydrazone dérivée de l'aldéhyde salicylique (7,10 mmol ; 1,50 g) sous forme d'un solide blanc ne nécessitant pas de purification.

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 6,89-7,35 (10H, m, 9CH₂ 2Ph et NH) ; 7,88 (1H, s, CH=N) ; 10,89 (1H, s, OH).

(3S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-oxo-hexanedioate de 6-allyle et de 1-benzyle 37**C₂₁H₂₇NO₇****M_r = 405 g.mol⁻¹****Rdt = 32 %****F = 48-51°C**

Dans un premier temps, à une solution de *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OH (1,25 mmol ; 404,5 mg) dans 6 mL de THF anhydre à température ambiante et sous atmosphère d'argon, sont ajoutés 220 mg de CDI (1,312 mmol ; 1,05 équ). La solution est agitée pendant une heure à température ambiante.

Parallèlement, à une solution de 615 μL de diisopropyléthylamine (4,375 mmol ; 3,5 équ) dans 6 mL de THF anhydre sous argon et à 0°C, sont ajoutés goutte à goutte 1,75 mL de *n*-butyllithium 2,5 M / hexane (4,375 mmol ; 3,5 équ). La solution est agitée à 0°C pendant 10 minutes sous argon puis refroidie à -78°C.

Une solution de 472 μL d'acétate d'allyle (4,375 mmol ; 3,5 équ) dans 3 mL de THF est ensuite ajoutée goutte à goutte et la solution est agitée pendant 15 minutes à -78°C et sous argon.

À cette solution jaune pâle d'énolate de lithium, est ajouté goutte à goutte l'imidazole préparé dans la première étape et la solution ainsi obtenue est agitée pendant deux heures à -78°C et sous argon.

La réaction est arrêtée avec 20 mL d'HCl 1 M puis extraite trois fois avec 30 mL d'AcOEt.

Les phases organiques sont rassemblées, lavées deux fois avec 40 mL d'une solution saturée de NaHCO₃, une fois avec 40 mL d'une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées sur silice et concentrées.

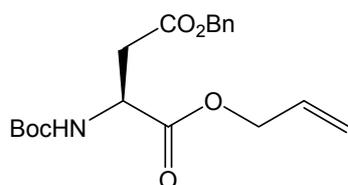
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80). Le produit (0,402 mmol ; 163 mg) est obtenu sous la forme d'un solide beige.

¹⁴³ LOVE B. E., JONES E. G. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64(10), 3755-3756.

IR (NaCl ; film) : 3371 (ν_{NH}) ; 2978 (ν_{CH}) ; 1733 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1167 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,38 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,74 (1H, dd, $J = 4,6$ Hz et $J = 17,8$ Hz, CH_β) ; 2,98 (1H, dd, $J = 4,8$ Hz et $J = 17,3$ Hz, CH_β) ; 3,59 (2H, s, CH_2CO_2 allyl) ; 4,53 (1H, m, CH_α) ; 4,55 (2H, dd, $J = 1,8$ Hz et $J = 6,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,05 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,23 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,57 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, NH) ; 5,83 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 7,28 (5H, m, Ph).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-succinate de 1-allyle et de 4-benzyle **38**



$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_6$

$M_r = 363 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 21%

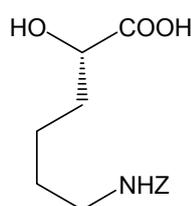
Le produit **38** est un sous-produit provenant de la préparation du β -cétostère **37**, moins polaire que ce dernier.

Ce sous-produit (0,262 mmol ; 95 mg) est isolé par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80) et est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3354 (ν_{NH}) ; 2935 (ν_{CH}) ; 1731 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1447 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1391 et 1366 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1152 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,89 (1H, dd, $J = 4,7$ Hz et $J = 17,5$ Hz, CH_β) ; 3,08 (1H, dd, $J = 5,0$ Hz et $J = 16,7$ Hz, CH_β) ; 4,60-4,68 (3H, m, CH_α et $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,14 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,28 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,50 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, NH) ; 5,87 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 7,36 (5H, m, Ph).

Acide 6-(benzyloxycarbonylamino)-(2S)-hydroxy-hexanoïque **39**



$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_5$

$M_r = 281 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt quantitatif

La H-Lys(Z)-OH commerciale (3,614 mmol ; 1,012 g) est dissoute dans 120 mL d'acide acétique à 50 % aqueux (60 mL d'acide acétique glacial + 60 mL d'eau).

Une solution de 2 g de nitrite de sodium (29 mmol ; 8 éq) dans 20 mL d'eau est ensuite ajoutée à 0°C et la réaction est agitée pendant 40 minutes à cette même température.

140 mL d'eau sont ajoutés et la réaction est extraite deux fois avec 140 mL d'AcOEt. Les deux phases organiques sont rassemblées, lavées avec 200 mL d'une solution d'HCl 0,1 M, séchées sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées.

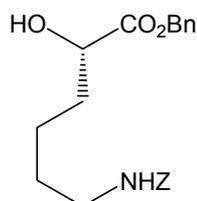
Le produit est soigneusement séché sous vide jusqu'à élimination totale de l'acide acétique restant.

L' α -hydroxyacide (3,56 mmol ; 1 g) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3454 et 3335 (ν_{NH} , ν_{OH} et ν_{COOH}) large bande en dentelle ; 2925 (ν_{CH}) ; 1683 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1586, 1539 et

1456 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$) ; 1260 ($\nu_{\text{C}-\text{OH}}$) ; 1127 ($\nu_{\text{O}-\text{C}-\text{C}_{\text{asym}}}$) ; 1102 ($\nu_{\text{C}-\text{N}}$).
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,40-1,59 (4H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$ et $\text{CH}_{2\delta}$) ; 1,82 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,22 (2H, q, $J = 6,4$ Hz, CH_2N) ; 4,28 (1H, m, CH_α) ; 4,94 (1H, M, NH) ; 5,11 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,40-56,06 (1H, M, COOH) ; 7,36 (5H, s, Ph).

6-(Benzyloxycarbonylamino)-(2S)-hydroxy-hexanoate de benzyle 40



$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_5$

$M_r = 371 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 40 %

L'acide **39** (3,56 mmol ; 1 g) est dissous dans 20 mL d'acétone puis 600 μL de triéthylamine (4,27 mmol ; 1,2 éq) sont ajoutés.

510 μL de bromure de benzyle (4,27 mmol ; 1,2 éq) sont ensuite ajoutés goutte à goutte et la réaction est agitée pendant six heures à température ambiante.

Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt.

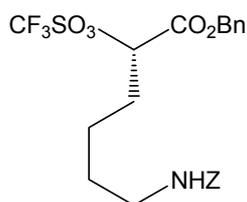
Cette phase organique est lavée deux fois avec une solution saturée de NaHCO_3 , deux fois avec une solution saturée de NaCl , séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60). Le composé (1,40 mmol ; 516 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3365 (ν_{NH} et ν_{OH}) ; 3066 et 3034 (ν_{CH}) ; 2937 (ν_{CH}) ; 1738 et 1699 ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) ; 1587, 1538 et 1455 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$) ; 1251 ($\nu_{\text{C}-\text{C}-\text{O}}$) ; 1126 ($\nu_{\text{O}-\text{C}-\text{C}_{\text{asym}}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,27-1,89 (6H, m, $\text{CH}_{2\beta}$, $\text{CH}_{2\gamma}$ et $\text{CH}_{2\delta}$) ; 3,17 (2H, q, $J = 6,4$ Hz, CH_2N) ; 4,23 (1H, m, CH_α) ; 4,75 (1H, M, NH) ; 5,10 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,20 (2H, système AB, $J = 12,4$ Hz, CH_2Ph) ; 7,36 (10H, m, 2Ph).

6-(Benzyloxycarbonylamino)-(2S)-(trifluorométhanesulfonyloxy)-hexanoate de benzyle **41**



$C_{22}H_{24}F_3NO_7S$

$M_r = 503 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 41 %

L'alcool **40** (0,816 mmol ; 302,7 mg) est dissous dans 5 mL de CH_2Cl_2 et la solution obtenue est refroidie à $-78^\circ C$ sous cryostat (acétone).

265 μL de 2,6-lutidine (2,284 mmol ; 2,8 éq) sont ajoutés goutte à goutte suivis de 276 μL d'anhydride triflique (1,632 mmol ; 2 éq). On laisse remonter la température du milieu réactionnel à température ambiante dans le bain d'acétone et la réaction est agitée sous argon pendant 4 heures.

5 g de silice sont directement ajoutés dans le milieu réactionnel avant évaporation du solvant sous pression réduite et à température ambiante.

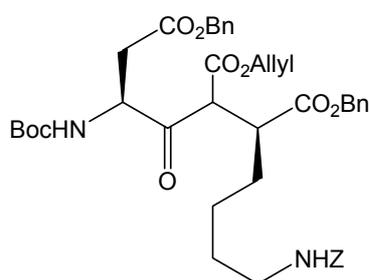
La chromatographie sur colonne de gel de silice réalisée dans l'heure (AcOEt / EP 20 : 80) permet d'obtenir le produit (0,338 mmol ; 170 mg) sous la forme d'une huile brunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3349 (ν_{NH}) ; 3068 et 3036 ($\nu_{\phi CH}$) ; 2942 (ν_{CH}) ; 1760 et 1715 ($\nu_{C=O}$) ; 1587, 1456 et 1417 ($\nu_{\phi C=C}$) ; 1326 ($\nu_{SO_2 \text{ asym}}$) ; 1246 ($\nu_{C-C-O \text{ asym}}$) ; 1144 ($\nu_{SO_2 \text{ sym}}$) ; 698 (ν_{CF_3}).

RMN 1H ($CDCl_3$; 300 MHz) : 1,36-1,59 (4H, m, $CH_{2\gamma}$ et $CH_{2\delta}$) ; 2,03 (2H, m, $CH_{2\beta}$) ; 3,17 (2H, q, $J = 6,5$ Hz, CH_2N) ; 4,71 (1H, M, NH) ; 5,11 (2H, s, CH_2Ph) ; 5,14 (1H, m, CH_α) ; 5,27 (2H, système AB, $J = 12,0$ Hz, CH_2Ph) ; 7,36 (10H, m, 2Ph).

RMN ^{19}F ($CDCl_3$; 282 MHz) : -75 (CF_3).

N^α -Boc-L-Asp(OBn)- ψ [CO-CH(CO₂Allyl)]-L-Lys(Z)-OBn **42**



$C_{42}H_{50}N_2O_{11}$

$M_r = 758 \text{ g.mol}^{-1}$

Une solution du β -cétoster **37** (0,294 mmol ; 119 mg) dans 2 mL de THF anhydre est ajoutée goutte à goutte à une suspension de 14 mg d'hydrure de sodium à 60 % dans l'huile minérale (0,353 mmol ; 1,2 éq) dans 2 mL de THF anhydre à $-20^\circ C$ et sous argon.

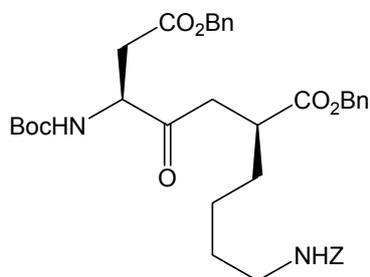
Le mélange est agité pendant 20 minutes à $-20^\circ C$ et sous argon, puis une solution de 162,7 mg du triflate **41** (0,323 mmol ; 1,1 éq) dans 1 mL de THF anhydre est ajouté à $-20^\circ C$. On laisse remonter à température ambiante et agiter pendant trois heures.

5 mL d'une solution d'HCl 1 M sont ajoutés et le mélange est extrait trois fois avec 10 mL d'AcOEt.

Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec 15 mL d'une solution saturée de $NaHCO_3$, 15 mL d'une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrées sur silice puis concentrées.

Le résidu huileux jaune obtenu est directement utilisé sans purification dans l'étape suivante.

N^α -Boc-L-Asp(OBn)- ψ (CO-CH₂)-L-Lys(Z)-OBn **43**



$C_{38}H_{46}N_2O_9$

$M_r = 674 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 26 %

$[\alpha]_D^{25^\circ C} = -10$

(c = 0,19 ; CH₂Cl₂)

Le produit **42** (0,294 mmol ; 223 mg) est dissous dans 2 mL de THF anhydre et la solution obtenue est ajoutée goutte à goutte à une solution de 1,6 mg de Pd(OAc)₂ ($7,23 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 0,024 éq), de 3,9 mg de PPh₃ (0,0147 mmol ; 0,05 éq), de 22 μ L d'acide formique (0,588 mmol ; 2 éq) et de 105 μ L de triéthylamine (0,735 mmol ; 2,5 éq) dans 2 mL de THF anhydre à température ambiante et sous atmosphère d'argon.

Le mélange est agité pendant la nuit à température ambiante, puis le solvant est évaporé.

Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,077 mmol ; 52 mg) est obtenu sous la forme d'une huile brune.

IR (NaCl ; film) : 3360 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{CH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1587 et 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1367 ($\delta_{\text{CH}_3} t\text{-Bu}$) ; 1251 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1165 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,37 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,10-1,72 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,45-2,91 (4H, m, CH₂CO et CH₂CO₂Bn) ; 3,05 (2H, q, J = 6,7 Hz, CH₂N) ; 4,38 (1H, m, CH _{α}) ; 4,62 (1H, m, CH _{α}) ; 4,97-5,16 (6H, m, 3CH₂Ph) ; 5,45 (1H, d, J = 8,3 Hz, NH) ; 7,22-7,29 (15H, m, 3Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 28,70 (C(CH₃)₃ Boc) ; 24,42, 30,02 et 31,74 (3CH₂ Lys) ; 36,08 (CH₂CO) ; 40,32 (CH _{α}) ; 40,89 (CH₂CO₂Bn) ; 41,10 (CH₂N) ; 56,28 (CH _{α}) ; 67,02, 67,14 et 67,25 (3CH₂Ph) ; 80,77 (O-C(CH₃)₃ Boc) ; 128,50, 126,68, 128,81, 128,85, 128,92, 128,94, 129,01 et 130,25 (15CH 3Ph) ; 135,76, 136,31 et 137,0 (3Cq 3Ph) ; 155,80 et 156,76 (2CO Boc et Z) ; 171,46 et 175,10 (2CO₂Bn) ; 206,90 (CO cétone).

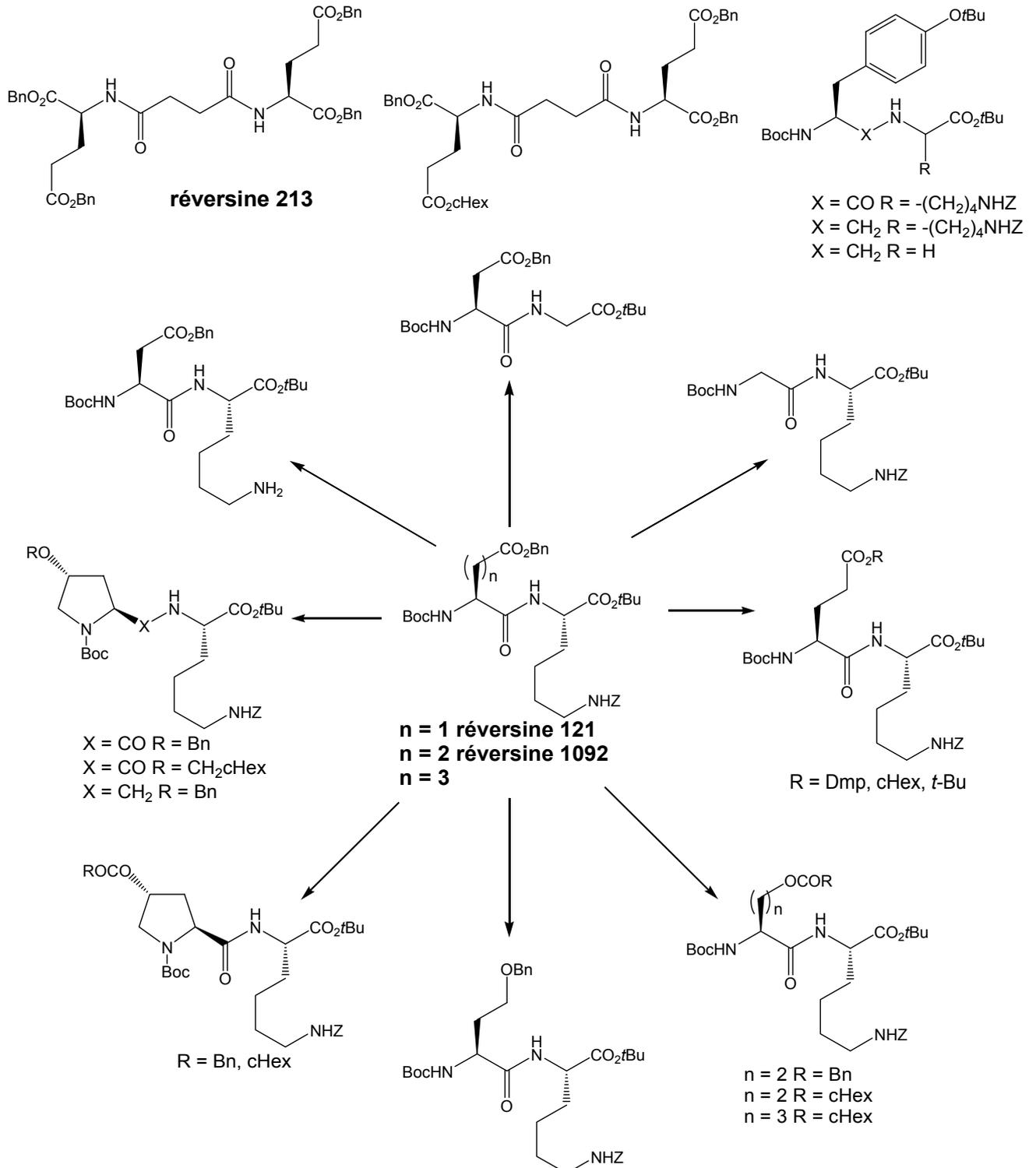
SM (ESI ; mode positif) : 1371,2 [2M+Na]⁺ ; 697,3 [M+Na]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 697,30991 [M+Na]⁺ (calc. 697,3101).

CHAPITRE IV
SYNTHÈSE DES RÉVERSINES DE RÉFÉRENCE,
DE LEURS ANALOGUES ET DES DÉRIVÉS DU
DIPEPTIDE Tyr-Gly

I - TRAVAUX PERSONNELS

Dans ce chapitre, nous allons exposer les travaux personnels ayant conduit à la synthèse des réversines 213, 121 et 1092, de leurs analogues modifiés au niveau des chaînes latérales selon les principes de pharmacomodulation exposé dans le premier chapitre ainsi que des dérivés du dipeptide Tyr-Gly.



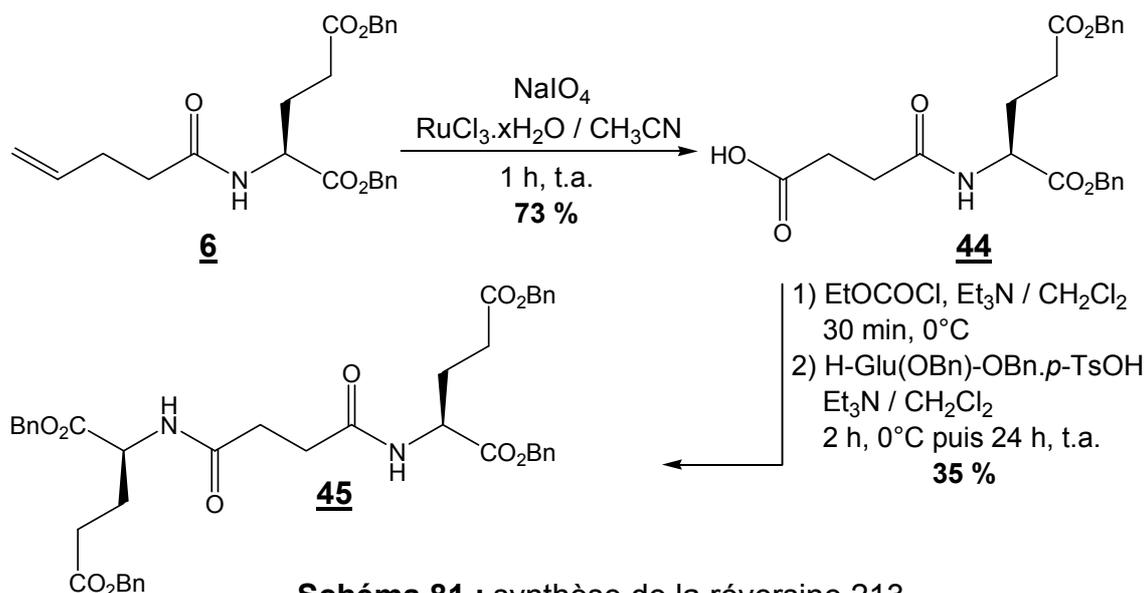
A - Synthèse des réversines de référence 213, 121 et 1092

1 - Synthèse de la réversine 213

Sarkadi et coll.⁴⁷ ont décrit la synthèse de la réversine 213 à partir du bis(pentafluorophényl)succinate. Ce dernier est couplé avec H-Glu(OBn)-OBn.HCl dans du DMF en présence de triéthylamine.

Dans notre cas, nous avons utilisé l'intermédiaire **6** que nous avons précédemment préparé (Schéma 21 page 55). Le clivage de la double liaison du produit **6** est réalisé avec le periodate de sodium et le chlorure de ruthénium hydraté dans l'acétonitrile selon le mode opératoire décrit par Kaiser et coll.¹¹⁵ avec un rendement de 73 %. La réversine 213 **45** est obtenue avec un rendement de 35 % après couplage en deux étapes « one-pot » de l'acide **44** avec l'acide glutamique doublement estérifié selon la méthode décrite par Lai et coll.¹⁵³ :

- activation de l'acide **44** sous forme d'anhydride mixte,
- couplage de l'anhydride mixte avec H-Glu(OBn)-OBn.*p*-TsOH commercial.



Nous avons ainsi synthétisé la réversine 213 en quatre étapes à partir de l'acide pent-4-énoïque avec un rendement global de 24 %.

⁴⁷ SARKADI B., SEPRŐDI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZŐ I., PALYI I., TEPLÁN I., VADÁSZ Z., VINCZE B. US 6,297,216 B1, 2 octobre 2001.

¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, 2003, 5(19), 3435-3437.

¹⁵³ LAI M. Y. H., BRIMBLE M. A., CALLIS D. J., HARRIS P. W. R., LEVI M. S., SIEG F. *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, 13(2), 533-548.

2 - Synthèse des réversines 121 et 1092

Sarkadi et coll.⁴⁷ ont synthétisé la réversine 121 par activation du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH avec du DCC puis couplage avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl dans le DMF et en présence de triéthylamine. La réversine 121 est ensuite recristallisée dans l'éthanol à 30 %.

Ces auteurs ont aussi synthétisé la réversine 1092 par couplage de l'ester activé N^α -Boc-Glu(OBn)-OPFP avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale dans le DMF et en présence de triéthylamine.

Dans notre cas, les réversines 121 et 1092 sont synthétisées en deux étapes « one-pot » selon le même mode opératoire de Lai et coll.¹⁵³ utilisé précédemment.

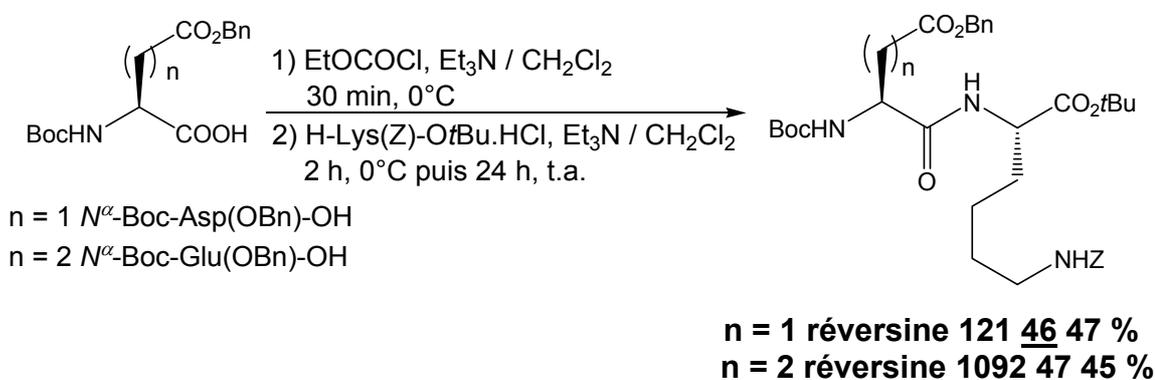


Schéma 82 : synthèse des réversines 121 et 1092

L'acide aspartique ou glutamique diprotégé commercial est activé sous forme d'anhydride mixte en présence de chloroformiate d'éthyle et de triéthylamine puis couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale.

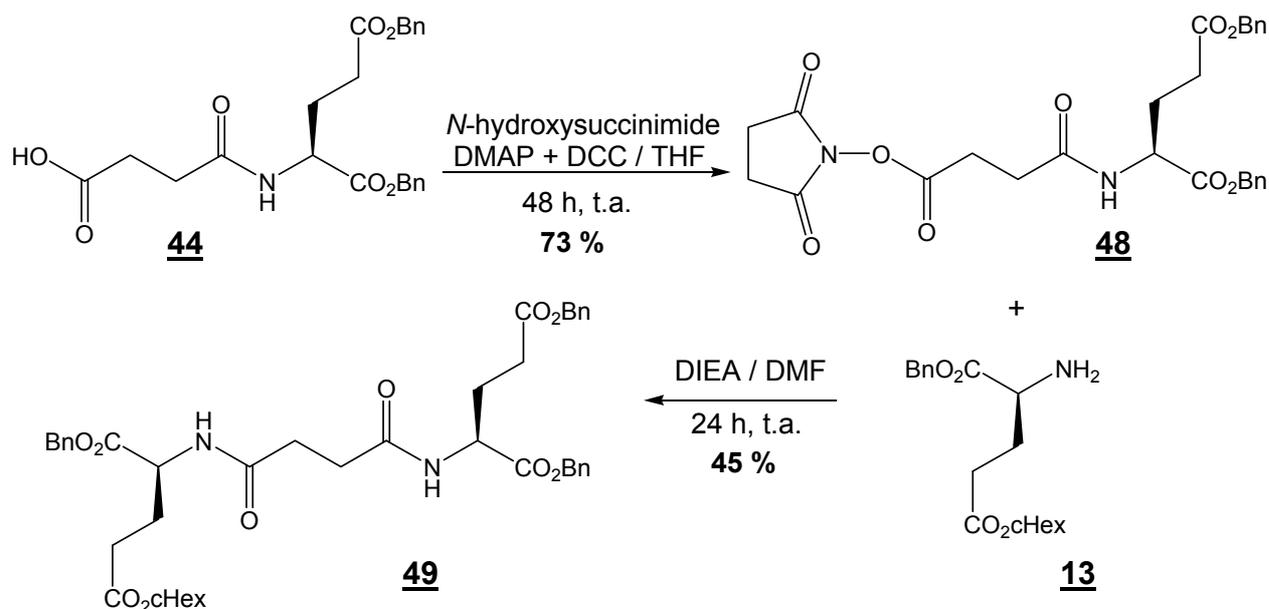
Les réversines 121 **46** et 1092 **47** sont obtenues avec un rendement de 47 et de 45 % respectivement après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice.

⁴⁷ SARKADI B., SEPRODI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZO I., PALYI I., TEPLAN I., VADASZ Z., VINCZE B. US 6,297,216 B1, 2 octobre 2001.

¹⁵³ LAI M. Y. H., BRIMBLE M. A., CALLIS D. J., HARRIS P. W. R., LEVI M. S., SIEG F. *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, 13(2), 533-548.

B - Synthèse d'un ester modifié de la réversine 213

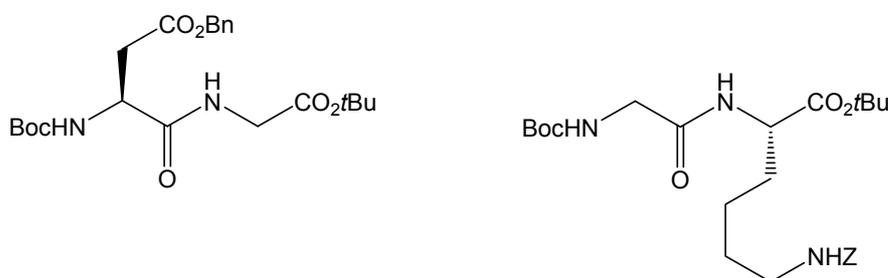
La synthèse de la réversine 213 ayant un ester cyclohexylique **49** est réalisée en deux étapes à partir de l'acide **44** (Schéma 81 page 150), qui est activé sous forme d'un ester *N*-succinimidylique avec un rendement de 73 % puis couplé avec l'amine **13** dont la synthèse est décrite précédemment (Schéma 27 page 62), pour donner la réversine **49** désirée avec un rendement de 45 %.



Le rendement global de cette synthèse à partir de l'acide pent-4-énoïque est de 22 %.

C - Synthèse des dérivés modifiés de la réversine 121

Dans cette partie, nous allons décrire la synthèse des deux dérivés Asp-Gly et Gly-Lys ci-dessous.



1 - Synthèse du N^{α} -Boc-Asp(OBn)-Gly-OtBu

Cette synthèse se fait par couplage peptidique des deux dérivés commerciaux, le N^{α} -Boc-Asp(OBn)-OSu et la H-Gly-OtBu.AcOH dans le DMF et en présence de

diisopropyléthylamine pendant 24 heures à température ambiante. Le dipeptide **50** est obtenu avec un rendement de 85 %.

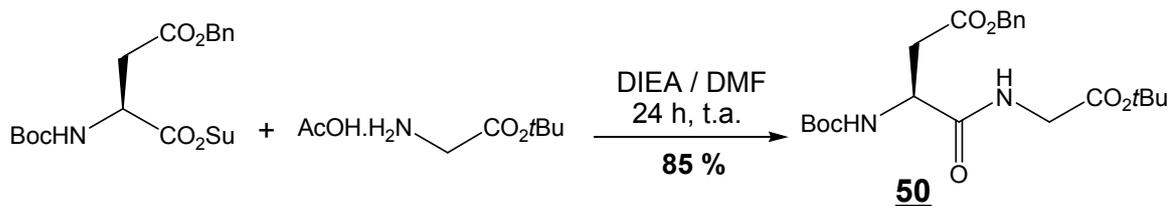


Schéma 84 : synthèse du N^{α} -Boc-Asp(OBn)-Gly-OtBu

2 - Synthèse du N^{α} -Boc-Gly-Lys(Z)-OtBu

Cette synthèse se fait par couplage peptidique des deux dérivés commerciaux, la N^{α} -Boc-Gly-OSu et la H-Lys(Z)-OtBu.HCl dans le DMF et en présence de diisopropyléthylamine pendant 24 heures à température ambiante. Le rendement du dipeptide **51** est de 76 %.

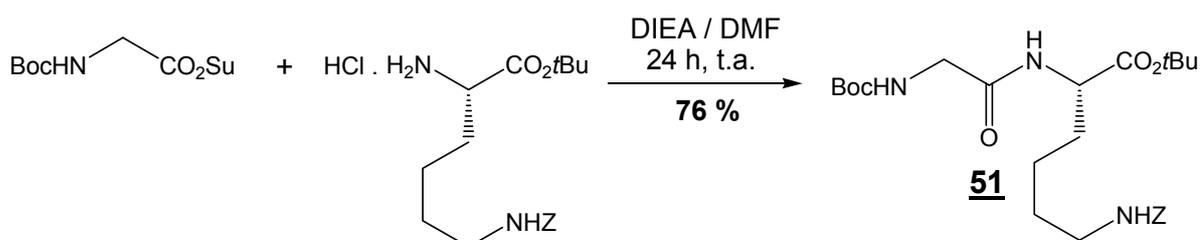
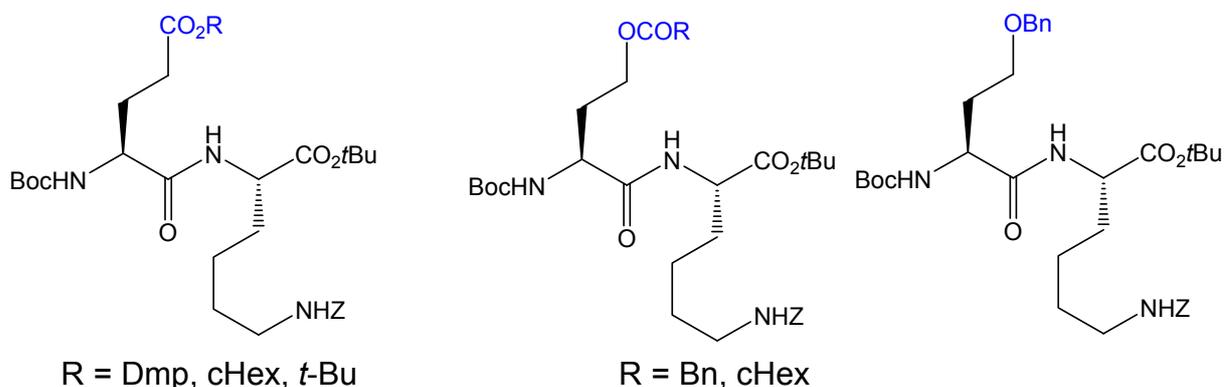


Schéma 85 : synthèse du N^{α} -Boc-Gly-Lys(Z)-OtBu

D - Synthèse des analogues de la réversine 1092

1 - Modification de la chaîne latérale en position N-terminale

Nous avons envisagé de synthétiser plusieurs analogues, modifiés au niveau de l'ester en N-terminal comme indiqué ci-dessous.



Pour les analogues de la réversine 1092 dont l'ester est de type $-\text{CO}_2\text{R}$, la synthèse est réalisée par une réaction de couplage peptidique entre l'acide glutamique N -protégé et dont l'acide en γ est estérifié sous forme de 2,4-diméthylpent-3-yle, de cyclohexyle ou de *tert*-butyle et la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale.

a - Synthèse du N^α -Boc-Glu(ODmp)-Lys(Z)-OtBu

Cette synthèse se fait en trois étapes à partir du composé N^α -Boc-Glu(ODmp)-OBn **10** que nous avons préparé antérieurement (Schéma 25 page 60).

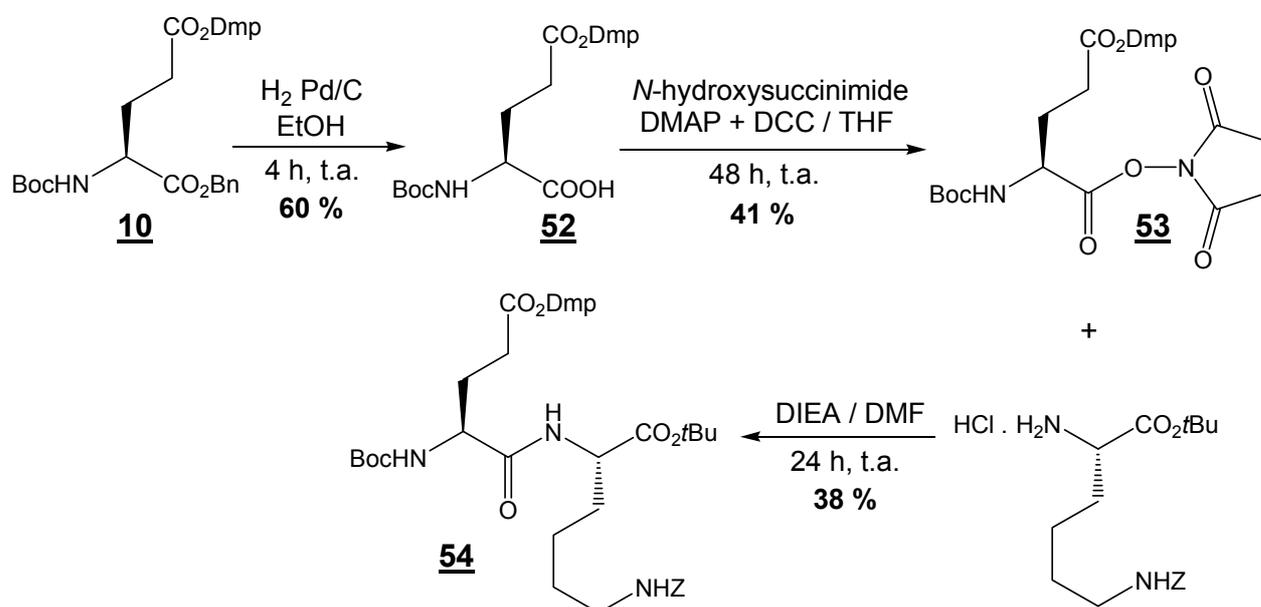


Schéma 86 : synthèse du N^α -Boc-Glu(ODmp)-Lys(Z)-OtBu

Dans leurs travaux Karlström et Undén⁹¹ ont réalisé l'hydrogénolyse du N^α -Boc-Asp(ODmp)-OBn avec un rendement de 35 %. En appliquant ces mêmes conditions pour déprotéger le N^α -Boc-Glu(ODmp)-OBn **10** (Schéma 25 page 60), nous avons obtenu l'acide **52** avec un rendement de 60 %. Ce dernier est ensuite activé sous forme d'un ester N -succinimidyle **53** puis couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale pour former l'analogue de la réversine 1092 **54** (Schéma 86). Le rendement global de cette synthèse est de 6 % à partir du N^α -Boc-Glu-OBn commercial.

⁹¹ KARLSTRÖM A., UNDÉN A. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(22), 3909-3912.

b - Synthèse du N^α -Boc-Glu(OcHex)-Lys(Z)-OtBu

Le dipeptide **56** est synthétisé de la même manière que pour l'analogue **54** en deux étapes avec un rendement global de 17 % à partir du N^α -Boc-Glu(OcHex)-OH commercial.

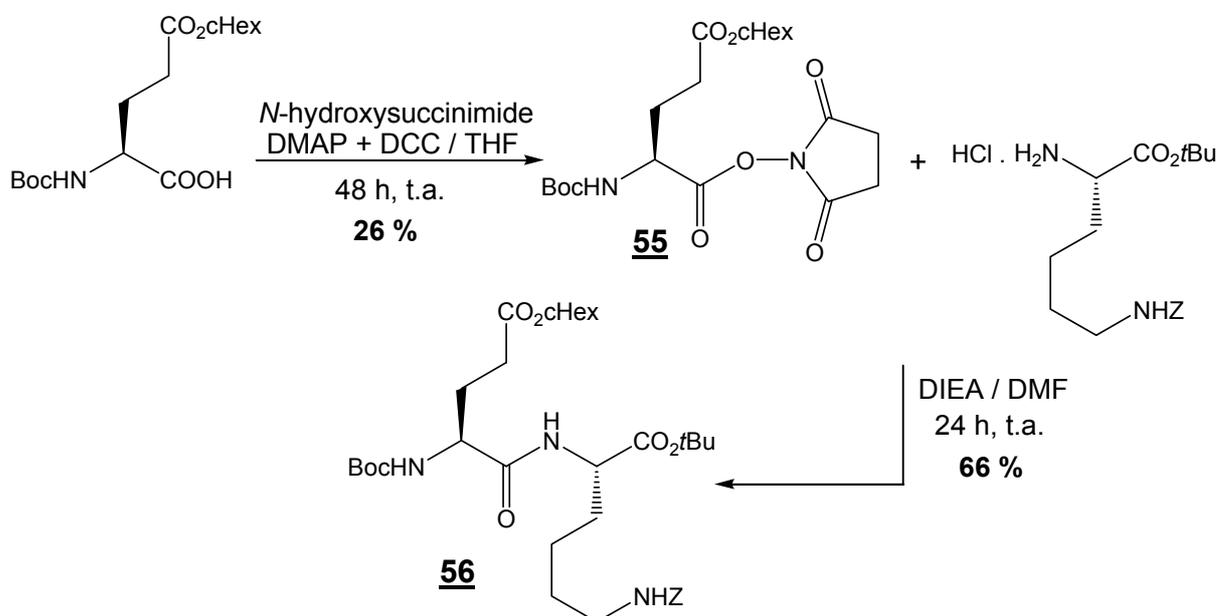


Schéma 87 : synthèse du N^α -Boc-Glu(OcHex)-Lys(Z)-OtBu

c - Synthèse du N^α -Boc-Glu(OtBu)-Lys(Z)-OtBu

Cette synthèse est réalisée en deux étapes « one-pot » selon la méthode de Lai et coll.¹⁵³ utilisée précédemment (Schéma 81 page 150) à partir du N^α -Boc-Glu(OtBu)-OtBu commercial.

Rao et coll.¹⁵⁴ réalisent le couplage peptidique entre la N^α -Boc-Pro-OH et l'H-Ala-OMe.HCl en deux étapes « one-pot » en utilisant 1,1 équivalents de triéthylamine pour la formation de l'anhydride mixte et 2,2 équivalents pour le couplage. Nous avons retenu le même mode opératoire de Lai et coll. pour effectuer le couplage entre le N^α -Boc-Glu(OtBu)-OtBu et la H-Lys(Z)-OtBu.HCl mais cette fois avec 1,1 équivalents de triéthylamine pour la première étape et 2,2 équivalents pour la seconde étape en espérant ainsi améliorer le rendement de la réaction.

¹⁵³ LAI M. Y. H., BRIMBLE M. A., CALLIS D. J., HARRIS P. W. R., LEVI M. S., SIEG F. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13(2), 533-548.

¹⁵⁴ RAO I. N., BORUAH A., KUMAR S. K., KUNWAR A. C., DEVI A. S., VYAS K., RAVIKUMAR K., IQBAL J. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69(6), 2181-2184.

L'analogue de la réversine 1092 **57** est obtenu avec un rendement satisfaisant de 80 %.

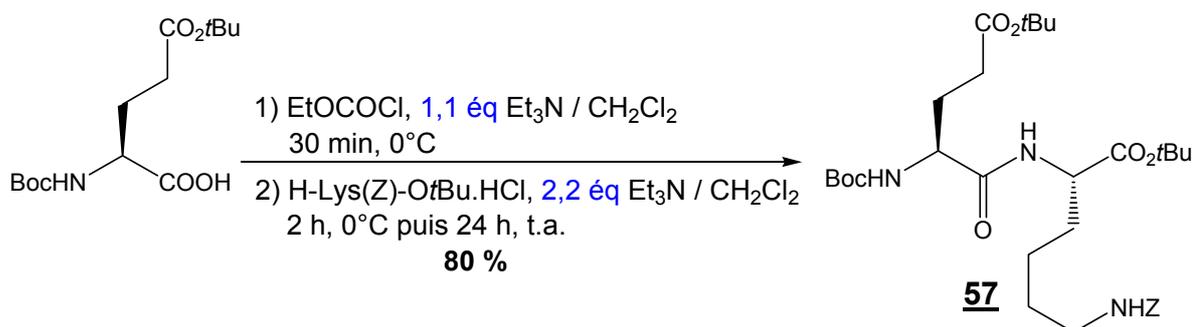
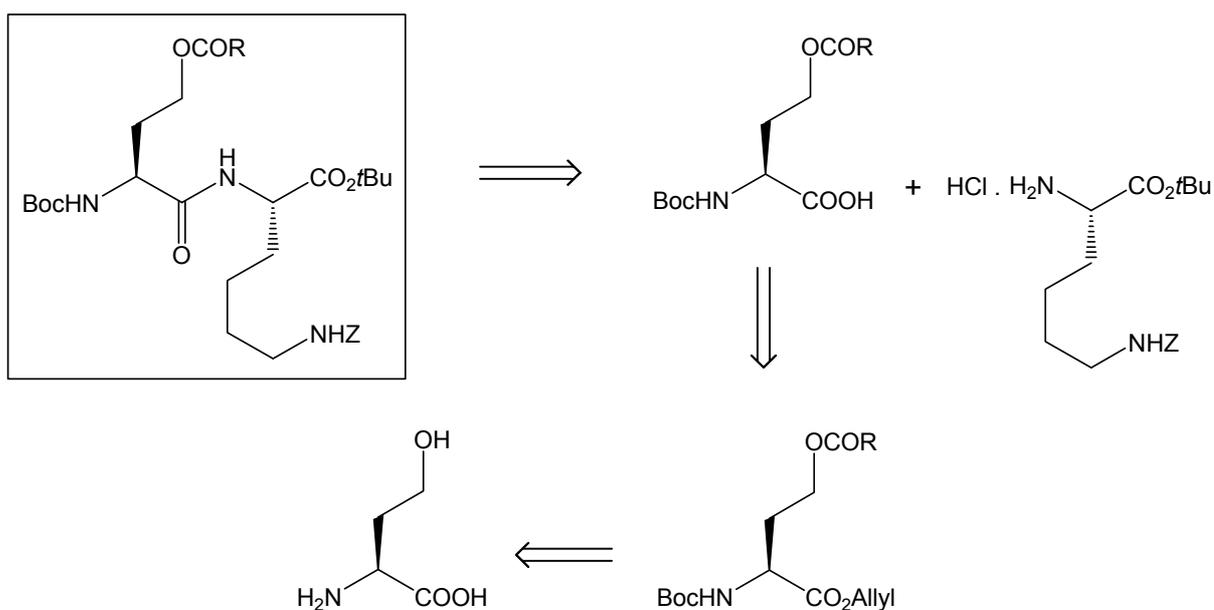


Schéma 88 : synthèse du N^α -Boc-Glu(OtBu)-Lys(Z)-OtBu

d - Synthèse du N^α -Boc-Hse(COR)-Lys(Z)-OtBu

Pour les analogues de la réversine 1092 dont l'ester est de type –OCOR, la chaîne latérale du résidu N -terminal sera de type homosérine.

La synthèse se fait à partir de la L-homosérine dont les fonctions acide et amine doivent être préalablement protégées. Ensuite, l'estérification de l'alcool suivie de la déprotection de l'acide et couplage avec le dérivé de la lysine commerciale conduirait à l'analogue de la réversine 1092 désiré. Nous avons choisi de protéger l'acide de l'homosérine sous forme d'ester allylique car cet ester est clivé dans des conditions ne touchant pas l'ester benzylique.



i - Synthèse de la N^α -Boc-Hse-OAllyl

Carrasco et Brown¹⁵⁵ ont synthétisé la N^α -Boc-Hse-OAllyl en deux étapes « one-pot » à partir de la L-homosérine. L'amine de la L-homosérine est d'abord protégée en présence de $(\text{Boc})_2\text{O}$ et de NaOH dans l'acétonitrile aqueux. Le dérivé protégé sous forme de sel sodique obtenu réagit ensuite avec le bromure d'allyle dans le DMF pour former la N^α -Boc-Hse-OAllyl avec un rendement de 64 %. Dans notre cas le produit **58** est obtenu avec un rendement de 78 %.

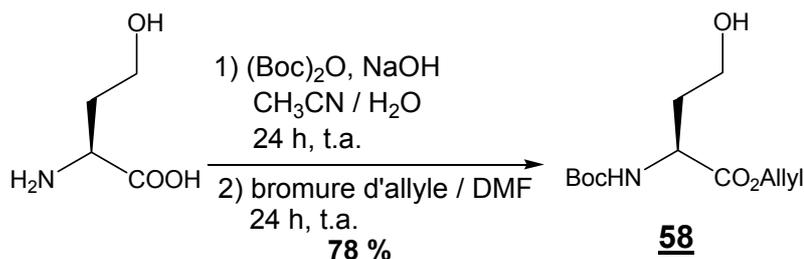


Schéma 89 : synthèse de la N^α -Boc-Hse-OAllyl

ii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(COR)-OAllyl

L'alcool **58** est estérifié avec l'acide phénylacétique dans le dichlorométhane en présence de DCC et de DMAP selon le mode opératoire décrit par Karlström et Undén⁹¹. L'ester **59a** est ainsi obtenu avec un rendement médiocre de 20 %.

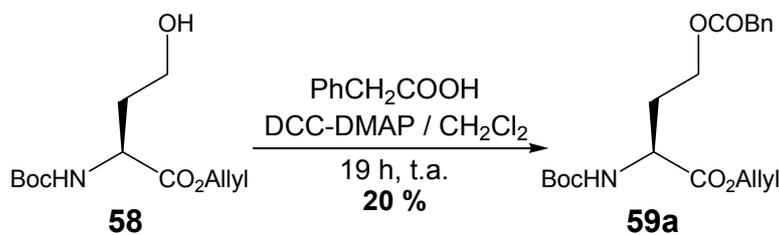


Schéma 90 : préparation de la N^α -Boc-Hse(COBn)-OAllyl

Seko et coll.¹⁵⁶ ont estérifié l'alcool de la N^α -Boc-Ser-OCH₂(4-OMe)Ph avec un rendement de 94 % en présence de 1,2 équivalents de chlorure de cyclohexanoyl et de 1,5 équivalents de triéthylamine dans le dichlorométhane pendant une nuit à

¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

⁹¹ KARLSTRÖM A., UNDÉN A. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(22), 3909-3912.

¹⁵⁶ SEKO T., KATO M., KOHNO H., ONO S., HASHIMURA K., TAKIMIZU H., NAKAI K., MAEGAWA H., KATSUBE N., TODA M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11(8), 1901-1913.

température ambiante. Nous avons adapté cette méthode pour estérifier l'alcool **58**. La réaction est totale en utilisant 1,7 équivalents de chlorure de cyclohexanoyle et 2 équivalents de triéthylamine. L'ester **59b** est obtenu avec un rendement de 90 %.

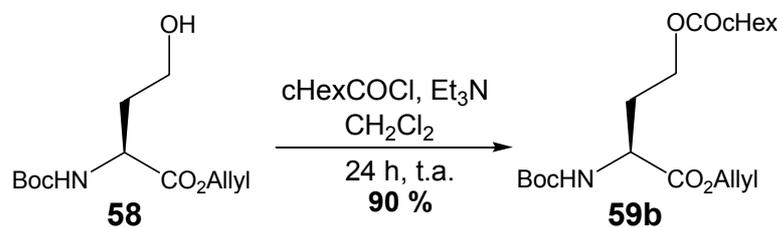


Schéma 91: préparation de la N^α -Boc-Hse(COHex)-OAllyl

iii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(COR)-OH

Le clivage de chacun des deux esters allyliques **59a** et **59b** selon le mode opératoire de Carrasco et Brown¹⁵⁵ conduit respectivement à l'acide **60a** avec un rendement quantitatif et à l'acide **60b** avec un rendement de 70 %.

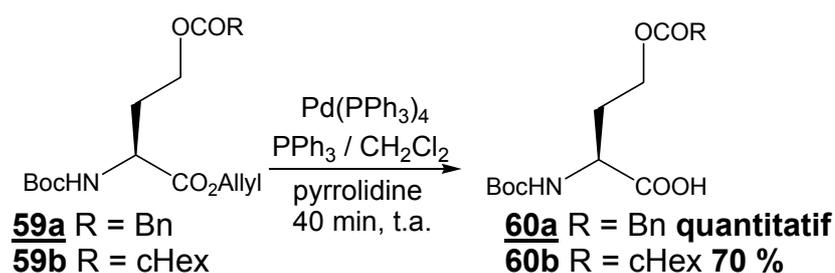
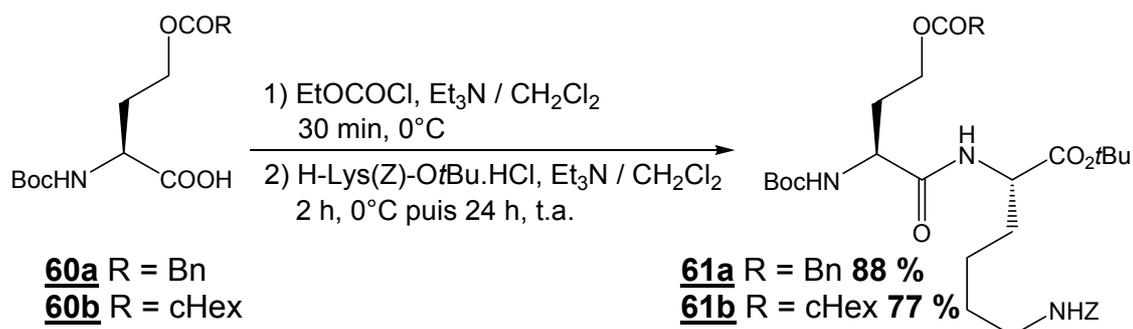


Schéma 92 : préparation de la N^α -Boc-Hse(COBn)-OH

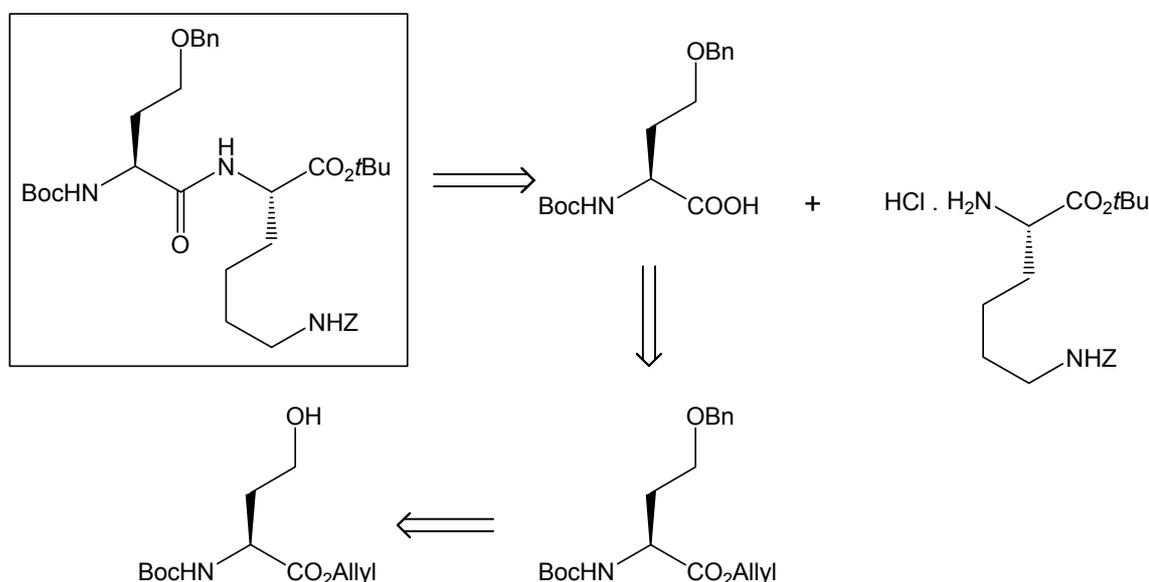
iv - Synthèse du N^α -Boc-Hse(COR)-Lys(Z)-OtBu

Les deux acides **60a** et **60b** sont couplés avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale en deux étapes « one-pot » dans les mêmes conditions que précédemment. Les deux dipeptides **61a** et **61b** sont obtenus avec un rendement de 88 et de 77 % respectivement.

¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

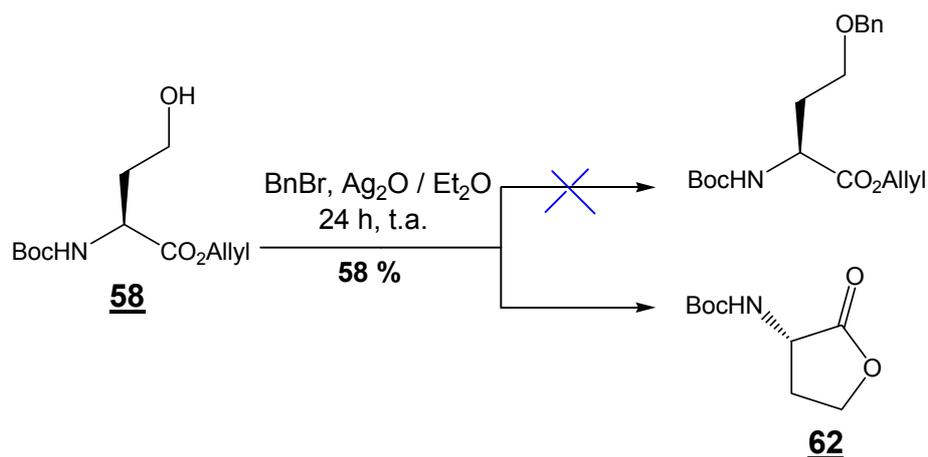
Schéma 93 : synthèse du N^α -Boc-Hse(COR)-Lys(Z)-OtBue - Synthèse du N^α -Boc-Hse(Bn)-Lys(Z)-OtBu

Nous avons envisagé pour la synthèse de cet éther, d'utiliser la même stratégie de synthèse que celle décrite pour les analogues **61a** et **61b** à partir de l'alcool **58**.

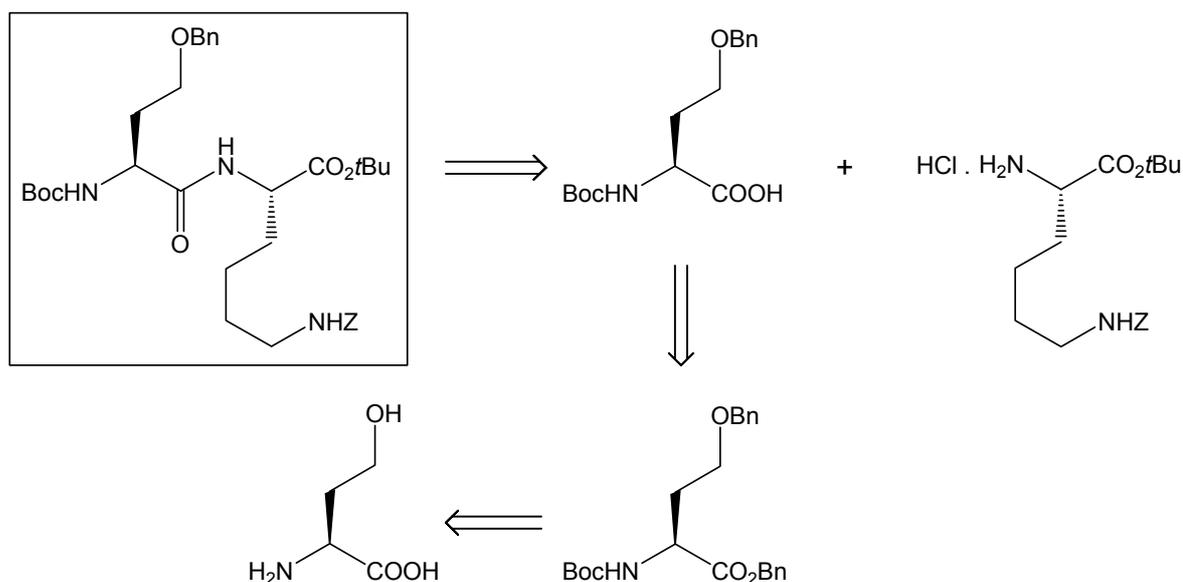
i - Synthèse de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OAllyl

Yokokawa et coll.¹⁵⁷ ont synthétisé la N^α -Boc-Nva(δ -OBn)-OBn avec un rendement de 82 % à partir de la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn en présence de bromure de benzyle et d'oxyde d'argent dans l'éther éthylique. En travaillant dans les mêmes conditions sur l'alcool **58**, nous avons isolé un solide blanc en quantité importante après précipitation et un liquide visqueux issu des eaux mères. D'après les spectres IR, RMN ¹H et SM, nous avons pu déterminer la structure du solide obtenu comme étant le dérivé de la γ -butyrolactone **62**.

¹⁵⁷ YOKOKAWA F., INAZUMI A., SHIOIRI T. *Tetrahedron*, **2005**, 61(6), 1459-1480.



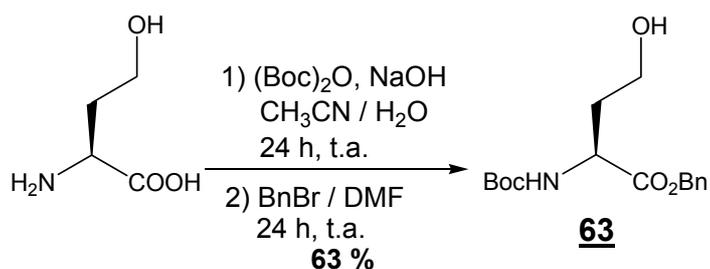
Nous avons essayé de réaliser cette réaction d'éthérisation sur l'ester benzylique dérivé de l'homosérine N -protégée. L'hydrolyse basique de l'ester benzylique devrait ensuite permettre d'obtenir l'acide correspondant qui, par couplage avec le dérivé de la lysine commerciale aboutirait au dipeptide cible.



ii - Synthèse de la N^α -Boc-Hse-OBn

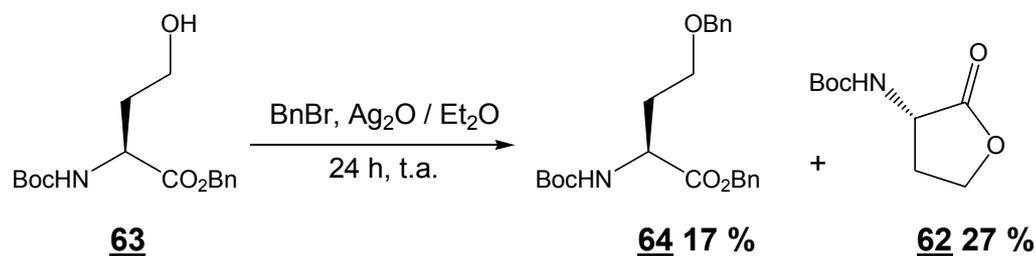
Nous avons synthétisé l'alcool **63** avec un rendement de 63 % selon le mode opératoire de Carrasco et Brown¹⁵⁵ employé précédemment en remplaçant le bromure d'allyle par le bromure de benzyle.

¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

Schéma 95 : synthèse de la *N*^α-Boc-Hse-OBniii - Synthèse de la *N*^α-Boc-Hse(Bn)-OBn

En faisant réagir le bromure de benzyle sur l'alcool **63** en présence d'oxyde d'argent selon le mode opératoire de Yokokawa et coll.¹⁵⁷, nous avons aussi isolé le dérivé de la γ -butyrolactone **62** après précipitation avec un rendement de 27 %. L'éther **64** est ensuite isolé avec un rendement médiocre de 17 % après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice du liquide visqueux issu des eaux mères.

La formation de cette γ -butyrolactone, à partir de l'ester méthylique de l'homosérine *N*^α-protégée, a été en effet décrite dans la littérature¹⁵⁸.

Schéma 96 : synthèse de la *N*^α-Boc-Hse(Bn)-OBniv - Synthèse de la *N*^α-Boc-Hse(Bn)-OH

L'ester benzylique **64** est ensuite hydrolysé en présence d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium 0,5 M selon le mode opératoire de Yokokawa et coll.¹⁵⁷ décrit sur la *N*^α-Boc-Nva(δ -OBn)-OBn. L'acide **65** est obtenu avec un rendement de 74 %.

¹⁵⁷ YOKOKAWA F., INAZUMI A., SHIOIRI T. *Tetrahedron*, **2005**, 61(6), 1459-1480.

¹⁵⁸ SHIKATA K., NIRO H., AZUMA H., TACHIBANA T., OGINO K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13(4), 613-616.

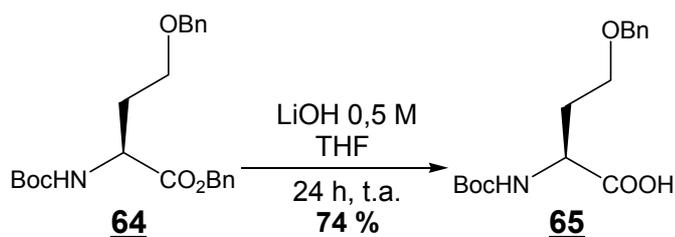


Schéma 97 : synthèse de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OH

v - Synthèse du N^α -Boc-Hse(Bn)-Lys(Z)-OtBu

L'acide **65** est enfin couplé avec le dérivé de la lysine commerciale dans les conditions décrites précédemment pour former le dipeptide **66** souhaité avec un rendement de 56 %.

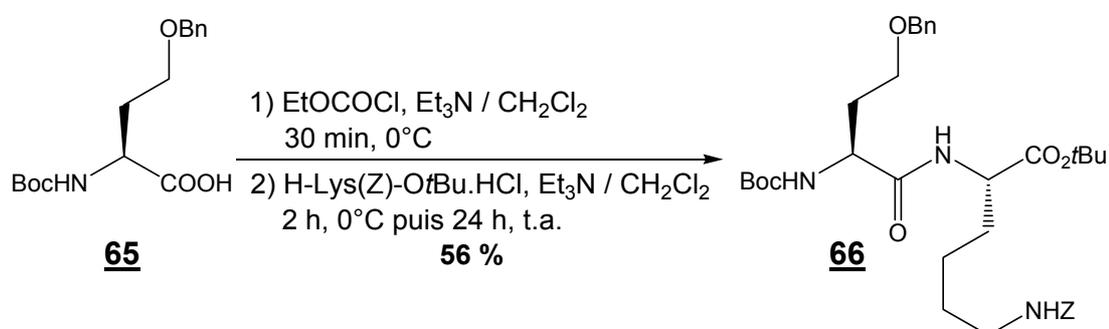
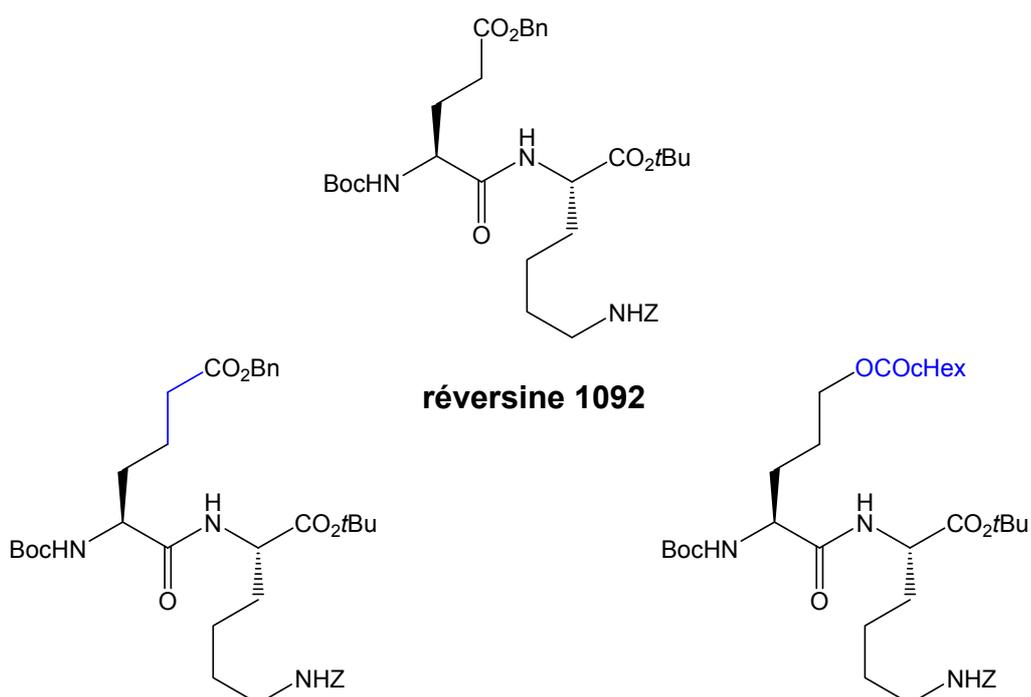


Schéma 98 : synthèse du N^α -Boc-Hse(Bn)-Lys(Z)-OtBu

Pour évaluer l'importance de la longueur de la chaîne latérale en position N -terminale, nous avons synthétisé deux analogues ayant une chaîne latérale plus longue d'un chaînon carboné comme indiqué ci-dessous.



f - Synthèse du N^α -Boc-Aad(OBn)-Lys(Z)-OtBu

Cette synthèse se fait en trois étapes à partir de l'acide α -aminoadipique (Aad) qui est l'homologue supérieur de l'acide glutamique :

- estérification de l'acide en δ de l'acide α -aminoadipique,
- protection de l'amine sous forme d'un groupement Boc,
- couplage de l'acide avec H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale.

Kubota et coll.¹⁵⁹ ont sélectivement estérifié l'acide en δ de l'acide α -aminoadipique en ester benzylique avec un rendement de 40 % en le traitant par de l'alcool benzylique en présence d'acide chlorhydrique 12 M et en chauffant pendant une heure. Dans notre cas, la réaction est réalisée dans les mêmes conditions et le rendement de l'ester **67** est de 53 %.

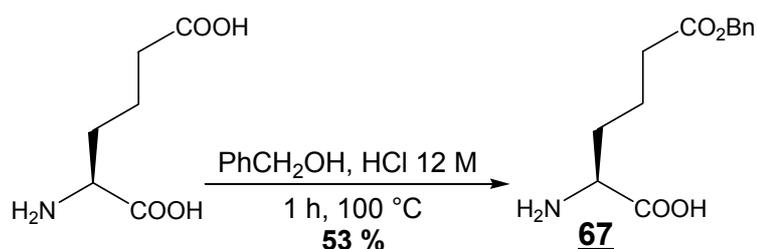


Schéma 99 : synthèse du H-Aad(OBn)-OH

L'amine de l'ester **67** est ensuite protégée par un groupement Boc selon le mode opératoire décrit par Wolfe et coll.¹³¹ avec un rendement de 64 %.

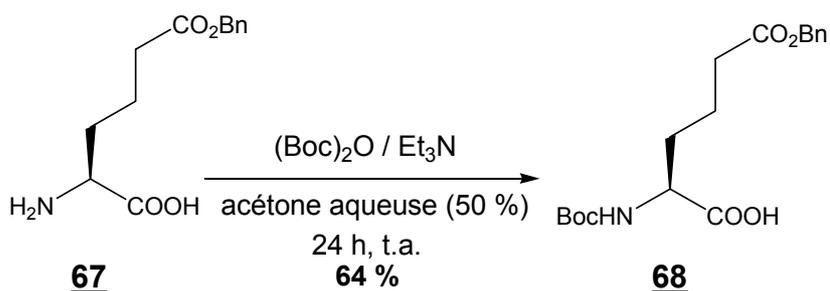


Schéma 100 : synthèse du N^α -Boc-Aad(OBn)-OH

¹⁵⁹ KUBOTA S., GASKIN F., YANG J. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94(12), 4328-4337.

¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.

L'acide **68** est enfin couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale en deux étapes « one-pot » dans les conditions habituelles pour obtenir le dipeptide N^α -Boc-Aad(OBn)-Lys(Z)-OtBu **69** cible.

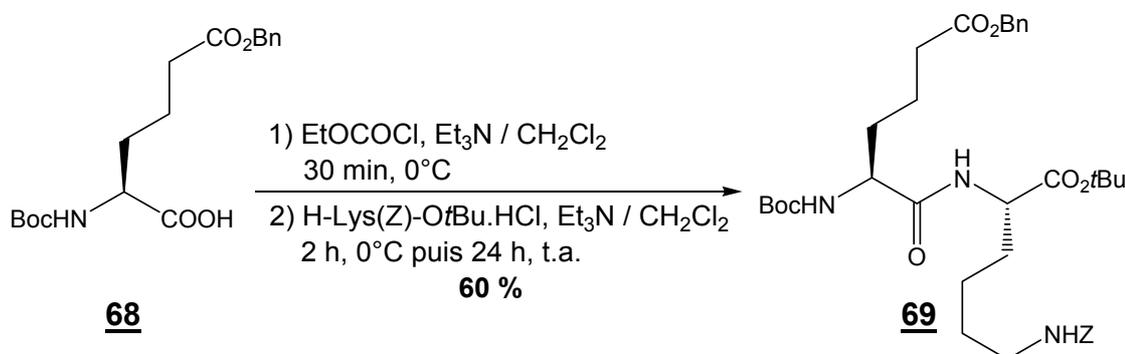
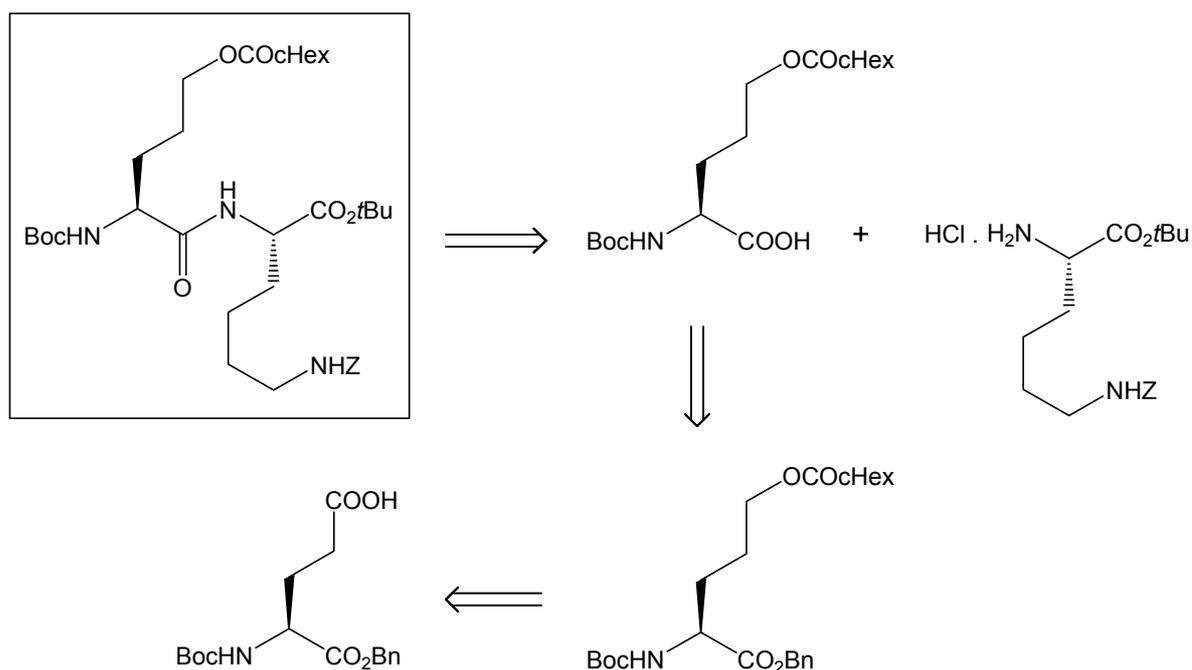


Schéma 101 : synthèse du N^α -Boc-Aad(OBn)-Lys(Z)-OtBu

Pour le deuxième analogue dont l'ester est de type $-\text{OCOHex}$, la chaîne latérale du résidu N -terminal sera de type norvaline ayant un hydroxyle en position δ [Nva(δ -OH)].

g - Synthèse du N^α -Boc-Nva(δ -OCOHex)-Lys(Z)-OtBu

Nous avons choisi de partir du N^α -Boc-Glu-OBn commercial qui, après réduction de l'acide en γ , aboutirait à l'alcool désiré. L'estérification de l'alcool en ester cyclohexylique suivie de l'hydrogénolyse de l'ester benzylique conduirait alors à l'acide correspondant qui, par couplage avec le dérivé de la lysine commerciale, aboutirait au dipeptide souhaité.



i - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn

Yokokawa et coll.¹⁵⁷ ont synthétisé la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn en deux étapes « one-pot » à partir du N^α -Boc-Glu-OBn commercial avec un rendement de 76 %. La première étape de cette synthèse consiste à former l'anhydride mixe à partir de l'acide aminé de départ en présence de chloroformiate d'éthyle, suivie de sa réduction par le borohydrure de sodium en seconde étape. Nous avons pu reproduire cette synthèse dans les mêmes conditions avec un rendement de 84 % pour l'alcool **70**.

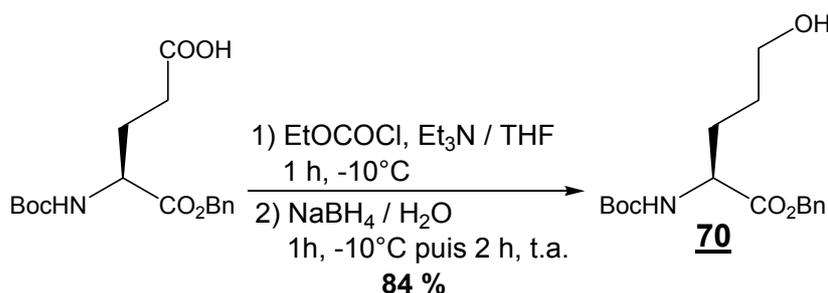


Schéma 102 : synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn

ii - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-OBn

L'alcool **70** est estérifié en présence de chlorure de cyclohexanoyle selon la méthode de Seko et coll.¹⁵⁶ et dans les mêmes conditions que lors de la formation de l'ester **59b** (Schéma 91 page 158). Le rendement de l'ester **71** est de 86 %.

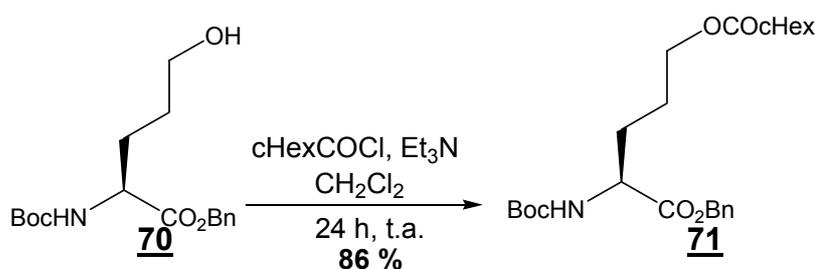


Schéma 103 : synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-OBn

iii - Synthèse de la N^α -Boc-Nva(δ -OCOcHex)-OH

L'hydrogénéolyse de l'ester benzylique **71** selon le mode opératoire de Karlström et Undén utilisé précédemment (Schéma 86 page 154) permet d'isoler l'acide **72** avec un rendement de 83 %.

¹⁵⁷ YOKOKAWA F., INAZUMI A., SHIOIRI T. *Tetrahedron*, **2005**, 61(6), 1459-1480.

¹⁵⁶ SEKO T., KATO M., KOHNO H., ONO S., HASHIMURA K., TAKIMIZU H., NAKAI K., MAEGAWA H., KATSUBE N., TODA M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11(8), 1901-1913.

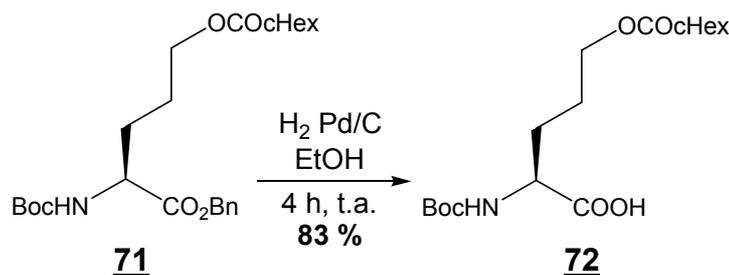


Schéma 104 : synthèse de la N^α-Boc-Nva(δ-OCOCHex)-OH

iv - Synthèse du N^α-Boc-Nva(δ-OCOCHex)-Lys(Z)-OtBu

L'acide **72** est couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale en deux étapes « one-pot » dans les conditions habituelles pour former le dipeptide **73** avec un rendement de 77 %.

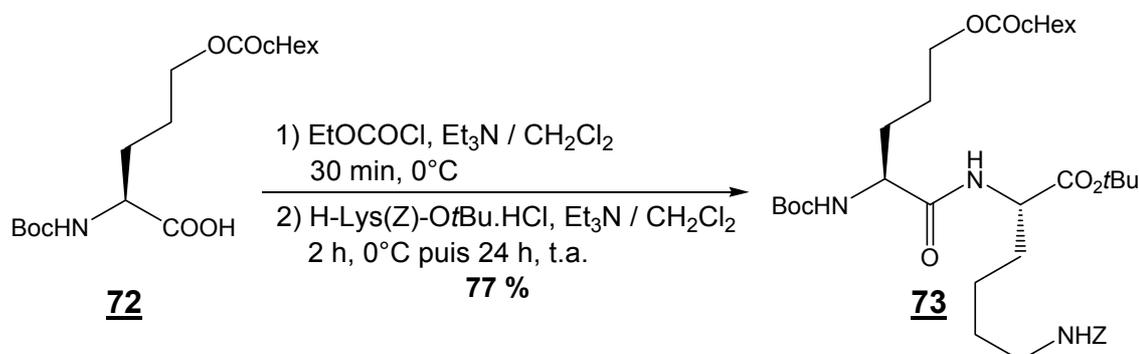
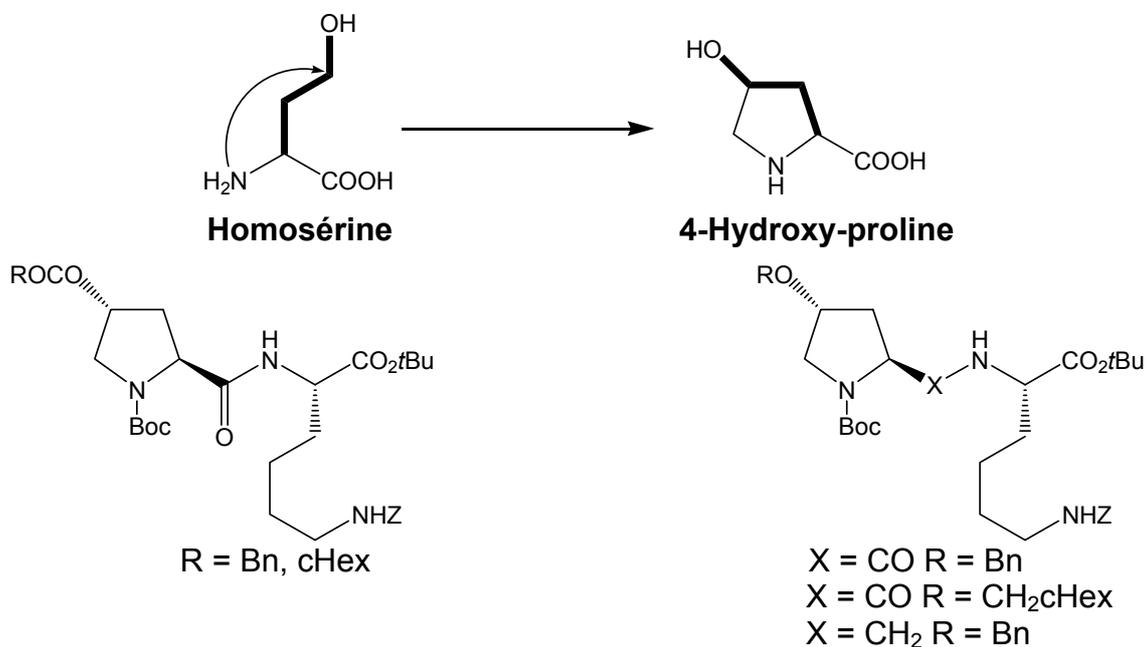


Schéma 105 : synthèse de la N^α-Boc-Nva(δ-OCOCHex)-Lys(Z)-OtBu

En conclusion, nous avons synthétisé les trois analogues modifiés en position N-terminale **61a**, **61b** et **66** de la réversine 1092 en quatre étapes à partir de la L-homosérine avec un rendement global de 14, 38 et 4 % respectivement. Nous avons obtenu par ailleurs l'homologue supérieur de la réversine 1092 **69** avec un rendement global de 20 % en quatre étapes à partir de l'acide α-aminoadipique, ainsi que l'analogue dérivé de la norvaline **73** avec un rendement global de 46 % en quatre étapes à partir du N^α-Boc-Glu-OBn.

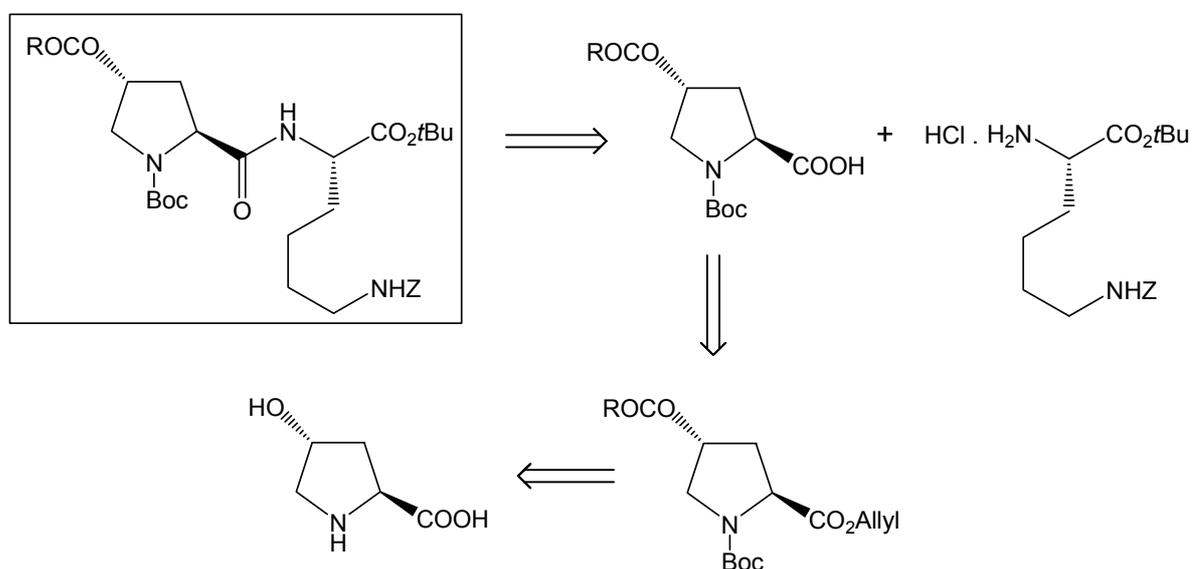
2 - Synthèse des dérivés contraints

Nous avons choisi la *trans*-4-hydroxy-L-proline comme acide aminé *N*-terminal. Celle-ci pouvant être considérée comme un dérivé contraint de la L-homosérine.



a - Synthèse du *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-Lys(Z)-OtBu

Pour la synthèse de ces dérivés contraints, nous avons utilisé la même stratégie de synthèse que pour les analogues **61a** et **61b** (page 156). Dans ce cas, la synthèse est réalisée à partir de la *trans*-4-hydroxy-L-proline dont les fonctions acide et amine doivent être préalablement protégées. Ensuite, l'estérification de l'alcool, suivie de la déprotection de l'acide et couplage avec le dérivé de la lysine commerciale, conduirait à l'analogue contraint cible.



i - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp-OAllyl

Le dérivé **74** est préparé avec un rendement de 97 % selon le mode opératoire décrit par Carrasco et Brown¹⁵⁵ sur la L-homosérine.

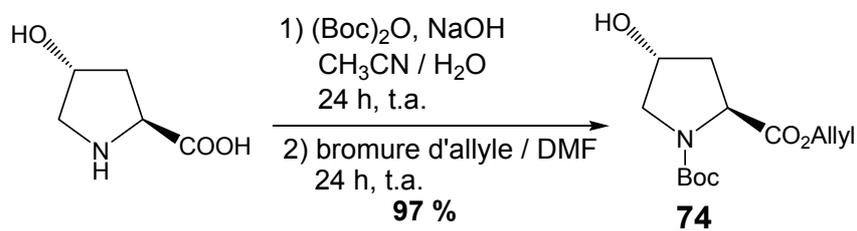


Schéma 106 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp-OAllyl

ii - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-OAllyl

L'alcool **74** est estérifié par le chlorure de phénylacétyle ou de cyclohexanoyle dans les mêmes conditions que celles de l'ester **59b**. Les deux esters **75a** et **75b** sont obtenus avec des rendements de 79 et 84 % respectivement.

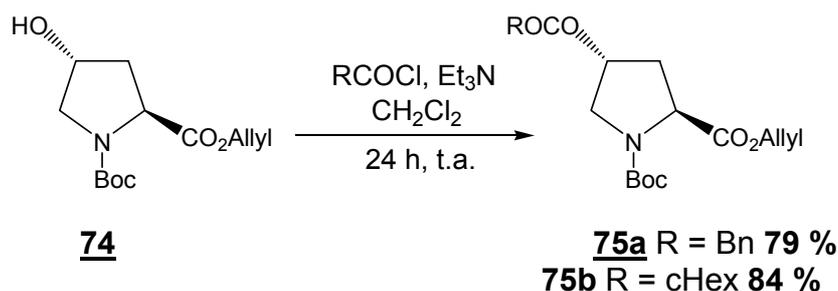


Schéma 107 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-OAllyl

iii - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-OH

Le clivage de chacun des deux esters allyliques **75a** et **75b** selon le mode opératoire de Carrasco et Brown¹⁵⁵ conduit respectivement à l'acide **76a** avec un rendement quantitatif et à l'acide **76b** avec un rendement de 95 %.

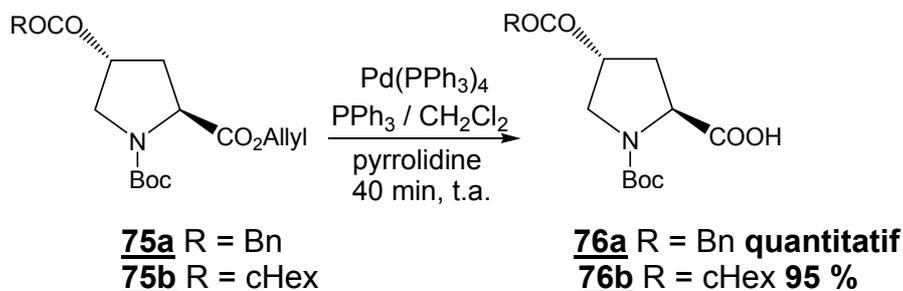


Schéma 108 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-OH

¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

iv - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-Lys(Z)-OtBu

Les deux acides **76a** et **76b** sont couplés en deux étapes « one-pot » avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale dans les conditions décrites précédemment.

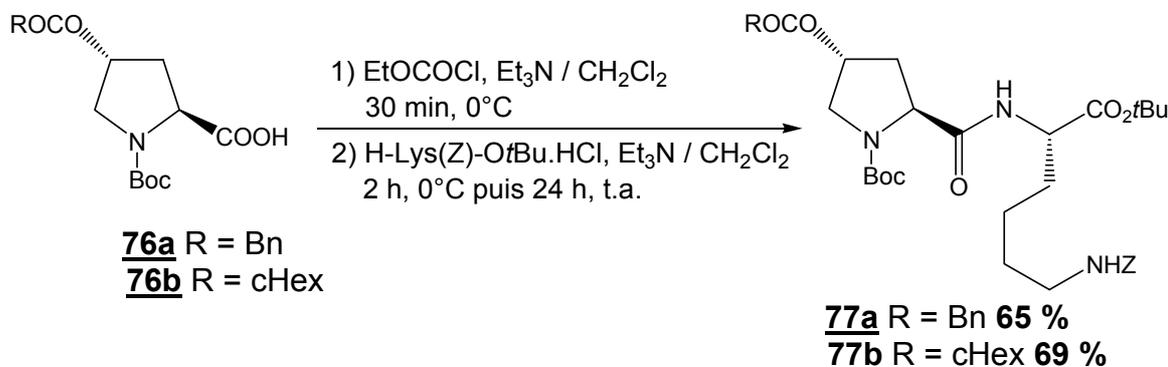


Schéma 109 : synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(COR)-Lys(Z)-OtBu

Le rendement global de chacun des deux dérivés contraints **77a** et **77b** est de 50 % en quatre étapes à partir de la *trans*-4-hydroxy-L-proline commerciale.

b - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-Lys(Z)-OtBu

Cette synthèse se fait par couplage peptidique des deux dérivés commerciaux, la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH et la H-Lys(Z)-OtBu.HCl en deux étapes « one pot » et dans les conditions utilisées précédemment pour ce type de couplage. Le rendement du dipeptide **78** est de 70 %.

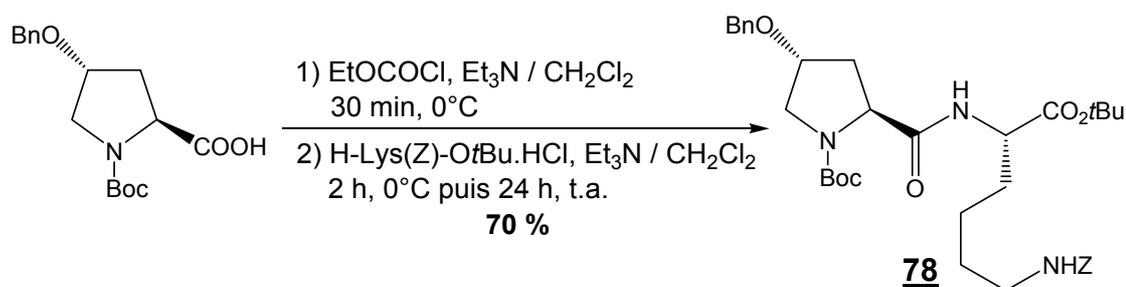
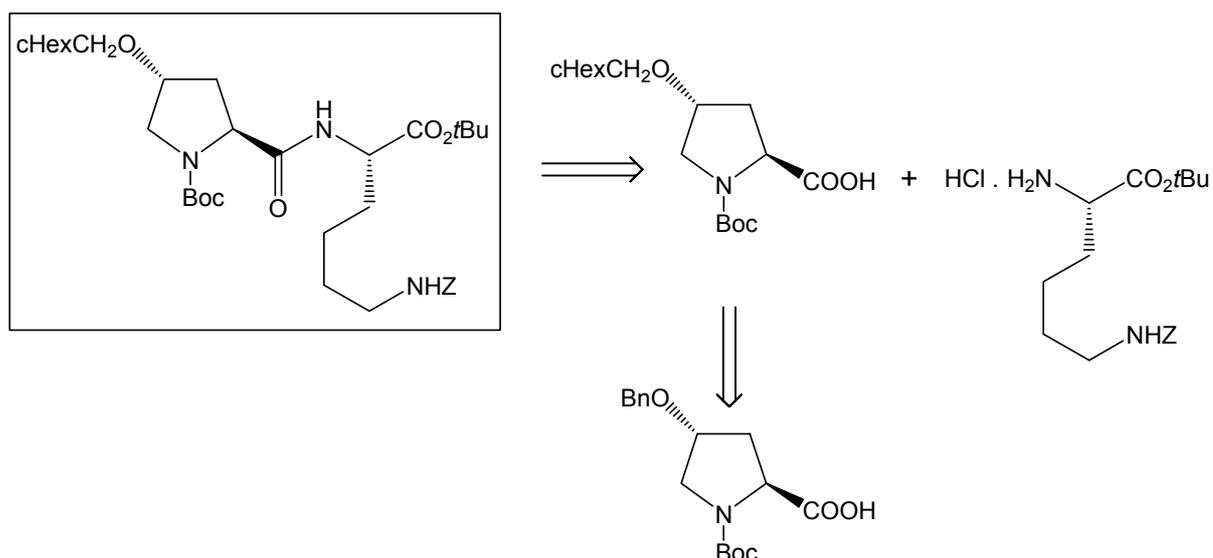


Schéma 110 : synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-Lys(Z)-OtBu

c - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-Lys(Z)-OtBu

La stratégie de synthèse met une jeu une réaction de couplage peptidique entre la la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-OH et la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale. Le passage à l'éther cyclohexylméthylénique de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp-OH peut être réalisé par hydrogénation catalytique de l'éther benzylque de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale.



i - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-OH

Seko et coll.¹⁵⁶ ont synthétisé la N^α -Boc-L-Ser(CH₂cHex)-OH par hydrogénation catalytique de la N^α -Boc-L-Ser(Bn)-OH en présence de rhodium sur alumine (Rh-Al₂O₃) dans l'isopropanol. L'éther cyclohexylméthylénique de la sérine N^α -protégée est obtenu avec un rendement de 86 % après recristallisation dans l'hexane.

Dans notre cas, la réaction est réalisée dans les mêmes conditions sur la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale et l'éther cyclohexylméthylénique **79** est obtenu avec un rendement quantitatif.

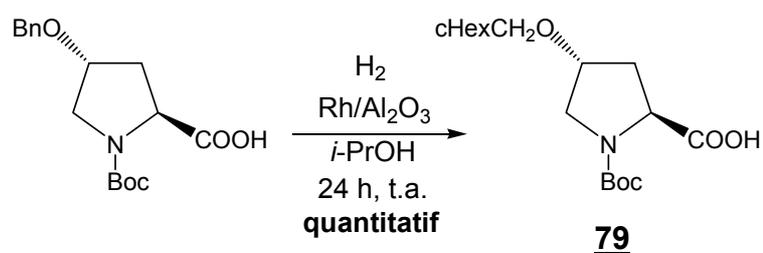


Schéma 111 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-OH

¹⁵⁶ SEKO T., KATO M., KOHNO H., ONO S., HASHIMURA K., TAKIMIZU H., NAKAI K., MAEGAWA H., KATSUBE N., TODA M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11(8), 1901-1913.

ii - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-Lys(Z)-OtBu

L'acide **79** est couplé avec la H-Lys(Z)-OtBu.HCl en deux étapes « one-pot » dans les conditions habituelles. Ce couplage a abouti au dipeptide **80** avec un rendement de 67 %.

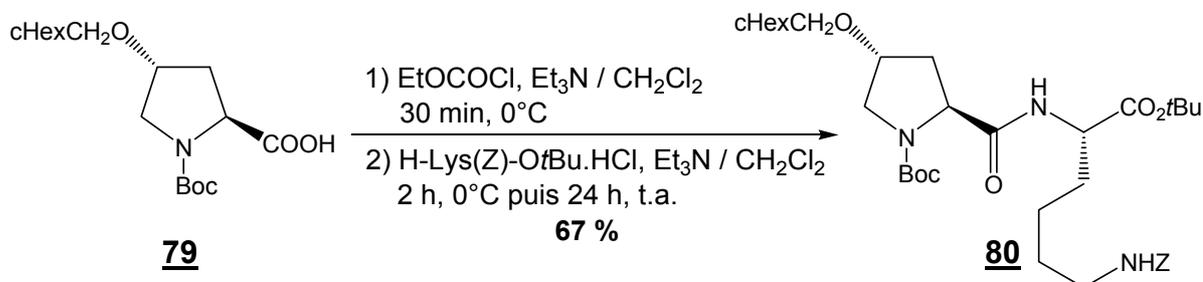
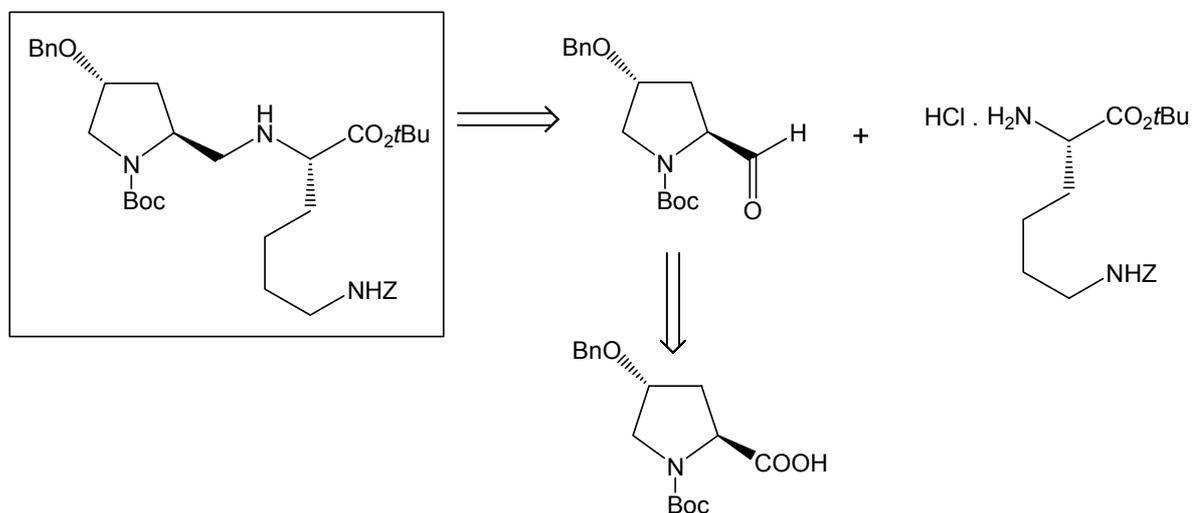


Schéma 112 : obtention du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-Lys(Z)-OtBu

d - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-ψ(CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu

Nous avons synthétisé l'analogue aminométhylénique du dipeptide **78** par une réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde dérivé de la *trans*-4-hydroxy-L-proline doublement protégée et la lysine protégée selon le schéma rétrosynthétique représentée ci-dessous.



La lysine protégée utilisée dans cette réaction est commerciale alors que l'aldéhyde doit être synthétisé. Après analyse de la littérature, nous avons choisi la méthode de synthèse de l'aldéhyde par réduction de l'amide de Weinreb dérivé de la *trans*-4-hydroxy-L-proline doublement protégée.

i - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-N(OMe)Me

Nous avons utilisé le mode opératoire de Fehrentz et Castro⁶⁴ pour la synthèse de l'amide de Weinreb **81** à partir de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale avec un rendement de 66 %. Nous avons remplacé le BOP utilisé comme agent de couplage par ces auteurs par le TBTU.

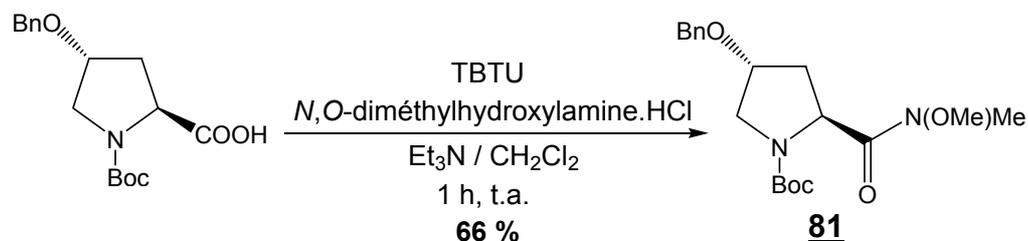


Schéma 113 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-N(OMe)Me

ii - Synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-al

L'amide de Weinreb **81** est réduit en présence d'hydruure de lithium et d'aluminium dans l'éther éthylique pendant 30 minutes à 0°C selon le mode opératoire de Fehrentz et Castro⁶⁴. Le rendement de l'aldéhyde **82** ainsi obtenu est de 69 %.

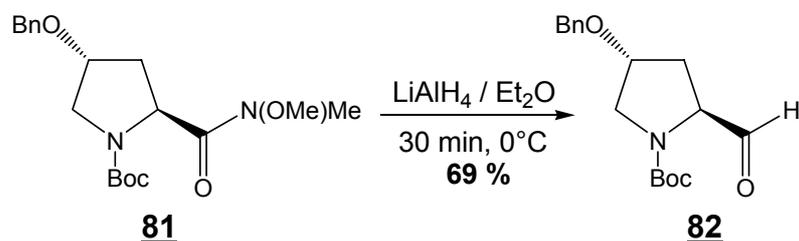


Schéma 114 : synthèse de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-al

iii - Synthèse du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)- ψ (CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu

L'aldéhyde **82** est engagé dans une réaction d'amination réductrice avec un excès (3 éq) de lysine protégée commerciale, selon le même mode opératoire que pour le produit **9a** (Schéma 26 page 61). L'analogue aminométhylénique **83** est obtenu après une heure de réaction à température ambiante avec un rendement de 52 %.

⁶⁴ FEHRENTZ J.-A., CASTRO B. *Synthesis*, **1983**, 676-678.

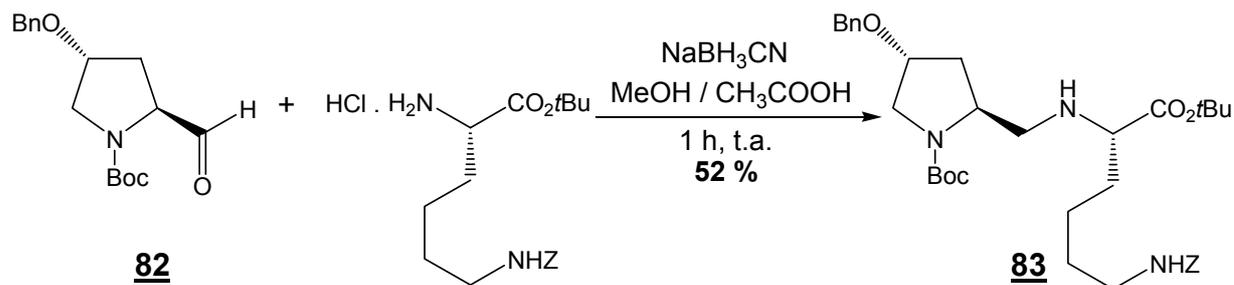
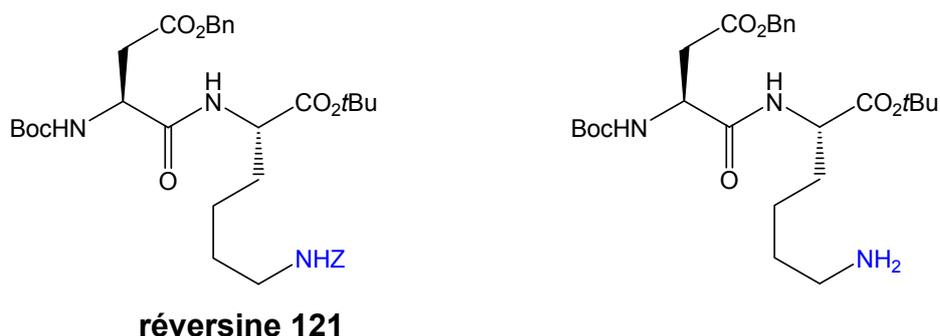


Schéma 115 : obtention du N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)- ψ (CH₂-NH)-Lys(Z)-OtBu

Le dipeptide réduit **83** est obtenu avec un rendement global de 24 % en trois étapes à partir de la N^α -Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale.

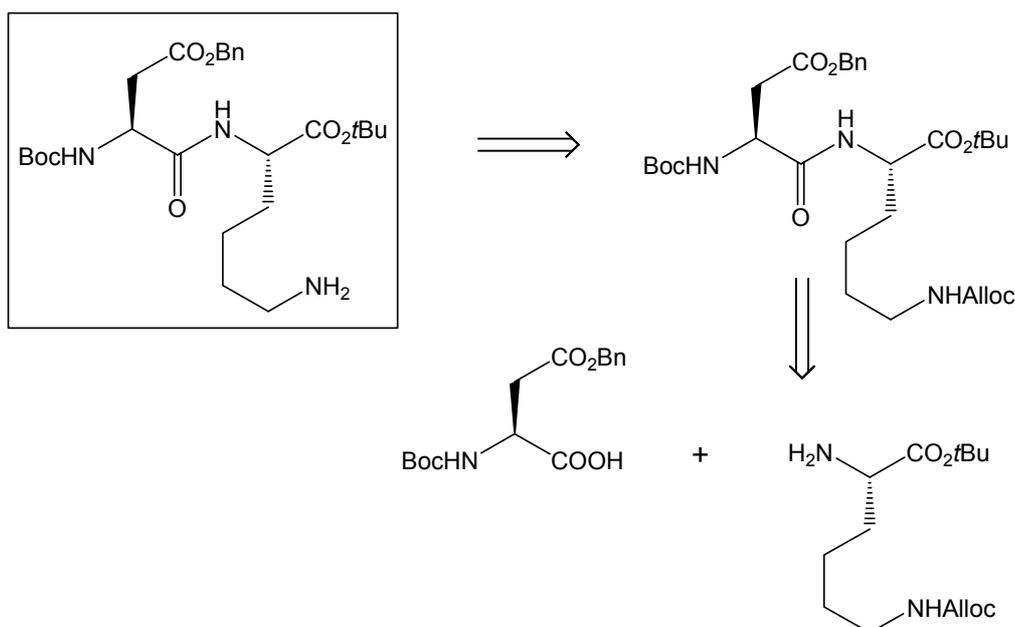
E - Synthèse d'un analogue de la réversine **121** : N^α -Boc-Asp(OBn)-Lys-OtBu

Nous avons synthétisé un analogue de la réversine **121** dont l'amine de la chaîne latérale de la lysine est libre comme indiqué ci-dessous à droite.



La stratégie de synthèse de ce dipeptide met en jeu une réaction de couplage peptidique entre l'acide aspartique diprotégé et la lysine dont l'amine de la chaîne latérale doit être préalablement protégée par un groupement allyloxycarbonyle (Alloc). La déprotection de l'amine conduit ensuite à l'analogue cible.

Nous avons choisi l'allyloxycarbonyle car ce groupement est clivé dans des conditions ne touchant pas les autres fonctions de la molécule.



L'acide aspartique utilisé dans cette réaction est commercial alors que la lysine convenablement protégée doit être synthétisée.

1 - Synthèse de la H-Lys(Alloc)-OtBu

Ludolph et coll.¹⁶⁰ ont synthétisé la H-Lys(Alloc)-OtBu en deux étapes à partir de la *N*^α-Fmoc-Lys(Alloc)-OH commerciale. Ce dernier composé est d'abord estérifié sous forme d'un ester *tert*-butylique en présence de *tert*-butanol et d'oxychlorure de phosphore dans la pyridine pendant deux heures à -5°C avec un rendement de 89 %. L'amine est ensuite déprotégée en présence de pipéridine dans le dichlorométhane pendant deux heures à température ambiante avec un rendement de 97 %. Nous avons pu reproduire la synthèse de ce dérivé de la lysine à partir de la *N*^α-Fmoc-Lys(Alloc)-OH commerciale dans les mêmes conditions avec un rendement de 79 % pour l'étape de l'estérification et de 80 % pour l'étape de déprotection.

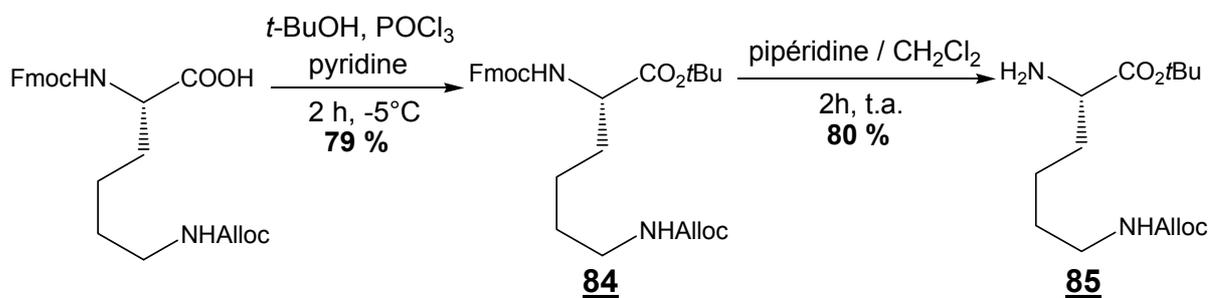


Schéma 116 : synthèse de la H-Lys(Alloc)-OtBu

¹⁶⁰ LUDOLPH B., EISELE F., WALDMANN H. *ChemBioChem*, **2002**, 3(9), 901-904.

2 - Synthèse du N^α -Boc-Asp(OBn)-Lys(Alloc)-OtBu

Le N^α -Boc-Asp(OBn)-OH est couplé avec l'amine **85** en deux étapes « one-pot » dans les conditions habituelles. Le dipeptide **86** est ainsi obtenu avec un rendement de 64 %.

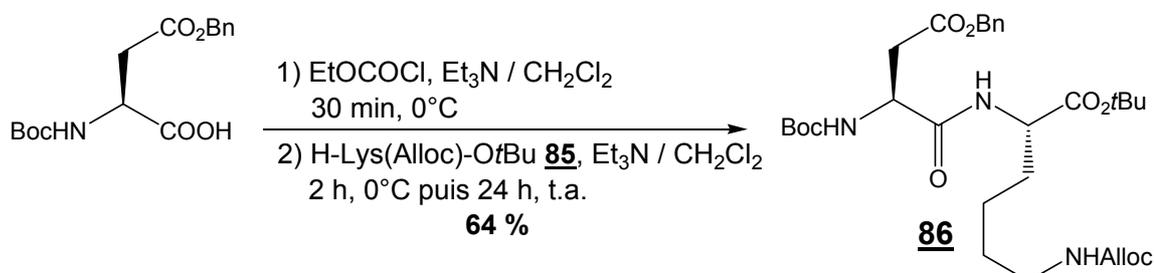


Schéma 117 : synthèse du N^α -Boc-Asp(OBn)-Lys(Alloc)-OtBu

3 - Synthèse du N^α -Boc-Asp(OBn)-Lys-OtBu

L'allyloxy-carbonyle du dipeptide **86** est clivé en présence de Pd(0) et de pyrrolidine comme nucléophile selon le mode opératoire décrit par Carrasco et Brown.¹⁵⁵ Le dipeptide **87** désiré est obtenu avec un rendement de 59 %.

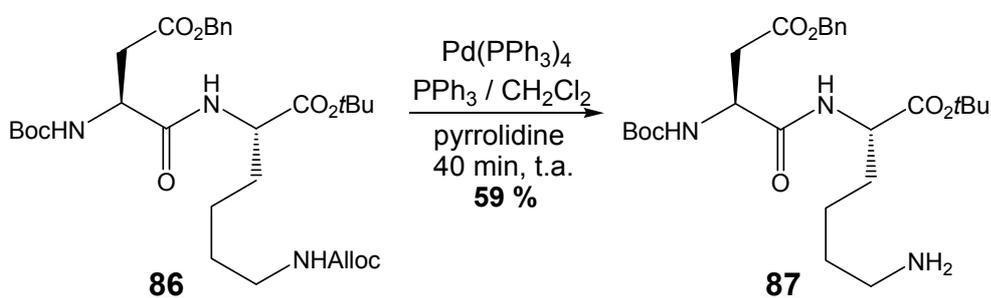


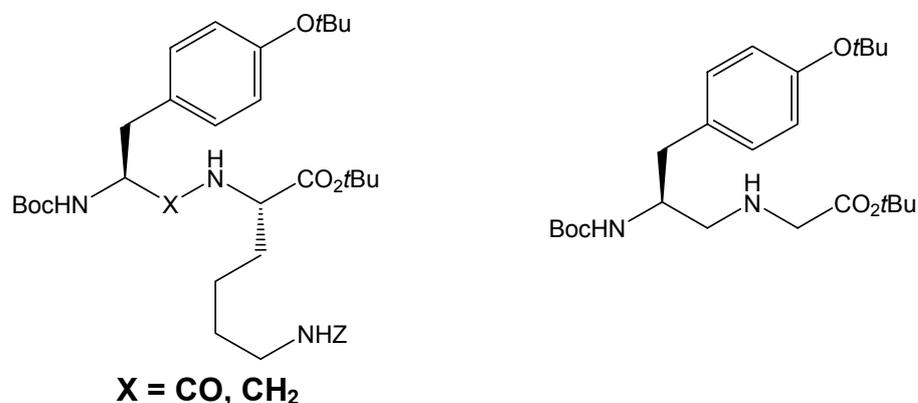
Schéma 118 : synthèse du N^α -Boc-Asp(OBn)-Lys-OtBu

La synthèse de cet analogue de la réversine 121 **87** est effectuée avec un rendement global de 24 % en quatre étapes à partir de la N^α -Fmoc-Lys(Alloc)-OH commerciale.

¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

F - Synthèse des dérivés Tyr-Lys et Tyr-Gly

Dans cette partie, nous allons décrire la synthèse du dipeptide Tyr-Lys, de son analogue aminométhylénique ainsi que du dipeptide Tyr-Gly réduit comme indiqué ci-dessous.



1 - Synthèse du *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-Lys(Z)-*Ot*Bu

Cette synthèse est réalisée par couplage peptidique en deux étapes « one-pot » des deux dérivés commerciaux, la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-OH et la H-Lys(Z)-*Ot*Bu.HCl selon le mode opératoire utilisé précédemment. Le dipeptide **88** est obtenu sous la forme d'un solide jaunâtre avec un rendement de 83 %.

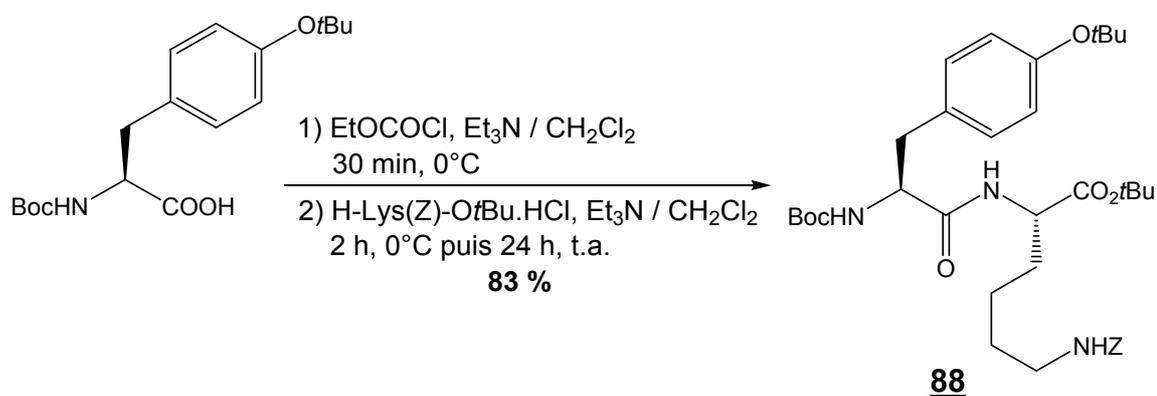
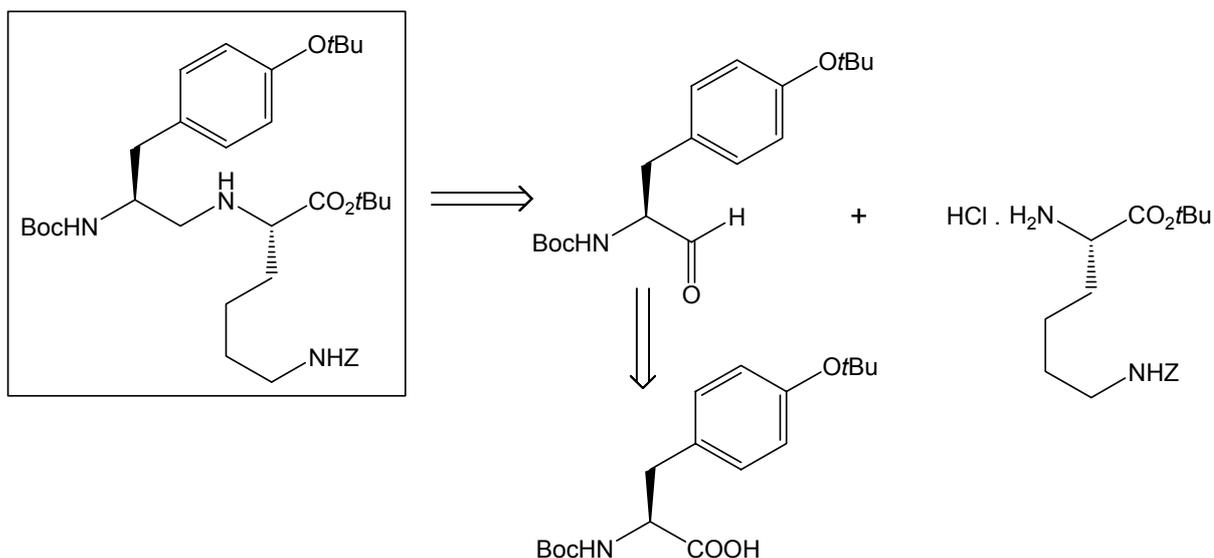


Schéma 119 : synthèse du *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-Lys(Z)-*Ot*Bu

2 - Synthèse du *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-ψ(CH₂-NH)-Lys(Z)-*Ot*Bu

Nous avons utilisé la même stratégie de synthèse que celle de l'analogue aminométhylénique **83**. Dans ce cas, la réaction d'amination réductrice est réalisée entre l'aldéhyde de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-OH antérieurement préparé au laboratoire

par Ettouati et coll.¹⁶¹ et le dérivé de la lysine commerciale selon ce schéma rétrosynthétique.



a - Synthèse de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-N(OMe)Me

Cet amide de Weinreb est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit **81** (Schéma 113 page 172). L'amide **89** est obtenu après une heure de réaction à température ambiante avec un rendement de 93 %.

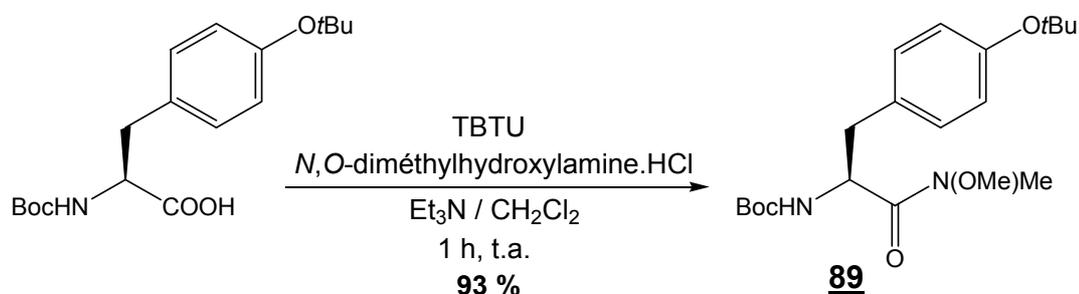


Schéma 120 : synthèse de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-N(OMe)Me

b - Synthèse de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-al

L'aldéhyde **90** est préparé avec un rendement de 85 % selon le même mode opératoire que pour l'aldéhyde **82** (Schéma 114 page 172).

¹⁶¹ ETTOUATI L., SALVI J.-P., TRESCOL-BIÉMONT M. C., WALCHSHOFER N., GERLIER D., RABOURDIN-COMBE C., PARIS J. *Peptide Res.*, **1996**, 9(5), 248-253.

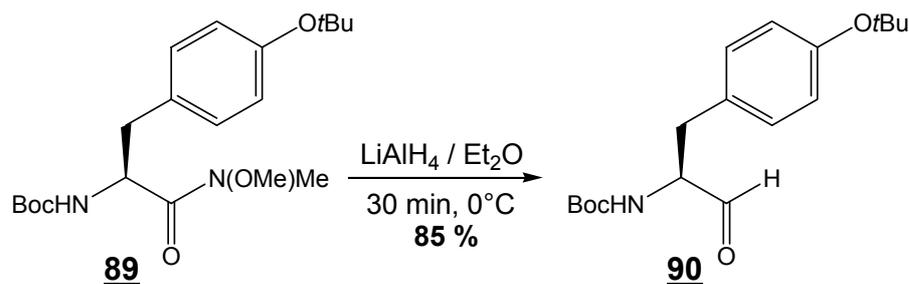


Schéma 121 : synthèse de la N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)-al

c - Synthèse du N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)- ψ (CH₂-NH)-Lys(Z)-*Ot*Bu

L'aldéhyde **90** est engagé dans une réaction d'amination réductrice avec un excès (3 éq) de lysine protégée commerciale selon le même mode opératoire que pour le produit **9c** (Schéma 28 page 63). L'analogue aminométhylénique **91** est obtenu avec un rendement de 55 % après une heure de réaction à température ambiante.

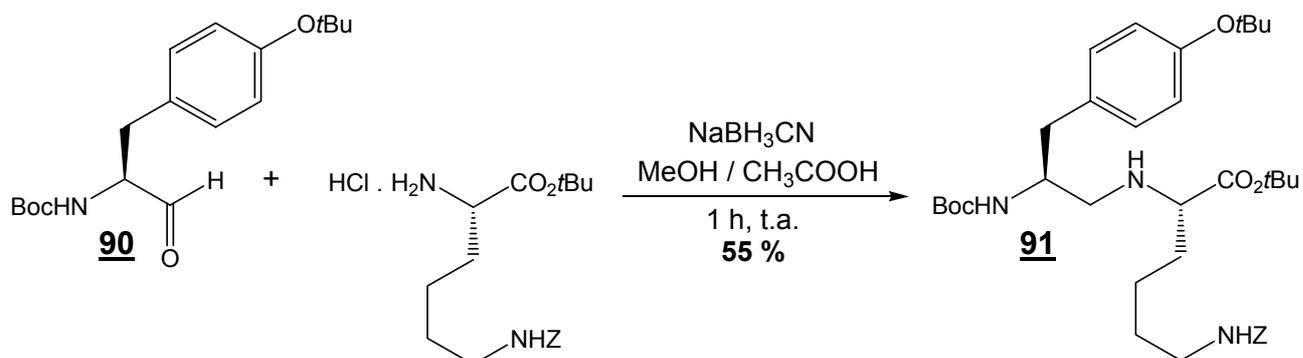


Schéma 122 : synthèse du N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)- ψ (CH₂-NH)-Lys(Z)-*Ot*Bu

3 - Synthèse du N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)- ψ (CH₂-NH)-Gly-*Ot*Bu

La synthèse de ce dérivé est effectuée par une réaction d'amination réductrice entre l'aldéhyde **90** et la H-Gly-*Ot*Bu.AcOH commerciale dans les conditions habituelles. Le dipeptide réduit **92** est obtenu avec un rendement de 63 %.

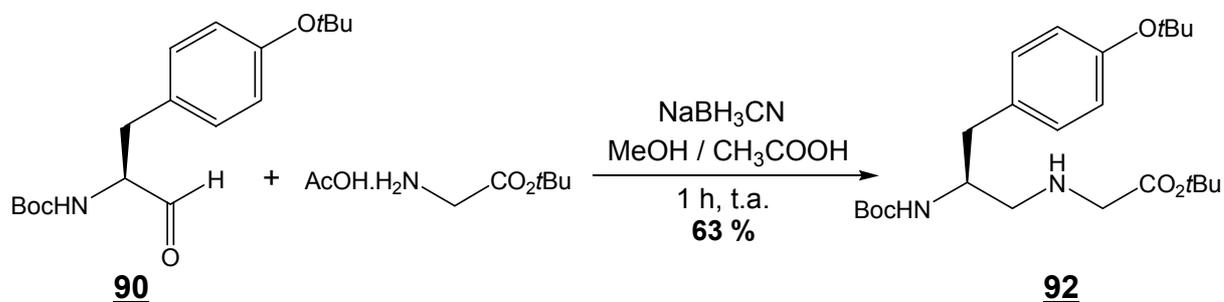
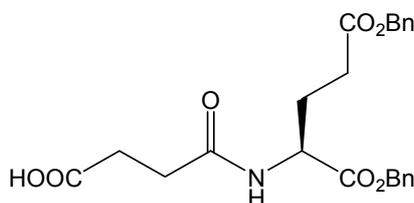


Schéma 123 : synthèse du N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)- ψ (CH₂-NH)-Gly-*Ot*Bu

Nous avons ainsi pu obtenir *via* une réaction d'amination réductrice les deux dérivés réduits Tyr-Lys et Tyr-Gly avec un rendement global de 43 et 50 % respectivement en trois étapes à partir de la N^α -Boc-Tyr(*t*Bu)-OH commerciale.

II - PARTIE EXPÉRIMENTALE

(2S)-(3-Carboxy-propanoylamino)-pentanedioate de dibenzyle 44



C₂₃H₂₅NO₇

M_r = 427 g.mol⁻¹

Rdt = 73 %

Ce produit est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit 32 (page 138) à partir du produit 6 (1,476 mmol ; 604 mg).

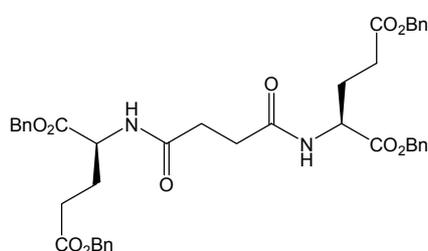
Le résidu huileux gris obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 60 : 40 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (1,072 mmol ; 458 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3354 (ν_{NH} et ν_{COOH}) ; 3066 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2955 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O} ester) ; 1659 (ν_{C=O} amide) ; 1547 et 1455 (ν_{φC=C}) ; 1171 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,85 (2H, m, CH₂CH₂CO₂Bn) ; 2,22-2,58 (4H, m, CH₂CO₂Bn et CH₂CONH) ; 2,67 (2H, m, CH₂COOH) ; 4,68 (1H, m, CH_α) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,16 (2H, s, CH₂Ph) ; 6,60 (1H, d, J = 8,2 Hz, NH) ; 7,35 (10H, s, 2Ph).

(2S)-[3-((1S),3-Bis-benzyloxycarbonyl-propylcarbamoyl)-propanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 45



C₄₂H₄₄N₂O₁₀

M_r = 736 g.mol⁻¹

Rdt = 35 %

F = 108-109°C

(AcOEt / EP 60 : 40)

(Litt. 106-107°C)⁴⁷

[α]_D^{25°C} = +3

(c = 0,29 ; CH₂Cl₂)

Le produit 44 (0,52 mmol ; 222 mg) est dissous dans 5 mL de CH₂Cl₂ sous argon.

La solution est refroidie à 0°C puis 75 μL de triéthylamine (0,52 mmol ; 1 éq) sont ajoutés goutte à goutte pendant 5 minutes.

50 μL de chloroformate d'éthyle (0,52 mmol ; 1 éq) sont ajoutés goutte à goutte pendant 5 minutes.

Le mélange est agité à 0°C pendant 30 minutes, puis une solution de H-Glu(OBn)-OBn.p-TsOH commercial (0,52 mmol ; 260 mg) et de 75 μL de triéthylamine (0,52 mmol ; 1 éq) dans 4 mL de CH₂Cl₂ à 0°C est ajoutée pendant 5 minutes.

La solution est agitée à 0°C pendant deux heures puis à température ambiante pendant la nuit.

5 mL de CH₂Cl₂ sont ajoutés et la phase organique est lavée deux fois avec 10 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ et deux fois avec une solution d'HCl 1M.

La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux incolore obtenu est recristallisé dans un mélange d'AcOEt / EP (60 : 40).

Le produit (0,182 mmol ; 134 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

⁴⁷ SARKADI B., SEPRÓDI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZŐ I., PALYI I., TEPLÁN I., VADÁSZ Z., VINCZE B. US 6,297,216 B1, 2 octobre 2001.

IR (KBr ; pastille) : 3448 (ν_{NH}) ; 3065 et 3035 (ν_{CH}) ; 2925 (ν_{CH}) ; 1736 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1637 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1540 et 1498 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1167 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

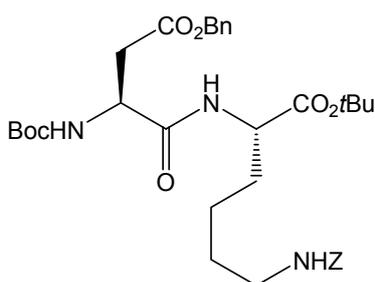
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,90-2,29 (4H, m, $2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 2,35-2,61 (8H, m, $4\text{CH}_2\text{CO}$) ; 4,60-4,67 (2H, m, 2CH_α) ; 5,09 (4H, s, $2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 5,15 (4H, s, $2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 6,57 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, 2NH) ; 7,34 (20H, m, 4Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 27,43 ($2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 30,61 ($2\text{CH}_2\text{CONH}$) ; 31,79 ($2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Bn}$) ; 52,24 (2CH_α) ; 66,92 ($2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 67,75 ($2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 128,69, 128,70, 128,91, 128,98 et 129,04 (20CH 4Ph) ; 135,56 (2C_q 2Ph) ; 136,13 (2C_q 2Ph) ; 172,18, 172,46 et 172,98 (6CO).

SM (ESI ; mode positif) : 1495,1 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 1473,1 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$; 759,4 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 737,3 [MH] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 759,28890 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (calc. 759,2894).

N^α -Boc-L-Asp(OBn)-L-Lys(Z)-OtBu 46



$\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_9$

$M_r = 641 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 47 %

$[\alpha]_D^{27,2^\circ\text{C}} = +6$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **45** (page précédente) à partir du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH commercial (0,77 mmol ; 250 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,77 mmol ; 290 mg).

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,360 mmol ; 231 mg) est obtenu sous la forme d'une huile brune.

IR (NaCl ; film) : 3336 (ν_{NH}) ; 3034 (ν_{CH}) ; 2978 (ν_{CH}) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1247 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1160 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

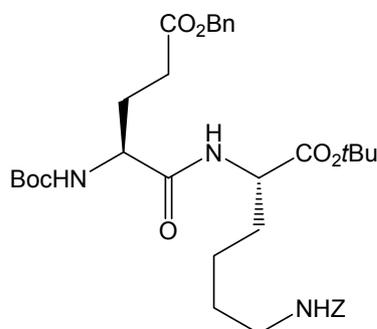
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,47 (18H, s, $2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc et *t*-Bu) ; 1,25-1,91 (6H, m, 3CH_2 Lys) ; 2,89 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,18 (2H, q, $J = 6,3$ Hz, CH_2NH) ; 4,44 (1H, m, CH_α) ; 4,54 (1H, m, CH_α) ; 5,10 (4H, m, $2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 5,64 (1H, m, NH) ; 7,0 (1H, m, NHZ) ; 7,35 (10H, s, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 22,26 et 22,44 (2CH_2 Lys) ; 28,26, 28,38 et 26,67 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 29,50 (CH_2 Lys) ; 32,46 ($\text{CH}_{2\beta}$ Asp) ; 40,95 (CH_2NH) ; 52,97 (CH_α) ; 53,09 (CH_α) ; 67,11 et 67,27 ($2\text{CH}_2\text{Ph}$) ; 81 (C-O *t*-Bu) ; 82,57 (C-O *t*-Bu) ; 128,43, 128,53, 128,63, 128,74, 128,76, 128,88, 128,92 et 128,99 (10CH 2Ph) ; 135,79 (C_q Ph) ; 137,05 (C_q Ph) ; 155,98 et 156,85 (2CO Boc et Z) ; 170,74, 171,34 et 171,68 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 664,2 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 664,32162 [M+Na]⁺ (calc. 664,3210).

***N*^α-Boc-L-Glu(OBn)-L-Lys(Z)-OtBu 47**



C₃₅H₄₉N₃O₉

M_r = 655 g.mol⁻¹

Rdt = 45 %

**[α]_D^{24,6°C} = -3
(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

**F = 80-82°C
(litt. 79-81°C /
éthanol + eau)⁴⁷**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **45** (page 180) à partir du *N*^α-Boc-Glu(OBn)-OH commercial (0,742 mmol ; 250 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,742 mmol ; 277 mg).

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,335 mmol ; 220 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3325 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2935 (ν_{CH}) ; 1729 (ν_{C=O} ester) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1368 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1248 (ν_{C-C-O} asym) ; 1160 (ν_{O-C-C} asym).

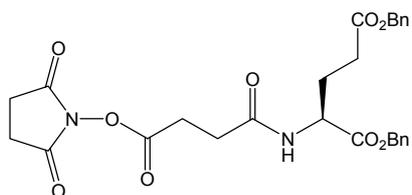
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,43 et 1,46 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,32-1,84 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,04 (2H, m, CH_{2β} Glu) ; 2,50 (2H, q, *J* = 6,5 Hz, CH_{2γ} Glu) ; 3,20 (2H, q, *J* = 6,2 Hz, CH₂NH) ; 4,19 (1H, m, CH_α) ; 4,44 (1H, m, CH_α) ; 5,03 (1H, M, NH) ; 5,11 (1H, M, NH) ; 5,14 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,32 (2H, s, CH₂Ph) ; 6,76 (1H, d, *J* = 7,1 Hz, NH) ; 7,35 (10H, s, 2Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,51 et 23,04 (2CH₂ Lys) ; 28,37 et 28,70 (6CH₃ Boc et *t*-Bu) ; 29,53 (CH₂ Lys) ; 30,85 (CH_{2β} Glu) ; 32,26 (CH_{2γ} Glu) ; 40,90 (CH₂NH) ; 52,89 (CH_α) ; 53,98 (CH_α) ; 66,92 et 67,03 (2CH₂Ph) ; 80,45 (C-O *t*-Bu) ; 82,50 (C-O *t*-Bu) ; 128,48, 128,58, 128,65, 128,67, 128,90 et 128,97 (10CH 2Ph) ; 136,13 (C_q Ph) ; 136,98 (C_q Ph) ; 156,13 et 156,92 (2CO Boc et Z) ; 171,43, 171,85 et 173,49 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1333,1 [2M+Na]⁺ ; 678,2 [M+Na]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 678,33598 [M+Na]⁺ (calc. 678,3367).

⁴⁷ SARKADI B., SEPRŐDI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZŐ I., PALYI I., TEPLÁN I., VADÁSZ Z., VINCZE B. US 6,297,216 B1, 2 octobre 2001.

(2S)-[3-(2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yloxycarbonyl)-propanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 48**C₂₇H₂₈N₂O₉****M_r = 524 g.mol⁻¹****Rdt = 73 %**

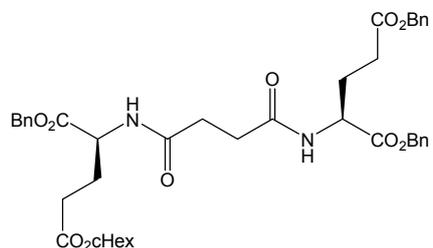
Ce produit est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit 5 (page 74) à partir du produit 44 (0,43 mmol ; 183,2 mg).

Le résidu blanc pateux est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 60 : 40).

Le produit (0,313 mmol ; 164 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3326 (ν_{NH}) ; 3065 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2930 (ν_{CH}) ; 1816, 1784, 1739, 1732 et 1682 (ν_{C=O}) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1207 et 1071 (ν_{NO}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,85 (2H, m, CH₂CH₂CO₂Bn) ; 2,43 (2H, m, CH₂CONH) ; 2,61 (2H, m, CH₂CO₂Bn) ; 2,73 (4H, s, 2CH₂CONO) ; 2,97 (2H, m, CH₂CO₂N) ; 4,69 (1H, m, CH_α) ; 5,11 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,17 (2H, s, CH₂Ph) ; 6,38 (1H, d, J = 7,5 Hz, NH) ; 7,35 (10H, m, 2Ph).

(2S)-[3-((1S)-Benzyloxycarbonyl-3-cyclohexyloxycarbonyl-propylcarbamoyl)-propanoylamino]-pentanedioate de dibenzyle 49**C₄₁H₄₈N₂O₁₀****M_r = 728 g.mol⁻¹****Rdt = 45 %****F = 125-127°C****(AcOEt / EP 60 : 40)****[α]_D^{27,2°C} = +9****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Le couplage peptidique est réalisé selon le même mode opératoire que pour le produit 6 (page 74) à partir du produit 48 (0,26 mmol ; 136 mg) et du H-Glu(OcHex)-OBn 13 (0,39 mmol ; 125 mg).

Le résidu solide blanc obtenu est recristallisé dans un mélange d'AcOEt / EP (60 : 40).

Le produit (0,118 mmol ; 86 mg) est obtenu sous la forme d'une poudre blanche.

IR (KBr ; pastille) : 3438 (ν_{NH}) ; 3065 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2935 (ν_{CH}) ; 1756 et 1731 (ν_{C=O} ester) ; 1638 (ν_{C=O} amide) ; 1539 et 1499 (ν_{φC=C}) ; 1171 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,90-2,29 (14H, m, CH₂CH₂CO₂Bn, CH₂CH₂CO₂cHex et 5CH₂ cHex) ; 2,34-2,52 (8H, m, 4CH₂CO) ; 4,58-4,71 (3H, m, 2CH_α et CH-O) ; 5,08 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,13 (4H, s, 2CH₂Ph) ; 6,60 (1H, d, J = 2,6 Hz, NH) ; 6,62 (1H, d, J = 3,4 Hz, NH) ; 7,32 (15H, m, 3Ph).

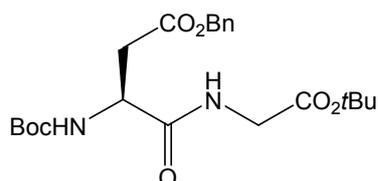
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 24,12, 25,32, 25,71, 25,98, 27,42, 27,46 et 30,64 (CH₂CH₂CO₂Bn, CH₂CH₂CO₂cHex et 5CH₂ cHex) ; 31,02 et 31,83 (2CH₂CONH) ; 31,96 (CH₂CO₂cHex) ; 34,24 (CH₂CO₂Bn) ; 52,25 et 52,34 (2CH_α) ; 66,93 (CH₂Ph) ; 67,73 et 67,69 (2CH₂Ph) ; 73,47 (CH-O) ; 128,68, 128,80, 128,89, 128,98 et 129,03 (15CH

3Ph) ; 135,57 et 135,62 (2Cq 2Ph) ; 136,12 (Cq Ph) ; 172,19, 172,28, 172,48, 172,52, 172,61 et 172,98 (6CO).

SM (ESI ; mode positif) : 1479,2 [2M+Na]⁺ ; 1457,1 [2M+H]⁺ ; 751,4 [M+Na]⁺ ; 729,3 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 751,32037 [M+Na]⁺ (calc. 751,3207).

***N*^α-Boc-L-Asp(OBn)-Gly-O^tBu 50**



C₂₂H₃₂N₂O₇

M_r = 436 g.mol⁻¹

Rdt = 85 %

[α]_D^{23,5°C} = +12
(c = 1 ; CH₂Cl₂)

F = 67-69°C

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **6** (page 74) à partir du *N*^α-Boc-Asp(OBn)-OSu commercial (0,713 mmol ; 300 mg) et de la H-Gly-O^tBu.AcOH commerciale (1,07 mmol ; 200 mg). Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,607 mmol ; 265 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

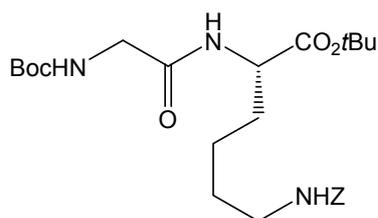
IR (KBr ; pastille) : 3348 (ν_{NH}) ; 3066 (ν_{φCH}) ; 2980 et 2935 (ν_{CH}) ; 1739 (ν_{C=O} ester) ; 1681 (ν_{C=O} amide) ; 1457 (ν_{φC=C}) ; 1393 et 1368 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1248 (ν_{C-C-O} asym) ; 1160 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,47 et 1,48 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 2,75 (1H, dd, *J* = 6,0 Hz et *J* = 10,9 Hz, CH_β) ; 3,09 (1H, dd, *J* = 4,3 Hz et *J* = 12,9 Hz, CH_β) ; 3,91 (2H, d, *J* = 5,2 Hz, CH₂NH) ; 4,59 (1H, m, CH_α) ; 5,15 (2H, système AB, *J* = 12,4 Hz, CH₂Ph) ; 5,68 (1H, d, *J* = 8,2 Hz, NHBoc) ; 6,94 (1H, M, CH₂NH) 7,35 (5H, s, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 28,36, 28,42 et 28,68 (6CH₃ Boc et *t*-Bu) ; 36,54 (CH₂CO₂Bn) ; 42,58 (CH₂N) ; 50,93 (CH_α) ; 67,24 (CH₂Ph) ; 80,94 (C-O *t*-Bu) ; 82,64 (C-O *t*-Bu) ; 128,68, 128,77 et 128,99 (5CH Ph) ; 135,78 (Cq Ph) ; 155,90 (CO Boc) ; 168,83, 171,13 et 172,10 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 895 [2M+Na]⁺ ; 459,1 [M+Na]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 459,21026 [M+Na]⁺ (calc. 459,2107).

N*^α-Boc-Gly-L-Lys(Z)-OtBu 51****C₂₅H₃₉N₃O₇*M_r = 493 g.mol⁻¹****Rdt = 76 %****[α]_D^{24,2°C} = +13
(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **6** (page 74) à partir de la *N*^α-Boc-Gly-OSu commerciale (1,1 mmol ; 300 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (1,65 mmol ; 610 mg).

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,835 mmol ; 412 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

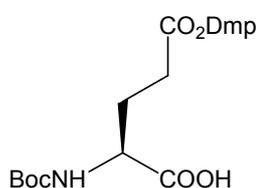
IR (NaCl ; film) : 3334 (ν_{NH}) ; 3066 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2934 (ν_{CH}) ; 1696 (ν_{C=O} amide) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1393 et 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1251 (ν_{C-C-O} asym) ; 1159 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,45 et 1,46 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,30-1,90 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 3,18 (2H, q, J = 6,3 Hz, CH₂NHZ) ; 3,80 (2H, d, J = 5,6 Hz, CH₂NHBoc) ; 4,48 (1H, m, CH_α) ; 4,98 (1H, M, NHBoc) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,20 (1H, M, NHZ) ; 6,63 (1H, d, J = 7,9 Hz, NHCH_α) ; 7,36 (5H, s, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 28,37 et 28,67 (6CH₃ Boc et t-Bu) ; 22,41, 29,72 et 32,43 (3CH₂ Lys) ; 40,92 (CH₂NHZ) ; 44,64 (CH₂NHBoc) ; 52,74 (CH_α) ; 66,96 (CH₂Ph) ; 80,60 (C-O t-Bu) ; 82,66 (C-O t-Bu) ; 128,46, 128,72 et 128,89 (5CH Ph) ; 137,02 (C_q Ph) ; 156,42 et 156,94 (2CO Boc et Z) ; 169,64 (CO amide) ; 171,71 (CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 516,1 [M+Na]⁺ ; 494 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 516,26817 [M+Na]⁺ (calc. 516,2686).

Ester 5-2,4-diméthylpent-3-ylque de l'acide (2S)-(tert-butyloxycarbonyl-amino)-pentanedioïque 52**C₁₇H₃₁NO₆****M_r = 345 g.mol⁻¹****Rdt = 60 %**

À une solution du produit **10** (0,98 mmol ; 425 mg) dans 10 mL d'éthanol, sont ajoutés 11 mg de Pd/C (10 %). La bombe est purgée avec de l'hydrogène et la réaction est agitée pendant 4 heures à température ambiante.

Le catalyseur est éliminé par filtration sur célite et le solvant est évaporé.

Le résidu huileux obtenu est dissous dans une solution saturée de NaHCO₃. Cette solution est lavée avec de l'Et₂O puis acidifiée jusqu'à un pH = 2-3 avec une solution d'HCl 1 M.

La solution obtenue est extraite deux fois avec de l'Et₂O, puis les deux phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

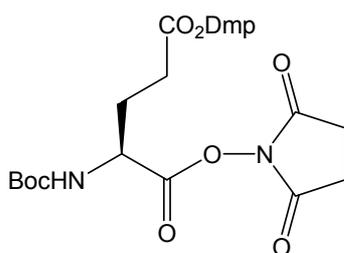
Le résidu huileux obtenu est dissous dans le pentane puis le solvant est évaporé.

Le produit (0,585 mmol ; 202 mg) est obtenu sous la forme d'une huile orange très visqueuse utilisée directement dans la réaction suivante.

IR (NaCl ; film) : 3334 (ν_{NH} et ν_{COOH}) ; 2969 et 2935 (ν_{CH}) ; 1714 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1453 ($\nu_{\phi\text{C=C}}$) ; 1391 et 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1170 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,81 (12H, t, $J = 6,4$ Hz, $2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ Dmp) ; 1,46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,86-1,97 (2H, m, 2CH *i*-Pr) ; 2,05 (1H, m, CH_β) ; 2,25 (1H, m, CH_β) ; 2,52 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,31 (1H, M, CH_α) ; 4,63 (1H, t, $J = 6,2$ Hz, CH-O Dmp) ; 5,27 (1H, M, NH) ; 5,50-6,96 (1H, M, COOH).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-pentanedioate de 5-2,4-diméthylpent-3-yle et de 1-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle 53



$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$

$M_r = 442 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 41 %

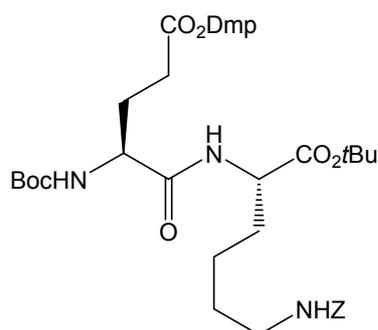
Ce produit est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit 5 (page 74) à partir du N^α -Boc-Glu(ODmp)-OH 52 (0,556 mmol ; 192 mg).

Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,226 mmol ; 100 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (NaCl ; film) : 3347 (ν_{NH}) ; 2969 et 2935 (ν_{CH}) ; 1818, 1790, 1746, 1732 et 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1391 et 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1252 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1171 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$) ; 1068 (ν_{NO}).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 0,85-0,90 (12H, m, $2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ Dmp) ; 1,42 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,80-2,02 (2H, m, 2CH *i*-Pr) ; 2,11-2,72 (4H, m, $\text{CH}_{2\beta}$ et $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 2,73 (4H, s, $2\text{CH}_2\text{CONO}$) ; 4,13 (1H, q, $J = 7,2$ Hz, CH_α) ; 4,63 (1H, t, $J = 6,5$ Hz, CH-O Dmp) ; 5,24 (1H, M, NH).

N*^α-Boc-L-Glu(ODmp)-L-Lys(Z)-OtBu 54****C₃₅H₅₇N₃O₉*M_r = 663 g.mol⁻¹****Rdt = 38 %****[α]_D^{23,1°C} = +3
(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Le couplage peptidique est réalisé selon le même mode opératoire que pour le produit **6** (page 74) à partir du *N*^α-Boc-Glu(ODmp)-OSu **53** (0,213 mmol ; 94,4 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,32 mmol ; 120 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,081 mmol ; 53,7 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

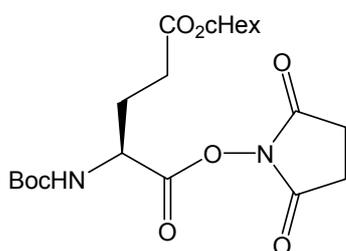
IR (NaCl ; film) : 3324 (ν_{NH}) ; 2968 et 2933 (ν_{CH}) ; 1728 (ν_{C=O} ester) ; 1668 (ν_{C=O} amide) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1250 (ν_{C-C-O} asym) ; 1160 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 0,78 (12H, t, J = 6,5 Hz, 2CH(CH₃)₂ Dmp) ; 1,34 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,21-1,62 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 1,70-1,91 (3H, m, CH_β et 2CH i-Pr) ; 2,05 (1H, m, CH_β) ; 2,38 (2H, m, CH₂CO₂Dmp) ; 3,10 (2H, q, J = 6,4 Hz, CH₂N) ; 4,06 (1H, m, CH_α) ; 4,36 (1H, m, CH_α) ; 4,53 (1H, t, J = 6,2 Hz, CH-O Dmp) ; 4,89 (1H, m, NH) ; 5,02 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,24 (1H, m, NH) ; 6,67 (1H, d, J = 7,5 Hz, NH) ; 7,31 (5H, m, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 17,68 et 19,96 (4CH₃ Dmp) ; 28,66 (6CH₃ t-Bu) ; 22,46, 27,92 et 29,52 (3CH₂ Lys) ; 29,72 (2CH i-Pr) ; 30,92 (CH₂CH₂CO₂Dmp) ; 32,37(CH₂CO₂Dmp) ; 40,94 (CH₂N) ; 52,82 (CH_α) ; 54,5 (CH_α) ; 67,01 (CH₂Ph) ; 80,42 (C-O t-Bu) ; 82,50 (C-O t-Bu) ; 83,48 (CH-O Dmp) ; 128,47, 128,55 et 128,90 (5CH Ph) ; 137 (C_q Ph) ; 156,11 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,42, 171,87 et 173,81 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1349,1 [2M+Na]⁺ ; 686,3 [M+Na]⁺ ; 664 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 686,39895 [M+Na]⁺ (calc. 686,3992).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-pentanedioate de 5-cyclohexyle et de 1-2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle 55**C₂₀H₃₀N₂O₈****M_r = 426 g.mol⁻¹****Rdt = 26 %**

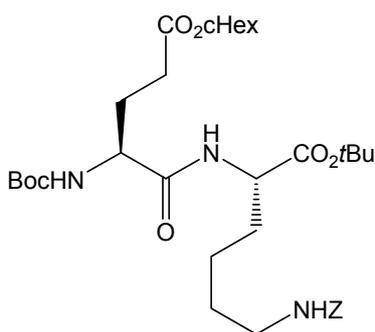
Ce produit est synthétisé selon le même mode opératoire que pour le produit 5 (page 74) à partir du *N*^α-Boc-Glu(OcHex)-OH commercial (0,91 mmol ; 300 mg).

Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (0,24 mmol ; 102 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3360 (ν_{NH}) ; 2937 (ν_{CH}) ; 1817, 1790, et 1733 (ν_{C=O}) ; 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1203 et 1069 (ν_{NO}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,16-1,26 (4H, m, 2CH₂ cHex) ; 1,32 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,60-1,83 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 2,20 (2H, m, CH_{2β}) ; 2,45 (2H, m, CH_{2γ}) ; 2,75 (4H, s, 2CH₂CONO) ; 4,60-4,77 (2H, m, CH_α et CH-O cHex) ; 5,12 (1H, d, J = 8,6 Hz, NH).

N*^α-Boc-L-Glu(OcHex)-L-Lys(Z)-OtBu 56****C₃₄H₅₃N₃O₉*M_r = 647 g.mol⁻¹****Rdt = 66 %****F = 95-97°C****[α]_D^{25°C} = -5****(c = 0,35 ; CH₂Cl₂)**

Le couplage peptidique est réalisé selon le même mode opératoire que pour le produit 6 (page 74) à partir du *N*^α-Boc-Glu(OcHex)-OSu 55 (0,239 mmol ; 102 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,358 mmol ; 133 mg).

Le résidu solide jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,157 mmol ; 102 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (KBr ; pastille) : 3325 (ν_{NH}) ; 2936 (ν_{CH}) ; 1728 (ν_{C=O} ester) ; 1668 (ν_{C=O} amide) ; 1454 (ν_{φC=C}) ; 1391 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1253 (ν_{C-C-O asym}) ; 1161 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : ; 1,20-1,88 (16H, m, 5CH₂ cHex et 3CH₂ Lys) ; 1,40 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,99 (2H, m, CH₂CH₂CO₂cHex) ; 2,43 (2H, m, CH₂CO₂cHex) ; 3,20 (2H, q, J = 6,5 Hz, CH₂N) ; 4,14 (1H, m, CH_α) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 4,77 (1H, m, CH-O cHex) ; 5,0 (1H, M, NH) ; 5,11 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,27 (1H, M, NH) ; 6,79 (1H, d, J = 7,9 Hz, NH) ; 7,34 (5H, m, Ph).

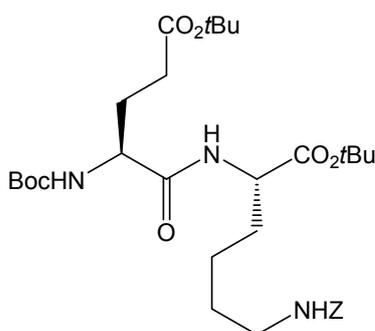
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,48, 24,14, 25,73, 28,18, 28,38, 29,51, 31,33 et 31,96 (5CH₂ cHex et 3CH₂ Lys) ; 28,70 (6CH₃ Boc et t-Bu) ; 32 (CH₂CH₂CO₂cHex) ; 32,35 (CH₂CO₂cHex) ; 40,92 (CH₂N) ; 52,85 (CH_α) ; 54,25 (CH_α) ; 67,01 (CH₂Ph) ; 73,47 (CH-O cHex) ; 80,40 (C-O t-Bu) ; 82,50 (C-O t-Bu) ; 128,47, 128,55 et 128,89 (5CH Ph) ; 137 (Cq Ph) ; 156,07 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,44,

171,86 et 173,17 ($\underline{\text{CO}}$ amide et $2\underline{\text{CO}}$ ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1317,1 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$; 670,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 670,36739 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calc. 670,3679).

N^α -Boc-L-Glu(OtBu)-L-Lys(Z)-OtBu **57**



$\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_9$

$M_r = 621 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 80 %

$[\alpha]_D^{25^\circ\text{C}} = -9$

(c = 0,14 ; CH_2Cl_2)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **45** (page 180) à partir du N^α -Boc-Glu(OtBu)-OH commercial (0,66 mmol ; 200 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,66 mmol ; 246 mg) en utilisant 1,1 équivalents de triéthylamine pour la formation de l'anhydride mixte et 2,2 équivalents pour le couplage.

Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,531 mmol ; 330 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

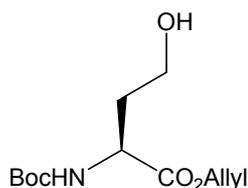
IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3067 et 3035 ($\nu_{\phi\text{CH}}$) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1725 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\phi\text{C=C}}$) ; 1392 et 1368 ($\delta_{\text{CH}_3} t\text{-Bu}$) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1156 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,44, 1,46 et 1,47 (27H, s, $3\underline{\text{C}}(\underline{\text{CH}}_3)_3$ Boc et $2t\text{-Bu}$) ; 1,20-2,20 (8H, m, $3\underline{\text{CH}}_2$ Lys et $\underline{\text{CH}}_{2\beta}$ Glu) ; 2,35 (2H, m, $\underline{\text{CH}}_{2\gamma}$ Glu) ; 3,19 (2H, q, $J = 6,3$ Hz, $\underline{\text{CH}}_2\text{NH}$) ; 4,13 (1H, m, $\underline{\text{CH}}_\alpha$) ; 4,44 (1H, m, $\underline{\text{CH}}_\alpha$) ; 5,0 (1H, M, $\underline{\text{NH}}$) ; 5,11 (2H, s, $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$) ; 5,30 (1H, M, $\underline{\text{NH}}$) ; 6,80 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, $\underline{\text{NH}}$) ; 7,36 (5H, s, Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 22,51 ($\underline{\text{CH}}_2$ Lys) ; 28,68 ($9\underline{\text{CH}}_3$ Boc et $2t\text{-Bu}$) ; 29,55 et 30,07 ($2\underline{\text{CH}}_2$ Lys) ; 32,16 et 32,36 ($\underline{\text{CH}}_{2\beta}$ et $\underline{\text{CH}}_{2\gamma}$ Glu) ; 40,95 ($\underline{\text{CH}}_2\text{NH}$) ; 52,87 ($\underline{\text{CH}}_\alpha$) ; 54,34 ($\underline{\text{CH}}_\alpha$) ; 66,98 ($\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$) ; 80,34 ($\underline{\text{C-O}}$ $t\text{-Bu}$) ; 81,19 ($\underline{\text{C-O}}$ $t\text{-Bu}$) ; 82,44 ($\underline{\text{C-O}}$ $t\text{-Bu}$) ; 128,44, 128,53 et 128,87 ($5\underline{\text{CH}}$ Ph) ; 137,02 ($\underline{\text{Cq}}$ Ph) ; 156,08 et 156,89 ($2\underline{\text{CO}}$ Boc et Z) ; 171,43, 171,94 et 173,04 ($\underline{\text{CO}}$ amide et $2\underline{\text{CO}}$ ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1265,2 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$; 644,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 644,35269 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calc. 644,3523)

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate d'allyle 58**C₁₂H₂₁NO₅****M_r = 259 g.mol⁻¹****Rdt = 78 %**

500 mg de L-homosérine (4,2 mmol ; 1 éq) et 168 mg de NaOH (4,2 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL d'eau et 5 mL de CH₃CN.

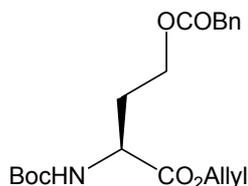
Ensuite 1 g de (Boc)₂O (4,62 mmol ; 1,1 éq) est ajouté et la solution est agitée pendant la nuit à température ambiante. Les solvants sont évaporés et le résidu huileux obtenu est trituré avec de l'Et₂O, séché sous vide puis redissous dans 12 mL de DMF.

La solution ainsi obtenue est traitée avec 0,4 mL de bromure d'allyle (4,62 mmol ; 1,1 éq) et la réaction est agitée pendant la nuit à température ambiante. Le DMF est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt. Cette phase organique est lavée trois fois avec 25 mL d'une solution saturée de NaHCO₃, une fois avec 25 mL d'eau, deux fois avec 25 mL d'une solution de KHSO₄ 0,1 M et une fois avec 25 mL d'une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le produit (3,305 mmol ; 856 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3382 (ν_{OH} et ν_{NH}) ; 2978 et 2935 (ν_{CH}) ; 1713 (ν_{C=O}) ; 1454 (ν_{φC=C}) ; 1393 et 1368 (δ_{CH₃} t-Bu) ; 1252 (ν_{C-C-O} asym) ; 1167 (ν_{O-C-C} asym) ; 935 (δ_{CH} vinyl).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,47 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,65 (1H, m, CH_β) ; 2,18 (1H, m, CH_β) ; 3,70 (2H, m, CH₂OH) ; 4,53 (1H, m, CH_α) ; 4,67 (2H, dd, J = 1,1 Hz et J = 5,6 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,28 (1H, dd, J = 1,3 Hz et J = 9 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,35 (1H, dd, J = 1,5 Hz et J = 15,8 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,41 (1H, M, NH) ; 5,92 (1H, m, CH₂-CH=CH₂).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-(benzylcarbonyloxy)-butanoate d'allyle 59a**C₂₀H₂₇NO₆****M_r = 377 g.mol⁻¹****Rdt = 20 %**

174 mg d'acide phénylacétique (1,08 mmol ; 0,33 éq) sont dissous dans un volume minimal de CH₂Cl₂ contenant le N^α-Boc-Hse-OAllyl 58 (3,27 mmol ; 849 mg) puis 110 mg de DCC (0,54 mmol ; 0,165 éq) sont ajoutés. Après 15 minutes, 7 mg de DMAP (0,054 mmol ; 0,0165 éq) sont ajoutés et la réaction est agitée pendant trois heures.

110 mg de DCC (0,54 mmol ; 0,165 éq) sont de nouveau ajoutés et la réaction est agitée pendant 16 heures à température ambiante. La dicyclohexylurée formée est éliminée par filtration, le solvant est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt puis lavé trois fois avec

chacune des solutions suivantes : une solution 0,1 M d'HCl, une solution 0,1 M de NaHCO₃ et une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

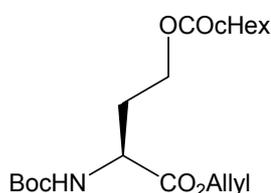
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 10 : 90).

Le produit (0,663 mmol ; 250 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3372 (ν_{NH}) ; 3065 et 3032 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1739, 1733 et 1714 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1250 (ν_{C-C-O asym}) ; 1161 (ν_{O-C-C asym}) ; 935 (δ_{CH vinyl}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,37 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,94 (1H, m, CH_β) ; 2,12 (1H, m, CH_β) ; 3,54 (2H, s, CH₂Ph) ; 4,09 (2H, m, CH_{2γ}) ; 4,36 (1H, m, CH_α) ; 4,54 (1H, t, J = 1,5 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 4,56 (1H, t, J = 1,3 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,03 (1H, d, J = 7,9 Hz, NH) ; 5,18 (1H, dd, J = 1,1 Hz et J = 9,4 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,25 (1H, dd, J = 1,5 Hz et J = 16,5 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,82 (1H, m, CH₂-CH=CH₂) ; 7,24 (5H, m, Ph).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-(cyclohexylcarbonyloxy)-butanoate d'allyle 59b



C₁₉H₃₁NO₆

M_r = 369 g.mol⁻¹

Rdt = 90 %

À une solution de N^α-Boc-Hse-OAllyl 58 (1,162 mmol ; 301 mg) dans 10 mL de CH₂Cl₂, sont ajoutés 325 μL de triéthylamine (2,324 mmol ; 2 éq) et 272 μL de chlorure de cyclohexanoyle (1,975 mmol ; 1,7 éq) à 0°C. Après agitation pendant la nuit à température ambiante, 15 mL d'eau sont ajoutés et la réaction est extraite avec 20 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 10 : 90).

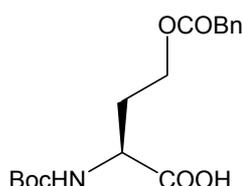
Le produit (1,040 mmol ; 384 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3369 (ν_{NH}) ; 2977 et 2934 (ν_{CH}) ; 1733 et 1716 (ν_{C=O}) ; 1392 et 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1248 (ν_{C-C-O asym}) ; 1166 (ν_{O-C-C asym}) ; 932 (δ_{CH vinyl}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,19-1,37 (4H, m, 2CH₂ cHex) ; 1,45 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,60-1,95 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 2,04 (1H, m, CH_β) ; 2,15-2,36 (2H, m, CHCO cHex et CH_β) ; 4,15 (2H, m, CH_{2γ}) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 4,65 (1H, t, J = 1,1 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 4,66 (2H, t,

$J = 1,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$), 5,17 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, NH) ;
 5,28 (1H, dd, $J = 1,3$ Hz et $J = 9,0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ;
 5,36 (1H, dd, $J = 1,5$ Hz et $J = 15,8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ,
 5,92 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$).

Acide (2S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-4-(benzylcarbonyloxy)-butanoïque
60a



$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_6$

$M_r = 337 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt quantitatif

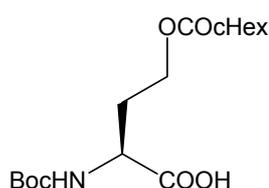
À une solution de N^α -Boc-Hse(COBn)-OAllyl **59a** (0,613 mmol ; 231 mg) dans 5 mL de CH_2Cl_2 , sont ajoutés 8 mg de PPh_3 (0,030 mmol ; 0,05 éq) et 53 μl de pyrrolidine (0,643 mmol ; 1,05 éq) puis le mélange est agité à température ambiante et sous atmosphère d'argon. 18 mg de Pd(0) (0,0153 mmol ; 0,025 éq) sont ensuite ajoutés et le mélange est agité pendant 40 minutes. Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt. Cette phase organique est lavée trois fois avec une solution de KHSO_4 0,1 M et une fois avec une solution saturée de NaCl, puis séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu jaune pâteux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (0,62 mmol ; 209 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3379 (ν_{COOH} et ν_{NH}) ; 3033 (ν_{CH}) ; 2934 (ν_{CH}) ; 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1394 et 1370 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O asym}}$) ; 1163 ($\nu_{\text{O-C-C asym}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,06 (1H, m, CH_β) ; 2,23 (1H, m, CH_β) ; 3,63 (2H, s, CH_2Ph) ; 4,23 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,43 (1H, m, CH_α) ; 5,14 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,31 (5H, m, Ph) ; 7,0-7,7 (1H, M, COOH).

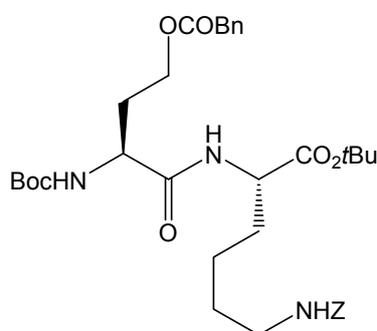
Acide (2S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-4-(cyclohexylcarbonyloxy)-butanoïque 60b**C₁₆H₂₇NO₆****M_r = 329 g.mol⁻¹****Rdt = 70 %****F = 143-145°C**

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **60a** (page précédente) à partir de la N^α-Boc-Hse(COcHex)-OAllyl **59b** (0,981 mmol ; 362 mg). Le résidu solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (0,73 mmol ; 240 mg) est obtenu sous la forme d'un solide brun.

IR (KBr ; pastille) : 3386 et 3221 (ν_{COOH} et ν_{NH}) ; 2951 et 2928 (ν_{CH}) ; 1754, 1722 et 1686 (ν_{C=O}) ; 1394 et 1370 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1255 (ν_{C-C-O asym}) ; 1163 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,15-1,30 (4H, m, 2CH₂ cHex) ; 1,46 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,60-1,95 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 2,08 (1H, m, CH_β) ; 2,19-2,35 (2H, m, CHCO cHex et CH_β) ; 4,20 (2H, m, CH_{2γ}) ; 4,42 (1H, m, CH_α) ; 5,21 (1H, d, J = 8,2 Hz, NH) ; 6,70-7,60 (1H, M, COOH).

N^α-Boc-L-Hse(COBn)-L-Lys(Z)-OtBu 61a**C₃₅H₄₉N₃O₉****M_r = 655 g.mol⁻¹****Rdt = 88 %****[α]_D^{25,2°C} = -3****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (page 189) à partir de la N^α-Boc-Hse(COBn)-OH **60a** (0,474 mmol ; 160 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,474 mmol ; 177 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,416 mmol ; 273 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3334 (ν_{NH}) ; 3066 et 3033 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2935 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O ester}) ; 1667 (ν_{C=O amide}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1393 et 1369 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1249 (ν_{C-C-O asym}) ; 1160 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,45 et 1,46 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,32-1,87 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 1,94 (1H, m, CH_β) ; 2,10 (1H, m, CH_β) ; 3,18 (2H, q, J = 6,3 Hz, CH₂NH) ; 3,65 (2H, s, CH₂Ph OCOBn) ; 4,16 (2H, m, CH_{2γ} Hse) ; 4,44 (1H, m, CH_α) ; 5,03 (1H, M, NH) ; 5,11 (2H, s, CH₂Ph Z) ; 6,74 (1H, d, J = 7,9 Hz, NH) ; 7,28-7,37 (10H, m, 2Ph).

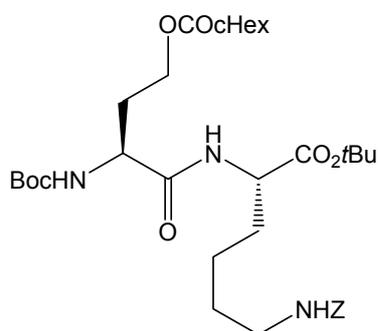
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,36 (CH₂ Lys) ; 28,38 et 28,69 (6CH₃ Boc et t-Bu) ; 29,41 et 31,61 (2CH₂ Lys) ; 32,31 (CH_{2β} Hse) ; 40,88 (CH₂Ph OCOBn) ; 41,65

($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NH}$) ; 52,12 ($\underline{\text{C}}\text{H}_\alpha$) ; 52,77 ($\underline{\text{C}}\text{H}_\alpha$) ; 61,83 ($\underline{\text{C}}\text{H}_{2\gamma}$ Hse) ; 67,05 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ Z) ; 80,64 ($\underline{\text{C}}\text{-O}$ *t*-Bu) ; 82,59 ($\underline{\text{C}}\text{-O}$ *t*-Bu) ; 127,56, 128,52, 128,59, 128,92, 129,03 et 129,71 (10 $\underline{\text{C}}\text{H}$ 2Ph) ; 134,24 ($\underline{\text{C}}\text{q}$ Ph) ; 136,94 ($\underline{\text{C}}\text{q}$ Ph) ; 155,94 et 156,91 (2 $\underline{\text{C}}\text{O}$ Boc et Z) ; 171,44, 171,55 et 172,04 ($\underline{\text{C}}\text{O}$ amide et 2 $\underline{\text{C}}\text{O}$ ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1333 [2M+Na]⁺ ; 678,2 [M+Na]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 678,33618 [M+Na]⁺ (calc. 678,3366).

N^α-Boc-L-Hse(COCHex)-L-Lys(Z)-OtBu **61b**



C₃₄H₅₃N₃O₉

M_r = 647 g.mol⁻¹

Rdt = 77 %

[α]_D^{26,1°C} = -6

(c = 1 ; CH₂Cl₂)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (voir page 189) à partir de la *N*^α-Boc-Hse(COCHex)-OH **60b** (0,68 mmol ; 227 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,68 mmol ; 253 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,522 mmol ; 338 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune visqueuse.

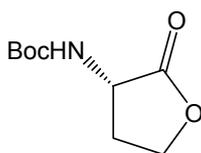
IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{CH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1731 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1454 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1393 et 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1248 ($\nu_{\text{C-O}}$ asym) ; 1161 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,46 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,20-2,20 (18H, m, 3CH₂ Lys, 5CH₂ cHex et CH_{2β} Hse) ; 2,31 (1H, m, CHCO cHex) ; 3,19 (2H, q, *J* = 6,2 Hz, CH₂NH) ; 4,05-4,23 (3H, m, CH_α et CH_{2γ} Hse) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 5,02 (1H, M, NH) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,25 (1H, M, NH) ; 6,85 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 7,36 (5H, s, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,38 (CH₂ Lys) ; 25,82 et 26,09 (3CH₂ cHex) ; 28,37 et 28,67 (6CH₃ Boc et *t*-Bu) ; 29,34 et 29,42 (2CH₂ Lys) ; 31,52 (2CH₂ cHex) ; 32,39 (CH_{2β} Hse) ; 40,92 (CH₂NH) ; 43,51 (CHCO cHex) ; 52,41 (CH_α) ; 52,80 (CH_α) ; 61,29 (CH_{2γ} Hse) ; 67,01 (CH₂Ph) ; 80,56 (C-O *t*-Bu) ; 82,57 (C-O *t*-Bu) ; 128,50, 128,55 et 128,90 (5CH Ph) ; 136,95 (Cq Ph) ; 155,94 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,47, 171,63 et 176,48 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1317,1 [2M+Na]⁺ ; 670,3 [M+Na]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 670,36846 [M+Na]⁺ (calc. 670,3679).

2-Oxo-(3S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-tétrahydrofurane 62**C₉H₁₅NO₄****M_r = 201 g.mol⁻¹****Rdt = 58 %****F = 124-125°C**
(litt. 124-126°C)¹³¹

À une solution de *N*^α-Boc-Hse-OAllyl **58** (1,16 mmol ; 300 mg) dans 5 mL d'Et₂O, sont ajoutés 1,07 g d'oxyde d'argent (4,64 mmol ; 4 éq) et 1 mL de bromure de benzyle (8,12 mmol ; 7 éq). Le mélange est agité sous atmosphère d'argon pendant la nuit à température ambiante.

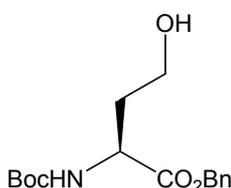
Le mélange est filtré sur Célite™ et le filtrat est concentré sous vide. Un précipité se forme qui est ensuite isolé par filtration.

Le produit (0,671 mmol ; 135 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

IR (NaCl ; film) : 3359 (ν_{NH}) ; 2978 et 2927 (ν_{CH}) ; 1777 (ν_{C=O} lactone) ; 1683 (ν_{C=O} Boc) ; 1533 (δ_{NH}) ; 1163 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,46 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 2,21 (1H, m, CH_β) ; 2,78 (1H, m, CH_β) ; 4,22-4,29 (3H, m, CH₂O + CH_α) ; 5,08 (1H, M, NH).

SM (ESI ; mode positif) : 424,8 [2M+Na]⁺ ; 223,9 [M+Na]⁺.

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate de benzyle 63**C₁₆H₂₃NO₅****M_r = 309 g.mol⁻¹****Rdt = 63 %**

505 mg de L-homosérine (4,24 mmol ; 1 éq) et 170 mg de NaOH (4,24 mmol ; 1 éq) sont dissous dans 5 mL d'eau et 5 mL de CH₃CN.

Ensuite 1,018 g de (Boc)₂O (4,664 mmol ; 1,1 éq) sont ajoutés et la solution est agitée pendant la nuit à température ambiante. Les solvants sont évaporés et le résidu huileux obtenu est trituré avec de l'Et₂O, séché sous vide puis redissous dans 12 mL de DMF.

La solution ainsi obtenue est traitée avec 570 μL de bromure de benzyle (4,664 mmol ; 1,1 éq) et la réaction est agitée pendant la nuit à température ambiante. Le DMF est évaporé et le résidu obtenu est dissous dans l'AcOEt. Cette phase organique est lavée trois fois avec 25 mL d'une solution saturée de NaHCO₃, une fois avec 25 mL d'eau, deux fois avec 25 mL d'une solution de KHSO₄ 0,1 M et une fois avec 25 mL d'une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

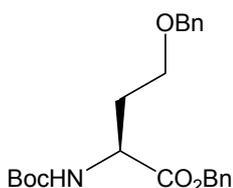
Le produit (2,69 mmol ; 831 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.

IR (NaCl ; film) : 3390 (ν_{OH} et ν_{NH}) ; 3066 et 3035 (ν_{CH}) ; 2977 et 2934 (ν_{CH}) ; 1695 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1456 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1163 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,63 (1H, m, CH_β) ; 2,18 (1H, m, CH_β) ; 3,68 (2H, m, CH_2OH) ; 4,55 (1H, m, CH_α) ; 5,19 (2H, système AB, $J = 13,0$ Hz, CH_2Ph) ; 5,41 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,37 (5H, s, Ph).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-4-benzyloxy-butanoate de benzyle **64**



$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_5$

$M_r = 399 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 17 %

À une solution de *N*^α-Boc-Hse-OBn **63** (2,5 mmol ; 769 mg) dans 10 mL d'Et₂O, sont ajoutés 2,3 g d'oxyde d'argent (10 mmol ; 4 éq) et 2,1 mL de bromure de benzyle (17,5 mmol ; 7 éq). Le mélange est agité sous atmosphère d'argon pendant la nuit à température ambiante.

Le mélange est filtré sur Célite™ et le filtrat est concentré sous vide. Le dérivé de la γ -butyrolactone **62** précipite et est ensuite isolé par filtration.

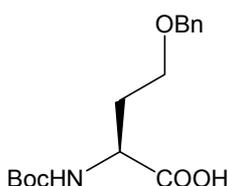
Le filtrat jaunâtre visqueux est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80).

Le produit (0,413 mmol ; 165 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3406 (ν_{NH}) ; 3065 et 3033 (ν_{CH}) ; 2977 et 2932 (ν_{CH}) ; 1739 et 1715 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1391 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1161 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,45 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,11 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,53 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,43-4,51 (3H, m+s, CH_α et CH_2Ph OBn) ; 5,12 (2H, système AB, $J = 12,2$ Hz, CH_2Ph CO₂Bn) ; 5,52 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, NH) ; 7,32-7,34 (10H, m, 2Ph).

Acide (2S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-4-benzyloxy-butanoïque **65**



$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

$M_r = 309 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 74 %

À une solution de *N*^α-Boc-Hse(Bn)-OBn **64** (0,371 mmol ; 148 mg) dans 3 mL de THF, sont ajoutés 1,4 mL d'une solution d'hydroxyde de lithium 0,5 M à 0°C.

Le mélange est agité à température ambiante pendant la nuit puis de l'Et₂O est ajouté.

La phase aqueuse est séparée, acidifiée avec une solution de KHSO₄ 1 M puis extraite deux fois avec de l'AcOEt.

Les deux phases organiques sont rassemblées, séchées sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

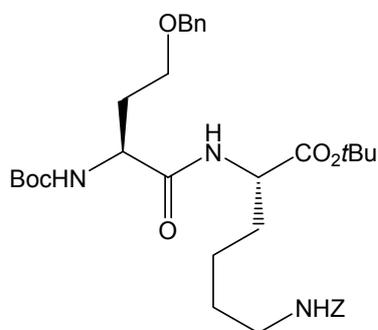
Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (0,275 mmol , 85 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{COOH} et ν_{NH}) ; 3033 (ν_{CH}) ; 2979 et 2932 (ν_{CH}) ; 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1454 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1395 et 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1163 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,46 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 2,15 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,67 (2H, t, $J = 4,7$ Hz, $\text{CH}_{2\gamma}$) ; 4,39 (1H, m, CH_α) ; 4,54 (2H, système AB, $J = 11,6$ Hz, CH_2Ph) ; 5,71 (1H, d, $J = 6,4$ Hz, NH) ; 7,33 (5H, m, Ph).

N^α -Boc-L-Hse(Bn)-L-Lys(Z)-OtBu **66**



$\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_8$

$M_r = 627 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 56 %

$[\alpha]_D^{26,3^\circ\text{C}} = -4$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (page 189) à partir de la N^α -Boc-Hse(Bn)-OH **65** (0,243 mmol ; 75 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,243 mmol ; 90,6 mg).

Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,137 mmol ; 86 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3323 (ν_{NH}) ; 3065 et 3033 (ν_{CH}) ; 2977 et 2932 (ν_{CH}) ; 1666 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1159 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

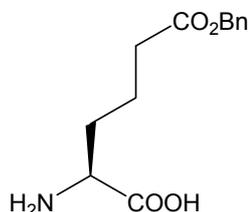
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,45 et 1,46 (18H, s, $2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc et *t*-Bu) ; 1,20-1,80 (6H, m, 3CH_2 Lys) ; 2,07 (2H, m, $\text{CH}_{2\beta}$ Hse) ; 3,15 (2H, q, $J = 6,2$ Hz, CH_2NH) ; 3,60 (2H, m, $\text{CH}_{2\gamma}$ Hse) ; 4,26 (1H, m, CH_α) ; 4,42 (1H, m, CH_α) ; 4,51 (2H, système AB, $J = 12,5$ Hz, CH_2Ph OBn) ; 4,94 (1H, m, NH) ; 5,09 (2H, s, CH_2Ph Z) ; 5,71 (1H, m, NH) ; 6,94 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, NH) ; 7,31-7,37 (10H, m, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 22,55 (CH_2 Lys) ; 28,38 et 28,71 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 29,44, 32,49 et 32,55 (2CH_2 Lys et $\text{CH}_{2\beta}$ Hse) ; 41,02 (CH_2NH) ; 52,75 (CH_α) ; 53,55 (CH_α) ; 66,69 ($\text{CH}_{2\gamma}$ Hse) ; 68,02 (CH_2Ph OBn) ; 73,68 (CH_2Ph Z) ; 80,25 (C-O *t*-Bu) ; 82,39 (C-O *t*-Bu) ; 128,17, 128,46, 128,54, 128,86 et 128,89 (10CH 2Ph) ; 137,03 (Cq Ph) ; 138,27 (Cq Ph) ; 156,11 et 156,86 (2CO Boc et Z) ; 171,52 et 172,11 (CO amide et CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1277,1 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 650,2 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 650,34240 [M+Na]⁺ (calc. 650,3417).

Ester 6-benzyle de l'acide (2S)-amino-hexanedioïque **67**



C₁₃H₁₇NO₄

M_r = 251 g.mol⁻¹

Rdt = 53 %

F = 163-166°C
(litt. 188°C / eau
chaude)¹⁵⁹

L'acide α-aminoadipique (2,5 mmol ; 400 mg) est chauffé à 100°C dans 2,6 mL d'alcool benzyle (25 mmol ; 10 éq) et 210 µL d'une solution d'HCl 12 M (2,5 mmol ; 1 éq) pendant une heure.

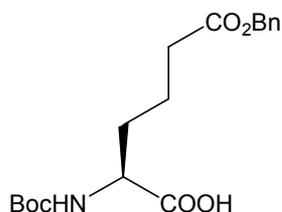
De l'Et₂O est ajouté pour précipiter le produit qui est ensuite filtré et séché.

Le produit (1,34 mmol ; 336 mg) est obtenu sous la forme d'un solide blanc ne nécessitant pas de purification supplémentaire.

IR (KBr ; pastille) : 3432 et 3215 (ν_{COOH} et ν_{NH2}) ; 3000 (ν_{φCH}) ; 2921 (ν_{CH}) ; 1735 (ν_{C=O}) ; 1486 et 1456 (ν_{φC=C}) ; 1179 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (DMSO ; 300 MHz) : 1,55-1,87 (4H, m, CH_{2β} et CH_{2γ}) ; 2,41 (2H, t, J = 7,1 Hz, CH_{2δ}) ; 3,88 (1H, t, J = 6,0 Hz, CH_α) ; 5,09 (2H, s, CH₂Ph) ; 7,35 (5H, s, Ph) ; 8,35-8,52 (2H, M, NH₂).

Ester 6-benzyle de l'acide (2S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-hexanedioïque **68**



C₁₈H₂₅NO₆

M_r = 351 g.mol⁻¹

Rdt = 64 %

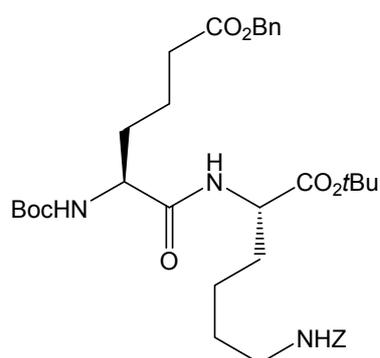
Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **24** (page 134) à partir du H-Aad(OBn)-OH **67** (1,27 mmol ; 319 mg).

Le produit (0,812 mmol ; 285 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore ne nécessitant pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3345 (ν_{COOH} et ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2936 (ν_{CH}) ; 1716 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1393 et 1369 (δ_{CH3 t-Bu}) ; 1248 (ν_{C-C-O asym}) ; 1167 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,37 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,58-1,87 (4H, m, CH_{2β} et CH_{2γ}) ; 2,33 (2H, m, CH_{2δ}) ; 4,23 (1H, m, CH_α) ; 5 (1H, M, NH) ; 5,04 (2H, s, CH₂Ph) ; 7,28 (5H, s, Ph).

¹⁵⁹ KUBOTA S., GASKIN F., YANG J. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94(12), 4328-4337.

N*^α-Boc-L-Aad(OBn)-L-Lys(Z)-OtBu 69****C₃₆H₅₁N₃O₉*M_r = 669 g.mol⁻¹****Rdt = 60 %****[α]_D^{22,9°C} = -9****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit 57 (page 189) à partir de la *N*^α-Boc-Aad(OBn)-OH 68 (0,78 mmol ; 274 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,78 mmol ; 291 mg).

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,47 mmol ; 315 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

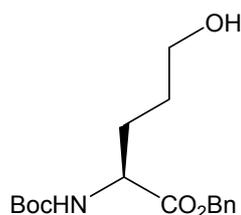
IR (NaCl ; film) : 3324 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2977 et 2935 (ν_{CH}) ; 1732 (ν_{C=O} ester) ; 1668 (ν_{C=O} amide) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1368 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1248 (ν_{C-C-O} asym) ; 1162 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,46 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,30-1,72 (8H, m, CH_{2γ} Aad et 3CH₂ Lys) ; 1,84 (2H, m, CH_{2β} Aad) ; 2,37 (2H, q, *J* = 5,9 Hz, CH_{2δ} Aad) ; 3,18 (2H, q, *J* = 5,9 Hz, CH₂NH) ; 4,05 (1H, m, CH_α) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 5,06 (1H, M, NH) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph) ; 5,12 (2H, s, CH₂Ph) ; 6,70 (1H, d, *J* = 8,2 Hz, NH) ; 7,35 (10H, s, 2Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 21,28, 22,55, 29,48, 31,83 et 32,26 (CH_{2β}, CH_{2γ} Aad et 3CH₂ Lys) ; 28,36 et 28,71 (6CH₃ Boc et *t*-Bu) ; 34,03 (CH_{2δ} Aad) ; 40,94 (CH₂NH) ; 52,83 (CH_α) ; 54,44 (CH_α) ; 66,65 (CH₂Ph) ; 67 (CH₂Ph) ; 80,44 (C-O *t*-Bu) ; 82,41 (C-O *t*-Bu) ; 128,47, 128,61, 128,88 et 128,95 (10CH 2Ph) ; 136,32 (C_q Ph) ; 136,99 (C_q Ph) ; 156,23 et 156,93 (2CO Boc et Z) ; 171,50, 172,34 et 173,49 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1361 [2M+Na]⁺ ; 692,2 [M+Na]⁺ ; 670 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 692,35189 [M+Na]⁺ (calc. 692,3523).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-5-hydroxy-pentanoate de benzyle 70**C₁₇H₂₅NO₅****M_r = 323 g.mol⁻¹****Rdt = 84 %**

À une solution de *N*^α-Boc-Glu-OBn commercial (1,5 mmol ; 503 mg) dans 10 mL de THF, sont ajoutés 632 μL de triéthylamine (4,5 mmol ; 3 éq) et 430 μL de chloroformiate d'éthyle (4,5 mmol ; 3 éq) à -10°C et sous atmosphère d'argon.

Le mélange est agité à -10°C pendant une heure puis une solution de 228 mg de borohydrure de sodium (6 mmol ; 4 éq) dans 8 mL d'eau est ajoutée goutte à goutte à -10°C.

Le mélange est agité à -10°C pendant une heure puis à température ambiante pendant deux heures.

La réaction est traitée par 20 mL d'une solution de KHSO_4 1 M et le mélange ainsi obtenu est extrait trois fois avec de l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées.

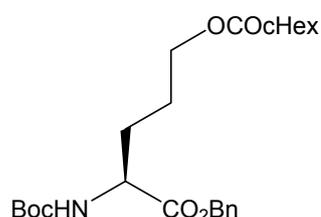
Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (1,26 mmol ; 407 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3375 (ν_{OH} et ν_{NH}) ; 3035 (ν_{CH}) ; 2977 et 2933 (ν_{CH}) ; 1713 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1392 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1253 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1166 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,45 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,52-2,06 (5H, m, $\text{CH}_{2\beta}$, $\text{CH}_{2\gamma}$ et OH) ; 3,65 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, CH_2OH) ; 4,40 (1H, m, CH_α) ; 5,19 (3H, système AB, $J = 12,4$ Hz, CH_2Ph et NH) ; 7,37 (5H, s, Ph).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-5-(cyclohexylcarbonyloxy)-pentanoate de benzyle **71**



$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_6$

$M_r = 433 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 86 %

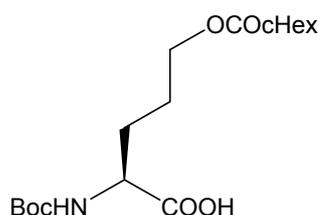
Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **59b** (page 191) à partir de la N^α -Boc-Nva(δ -OH)-OBn **70** (0,62 mmol ; 200 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80).

Le produit (0,531 mmol ; 230 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3368 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{CH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1732 et 1716 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1454 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1391 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1248 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1169 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,2-1,4 (4H, m, 2CH_2 cHex) ; 1,45 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc) ; 1,60-2,0 (10H, m, $\text{CH}_{2\beta}$, $\text{CH}_{2\gamma}$ et 3CH_2 cHex) ; 2,26 (1H, m, CHCO cHex) ; 4,05 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, $\text{CH}_{2\delta}$) ; 4,38 (1H, m, CH_α) ; 5,07 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, NH) ; 5,19 (2H, système AB, $J = 12,2$ Hz, CH_2Ph) ; 7,37 (5H, s, Ph).

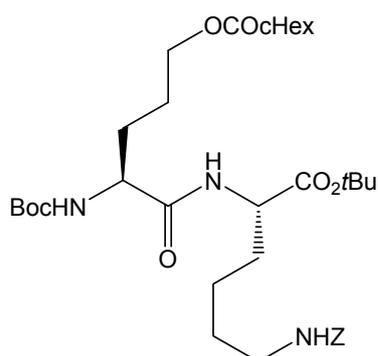
Acide (2S)-(tert-butyloxycarbonylamino)-5-(cyclohexylcarbonyloxy)-pentanoïque 72**C₁₇H₂₉NO₆****M_r = 343 g.mol⁻¹****Rdt = 83 %**

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **52** (page 185) à partir de la *N*^α-Boc-Nva(δ-OCOcHex)-OBn **71** (0,51 mmol ; 220 mg).

Le produit (0,422 mmol ; 145 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune ne nécessitant pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3350 (ν_{COOH} et ν_{NH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1715 (ν_{C=O}) ; 1394 et 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1249 (ν_{C-C-O asym}) ; 1165 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,12-1,31 (4H, m, 2CH₂ cHex) ; 1,35 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,52-2,0 (10H, m, CH_{2β}, CH_{2γ} et 3CH₂ cHex) ; 2,24 (1H, m, CHCO cHex) ; 4,0 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, CH_{2δ}) ; 4,27 (1H, m, CH_α) ; 4,98 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 5,70-6,60 (1H, M, COOH).

N*^α-Boc-L-Nva(δOCOcHex)-L-Lys(Z)-OtBu 73****C₃₅H₅₅N₃O₉*M_r = 661 g.mol⁻¹****Rdt = 77 %****[α]_D^{26,3°C} = +2****(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (voir page 189) à partir de la *N*^α-Boc-Nva(δ-OCOcHex)-OH **72** (0,39 mmol ; 133,5 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,39 mmol ; 145,5 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,30 mmol ; 198 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3066 et 3035 (ν_{φCH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1729 (ν_{C=O} ester) ; 1453 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1368 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1249 (ν_{C-C-O asym}) ; 1160 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,47 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et t-Bu) ; 1,20-1,97 (20H, m, 3CH₂ Lys, 5CH₂ cHex, CH_{2β} et CH_{2γ} Nva) ; 2,29 (1H, m, CHCO cHex) ; 3,19 (2H, q, *J* = 5,7 Hz, CH₂NH) ; 3,98-4,18 (3H, m, CH_α et CH_{2δ} Nva) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 5,0 (1H, M, NH) ; 5,11 (2H, s, CH₂Ph) ; 6,64 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph).

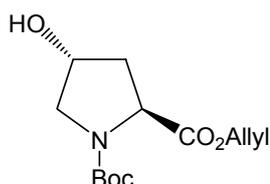
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,48 (CH₂ Lys) ; 25,34 (CH_{2γ} Nva) ; 25,83 et 26,12 (3CH₂ cHex) ; 28,36 et 28,70 (6CH₃ Boc et t-Bu) ; 29,39 et 29,51 (2CH₂ Lys) ; 30,08 (2CH₂ cHex) ; 32,30 (CH_{2β} Nva) ; 40,90 (CH₂NH) ; 43,58 (CHCO cHex) ; 52,78 (CH_α) ; 54,23 (CH_α) ; 63,73 (CH_{2δ} Nva) ; 67,03 (CH₂Ph) ; 80,43 (C-O t-Bu) ; 82,44 (C-

O *t*-Bu) ; 128,47, 128,57 et 128,88 (5 $\underline{\text{C}}\text{H}$ Ph) ; 136,97 ($\underline{\text{C}}\text{q}$ Ph) ; 156,15 et 156,91 (2 $\underline{\text{C}}\text{O}$ Boc et $\underline{\text{Z}}$) ; 171,46, 172,18 et 176,67 ($\underline{\text{C}}\text{O}$ amide et 2 $\underline{\text{C}}\text{O}$ ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1345,2 [2M+Na]⁺ ; 684,3 [M+Na]⁺ ; 662,1 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 684,38378 [M+Na]⁺ (calc. 684,3836).

Ester allylique de l'acide (4*R*)-hydroxy-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-(2*S*)-oïque **74**



C₁₃**H**₂₁**NO**₅

M_r = 271 g.mol⁻¹

Rdt = 97 %

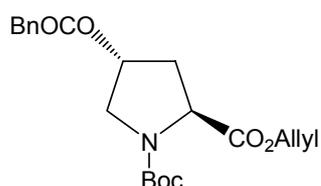
Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **58** (page 190) à partir de la *trans*-4-hydroxy-*L*-proline commerciale (3,816 mmol ; 500 mg).

Le produit (3,69 mmol ; 1 g) est obtenu sous la forme d'une huile incolore qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3436 (ν_{OH}) ; 2978 et 2936 (ν_{CH}) ; 1748 et 1682 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1415 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1368 (ν_{CH_3} *t*-Bu) ; 1159 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,42 et 1,46 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 2,09 (1H, m, CH_β) ; 2,31 (1H, m, CH_β) ; 3,55 (2H, m, CH₂N) ; 4,40-4,51 (2H, m, CH_α et CHOH) ; 4,65 (2H, d, *J* = 5,6 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 4,26 (1H, dd, *J* = 0,7 Hz et *J* = 10,1 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,84 (1H, dd, *J* = 0,9 Hz et *J* = 18,2 Hz, CH₂-CH=CH₂) ; 5,91 (1H, m, CH₂-CH=CH₂).

Ester allylique de l'acide (4*R*)-(benzylcarbonyloxy)-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-(2*S*)-oïque **75a**



C₂₁**H**₂₇**NO**₆

M_r = 389 g.mol⁻¹

Rdt = 79 %

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **59b** (page 191) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp-OAllyl **74** (0,738 mmol ; 200 mg) et du chlorure de phénylacétyl (1,254 mmol ; 1,7 éq).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80).

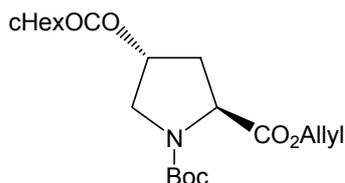
Le produit (0,583 mmol ; 227 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3065 et 3031 ($\nu_{\phi\text{CH}}$) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1744 et 1704 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\phi\text{C=C}}$) ; 1403 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1258 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1157 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym) ; 931 (δ_{CH} vinyl).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,46 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 2,20 (1H, m, CH_β) ; 2,38

(1H, m, CH_β) ; 3,62-3,76 (4H, s+m, CH_2Ph et CH_2N) ; 4,32 et 4,43 (1H, 2t, $J = 8,0$ Hz et $J = 7,7$ Hz, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,65 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,22-5,38 (3H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ et CHOCOBn) ; 5,92 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) , 7,33 (5H, m, Ph).

Ester allylique de l'acide (4R)-(cyclohexylcarbonyloxy)-N-(tert-butyloxy-carbonyl)-pyrrolidin-(2S)-oïque 75b



$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_6$

$M_r = 381 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 84 %

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **59b** (page 191) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp-OAllyl **74** (0,960 mmol ; 260 mg).

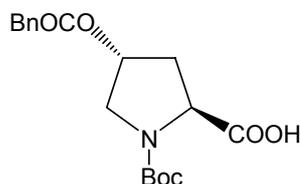
Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 20 : 80).

Le produit (0,808 mmol ; 308 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 2977 et 2934 (ν_{CH}) ; 1733, 1705 et 1699 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1403 et 1368 (ν_{CH_3} *t*-Bu) ; 1248 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1163 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym) ; 929 (ν_{CH} vinyl).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,21-1,38 (4H, m, 2 CH_2 cHex) ; 1,44 et 1,47 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,61-1,91 (6H, m, 3 CH_2 cHex) ; 2,14-2,43 (3H, m, $\text{CH}_2\beta$ et CHCO cHex) ; 3,63 (2H, m, CH_2N) ; 4,35 et 4,45 (1H, 2t, $J = 8,0$ Hz et $J = 7,7$ Hz, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,66 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$) ; 5,23-5,38 (3H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ et CH-O Hyp) ; 5,92 (1H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$).

Acide (4R)-(benzylcarbonyloxy)-N-(tert-butyloxy-carbonyl)-pyrrolidin-(2S)-oïque 76a



$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_6$

$M_r = 349 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt quantitatif

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **60a** (page 192) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(COBn)-OAllyl **75a** (0,311 mmol ; 121 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

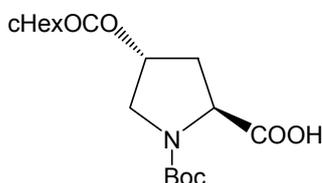
Le produit (0,309 mmol ; 108 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 2980 (ν_{COOH}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\phi\text{C=C}}$) ; 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1257 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1160 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,46 et 1,48 (9H, 2s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 2,40 (2H, m, $\text{CH}_2\beta$) ; 3,60-3,72 (4H, m+s, CH_2N et CH_2Ph) ; 4,32 et 4,44 (1H, 2t, $J =$

7,9 Hz et $J = 7,9$ Hz, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 5,29 (1H, m, CHOCOBn) ; 7,32 (5H, m, Ph).

Acide (4R)-(cyclohexylcarbonyloxy)-N-(tert-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-(2S)-oïque 76b



$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_6$

$M_r = 341 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 95 %

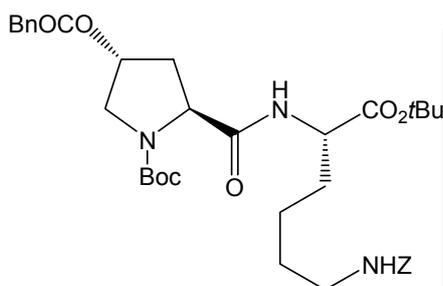
Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **60a** (page 192) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(COHex)-OAllyl **75b** (0,753 mmol ; 287 mg). Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50 puis avec le même éluant + 0,1 % d'acide formique).

Le produit (0,718 mmol ; 245 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3446 (ν_{COOH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1249 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,25-1,41 (4H, m, 2CH₂ cHex) ; 1,45 et 1,49 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,63-1,90 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 2,23-2,52 (3H, m, CH₂_β et CHCO cHex) ; 3,65 (2H, m, CH₂N) ; 4,36 et 4,50 (1H, 2t, $J = 8,0$ Hz et $J = 7,9$ Hz, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 5,29 (1H, d, $J = 15,4$ Hz, CH-O Hyp) ; 6,30-7,80 (1H, M, COOH).

***N*^α-Boc-*trans*-L-4-Hyp(COBn)-L-Lys(Z)-OtBu 77a**



$\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_9$

$M_r = 667 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 65 %

$[\alpha]_D^{26,5^\circ\text{C}} = -9$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (page 189) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(COBn)-OH **76a** (0,30 mmol ; 102 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,30 mmol ; 112 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (0,195 mmol ; 130 mg) est obtenu sous la forme d'une huile incolore.

IR (NaCl ; film) : 3329 (ν_{NH}) ; 3065 et 3033 (ν_{CH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 1695 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1394 et 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1251 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1158 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

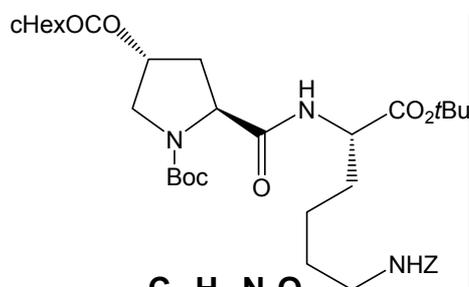
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,47 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,34-1,69 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,20 (1H, m, CH_β) ; 2,45 (1H, m, CH_β) ; 3,17 (2H, m, CH₂NH) ; 3,55-3,63 (4H, m+s, CH₂N et CH₂Ph) ; 4,28 (1H, m, CH_α) ; 4,44 (1H, m, CH_α) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph Z) ; 5,25 (1H, m, CH-O Hyp) ; 7,25-7,37 (10H, m, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 22,62 (CH_2 Lys) ; 28,38 et 28,64 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 29,44 et 30,11 (2CH_2 Lys) ; 32,38 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 40,96 et 41,72 (CH_2NH et CH_2Ph Hyp) ; 52,91 (CH_2N Hyp) ; 58,97 (CH_α) ; 60,82 (CH_α) ; 66,94 (CH_2Ph Z) ; 73,68 (CHO Hyp) ; 81,16 (C-O *t*-Bu) ; 82,47 (C-O *t*-Bu) ; 127,66, 128,89, 129,07 et 130,0 (10CH 2Ph) ; 133,94 (C_q Ph) ; 137,07 (C_q Ph) ; 155,50 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,23, 171,37 et 171,59 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1357,1 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 690,2 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 690,33599 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (calc. 690,3367).

***N* $^\alpha$ -Boc-*trans*-L-4-Hyp(CO*c*Hex)-L-Lys(Z)-O*t*Bu 77b**



$\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_9$

$M_r = 659 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rdt = 69 %

$[\alpha]_D^{26,5^\circ} = -11$

($c = 1$; CH_2Cl_2)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (page 189) à partir de la *N* $^\alpha$ -Boc-*trans*-4-Hyp(COcHex)-OH **76b** (0,642 mmol ; 219 mg) et de la H-Lys(Z)-O*t*Bu.HCl commerciale (0,642 mmol ; 240 mg).

Le résidu pâteux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,443 mmol ; 292 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune visqueuse.

IR (NaCl ; film) : 3350 (ν_{NH}) ; 2933 (ν_{CH}) ; 1668 ($\nu_{\text{C=O}}$ amide) ; 1454 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1394 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1248 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1160 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

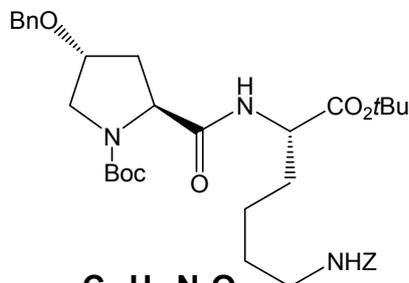
RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,44 et 1,47 (9H, 2s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc 1 $^{\text{er}}$ et 2 $^{\text{eme}}$ conf.) ; 1,23-1,88 (16H, m, 3CH_2 Lys et 5CH_2 *c*Hex) ; 2,18-2,54 (3H, m, $\text{CH}_{2\beta}$ et CHCO *c*Hex) ; 3,19 (2H, m, CH_2NH) ; 3,56 (2H, M, CH_2N) ; 4,36 (1H, m, CH_α) ; 4,45 (1H, m, CH_α) ; 5,10 (2H, système AB, $J = 12,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,22 (1H, M, CH-O Hyp) ; 7,05 (1H, M, NH) ; 7,34 (5H, m, Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 21,46, 22,19, 22,64, 29,43, 30,08, 32,35, 32,94 et 34,68 (5CH_2 *c*Hex et 3CH_2 Lys) ; 28,37 et 28,64 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 37,32 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 43,35 (CHCO *c*Hex) ; 53,11 (CH_2NH) ; 59,04 (CH_α) ; 60,41 (CH_α) ; 60,80 (CH_2N) ; 72,81 (CH-O Hyp) ; 73,67 (CH_2Ph) ; 81,11 (C-O *t*-Bu) ; 82,43 (C-O *t*-Bu) ; 128,16, 128,43, 128,51 et 128,87 (5CH Ph) ; 137,06 (C_q Ph) ; 155,67 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,30, 171,95 et 175,87 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1341,2 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 682,2 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 660,0 [MH] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 682,36780 [M+Na]⁺ (calc. 682,3680).

***N*^α-Boc-*trans*-L-4-Hyp(Bn)-L-Lys(Z)-OtBu 78**



C₃₅H₄₉N₃O₈

M_r = 639 g.mol⁻¹

Rdt = 70 %

[α]_D^{26,5°C} = -19

(c = 1 ; CH₂Cl₂)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **57** (page 189) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale (0,623 mmol ; 200 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,623 mmol ; 232 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,438 mmol ; 280 mg) est obtenu sous la forme d'une huile plus ou moins incolore.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3065 et 3033 (ν_{φCH}) ; 2977 et 2934 (ν_{CH}) ; 1679 (ν_{C=O} amide) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1394 et 1367 (ν_{CH₃ t-Bu}) ; 1251 (ν_{C-C-O asym}) ; 1160 (ν_{O-C-C asym}).

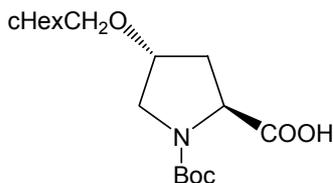
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,35 et 1,38 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,23-1,78 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,07 (1H, m, CH_β) ; 2,32 (1H, m, CH_β) ; 3,09 (2H, m, CH₂NH) ; 3,44 (2H, m, CH₂N) ; 4,24-4,37 (2H, m, 2CH_α) ; 4,41 (2H, d, J = 3,7 Hz, CH₂Ph Hyp) ; 4,96-5,05 (3H, m, CH-O Hyp et CH₂Ph Z) ; 6,52 (1H, m, NH) ; 6,97 (1H, m, NH) ; 7,20-7,27 (10H, m, 2Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,67 (CH₂ Lys) ; 28,39 et 28,70 (6CH₃ Boc et t-Bu) ; 29,45 et 32,37 (2CH₂ Lys) ; 34,72 (CH_{2β}) ; 40,97 (CH₂NH) ; 52,39 (CH₂N) ; 59,24 (CH_α) ; 60,42 (CH_α) ; 66,89 (CH₂Ph Hyp) ; 71,64 (CH₂Ph Z) ; 77,33 (CH-O Hyp) ; 80,84 (C-O t-Bu) ; 82,34 (C-O t-Bu) ; 128,03, 128,18, 128,50 et 128,87 (10CH 2Ph) ; 137,09 (C_q Ph) ; 138,28 (C_q Ph) ; 155,76 et 156,89 (2CO Boc et Z) ; 171,62 et 172,72 (CO amide et CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 662,3 [M+Na]⁺ ; 540,2 [MH]⁺ - isobutène - CO₂.

SM HR (ESI ; mode positif) : 662,34155 [M+Na]⁺ (calc. 662,3417).

Acide (4*R*)-(cyclohexylméthyloxy)-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-(2*S*)-oïque 79



C₁₇H₂₉NO₅

M_r = 327 g.mol⁻¹

Rdt quantitatif

Un mélange de *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commercial (0,623 mmol ; 200 mg) et de Rh/Al₂O₃ (5 %) (0,018 mmol ; 37 mg ; 0,028 éq) dans 4 mL d'isopropanol, est agité à température ambiante et sous atmosphère d'hydrogène pendant la nuit.

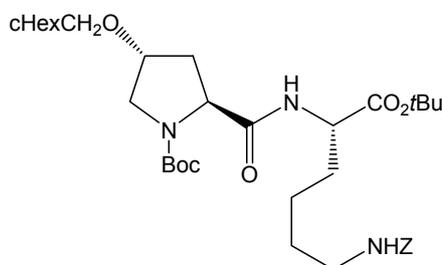
Le mélange est filtré afin d'éliminer le catalyseur et le filtrat est concentré.

Le produit (0,62 mmol ; 203 mg) est obtenu sous la forme d'une huile plus ou moins incolore qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3418 (ν_{COOH}) ; 2974 et 2924 (ν_{CH}) ; 1705 et 1682 (ν_{C=O}) ; 1368 (δ_{CH₃ *t*-Bu}) ; 1257 (ν_{C-C-O asym}) ; 1163 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,17-1,27 (6H, m, 3CH₂ cHex) ; 1,43 et 1,50 (9H, s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,65-1,76 (5H, m, 2CH₂ et CH cHex) ; 2,16 (1H, m, CH_β) ; 2,39 (1H, m, CH_β) ; 3,21 (2H, m, CH₂N) ; 3,54 (2H, m, CH₂O) ; 4,05 (1H, m, CH-O) ; 4,34 et 4,46 (1H, 2t, *J* = 7,7 Hz et *J* = 7,3 Hz, CH_α) ; 5-5,90 (1H, M, COOH).

***N*^α-Boc-*trans*-L-4-Hyp(CH₂cHex)-L-Lys(Z)-OtBu 80**



C₃₅H₅₅N₃O₈

M_r = 645 g.mol⁻¹

Rdt = 67 %

[α]_D^{26,6°C} = -17

(c = 1 ; CH₂Cl₂)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit 57 (page 189) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(CH₂cHex)-OH 79 (0,62 mmol ; 203 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,62 mmol ; 231 mg). Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,414 mmol ; 267 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3325 (ν_{NH}) ; 3066 et 3034 (ν_{φCH}) ; 2977 et 2925 (ν_{CH}) ; 1681 (ν_{C=O amide}) ; 1454 (ν_{φC=C}) ; 1394 et 1368 (δ_{CH₃ *t*-Bu}) ; 1248 (ν_{C-C-O asym}) ; 1159 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,44 et 1,47 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,12-1,89 (17H, m, 3CH₂ Lys, 5CH₂ et CH cHex) ; 2,06 (1H, m, CH_β) ; 2,34 (1H, m, CH_β) ; 3,13-3,21 (4H, m, 2CH₂N) ; 3,46 (2H, M, CH₂O Hyp) ; 3,95 et 4,04 (1H, 2M, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,31 (1H, m, CH_α) ; 4,43 (1H, m, CH-O Hyp) ; 5,10 (3H, M+s, NH et CH₂Ph) ; 7,06 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 7,36 (5H, s, Ph).

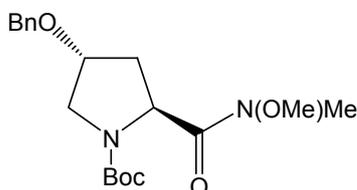
RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 21,43, 22,30, 22,68, 29,43,

30,08, 30,37, 30,43 et 32,39 (5CH_2 cHex et 3CH_2 Lys) ; 28,38 et 28,68 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 34,73 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 38,46 (CH cHex) ; 41,0 (CH_2NH) ; 52,33 (CH_2N) ; 52,92 (CH_α) ; 59,25 (CH_α) ; 66,90 (CH_2O Hyp) ; 75,48 (CH_2Ph) ; 77,59 (CH-O Hyp) ; 80,71 (C-O *t*-Bu) ; 82,29 (C-O *t*-Bu) ; 128,46 et 128,86 (5CH Ph) ; 137,10 (C_q Ph) ; 155,89 et 156,86 (2CO Boc et Z) ; 171,61 et 172,87 (CO amide et CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1313,3 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 668,3 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 646,1 [MH] $^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 668,38834 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (calc. 668,3887).

(4*R*)-(Benzyloxy)-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-*N*-méthoxy-*N*-méthyl-pyrrolidin-(2*S*)-amide 81



C₁₉H₂₈N₂O₅

M_r = 364 g.mol⁻¹

Rdt = 66 %

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour l'amide **35** (page 140) à partir de la *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-OH commerciale pendant une heure à température ambiante.

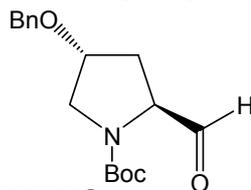
Le résidu huileux plus ou moins incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 50 : 50).

Le produit (1,063 mmol ; 387 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3064 et 3031 (ν_{CH}) ; 2975 et 2935 (ν_{CH}) ; 1736, 1695 et 1683 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1455 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1403 et 1367 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1164 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,43 et 1,47 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 2,04 (1H, m, CH_β) ; 2,38 (1H, m, CH_β) ; 3,21 (3H, s, CH₃N) ; 3,56-3,80 (5H, m+2s, CH₂N et CH₃O 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,19 et 4,26 (1H, 2m, CH_α 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,53 (2H, m, CH₂Ph) ; 4,78 et 4,86 (1H, 2t, *J* = 7,5 Hz et *J* = 7,3 Hz, CHOBn 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 7,34 (5H, m, Ph).

(4*R*)-(Benzyloxy)-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-(2*S*)-al 82



C₁₇H₂₃NO₄

M_r = 305 g.mol⁻¹

Rdt = 69 %

À 50 mg d'hydruure de lithium et d'aluminium (1,25 mmol ; 1,25 éq) refroidi dans un bain de glace, est ajoutée goutte à goutte une solution de *N*^α-Boc-*trans*-4-Hyp(Bn)-N(OMe)Me **81** (1 mmol ; 360 mg) dans 6 mL d'Et₂O anhydre.

Le mélange est laissé sous agitation à 0°C pendant 30 minutes puis hydrolysé avec 5 mL d'une solution de KHSO₄ 0,3 M.

La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'Et₂O.

Les phases étherées sont rassemblées puis lavées trois fois avec chacune des solutions suivantes : une solution d'HCl à 10 %, une solution saturée de NaHCO₃ et une solution saturée de NaCl.

La phase organique finale est séchée sur du Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée.

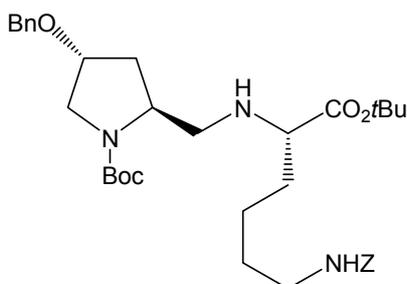
Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,688 mmol ; 210 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3065 et 3032 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2931 (ν_{CH}) ; 2715 (ν_{CHO}) ; 1738, 1704 et 1694 (ν_{C=O}) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1398 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1256 (ν_{C-C-O asym}) ; 1163 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,43 et 1,49 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 1,98 (1H, m, CH_β) ; 2,28 (1H, m, CH_β) ; 3,55 et 3,81 (2H, 2m, CH₂N 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,15 (1H, m, CH_α) ; 4,25 et 4,36 (1H, 2m, CHOBN 1^{er} et 2^{ème} conf.) ; 4,54 (2H, système AB, J = 11,6 Hz, CH₂Ph) ; 7,34 (5H, m, Ph) ; 9,45 et 9,57 (1H, 2d, J = 3,7 Hz et J = 2,6 Hz, CHO 1^{er} et 2^{ème} conf.).

N^α-Boc-trans-L-4-Hyp(Bn)-ψ(CH₂-NH)-L-Lys(Z)-OtBu 83



C₃₅H₅₁N₃O₇

M_r = 625 g.mol⁻¹

Rdt = 52 %

**[α]_D^{26,6°C} = -15
(c = 1 ; CH₂Cl₂)**

Ce dipeptide réduit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **9a** (page 80) à partir de l'aldéhyde **82** (0,68 mmol ; 207 mg) et de la H-Lys(Z)-OtBu.HCl commerciale (0,816 mmol ; 300 mg).

Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

Le produit (0,350 mmol ; 219 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3343 (ν_{NH}) ; 3065 et 3033 (ν_{φCH}) ; 2976 et 2933 (ν_{CH}) ; 1728, 1716, 1704, 1694 et 1682 (ν_{C=O}) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1394 et 1367 (δ_{CH₃ t-Bu}) ; 1247 (ν_{C-C-O asym}) ; 1162 (ν_{O-C-C asym}).

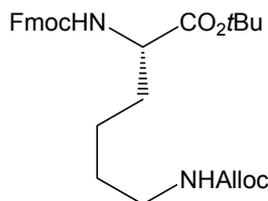
RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,46 (9H, 2s, C(CH₃)₃ Boc) ; 1,35-1,68 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,11 (2H, m, CH_{2β}) ; 2,65 (2H, m, CH₂NH) ; 3,19 (2H, q, J = 6,4 Hz, CH₂NH₂) ; 3,45 (2H, m, CH₂N) ; 3,91-4,14 (2H, m, 2CH_α) ; 4,49 (2H, système AB, J = 13,3 Hz, CH₂Ph Hyp) ; 4,80 (1H, M, CHOBN) ; 5,10 (2H, s, CH₂Ph Z) ; 7,31-7,38 (10H, m, 2Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 23,45 (CH_2 Lys) ; 28,53 et 28,87 (6CH_3 Boc et *t*-Bu) ; 30,07 et 33,65 (2CH_2 Lys) ; 41,27 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 51,13, 51,31 et 51,96 ($3\text{CH}_2\text{N}$) ; 56,65 (CH_α) ; 62,66 (CH_α) ; 66,86 (CH_2Ph Hyp) ; 71,25 (CH_2Ph Z) ; 76,60 (CH-O Hyp) ; 79,96 (C-O *t*-Bu) ; 81,39 (C-O *t*-Bu) ; 128,06, 128,51, 128,82 et 128,91 (10CH 2Ph) ; 137,03 (C_q Ph) ; 138,52 (C_q Ph) ; 155,37 et 156,78 (2CO Boc et Z) ; 175,19 (CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 626,2 $[\text{MH}]^+$; 570,2 $[\text{MH}]^+$ - isobutène ; 514,1 $[\text{MH}]^+$ - 2isobutène ; 470,3 $[\text{MH}]^+$ - 2isobutène - CO_2 .

SM HR (ESI ; mode positif) : 626,38092 $[\text{MH}]^+$ (calc. 626,3805).

6-(Allyloxycarbonylamino)-(2S)-(fluorénylméthylloxycarbonylamino)-hexanoate de *tert*-butyle **84**



$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$

$M_r = 508 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 79 %

À une solution d'un gramme de *N* $^\alpha$ -Fmoc-Lys(Alloc)-OH commerciale (2,21 mmol ; 1 éq), de 5,2 mL de *t*-BuOH (55,25 mmol ; 25 éq) et de 2,2 mL de pyridine (27,4 mmol ; 12,4 éq) à -5°C , sont ajoutés goutte à goutte 224 μL d'oxychlorure de phosphore (POCl_3) (2,4 mmol ; 1,1 éq) et la solution est agitée à -5°C pendant deux heures.

40 mL d'eau sont ensuite ajoutés et le mélange ainsi obtenu est extrait trois fois avec 60 mL d'AcOEt.

Les trois phases organiques sont rassemblées puis lavées avec 100 mL d'une solution d'HCl 0,5 M, 100 mL d'une solution de NaHCO_3 1 M et 100 mL d'eau.

La phase organique finale est séchée sur du Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée.

Le résidu huileux jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

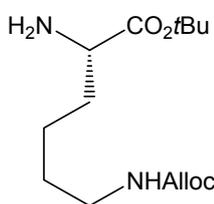
Le produit (1,74 mmol ; 884 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

IR (NaCl ; film) : 3335 (ν_{NH}) ; 3067 (ν_{CH}) ; 2936 (ν_{CH}) ; 1699 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1452 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1394 et 1369 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1156 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym) ; 937 (δ_{CH} vinyl) ; 741 (ν_{CH} Fmoc).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,49 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,30-1,90 (6H, m, 3CH_2 Lys) ; 3,20 (2H, q, $J = 6,2$ Hz, CH_2NH) ; 4,22-4,31 (2H, m, CH_α et CH Fmoc) ; 4,41 (2H, d, $J = 7,1$ Hz, CH_2O Fmoc) ; 4,56 (2H, d, $J = 5,2$ Hz, CH_2O Alloc) ; 4,79 (1H, M, NH Alloc) ; 5,24 (2H, dd, $J = 13,0$ Hz et $J = 28,0$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,38 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, NH Fmoc) ; 5,91 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 7,32 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, Ph) ; 7,42 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, Ph) ; 7,61 (2H, d, $J = 7,5$

Hz, Ph) ; 7,78 (2H, d, $J = 7,1$ Hz, Ph).

(2S)-Amino-6-(allyloxycarbonylamino)-hexanoate de *tert*-butyle 85



$C_{14}H_{26}N_2O_4$

$M_r = 286 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 80 %

Une solution de N^α -Fmoc-Lys(Alloc)-OtBu 84 (1,3 mmol ; 663 mg) dans 40 mL de CH_2Cl_2 est traitée par 3,8 mL de pipéridine (39 mmol ; 30 éq) et la réaction est agitée à température ambiante pendant une heure.

Du toluène est ensuite ajouté puis les solvants sont évaporés.

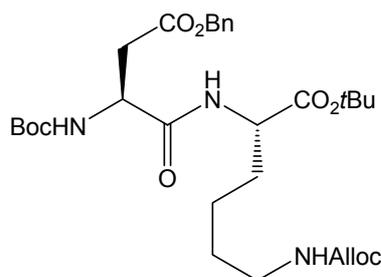
Le résidu pâteux blanc jaunâtre obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt pur puis AcOEt + 10 % de MeOH).

Le produit (1,04 mmol ; 297 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3359 (ν_{NH} et ν_{NH_2}) ; 2977 et 2936 (ν_{CH}) ; 1728 ($\nu_{C=O}$) ; 1394 et 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1254 (ν_{C-C-O} asym) ; 1156 (ν_{O-C-C} asym) ; 930 (δ_{CH} vinyl).

RMN 1H ($CDCl_3$; 300 MHz) : 1,47 (9H, s, $C(CH_3)_3$) ; 1,40-1,85 (6H, m, $3CH_2$ Lys) ; 2,14 (2H, M, NH_2) ; 3,20 (2H, q, $J = 6,4$ Hz, CH_2NH) ; 3,35 (1H, m, CH_α) ; 4,56 (2H, d, $J = 5,2$ Hz, CH_2O Alloc) ; 4,85 (1H, M, $NHAlloc$) ; 5,22 (1H, dd, $J = 1,3$ Hz et $J = 10,3$ Hz, $CH=CH_2$) ; 5,30 (1H, dd, $J = 1,6$ Hz et $J = 17,1$ Hz, $CH=CH_2$) ; 5,92 (1H, m, $CH=CH_2$).

N^α -Boc-L-Asp(OBn)-L-Lys(Alloc)-OtBu 86



$C_{30}H_{45}N_3O_9$

$M_r = 591 \text{ g.mol}^{-1}$

Rdt = 64 %

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit 57 (page 189) à partir du N^α -Boc-Asp(OBn)-OH commercial (0,674 mmol ; 218 mg) et de la H-Lys(Alloc)-OtBu 85 (0,674 mmol ; 193 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 40 : 60).

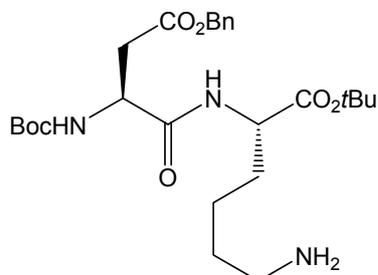
Le produit (0,435 mmol ; 257 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre.

IR (NaCl ; film) : 3335 (ν_{NH}) ; 2979 et 2935 (ν_{CH}) ; 1728 ($\nu_{C=O}$) ; 1457 ($\nu_{\phi C=C}$) ; 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 (ν_{C-C-O} asym) ; 1160 (ν_{O-C-C} asym) ; 930 (δ_{CH} vinyl).

RMN 1H ($CDCl_3$; 300 MHz) : 1,47 (18H, s, $2C(CH_3)_3$ Boc et *t*-Bu) ; 1,23-1,89 (6H, m, $3CH_2$ Lys) ; 2,76 (1H, m, CH_β) ; 3,04 (1H, m, CH_β) ; 3,15 (2H, q, $J = 6,4$ Hz, CH_2NH) ; 4,42 (1H, m, CH_α) ; 4,55 (2H, d, $J = 5,2$ Hz, CH_2O Alloc) ; 4,95 (1H, M, NH) ; 5,14 (2H, système AB, $J = 12,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,19 (1H, dd, $J = 10,17$ Hz, $CH=CH_2$) ; 5,28 (1H,

dd, $J = 1,5$ Hz et $J = 17,3$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,65 (1H, d, $J = 6,7$ Hz, NH) ; 5,91 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 6,98 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,35 (5H, s, Ph).

***N*^α-Boc-L-Asp(OBn)-L-Lys-O^tBu 87**



C₂₆H₄₁N₃O₇

M_r = 507 g.mol⁻¹

Rdt = 59 %

[α]_D^{25°C} = +2

(c = 0,36 ; CH₂Cl₂)

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **60a** (page 192) à partir du produit **86** (0,40 mmol ; 591 mg).

Le résidu huileux jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 70 : 30).

Le produit (0,236 mmol ; 120 mg) est obtenu sous la forme d'une huile jaune.

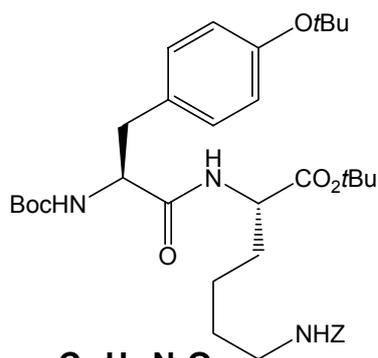
IR (NaCl ; film) : 3308 (ν_{NH} et ν_{NH_2}) ; 2929 (ν_{CH}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1456 ($\nu_{\phi\text{C=C}}$) ; 1368 (δ_{CH_3} *t*-Bu) ; 1250 ($\nu_{\text{C-C-O}}$ asym) ; 1160 ($\nu_{\text{O-C-C}}$ asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,47 (18H, s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,21-1,90 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 2,50-2,85 (4H, m, CH_{2β} Asp et NH₂) ; 3,11 (2H, m, CH₂NH₂) ; 4,43 (1H, m, CH_α) ; 4,57 (1H, m, CH_α) ; 5,17 (2H, m, CH₂Ph) ; 5,73 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,01 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,37 (5H, m, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,16 (CH₂ Lys) ; 28,40 et 28,70 (6CH₃ Boc et *t*-Bu) ; 30,10 et 31,03 (2CH₂ Lys) ; 45,26 (CH_{2β} Asp) ; 50,98 (CH_α) ; 51,18 (CH₂NH₂) ; 52,87 (CH_α) ; 67,37 (CH₂Ph) ; 81,0 (C-O *t*-Bu) ; 82,63 (C-O *t*-Bu) ; 128,48, 128,64 et 129,01 (5CH Ph) ; 135,84 (C_q Ph) ; 156,82 (CO Boc) ; 170,80, 171,23 et 171,86 (CO amide et 2CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 508,2 [MH]⁺.

SM HR (ESI ; mode positif) : 508,30196 [MH]⁺ (calc. 508,3023).

N*^α-Boc-L-Tyr(*t*Bu)-L-Lys(Z)-O*t*Bu 88****C₃₆H₅₃N₃O₈*M_r = 655 g.mol⁻¹****Rdt = 83 %****[α]_D^{26,7°C} = +3****(c = 1 ; CH₂Cl₂)****F = 112-115°C**

Ce dipeptide est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit 57 (page 189) à partir de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-OH commerciale (0,40 mmol ; 134,6 mg) et de la H-Lys(Z)-O*t*Bu.HCl commerciale (0,40 mmol ; 149 mg).

Le résidu huileux incolore obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt / EP 30 : 70).

Le produit (0,331 mmol ; 217 mg) est obtenu sous la forme d'un solide jaunâtre.

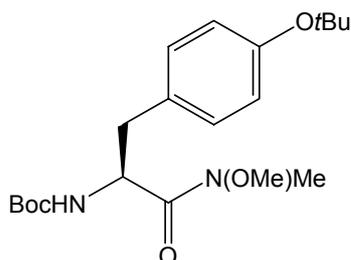
IR (KBr ; pastille) : 3356 (ν_{NH}) ; 2980 et 2933 (ν_{CH}) ; 1725, 1700, 1683 et 1657 (ν_{C=O}) ; 1455 (ν_{φC=C}) ; 1389 et 1366 (δ_{CH₃ *t*-Bu}) ; 1255 (ν_{C-C-O asym}) ; 1165 (ν_{O-C-C asym}).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,32 (9H, s, C(CH₃)₃ *t*-Bu) ; 1,41 et 1,45 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 1,21-1,90 (6H, m, 3CH₂ Lys) ; 3,0 (2H, t, *J* = 6,3 Hz, CH_{2β}) ; 3,15 (2H, m, CH₂NH) ; 4,30-4,45 (2H, m, 2CH_α) ; 5,11 (3H, s+M, CH₂Ph Z et NH) ; 6,51 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 6,90 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph Tyr) ; 7,09 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph Tyr) ; 7,36 (5H, s, Ph Z).

RMN ¹³C (CDCl₃ ; 75 MHz) : 22,35 (CH₂ Lys) ; 28,66, 29,20 et 29,34 (9CH₃ Boc et 2*t*-Bu) ; 29,59 et 32,41 (2CH₂ Lys) ; 37,93 (CH_{2β}) ; 41,01 (CH₂NH) ; 52,81 (CH_α) ; 56,08 (CH_α) ; 66,96 (CH₂Ph Z) ; 78,82 (C-O *t*-Bu) ; 80,51 (C-O *t*-Bu) ; 82,48 (C-O *t*-Bu) ; 124,68, 128,44, 128,51, 128,88 et 130,16 (9CH 2Ph) ; 131,86 (C_q Ph) ; 137,05 (C_q Ph) ; 154,55 (O-C_q Ph) ; 155,90 et 156,93 (2CO Boc et Z) ; 171,31 et 171,59 (CO amide et CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 1333,1 [2M+Na]⁺ ; 678,2 [M+Na]⁺ ; 556,2 [MH]⁺-isobutène-CO₂ ; 500,2 [MH]⁺-isobutène-2CO₂.

SM HR (ESI ; mode positif) : 678,37266 [M+Na]⁺ (calc. 678,3730).

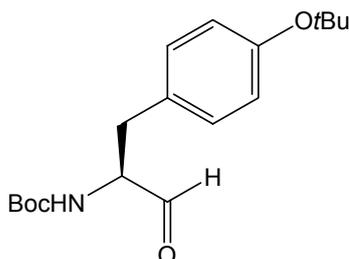
(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-3-(tert-butyloxyphényl)-N-méthoxy-N-méthyl-propanamide 89**C₂₀H₃₂N₂O₅****M_r = 380 g.mol⁻¹****Rdt = 93 %**

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **35** (page 140) à partir de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-OH commerciale (1,50 mmol ; 501,5 mg).

Le produit (1,40 mmol ; 533 mg) est obtenu sous la forme d'une huile plus ou moins incolore qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3324 (ν_{NH}) ; 2977 et 2934 (ν_{CH}) ; 1713 (ν_{C=O} Boc) ; 1661 (ν_{C=O} amide) ; 1391 et 1366 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1237 (ν_{C-C-O} asym) ; 1164 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,32 et 1,40 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 2,83 (2H, m, CH_{2β}) ; 3,15 (3H, s, NCH₃) ; 2,62 (3H, s, OCH₃) ; 4,90 (1H, m, CH_α) ; 5,18 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, NH) ; 6,91 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph) ; 7,08 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph).

(2S)-(Tert-butyloxycarbonylamino)-3-(tert-butyloxyphényl)-propanal 90**C₁₈H₂₇NO₄****M_r = 321 g.mol⁻¹****Rdt = 85 %**

Ce produit est préparé selon le même mode opératoire que pour le produit **82** (page 208) à partir de la *N*^α-Boc-Tyr(*t*Bu)-N(OMe)Me **89** (1,38 mmol ; 525 mg).

Le produit (1,17 mmol ; 377 mg) est obtenu sous la forme d'une huile plus ou moins incolore qui ne nécessite pas de purification.

IR (NaCl ; film) : 3354 (ν_{NH}) ; 3029 (ν_{φCH}) ; 2978 et 2933 (ν_{CH}) ; 2820 et 2725 (ν_{CH} aldéhyde) ; 1695 (ν_{C=O}) ; 1456 (ν_{φC=C}) ; 1392 et 1367 (δ_{CH₃} *t*-Bu) ; 1238 (ν_{C-C-O} asym) ; 1163 (ν_{O-C-C} asym).

RMN ¹H (CDCl₃ ; 300 MHz) : 1,26 et 1,36 (18H, 2s, 2C(CH₃)₃ Boc et *t*-Bu) ; 2,99 (2H, d, *J* = 6,7 Hz, CH_{2β}) ; 4,33 (1H, q, *J* = 6,7 Hz, CH_α) ; 4,97 (1H, d, *J* = 6,0 Hz, NH) ; 6,85 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph) ; 6,99 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, Ph) ; 9,55 (1H, s, CHO).

C-O asym); 1163 (vO-C-C asym).

RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) : 1,34 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ *t*-Bu) ; 1,42 et 1,46 (18H, 2s, $2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Boc et *t*-Bu) ; 2,62 (2H, d, $J = 5,6$ Hz, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 2,78 (2H, m, CH_2NH) ; 3,23 (1H, d, $J = 17,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{tBu}$) ; 3,33 (1H, d, $J = 17,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{tBu}$) ; 3,86 (1H, M, CH_α) ; 4,81 (1H, M, NH) ; 6,91 (2H, d, $J = 8,2$ Hz, Ph) ; 7,10 (2H, d, $J = 8,2$ Hz, Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) : 28,49, 28,70, 28,78 et 29,21 (9CH_3 Boc et 2*t*-Bu) ; 38,77 ($\text{CH}_{2\beta}$) ; 51,68 et 52,03 (CH_2NH et $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{tBu}$) ; 61,88 (CH_α) ; 78,72 (C-O *t*-Bu) ; 79,57 (C-O *t*-Bu) ; 81,71 (C-O *t*-Bu) ; 124,54, 130,10 et 130,26 (4CH Ph) ; 133,26 (C_q Ph) ; 154,16 (O-C_q Ph) ; 156,04 (CO Boc) ; 171,98 (CO ester).

SM (ESI ; mode positif) : 437,1 $[\text{MH}]^+$.

SM HR (ESI ; mode positif) : 437,30135 $[\text{MH}]^+$ (calc. 437,3015).

CHAPITRE V
TESTS ET RÉSULTATS BIOLOGIQUES

I - TESTS BIOLOGIQUES

Les composés synthétisés ont été testés pour leur activité vis-à-vis de la P-gp par M^{lle} G. ALAMÉ (doctorante, laboratoire des hormones stéroïdes et protéines de liaison, INSERM U863, Lyon) et par M. I. RAAD¹⁶² (doctorant, laboratoire de pharmacognosie, EA 3741, Lyon) dans le laboratoire de cytologie analytique (Pr C. DUMONTET, INSERM U590, Lyon).

Le test utilise des cellules leucémiques humaines sélectionnées en culture surexprimant la P-gp en présence de la daunorubicine, anticancéreux fluorescent transporté par celle-ci. La concentration de la daunorubicine dans les cellules est mesurée après accumulation en présence ou en absence des peptidomimétiques ; l'effet inhibiteur de ces derniers se traduit par une accumulation plus importante de la daunorubicine qui est fonction du degré d'inhibition de la P-gp. Ce test est effectué par cytométrie en flux qui permet de trier les cellules et d'en utiliser un nombre fixe, tout en limitant le bruit de fond.

Une partie de ces composés a aussi été testée pour leur activité sur P-gp par M^{lle} O. ARNAUD (laboratoire des protéines de résistance aux agents chimiothérapeutiques, Dr A. DI PIETRO, IBCP, UMR5086 CNRS, Lyon) sur un autre modèle cellulaire. M^{lle} ARNAUD a également testé les produits pour leur effet sur BCRP.

Le test utilise des cellules transfectées en culture exprimant la P-gp ou la BCRP. L'anticancéreux fluorescent utilisé est la mitoxantrone qui est transportée par la P-gp et la BCRP. La concentration de la mitoxantrone dans les cellules est mesurée après accumulation en présence ou en absence des peptidomimétiques ; l'effet inhibiteur de ces derniers se traduit par une accumulation plus importante de la mitoxantrone qui est fonction du degré d'inhibition de la P-gp ou de la BCRP. Ce test est également effectué par cytométrie en flux.

Les tests réalisés permettent de comparer l'efficacité d'inhibition ainsi que la sélectivité de différents peptidomimétiques synthétisés sur la P-gp et la BCRP et de déduire les requis structuraux nécessaires à l'activité et à la sélectivité.

¹⁶² KOUBEISSI A., RAAD I., ETOUATI L., GUILLET D., DUMONTET C., PARIS J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(21), 5700-5703.

II - RÉSULTATS BIOLOGIQUES

A - Activité des dérivés peptidiques sur la P-gp

Nous avons choisi de présenter les résultats sur P-gp selon le modèle cellulaire. Les deux modèles cellulaires utilisés sont différents ainsi que l'anticancéreux utilisé et l'inhibiteur témoin. Pour chaque modèle cellulaire, les résultats sont présentés par type de modification structurale, en indiquant l'activité pour chaque composé par rapport à l'inhibiteur témoin (cyclosporine A ou GF120918) et selon le cas par rapport à une réversine de référence.

1 - 1^{er} modèle cellulaire

M^{lle} G. ALAMÉ et M. I. RAAD ont testé trois fois les peptidomimétiques à une concentration de 10 μ M sur des cellules leucémiques humaines de type K562/R7 surexprimant la P-gp en présence de la daunorubicine comme anticancéreux. Ce test cellulaire utilise des cellules sélectionnées qui peuvent surexprimées d'autres protéines de transport que la P-gp.

L'inhibiteur témoin utilisé est la cyclosporine A (structure page 24). La valeur indiquée entre parenthèse correspond à la moyenne de l'erreur standard ou « Standard Error of Mean » (S.E.M.).

a - Activité des réversines 121 et 1092 et de leurs dérivés modifiés au niveau de la liaison peptidique

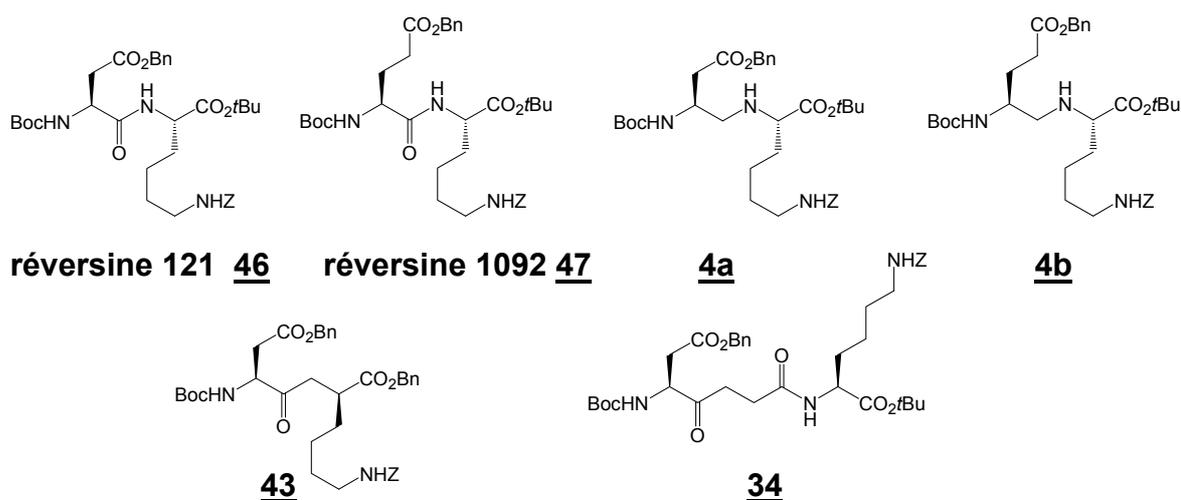


Tableau 1

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	72,73 (±5,27)	100
4a	74,14 (±4,06)	102
4b	79,08 (±5,13)	109
34	86,62 (±4,86)	119

Tableau 2

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	88,00 (±0,59)	100
réversine 1092	77,48 (±2,98)	88
43	84,50 (±9,00)	96

^a ciclosporine A (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

Nous présentons dans le tableau 1 les résultats des produits testés par M. I. RAAD et dans le tableau 2 les résultats des produits testés par M^{lle} G. ALAMÉ. Dans les deux cas la réversine 121 est utilisée comme référence.

La réversine 1092 **47** est légèrement moins active que la réversine 121 (tableau 2). Leurs analogues aminométhyléniques **4a** et **4b** ont une activité comparable à celle de la réversine 121 (tableau 1), cela suggère que le remplacement de la liaison peptidique par une liaison amide « réduite » ne modifie pas sensiblement l'activité inhibitrice.

L'analogue **43** comporte trois modifications structurales par rapport à la réversine 121 **46** : la liaison peptidique (CO-NH) est remplacée par une liaison de type cétométhylène $\psi(\text{CO-CH}_2)$, l'ester *tert*-butylique (OtBu) en position C-terminale est substitué par un ester benzylique (OBn) et la configuration du carbone porteur de la chaîne latérale de la lysine est inversée. Cet analogue possède une activité comparable à celle de la réversine 121 mais en raison des modifications simultanées réalisées, nous ne pouvons pas préciser exactement l'effet de la liaison cétométhylénique $\psi(\text{CO-CH}_2)$ sur l'activité. Une mesure de l'activité de l'analogue peptidique (CONH) du dérivé **43** aurait été utile pour évaluer l'effet de cette liaison cétométhylénique sur l'activité.

L'analogue **34** de type $\psi(\text{CO-CH}_2)\text{-Gly}$, présente une activité légèrement supérieure par rapport à celle de la réversine 121 (tableau 1), ce qui pourrait indiquer que l'insertion d'un espaceur est un facteur favorable à l'activité inhibitrice.

b - Activité de la réversine 213 et de ses dérivés

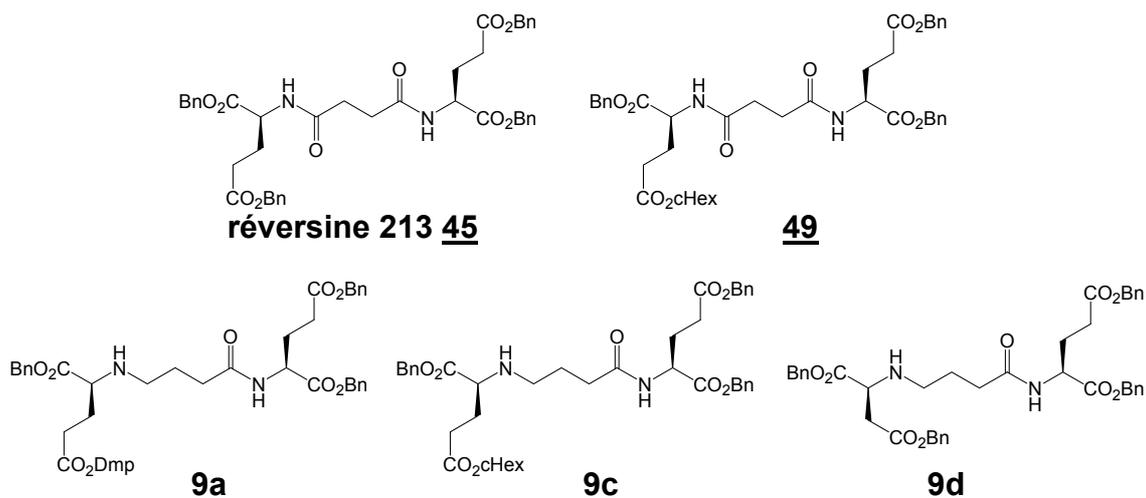


Tableau 3

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	72,73 (±5,27)	100
réversine 213	93,74 (±2,17)	129
49	94,45 (±1,36)	130
9a	54,71 (±3,63)	75
9c	98,33 (±1,35)	135
9d	82,22 (±4,57)	113

^a ciclosporine A (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

La réversine 213 et ses dérivés ont été testés par M. I. RAAD.

Comme l'analogue monoréduit de la réversine 213 n'a pas pu être isolé en raison de l'attaque nucléophile de l'amine secondaire sur l'ester benzylique de la chaîne latérale conduisant à la formation d'un lactame, nous avons synthétisé l'analogue **49** dont l'ester benzylique (OBn) est remplacé par un ester cyclohexylique (OcHex), afin de pouvoir étudier l'effet du remplacement de l'ester benzylique par un ester cyclohexylique sur l'activité. Le dérivé **49** renfermant un ester cyclohexylique ainsi que son analogue réduit **9c** possèdent une activité comparable à celle de la réversine 213 ce qui pourrait indiquer que le remplacement du groupement benzyle par un groupement cyclohexyle ainsi que le remplacement de la liaison peptidique par une liaison amide réduite ne permet pas d'améliorer l'activité.

L'analogue monoréduit **9a** présente une différence d'activité nette par rapport à **9c**. La diminution de l'activité dans le cas de l'analogue monoréduit **9a** est

probablement due à l'encombrement stérique du groupement 2,4-diméthylpent-3-yle (Dmp) dans cette position.

En comparant l'activité de l'analogue monoréduit **9d** par rapport à celle de la réversine 213 de référence, nous pouvons déduire que la légère baisse de l'activité pourrait être liée à la longueur de la chaîne latérale de l'acide aspartique et non pas à la liaison aminométhylénique du fait que cette dernière semble constituer un facteur de gain pour l'activité.

c - Activité de la réversine 121 et de ses analogues modifiés au niveau des chaînes latérales

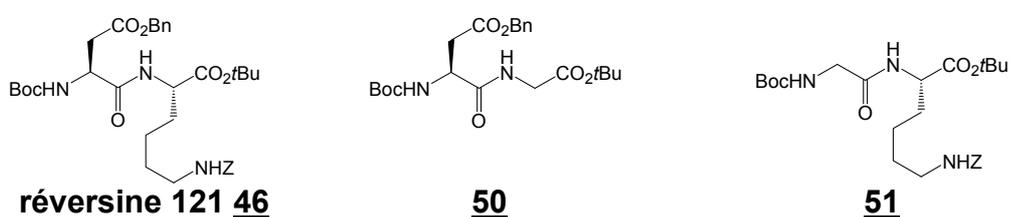


Tableau 4

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	88,00 (±0,59)	100
50	33,84 (±1,08)	38
51	37,85 (±0,35)	43

^a ciclosporine A (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

Ces analogues modifiés au niveau de la chaîne latérale ont été testés par M^{lle} G. ALAMÉ.

L'activité biologique est réduite de moitié en comparaison avec la réversine 121 après suppression de la chaîne latérale de l'un des deux résidus Asp et Lys. D'après ce résultat nous pourrions conclure que la présence simultanée de ces deux chaînes latérales est importante et que leur effet dans l'inhibition de la P-gp est comparable.

d - Activité des analogues de la réversine 1092

i - Activité de la réversine 1092 et de ses analogues modifiés au niveau de la chaîne latérale N-terminale

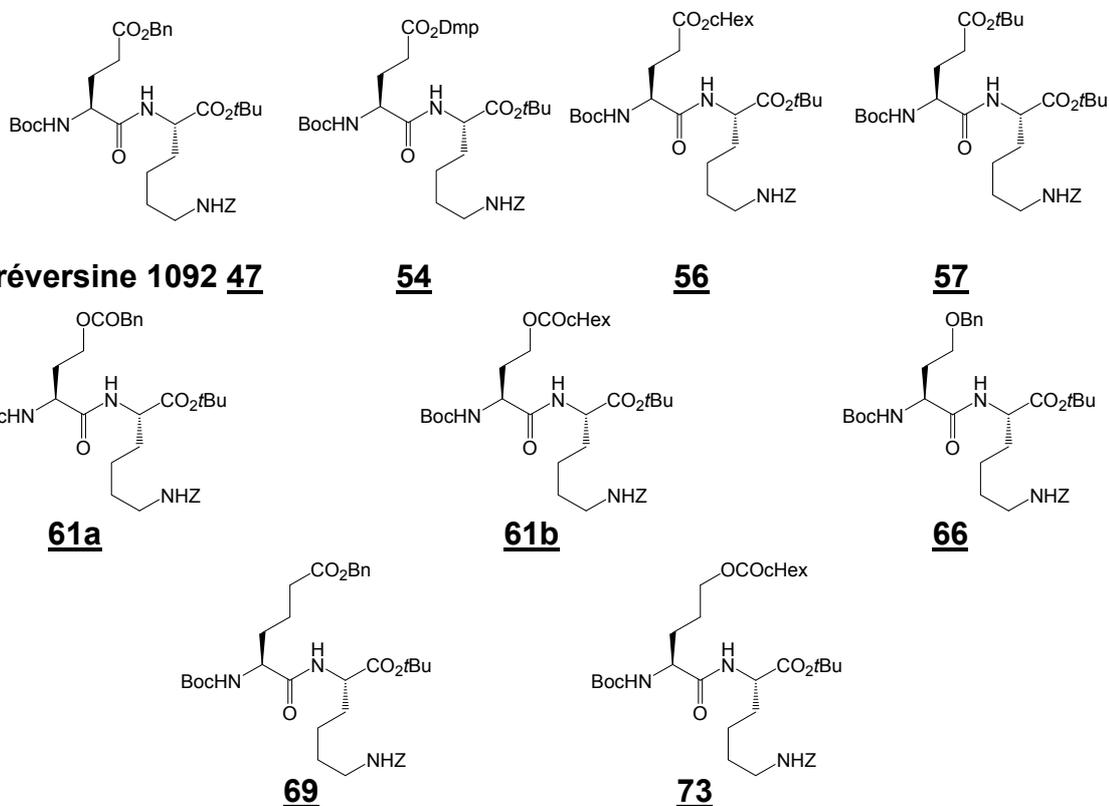


Tableau 5

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	72,73 (±5,27)	100
54	52,70 (±5,27)	72
56	85,43 (±5,69)	117

Tableau 6

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	88,00 (±0,59)	100
réversine 1092	77,48 (±2,98)	88
57	81,19 (±9,00)	92
61a	92,34 (±8,14)	105
61b	83,04 (±5,16)	94
66	80,54 (±4,18)	91
69	65,49 (±1,30)	74
73	80,44 (±4,46)	91

^a ciclosporine A (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

La réversine 1092 ainsi que ses analogues ont été tous testés par M^{lle} G. ALAMÉ à l'exception des deux dérivés **54** et **56** qui ont été testés par M. I. RAAD.

Nous présentons dans le tableau 5 les résultats des produits testés par M. I. RAAD et dans le tableau 6 les résultats des produits testés par M^{lle} G. ALAMÉ. Les trois analogues **54**, **56** et **57** de la réversine 1092 se différencient par la nature de l'ester de la chaîne latérale en position *N*-terminale. Un résultat encourageant est obtenu dans le cas de l'analogue **56** qui est plus actif que la réversine 121 de référence (tableau 5). Cet effet favorable est lié au remplacement du groupement benzyle par un cyclohexyle. Le groupement 2,4-diméthylpent-3-yle ne présente pas d'intérêt du fait de sa faible activité obtenue dans le cas de l'analogue **54** (tableau 5). Nous pouvons ainsi conclure que le groupement Dmp entraîne en général une diminution de l'activité vis-à-vis de la P-gp (composés **9a** et **54**).

L'analogue **57** possède une activité comparable à celle de la réversine 1092, par conséquent la substitution du groupement benzyle par un *tert*-butyle ne permet aucune amélioration significative.

L'analogue **61a** comportant un ester de type (OCOBn) possède une activité comparable à celle de la réversine 121.

Dans le cas de l'ester cyclohexylique, la différence d'activité entre l'analogue **61b** ayant un ester cyclohexylique de type (OCOCHex) et l'analogue **56** dont l'ester est de type (CO₂CHex) n'est pas significative. D'après ce résultat, nous pouvons noter que l'ester de type (OCOR) ne permet pas d'améliorer l'activité par rapport à celui de type (CO₂R).

L'éther benzylique (OBn) (composé **66**) semble avoir un effet moins favorable que l'ester benzylique (OCOBn) (composé **61a**).

L'homologue supérieur **69** possède une activité légèrement inférieure à celle de la réversine 1092, par contre cette activité est récupérée avec l'analogue **73** ayant un ester cyclohexylique de type (OCOCHex) à la place de l'ester benzylique (CO₂Bn).

Le composé **56** est le plus actif dans cette série, montrant que le groupement cyclohexyle est un élément favorable à l'activité inhibitrice de la P-gp pour ce modèle cellulaire.

ii - Activité des dérivés contraints

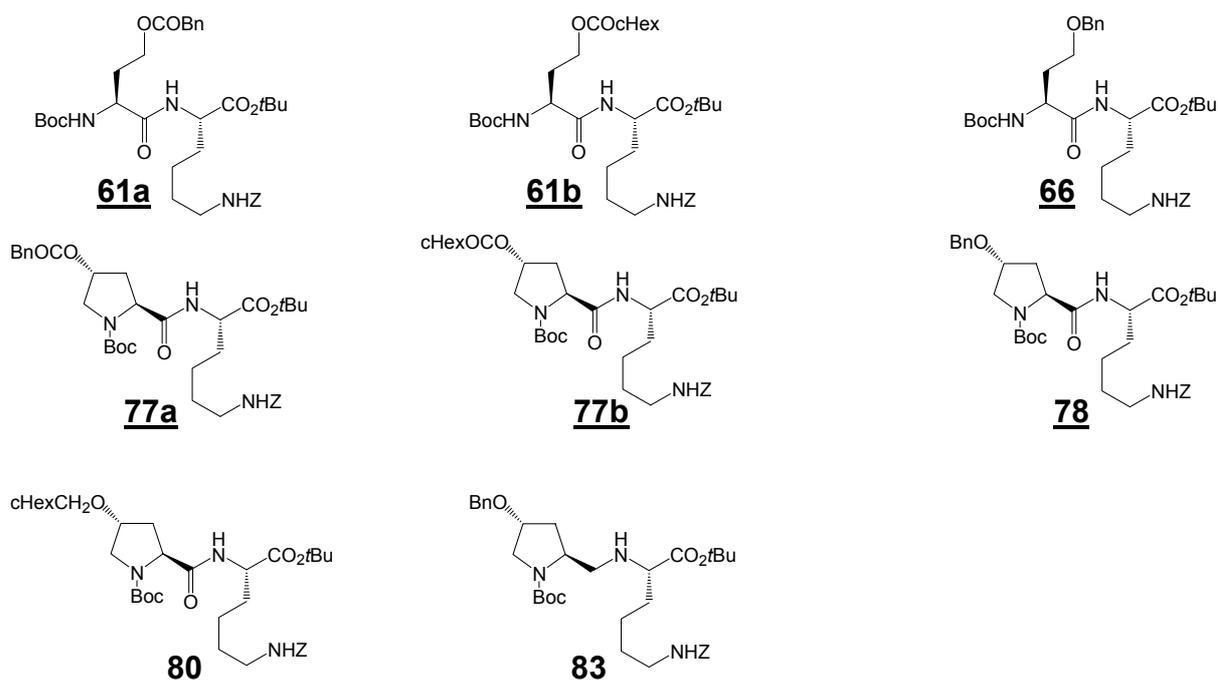


Tableau 7

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	88,00 (±0,59)	100
61a	92,34 (±8,14)	105
77a	88,18 (±5,13)	100
61b	83,04 (±5,16)	94
77b	94,88 (±0,38)	108
66	80,54 (±4,18)	91
78	83,46 (±3,04)	95
80	79,84 (±1,01)	91
83	77,56 (±1,54)	88

^a ciclosporine A (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

Le test des dérivés contraints ci-dessus a été réalisé par M^{lle} G. ALAMÉ. Le produit **61a** et son dérivé contraint **77a** ont des activités comparables alors que le dérivé contraint **77b** est légèrement plus actif que son analogue non contraint **61b**. Les deux dérivés **66** et **78** ont quasiment la même activité ; ces dérivés de l'hydroxyproline ne présentent pas d'amélioration significative de l'activité par rapport à celle des dérivés de l'homosérine.

La différence d'activité des deux contraints **77a** et **77b** ainsi que des deux contraints **77a** et **78** n'est pas très significative, ce qui pourrait indiquer que l'ester benzylique et cyclohexylique ainsi que l'éther benzylique auraient pratiquement le

même effet dans ce cas. L'activité du dérivé contraint **80** renfermant un éther cyclohexylméthylénique est proche de celle du composé **78** comportant un éther benzylique. Par contre, nous pouvons noter une légère amélioration de l'activité du dérivé contraint **77b** ayant un ester cyclohexylique par rapport au dérivé **80** ayant un éther cyclohexylméthylénique. Par conséquent, le carbonyle semble être un facteur plus favorable à l'activité que sa forme réduite $-CH_2-$ à ce niveau.

Dans le cas du dérivé contraint réduit **83**, la liaison amide réduite n'apporte pas d'amélioration significative de l'activité par rapport à celle du dérivé non réduit **78**. Pour cette série, le dérivé contraint **77b** est le plus actif.

e - Activité des dérivés du dipeptide Tyr-Gly

Nous rapportons dans cette partie, les résultats du test réalisé par M^{lle} G. ALAMÉ sur une série de composés synthétisés par Charrier et coll.⁵⁰ (**Tyr2** et **Tyr3**) et une stagiaire au laboratoire (**Tyr1**) ainsi que des composés synthétisés dans ce travail (**88**, **91** et **92**) pour évaluer l'effet de différentes modifications du dipeptide Tyr-Gly.

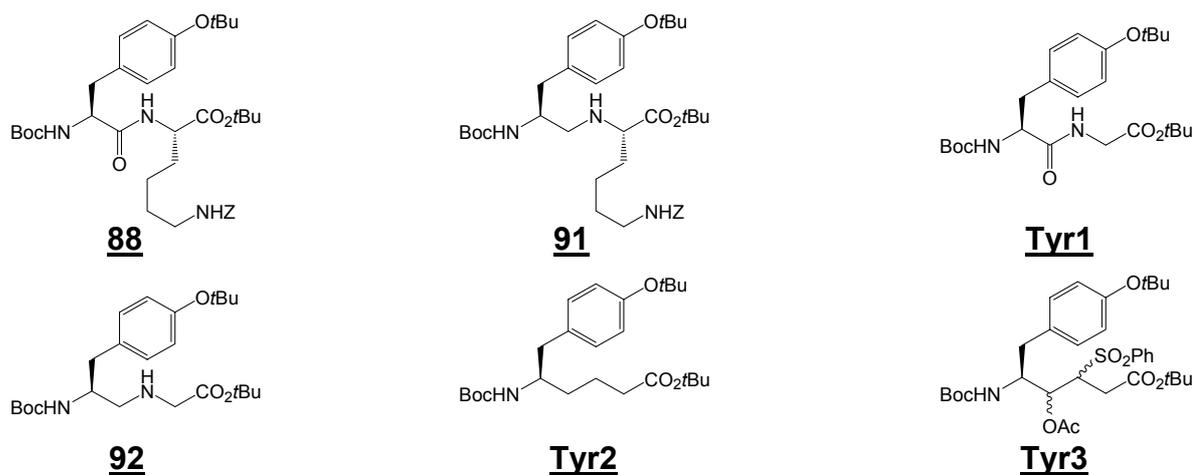


Tableau 8

Composé	Activité inhibitrice / ciclosporine A (%) ^a
88	77,06 (±0,06)
91	70,80 (±1,55)
Tyr1	33,89 (±0,42)
92	46,17 (±7,33)
Tyr2	61,61 (±7,55)
Tyr3	62,95 (±0,23)

^a ciclosporine A (100 %)

⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.

Le dipeptide Tyr-Lys **88** présente la meilleure activité dans cette série, alors que pour son analogue **Tyr1** l'activité est réduite de moitié, cela confirme l'importance de la présence de la chaîne latérale C-terminale. L'activité de son analogue réduit **91** est moins importante mais le contraire est observé dans le cas du dérivé **92** qui est un peu plus actif que son analogue non réduit **Tyr1**.

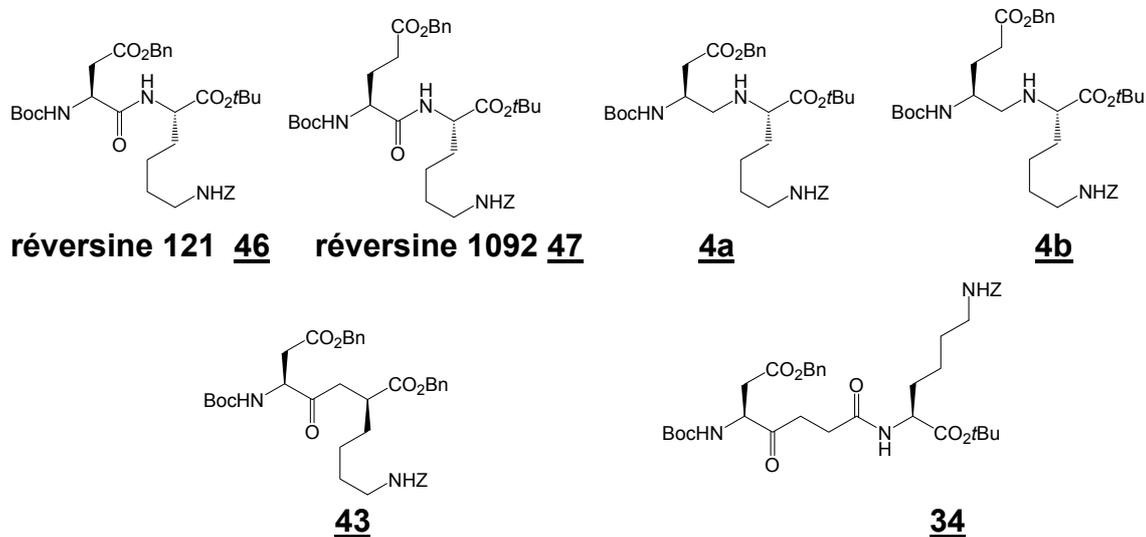
La différence d'activité entre les composés **92** et **Tyr2** est peut être due à la liaison carbapeptidique (**Tyr2**) qui semble être plus intéressante vis-à-vis de l'activité que la liaison aminométhylénique (**92**). Les deux carbapeptides **Tyr2** et **Tyr3** ont une activité comparable ce qui pourrait indiquer que des substituants en position 3 et 4 n'auraient pas d'effet significatif sur l'activité.

2 - 2^{ème} modèle cellulaire

M^{lle} O. ARNAUD a testé trois fois nos composés sur P-gp exprimée dans des cellules NIH3T3 après transfection avec le vecteur pHaMDR1/A contenant le gène codant pour P-gp. Les cellules NIH3T3 sont des cellules immortalisées embryonnaires de souris Swiss Nude. Contrairement au premier test réalisé sur des cellules sélectionnées, les cellules transfectées permettent de surexprimer uniquement la P-gp.

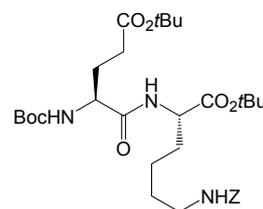
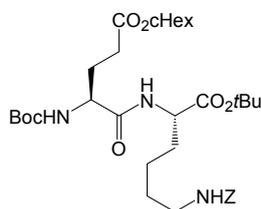
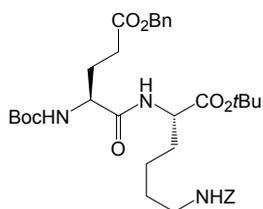
Les composés sont testés à une concentration de 10 μ M en présence de la mitoxantrone comme anticancéreux. L'inhibiteur témoin utilisé est le GF120918 (structure page 22). La valeur indiquée entre parenthèse correspond à l'écart-type.

a - Activité des réversines 121 et 1092 et de leurs dérivés modifiés au niveau de la liaison peptidique



c - Activité des analogues de la réversine 1092

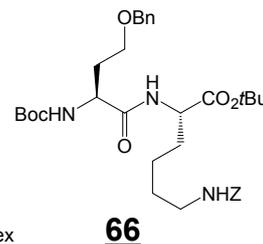
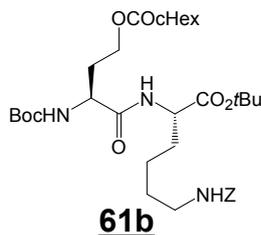
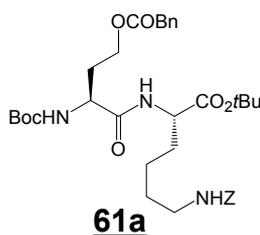
i - Activité de la réversine 1092 et de ses analogues modifiés au niveau de la chaîne latérale *N*-terminale



réversine 1092 47

56

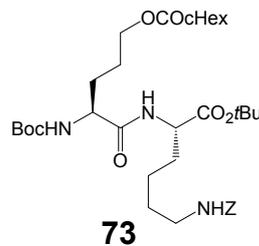
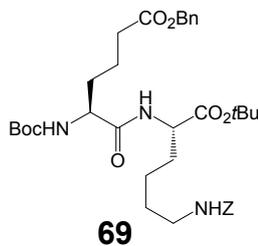
57



61a

61b

66



69

73

Tableau 11

Composé	Activité inhibitrice / GF120918 (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b
réversine 121	75,8 (±1,6)	100
réversine 1092	63,73 (±5,36)	84
56	64,8 (±3,6)	85
57	37,2 (±13,7)	49
61a	59,6 (±14,7)	79
61b	61,8 (±3,2)	81
66	64,5 (±10,2)	85
69	97,8 (±4,0)	129
73	82,3 (±1,9)	108

^a GF120918 (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

Les résultats obtenus pour ces analogues montrent que le changement de l'ester modifierait d'une façon plus ou moins importante l'activité de la réversine. Le dérivé **57** est faiblement actif. Le groupement cyclohexyle semble comparable au groupement benzyle vis-à-vis de l'activité mais plus favorable que le groupement *tert*-butyle. Les composés les plus intéressants de cette série sont les deux dipeptides **69** et **73** présentant une activité plus importante que celle de la réversine 121 contrairement au premier modèle cellulaire. Ce résultat montre

l'importance de la longueur de la chaîne latérale en position *N*-terminale dans ce cas. Les autres dipeptides (**56**, **61a**, **61b** et **66**) ont plus ou moins la même activité ce qui implique que le site de liaison accomode des modifications à ce niveau.

ii - Activité des dérivés contraints

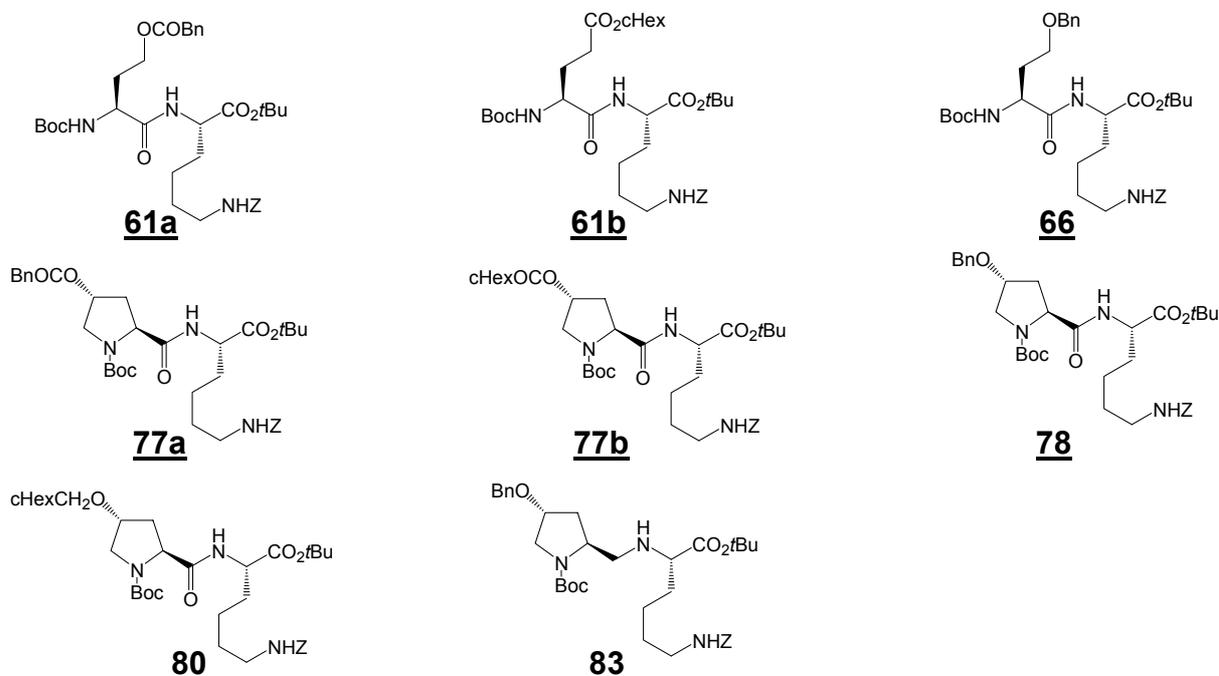


Tableau 12

Composé	Activité inhibitrice / GF120918 (%) ^a	Activité inhibitrice / réversine 121 (%) ^b	CI50
réversine 121	75,8 (±1,6)	100	-
61a	59,6 (±14,7)	78	-
77a	74,6 (±10,2)	98	-
61b	61,8 (±3,2)	81	-
77b	105,7 (±13,4)	139	1,6 μM
66	64,5 (±10,2)	85	-
78	99,7 (±11,0)	131	0,65 μM
80	76,6 (±10,1)	101	1,2 μM
83	106,9 (±23,0)	141	-

^a GF120918 (100 %) ^b réversine 121 (100 %)

Les résultats obtenus pour les composés de cette série sont plus encourageants. Les dérivés contraints **77a**, **77b** et **78** sont tous plus actifs que leurs dérivés non contraints **61a**, **61b** et **66** respectivement avec un CI50 de 0,65 μM dans le cas du dérivé **78**. En accord avec le premier modèle cellulaire, le dérivé contraint **80** semble être moins actif que le composé **77b**. Nous constatons d'après

l'activité des deux composés **78** et **83** que la liaison amide réduite ne modifie pas sensiblement l'activité inhibitrice. D'après les résultats d'activité des contraintes **77a**, **77b**, **78** et **80**, nous pouvons classer les différentes fonctions esters et éthers par ordre décroissant de leur effet favorable vis-à-vis de l'activité : $\text{OCOCH}_2\text{Hex} \approx \text{OBn} > \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hex} \approx \text{OCOBn}$.

d - Activité des dérivés du dipeptide Tyr-Gly

Nous rapportons dans cette partie, les résultats des dérivés Tyr-Gly ainsi que trois autres produits (**Tyr4**, **Tyr5** et **Tyr6**) synthétisés par Charrier et coll.⁵⁰ et non testés sur le premier modèle.

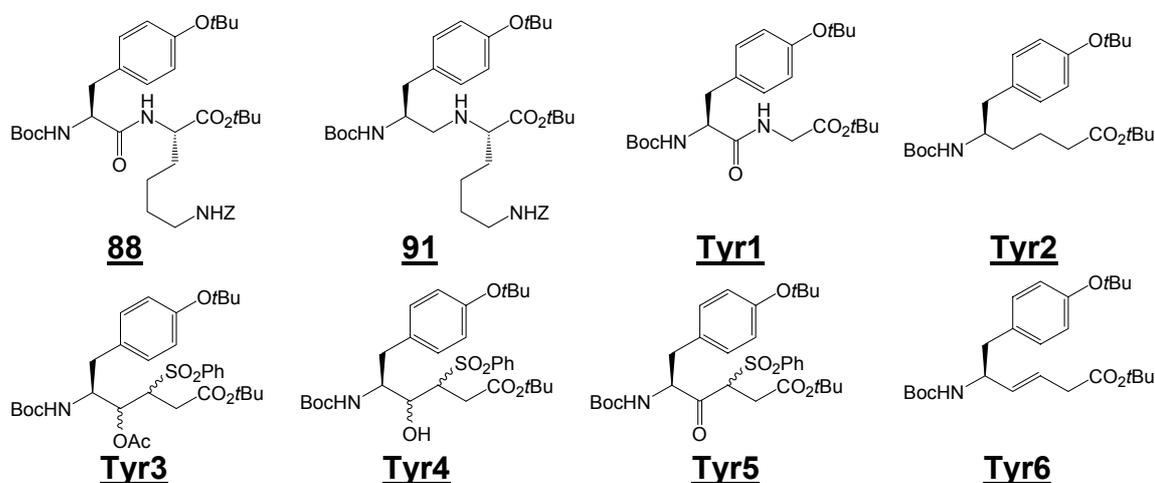


Tableau 13

Composé	Activité inhibitrice / GF120918 (%) ^a
88	34,0 (±10,6)
91	49,1 (±5,8)
Tyr1	93,4 (±13,3)
Tyr2	83,3 (±2,8)
Tyr3	69,5 (±8,3)
Tyr4	57,1 (±0,1)
Tyr5	106,5 (±8,6)
Tyr6	71,2 (±1,5)

^a GF120918 (100 %)

⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.

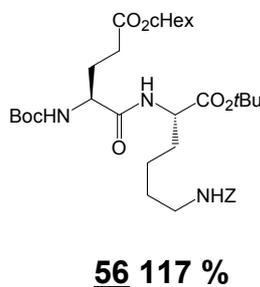
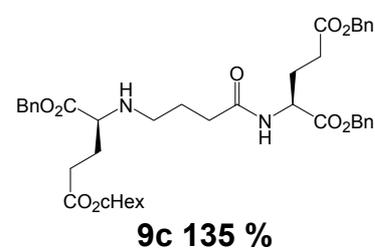
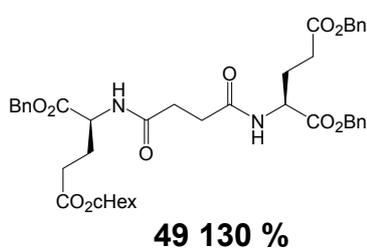
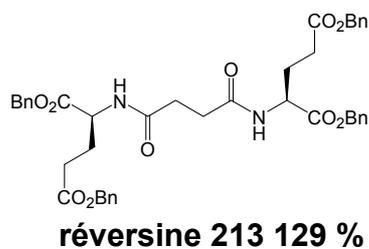
Les deux dérivés **88** et **91** contenant chacun un résidu Lys sont les moins actifs dans cette série, ce qui pourrait indiquer que la chaîne latérale de la lysine est un facteur de perte vis-à-vis de l'activité ou que dans le cas de ce modèle, ces dérivés se lieraient à un autre site de la P-gp.

Le dérivé **Tyr5** est le plus actif dans cette série, cela pourrait indiquer que le carbonyle est favorable à l'activité et que la faible activité des dérivés **Tyr3** et **Tyr4** est due à la réduction du carbonyle. D'après les résultats obtenus avec les dérivés **Tyr1**, **Tyr2** et **Tyr6**, nous pouvons indiquer que pour ce modèle cellulaire, la liaison peptidique est plus favorable à l'activité que la liaison carbapeptidique et carbapeptidique éthylénique.

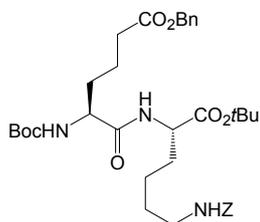
3 - Conclusion

D'après les résultats obtenus sur les deux modèles cellulaires, la différence d'activité des peptidomimétiques entre ces deux modèles pourrait être liée à la présence, au niveau des cellules du premier modèle, d'autres protéines de transport que la P-gp auxquelles nos composés peuvent se lier.

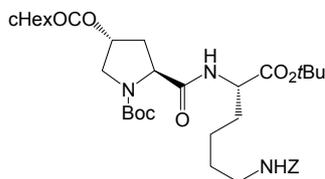
Pour le premier modèle, la réversine 213 ainsi que les dérivés possédant un ester cyclohexylique de type CO₂R (**49**, **9c** et **56**) sont les plus actifs avec des pourcentages d'inhibition supérieurs à celui de la réversine 121.



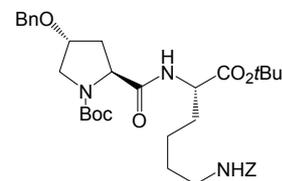
Pour le deuxième modèle, l'analogue **69** renfermant une chaîne latérale plus longue de deux chaînons carbonés par rapport à la réversine 121 ainsi que les différents dérivés contraints **77b**, **78** et **83** possèdent une meilleure activité que celle de la réversine 121.



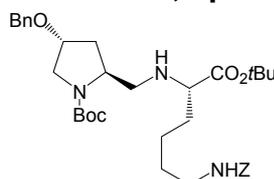
69 129 %



77b 139 % CI50 = 1,6 μM



78 131 % CI50 = 0,65 μM



83 141 %

B - Activité des dérivés peptidiques sur BCRP

M^{lle} O. ARNAUD a testé trois fois les dérivés peptidiques précédents sur BCRP exprimée dans des cellules HEK 293 (Human Embryonic Kidney) après transfection avec le vecteur pcDNA3.1 contenant le gène codant pour BCRP. Les cellules HEK 293 sont des cellules immortalisées embryonnaires humaines adhérentes.

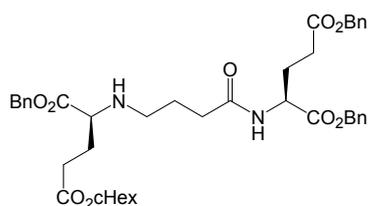
Les composés sont testés à une concentration de 10 μM en présence de la mitoxantrone comme anticancéreux. L'inhibiteur témoin utilisé est le GF120918 (structure page 22).

Pour des raisons de confidentialité, nous ne présentons pas les résultats biologiques sur BCRP.

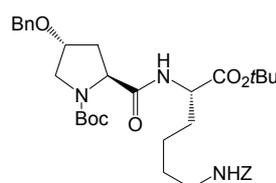
C - Conclusion générale

Les résultats obtenus sont particulièrement intéressants, montrant la sélectivité de la majorité des dérivés synthétisés vis-à-vis de la P-gp.

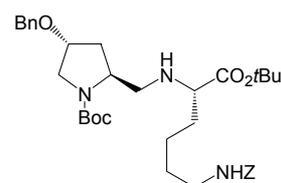
Pour le premier modèle cellulaire, le composé le plus actif est l'analogue monoréduit de la réversine 213 **9c** alors que pour le deuxième modèle, les dérivés contraints **78** et **83** sont les plus actifs.



9c 135 %



78 131 % CI50 = 0,65 μ M



83 141 %

La plupart des peptidomimétiques synthétisés sont plus actifs que la réversine 121 de référence notamment les dérivés contraints. Les résultats obtenus sont préliminaires ; des tests sur les produits non testés sur le deuxième modèle cellulaire ainsi que des CI50 des produits les plus actifs sont en cours de réalisation ce qui permettrait d'avoir une appréciation plus précise de l'activité de ces composés. Les derniers résultats obtenus montrent que le dérivé **83** présente une bonne activité à 5 μ M.

CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé une vingtaine d'analogues originaux des réversines 121, 1092 et 213 ainsi que trois dérivés du dipeptide Tyr-Gly.

Au cours de la synthèse des dérivés aminométhyléniques des réversines 121 et 1092, nous avons optimisé les conditions de synthèse en deux étapes « one-pot » des α -aminoalcools intermédiaires. L'analogue monoréduit de la réversine 213 n'a pas pu être isolé en raison de l'attaque nucléophile de l'amine secondaire sur l'ester benzylique de la chaîne latérale, conduisant à la formation d'un lactame. Pour prévenir cette cyclisation l'ester benzylique a été remplacé par un ester cyclohexylique (cHex) ou 2,4-diméthylpent-3-yle (Dmp).

Nous avons effectué par ailleurs la synthèse des dérivés cétométhyléniques de la réversine 121, soit *via* une stratégie d'alkylation d'un amide de Weinreb dérivé de l'homosérine par un organomagnésien, soit *via* une réaction de substitution nucléophile entre un triflate dérivé de la lysine et un β -cétoester dérivé de l'acide aspartique.

Plusieurs modifications au niveau de la chaîne latérale *N*-terminale de la réversine 1092 ont été mises en œuvre : remplacement de l'ester benzylique par un autre ester CO₂R, par un ester inversé de type OCOR ou bien par un éther OR, ainsi que l'augmentation de la longueur de la chaîne latérale d'un chaînon carboné. La synthèse des dérivés contraints de cette chaîne latérale a été ensuite réalisée à partir de la *trans*-4-hydroxyproline.

Les activités biologiques des analogues synthétisés ont été évaluées sur les deux protéines de transport de type ABC, P-gp et BCRP. Les premiers résultats ont montré une sélectivité des produits vis-à-vis de la P-gp par rapport à BCRP ainsi que l'importance de la chaîne latérale du côté *N*-terminal des réversines, qui serait impliquée dans la fixation sur la P-gp. Enfin, ce travail a permis d'aboutir à des analogues plus actifs que les réversines de référence notamment les analogues contraints.

Il serait intéressant de réaliser des travaux de pharmacomodulation étendus au niveau du résidu lysine de la réversine 121 afin de préciser les requis structuraux nécessaires à l'activité au niveau de ce résidu C-terminal.

RÉFÉRENCES

- a) SZAKÁCS G., PATERSON J. K., LUDWIG J. A., BOOTH-GENTHE C., GOTTESMAN M. M. *Nature Rev. Drug Discov.*, **2006**, 5(3), 219-234. b) FILIPITS M. *Drug Discov. Today: Disease Mechanisms*, **2004**, 1(2), 229-234.
- ² SAURIN W., HOFNUNG M., DASSA E., *J. Mol. Evol.*, **1999**, 48(1), 22-41.
- ³ GOTTESMAN M. M., LING V. *FEBS Lett.*, **2006**, 580(4), 998-1009.
- ⁴ a) DOYLE L. A., YANG W., ABRUZZO L. V., KROGMANN T., GAO Y., RISHI A. K., ROSS D. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95(26), 15665-15670. b) ROCCHI E., KHODJAKOV A., VOLK E. L., YANG C.-H., LITMAN T., BATES S. E., SCHNEIDER E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2000**, 271(1), 42-46.
- ⁵ THIEBAUT F., TSURUO T., HAMADA H., GOTTESMAN M. M., PASTAN I., WILLINGHAM M. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1987**, 84(21), 7735-7738.
- ⁶ CORDON-CARDO C., O'BRIEN J. P., BOCCIA J., CASALS D., BERTINO J. R., MELAMED M. R. *J. Histochem. Cytochem.*, **1990**, 38(9), 1277-1287.
- ⁷ LESLIE E. M., DEELEY R. G., COLE S. P. C. *Toxicol. App. Pharmacol.*, **2005**, 204(3), 216-237.
- ⁸ a) KUSUHARA H., SUGIYAMA Y. *Drug Discov. Today*, **2001**, 6(3), 150-156. b) KUSUHARA H., SUGIYAMA Y. *Drug Disc. Today*, **2001**, 6(4), 206-212.
- ⁹ TSUJI A. *Ther. Drug Monit.*, **1998**, 20(5), 588-590.
- ¹⁰ MELAINE N., LIÉNARD M.-O., DORVAL I., LE GOASCOGNE C., LEJEUNE H., JÉGOU B. *Biol. Reprod.*, **2002**, 67(6), 1699-1707.
- ¹¹ USHIGOME F., TAKANAGA H., MATSUO H., YANAI S., TSUKIMORI K., NAKANO H., UCHIUMI T., NAKAMURA T., KUWANO M., OHTANI H., SAWADA Y. *Eur. J. Pharmacol.*, **2000**, 408(1), 1-10.
- ¹² SPARREBOOM A., VAN ASPEREN J., MAYER U., SCHINKEL A. H., SMIT J. W., MEIJER D. K. F., BORST P., NOOIJEN W. J., BEJINEN J. H., VAN TELLINGEN O. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1997**, 94(5), 2031-2035.
- ¹³ a) LU L., LEONESSA F., CLARKE R., WAINER I. W. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, 59(1), 62-68. b) GARRIGOS M., MIR L. M., ORLOWSKI S. *Eur. J. Biochem.*, **1997**, 244(2), 664-673.
- ¹⁴ FRÉZARD F., PEREIRA-MAIA E., QUIDU P., PRIEBE W., GARNIER-SUILLEROT A. *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268(6), 1561-1567.
- ¹⁵ SEELIG A. *Eur. J. Biochem.*, **1998**, 251(1-2), 252-261.
- ¹⁶ LOETCHUTINAT C., HEYWANG C., PRIEBE W., GARNIER-SUILLEROT A. *Biochem. Pharmacol.*, **2001**, 62(5), 561-567.
- ¹⁷ TSURUO T., IIDA H., TSUKAGOSHI S., SAKURAI Y. *Cancer Res.*, **1981**, 41(5), 1967-1972.
- ¹⁸ DODIC N., DUMAITRE B., DAUGAN A., PIANETTI P. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38(13), 2418-2426.
- ¹⁹ WOUTERS W., JANSENS F., VAN DUN J., KREKELS M., SMETS G. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1999**, 40, 4374-4377.
- ²⁰ VAN ZUYLEN L., SPARREBOOM A., VAN DER GAAST A., VAN DER BURG M. E. L., VAN BEURDEN V., BOL C. J., WOESTENBORGH S., PALMER P. A., VERWEIJ J. *Clin. Cancer Res.*, **2000**, 6(4), 1365-1371.
- ²¹ BOIS F., BENEY C., BOUMENDJEL A., MARIOTTE A.-M., CONSEIL G., DI PIETRO A. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41(21), 4161-4164.
- ²² COMTE G., DASKIEWICZ J.-B., BAYET C., CONSEIL G., VIORNERY-VANIER A., DUMONTET C., DI PIETRO A., BARRON D. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44(5), 763-768.
- ²³ WOOD L., PALMER M., HEWITT J., URTASUM R., BRUERA E., RAPP E., THAELL J. F., *Br. J. Cancer*, **1998**, 77, 627-631.

- ²⁴ PAYEN L., DELUGIN L., COURTOIS A., TRINQUART Y., GUILLOUZO A., FARDEL O. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1999**, 258(3), 513-518.
- ²⁵ DAYAN G., JAULT J.-M., BAUBICHON-CORTAY H., BAGGETO L. G., RENOIR J.-M., BAULIEU E.-E., GROS P., DI PIETRO A. *Biochem.*, **1997**, 36(49), 15208-15215.
- ²⁶ RAAD I., TERREUX R., RICHOMME P., MATERA E.-L., DUMONTET C., RAYNAUD J., GUILLET D. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14(20), 6979-6987.
- ²⁷ ROBINSON C., CASTANER J. *Drug Future*, **1995**, 20, 1010-1017.
- ²⁸ TIBERGHIE F., WENANDY T., LOOR F. *J. Antibiotics*, **2000**, 53, 509-515.
- ²⁹ SHAROM F. J., YU X., LU P., LIU R., CHU J. W. K., SZABÓ K., MÜLLER M., HOSE C. D., MONKS A., VÁRADI A., SEPRÓDI J., SARKADI B. *Biochem. Pharmacol.*, **1999**, 58(4), 571-586.
- ³⁰ XIA Z., SMITH C. D., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66(10), 3459-3466.
- ³¹ a) KUROME T., TAKESAKO K., KATO I., TSURUO T. *J. Antibiotics*, **1998**, 51(3), 353-358. b) TIBERGHIE F., KUROME T., TAKESAKO K., DIDIER A., WENANDY T., LOOR F. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43(13), 2547-2556.
- ³² a) STORCH C. H., THEILE D., LINDENMAIER H., HAEFELI W. E., WEISS J. *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, 73(10), 1573-1581. b) DREWE J., GUTMAN H., FRICKER G., TÖRÖK M., BEGLINGER C., HUWYLER J. *Biochem. Pharmacol.*, **1999**, 57(10), 1147-1152.
- ³³ ROSS D. D., YANG W., ABRUZZO L. V., DALTON W. S., SCHNEIDER E., LAGE H., DIETEL M., GREENBERGER L., COLE S. P. C., DOYLE L. A. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1999**, 91(5), 429-433.
- ³⁴ POZZA A., PEREZ-VICTORIA J. M., SARDO A., AHMED-BELKACEM A., DI PIETRO A. *Cell. Mol. Life Sci.*, **2006**, 63, 1912-1922.
- ³⁵ ALLIKMENTS R., SCHRIML L. M., HUTCHINSON A., ROMANO-SPICA V., DEAN M. *Cancer Res.*, **1998**, 58(23), 5337-5339.
- ³⁶ COORAY H. C., JANVILISRI T., VAN VEEN H. W., HLADKY S. B., BARRAND M. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2004**, 317(1), 269-275.
- ³⁷ JONKER J. W., SMIT J. W., BRINKHUIS R. F., MALIEPAARD M., BEIJNEN J.H., SCHELLENS J. H. M., SCHINKEL A. H. *J. Natl. Cancer Inst.*, **2000**, 92(20), 1651-1656.
- ³⁸ DOYLE L. A., ROSS D. D. *Oncogene*, **2003**, 22(47), 7340-7358.
- ³⁹ a) RABINDRAN S. K., ROSS D. D., DOYLE L. A., YANG W., GREENBERGER L. M. *Cancer Res.*, **2000**, 60(1), 47-50. b) RABINDRAN S. K., HE H., SINGH M., BROWN E., COLLINS K. I., ANNABLE T., GREENBERGER L. M. *Cancer Res.*, **1998**, 58(24), 5850-5858.
- ⁴⁰ ALLEN J. D., VAN LOEVEZIJN A., LAKHAI J. M., VAN DER VALK M., VAN TELLINGEN O., REID G., SCHELLENS J. H. M., KOOMEN G.-J., SCHINKEL A. H. *Mol. Cancer Ther.*, **2002**, 1(6), 417-425.
- ⁴¹ AHMED-BELKACEM A., POZZA A., MUÑOZ-MARTÍNEZ F., BATES S. E., CASTANYS S., GAMARRO F., DI PIETRO A., PÉREZ-VICTORIA J. M. *Cancer Res.*, **2005**, 65(11), 4852-4860.
- ⁴² DE BRUIN M., MIYAKE K., LITMAN T., ROBEY R., BATES S. E. *Cancer Lett.*, **1999**, 146(2), 117-126.
- ⁴³ KRUIJTZER C. M. F., BEIJNEN J. H., ROSING H., TEN BOKKEL HUININK W. W., SCHOT M., JEWELL R. C., PAUL E. M., SCHELLENS J. H. M. *J. Clin. Onc.*, **2002**, 20(13), 2943-2950.
- ⁴⁴ ÖZVEGY-LACZKA C., CSEREPES J., ELKIND N. B., SARKADI B. *Drug Resist. Updat.*, **2005**, 8, 15-26.
- ⁴⁵ GUPTA A., ZHANG Y., UNADKAT J. D., MAO Q. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2004**, 310(1), 334-341.
- ⁴⁶ SHAROM F. J., LU P., LIU R., YU X. *Biochem. J.*, **1998**, 333, 621-630.
- ⁴⁷ SARKADI B., SEPRÓDI J., CSUKA O., MAGOCSI M., MEZŐ I., PALYI I., TEPLÁN I., VADÁSZ Z., VINCZE B. US 6,297,216 B1, 2 octobre **2001**.

- ⁴⁸ a) SEPRÓDI J., MEZŐ I., VADÁSZ Zs., SZABÓ K., SARKADI B., TEPLÁN I. in peptides 1996, Proceedings of the Twenty-Fourth European Peptide Symposium ; September 8-13, 1996, Edinburgh, Scotland. Robert RAMAGE and Roger EPTON (Eds), **1998**, pp 801-802. b) VADÁSZ Z., SZABÓ K., SARKADI B., TEPLAN I., MAK M., IDEI M., GYORFFY E., SEPRÓDI J. in peptides 1998, Proceedings of the Twenty-Fifth European Peptide Symposium ; 1998, Budapest, Hungary. Bajusz SANDOR and Hudecz FERENC (Eds), **1999**, pp 640-641.
- ⁴⁹ HRUBY V. J., AL-OBEIDI F., KAZMIERSKI W. *Biochem. J.*, **1990**, 268, 249-262.
- ⁵⁰ CHARRIER C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(31), 5705-5707.
- ⁵¹ SZELKE M., LECKIE B., HALLETT A., JONES D. M., SUEIRAS J., ATRASH B., LEVER A. F. *Nature*, **1982**, 299(5883), 555-557.
- ⁵² MARTINEZ J., BALI J. P., RODRIGUEZ M., CASTRO B., MAGOUS R., LAUR J., LIGNON M-F. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28(12), 1874-1879.
- ⁵³ SUGUNA K., PADLAN E. A., SMITH C. W., CARLSON W. D., DAVIES D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1987**, 84(20), 7009-7013.
- ⁵⁴ WEBER J., MAJER P., LITERA J., URBAN J., SOUČEK M., VONDRÁŠEK J., KONVALINKA J., NOVEK P., SEDLÁČEK J., ŠTROP P., KRÄUSSLICH H.-G., PICHOVÁ I. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1997**, 341(1), 62-69.
- ⁵⁵ SKRBEC D., ROMEO D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2002**, 297(5), 1350-1353.
- ⁵⁶ COBURN C. A., STACHEL S. J., JONES K. G., STEELE T. G., RUSH D. M., DIMUZIO J., PIETRAK B. L., LAI M.-T., HUANG Q., LINEBERGER J., JIN L., MUNSHI S., HOLLOWAY M. K., ESPESETH A., SIMON A., HAZUDA D., GRAHAM S. L., VACCA J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(14), 3635-3638.
- ⁵⁷ MA S., SPATOLA A. F. *Int. J. Peptide Prot. Res.*, **1993**, 41(2), 204-206.
- ⁵⁸ BORCH R. F., BERNSTEIN M. D., DURST H. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93(12), 2897-2904.
- ⁵⁹ FACHE F., VALOT F., MILENKOVIC A., LEMAIRE M. *Tetrahedron*, **1996**, 52(29), 9777-9784.
- ⁶⁰ JURCZAK J., GOŁĘBIOWSKI A. *Chem. Rev.*, **1989**, 89(1), 149-164.
- ⁶¹ ITO A., TAKAHASHI R., BABA Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **1975**, 23(12), 3081-3087.
- ⁶² HO P. T., NGU K.-Y. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58(8), 2313-2316.
- ⁶³ NAHM S., WEINREB S. *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22(39), 3815-3818.
- ⁶⁴ FEHRENTZ J.-A., CASTRO B. *Synthesis*, **1983**, 676-678.
- ⁶⁵ FUKUYAMA T., LIN S.-C., LI L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112(19), 7050-7051.
- ⁶⁶ STANFIELD C. F., PARKER J.E., KANELIS P. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4799-4800.
- ⁶⁷ KOKOTOS G. *Synthesis*, **1990**, 299-301.
- ⁶⁸ GUO Z., XIAN M., ZHANG W., MCGILL A., WANG P. G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9(1), 99-106.
- ⁶⁹ HAMADA Y., SHIOIRI T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30(5), 1921-1924.
- ⁷⁰ MANCUSO A. J., SWERN D. *Synthesis*, **1981**, 165-185.
- ⁷¹ CHO B. T., KANG S. K. *Tetrahedron*, **2005**, 61(24), 5725-5734.
- ⁷² ALINEZHAD H., TAJBAKSH M., ZAMANI R. *Synlett*, **2006**, 431-434.
- ⁷³ KANGASMETSÄ J. J., JOHNSON T. *Org. Lett.*, **2005**, 7(25), 5653-5655.
- ⁷⁴ PARK M.-S., OH H.-S., CHO H., LEE K.-H. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48(6), 1053-1057.
- ⁷⁵ MOHRI K., SUZUKI K., USUI M., ISOBE K., TSUDA Y. *Chem. Pharm. Bull.*, **1995**, 43(1), 159-161.

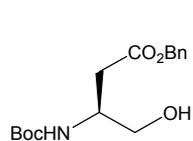
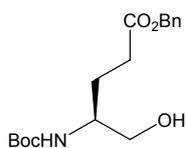
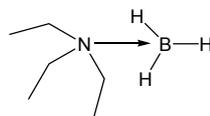
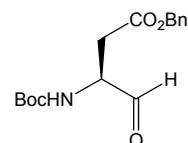
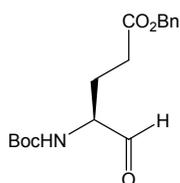
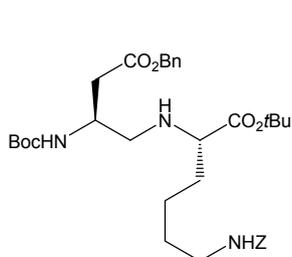
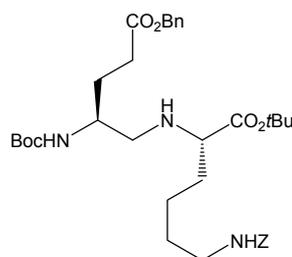
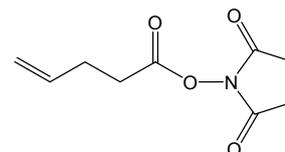
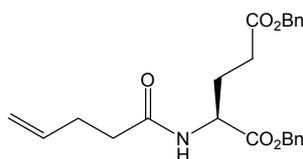
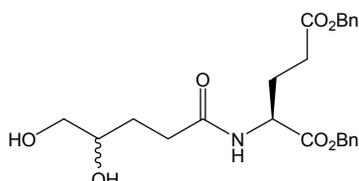
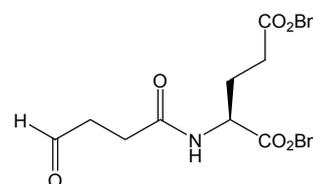
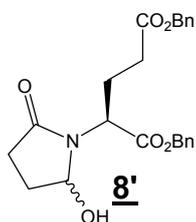
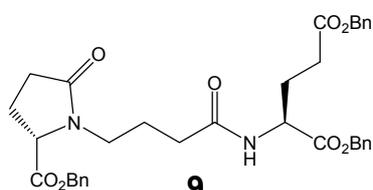
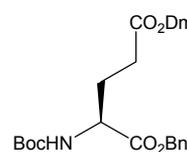
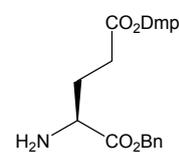
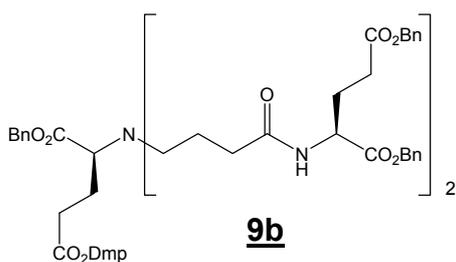
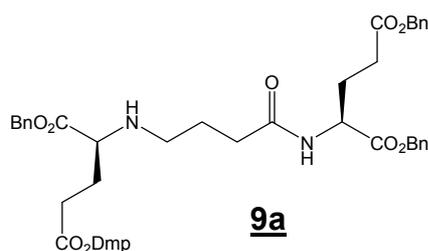
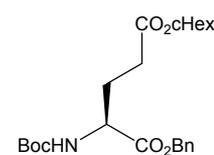
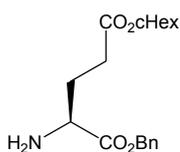
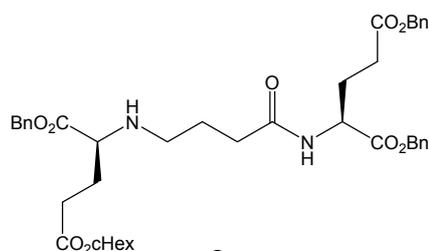
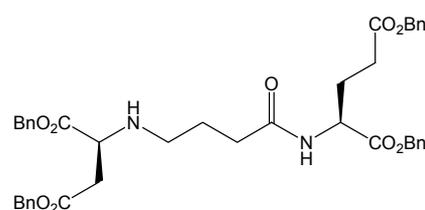
- ⁷⁶ VALOT F., FACHE F., JACQUOT R., SPAGNOL M., LEMAIRE M. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(19), 3689-3692.
- ⁷⁷ SALVATORE R. N., NAGLE A. S., SCHMIDT S. E., JUNG K. W. *Org. Lett.*, **1999**, 1(12), 1893-1896.
- ⁷⁸ FALKIEWICZ B., KOLODZIEJCZYK A. S., LIBEREK B., WISNIEWSKI K. *Tetrahedron*, **2001**, 57(37), 7909-7917.
- ⁷⁹ SONG L., VINCENT S., THIERRY J. *Tetrahedron*, **2006**, 62(15), 3509-3516.
- ⁸⁰ SCHAEFFER G. W., ANDERSON E. R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71(6), 2143-2145.
- ⁸¹ BILIANG Z., ZHIYONG C. WO 03/059926 A2, 24 juillet **2003**.
- ⁸² GHOSEZ L., YANG G., CAGNON J. R., LE BIDEAU F., MARCHAND-BRYNAERT J. *Tetrahedron*, **2004**, 60(35), 7591-7606.
- ⁸³ PAQUETTE L. A., CHANG J., LIU Z. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69(19), 6441-6448.
- ⁸⁴ YU W., MEI Y., KANG Y., HUA Z., JIN Z., *Org. Lett.*, **2004**, 6(19), 3217-3219.
- ⁸⁵ BOUZBOUZ S., COSSY J. *Org. Lett.*, **2001**, 3(25), 3995-3998.
- ⁸⁶ SNIDER B. B., LOBERA M., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45(26), 5015-5018.
- ⁸⁷ VAN RHEENEN V., KELLY R. C., CHA D. Y. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 17(23), 1973-1976.
- ⁸⁸ BUSNEL O., BI L., BAUDY-FLOC'H M. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46(41), 7073-7075.
- ⁸⁹ DELCROS J-G., TOMASI S., CARRINGTON S., MARTIN B., RENAULT J., BLAGBROUGH I. S., URIAC P. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(23), 5098-5111.
- ⁹⁰ a) GAREAU Y., ZAMBONI R., WONG A. W. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58(6), 1582-1585. b) FELLUGA F., PITACCO G., PRODAN M., PRICL S., VISINTIN M., VALENTIN E. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12(23), 3241-3249.
- ⁹¹ KARLSTRÖM A., UNDÉN A. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(22), 3909-3912.
- ⁹² TAM J. P., WONG T-W., RIEMEN M. W., TJOENG F-S., MERRIFIELD R. B. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20(42), 4033-4036.
- ⁹³ LEE B. H., GERFEN G. J., MILLER M. J. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49(13), 2418-2423.
- ⁹⁴ STAHL G. L., WALTER R., SMITH C. W., *J. Org. Chem.*, **1978**, 43(11), 2285-2286.
- ⁹⁵ LIN L. S., LANZA JR. T., DE LASZLO S. E., TRUONG Q., KAMENECKA T., HAGMANN W. K., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41(36), 7013-7016.
- ⁹⁶ SALVI J-P., WALCHSHOFER N., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35(8), 1181-1184.
- ⁹⁷ CHHABRA S. R., MAHAJAN A., CHAN W. C. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(12), 4017-4029.
- ⁹⁸ VÅBENØ J., NIELSEN C. U., INGEBRIGTSEN T., LEJON T., STEFFANSEN B., LUTHMAN K. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4755-4765.
- ⁹⁹ COULSON D. R. *Inorg. Synth.*, **1974**, 13, 121-123.
- ¹⁰⁰ SIBRIAN-VAZQUEZ M., SPIVAK D. A. *Synlett.*, **2002**, 1105-1106.
- ¹⁰¹ HO M., CHUNG J. K. K., TANG N. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34(41), 6513-6516.
- ¹⁰² *Catalogue Aldrich*, 2007-2008, Ref. 178977, Borane-triethylamine complex, p. 425.
- ¹⁰³ STANFIELD C. F., PARKER J. E., KANELIS P. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(23), 4797-4798.

- ¹⁰⁴ a) UMEZAWA H., AOYAGI T., OHUCHI S., OKUYAMA A., SUDA H., TAKITA T., HAMADA M., TAKEUCHI T. *J. Antibiotics*, **1983**, 36(11), 1572-1575. b) MIURA K., SAWA T., TAKEUCHI T., UMEZAWA H. *J. Antibiotics*, **1986**, 39(5), 734-735.
- ¹⁰⁵ HARBESON S. L., RICH D. H. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32(6), 1378-1392.
- ¹⁰⁶ MANSOUR T. S., *Synthetic Commun.*, **1989**, 19(384), 659-665.
- ¹⁰⁷ a) REDELINGHUY S. P., NCHINDA A. T., CHIBALE K., STURROCK E. D. *Biol. Chem.*, **2006**, 387(4), 461-466. b) ALMQUIST R. G., CHAO W.-R., JUDD A. K., MITOMA C., ROSSI D. J., PANESOVICH R. E., MATTHEWS R. J. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31(3), 561-567.
- ¹⁰⁸ TAO J., HU S., TIAN Q., NAYYAR N., BABU S. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16(3), 699-703.
- ¹⁰⁹ DRAGOVICH P. S., PRINS T. J., ZHOU R., FUHRMAN S. A., PATICK A. K., MATTHEWS D. A., FORD C. E., MEADOR J. W., III, FERRE R. A., WORLAND S. T. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42(7), 1203-1212.
- ¹¹⁰ WEBBER S. E., OKANO K., LITTLE T. L., REICH S. H., XIN Y., FUHRMAN S. A., MATTHEWS D. A., LOVE R. A., HENDRICKSON T. F., PATICK A. K., MEADOR, III J. W., FERRE R. A., BROWN E. L., FORD C. E., BINFORD S. L., WORLAND S. T. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41(15), 2786-2805.
- ¹¹¹ LYGO B., RUDD C. N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(20), 3577-3580.
- ¹¹² ALMQUIST R. G., CHAO W.-R., ELLIS M. E., JOHNSON H. L. *J. Med. Chem.*, **1980**, 23(12), 1392-1398.
- ¹¹³ DIMAIO J., GIBBS B., LEFEBVRE J., KONISHI Y., MUNN D., YUE S. Y. *J. Med. Chem.*, **1992**, 35(18), 3331-3341.
- ¹¹⁴ CARSLÉN P. H. J., KATSUKI T., MARTIN V. S., SHARPLESS K. B. *J. Org. Chem.*, **1981**, 46(19), 3936-3938.
- ¹¹⁵ KAISER M., SICILIANO C., ASSFALG-MACHLEIDT I., GROLL M., MILBRADT A. G., MORODER L. *Org. Lett.*, **2003**, 5(19), 3435-3437.
- ¹¹⁶ HANSFORD K. A., DETTWILER J. E., LUBELL W. D. *Org. Lett.*, **2003**, 5(25), 4887-4890.
- ¹¹⁷ Mc MURRAY J. S., DYCKES D. F. *J. Org. Chem.*, **1985**, 50(7), 1112-1115.
- ¹¹⁸ DAKIN H. D., WEST R. *J. Biol. Chem.*, **1928**, 78(3), 745-756.
- ¹¹⁹ STEGLISH W., HÖFLE G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1968**, 7(1), 61.
- ¹²⁰ CASIMIR J. R., TURETTA C., ETTOUATI L., PARIS J. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(27), 4797-4800.
- ¹²¹ a) THEBERGE C. R., ZERCHER C. K. *Tetrahedron*, **2003**, 59(9), 1521-1527. b) LIN W., TRYDER N., SU F., ZERCHER C. K., JASINSKI J. P., BUTCHER R. J. *J. Org. Chem.*, **2006**, 71(21), 8140-8145.
- ¹²² SZELKE M., JONES D. M., HALLETT A. Eur. Pat. Appl. EP 45665, **1982**.
- ¹²³ GARCÍA-LÓPEZ M. T., GONZÁLEZ-MUÑÍZ R., HARTO J. R. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29(13), 1577-1580.
- ¹²⁴ KALTENBRONN J. S., HUDSPETH J. P., LUNNEY E. A., MICHNIEWICZ B. M., NICOLAIDES E. D., REPINE J. T., ROARK W. H., STIER M. A., TINNEY F. J., WOO P. K. W., ESSENBERG A. D. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33(2), 838-845.
- ¹²⁵ HOFFMAN R. V., KIM H.-O. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33(25), 3579-3582.
- ¹²⁶ HOFFMAN R. V., TAO J. *Tetrahedron*, **1997**, 53(21), 7119-7126.
- ¹²⁷ HOFFMAN R. V., TAO J. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64(1), 126-132.
- ¹²⁸ HOFFMAN R. V., MASLOUH N., CERVANTES-LEE F. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67(4), 1045-1056.
- ¹²⁹ SHIE J.-J., FANG J.-M., KUO T.-H., KUO C.-J., LIANG P.-H., HUANG H.-J., WU Y.-T., JAN J.-T., CHENG Y.-S. E., WONG C.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13(17), 5240-5252.

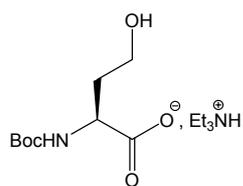
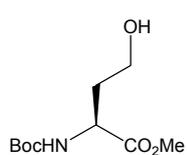
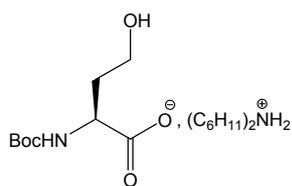
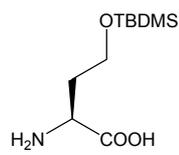
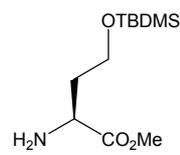
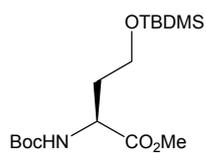
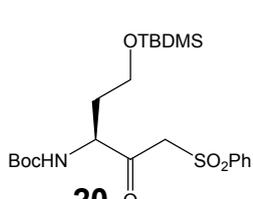
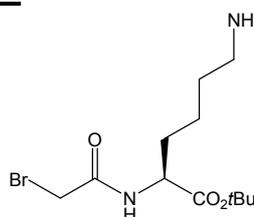
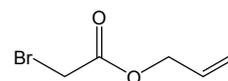
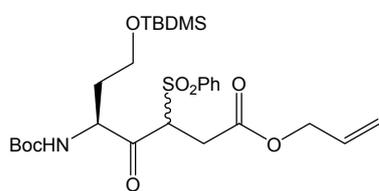
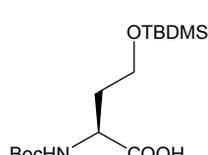
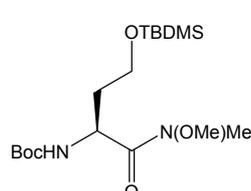
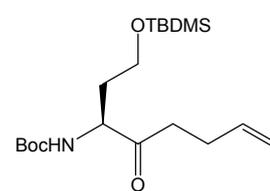
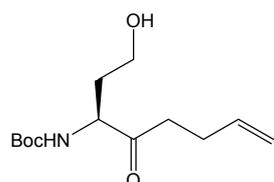
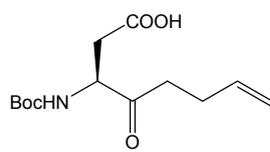
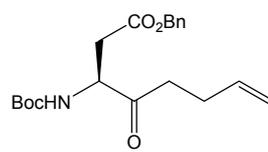
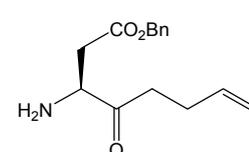
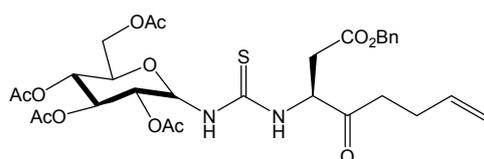
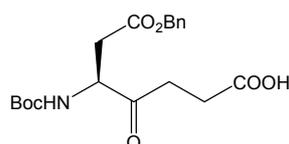
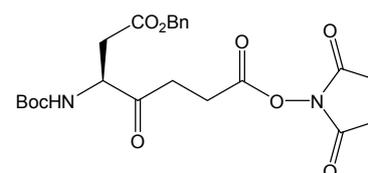
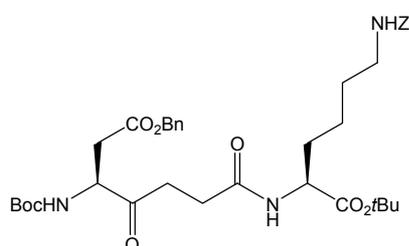
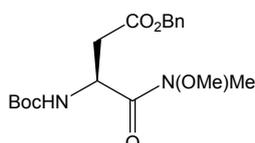
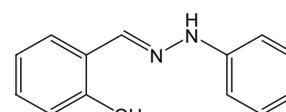
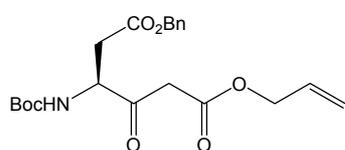
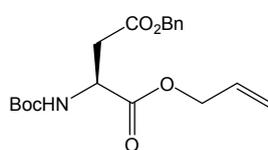
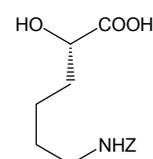
- ¹³⁰ GHOSH A. K., XI K., RATIA K., SANTARSIERO B. D., FU W., HARCOURT B. H., ROTA P. A., BAKER S. C., JOHNSON M. E., MESECAR A. D. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48(22), 6767-6771.
- ¹³¹ WOLFE S., WILSON M.-C., CHENG M.-H., SHUSTOV G. V., AKUCHE C. I. *Can. J. Chem.*, **2003**, 81(8), 937-960.
- ¹³² KUWAHARA M., ARIMITSU M., SISIDO M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121(1), 256-257.
- ¹³³ KLINE T., ANDERSEN N. H., HARWOOD E. A., BOWMAN J., MALANDA A., ENDSLEY S., ERWIN A. L., DOYLE M., FONG S., HARRIS A. L., MENDELSON B., MDLULI K., RAETZ C. R. H., STOVER K., WITTE P. R., YABANNAVAR A., ZHU S. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(14), 3112-3129.
- ¹³⁴ ORSINI F., PELIZZONI F., SISTI M., VEROTTA L. *Org. Prep. Proc. Int.*, **1989**, 21(4), 505-508.
- ¹³⁵ LYGO B. *Synlett*, **1992**, 793-795.
- ¹³⁶ GELLERMAN G., ELGAVI A., SALITRA Y., KRAMER M. *J. Peptide Res.*, **2001**, 57(4), 277-291.
- ¹³⁷ MOLANDER G. A., HAHN G. *J. Org. Chem.*, **1986**, 51(7), 1135-1138.
- ¹³⁸ KECK G. E., SAVIN K. A., WEGLARZ M. A. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60(10), 3194-3204.
- ¹³⁹ DAVIS F. A., PRASAD K. R. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(19), 7249-7253.
- ¹⁴⁰ COREY E. J., SCHMIDT G. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20(5), 399-402.
- ¹⁴¹ WANG S.-S., GISIN B. F., WINTER D. P., MAKOFKSKE R., KULESHA I. D., TZOUGRAKI C., MEIENHOFER J. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42(8), 1286-1290.
- ¹⁴² NIMURA N., OGURA H., KINOSHITA T. *Journal of Chromatography A*, **1980**, 202(3), 375-379.
- ¹⁴³ LOVE B. E., JONES E. G. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64(10), 3755-3756.
- ¹⁴⁴ HOFFMAN R. V., TAO J. *Methods in Molecular Medicine, Vol. 23 : Peptidomimetics Protocols*; Humana Press, W. M. Kazmierski. Ed. Totowa, p. 106-121.
- ¹⁴⁵ KARANEWSKY D. S., BADIA M. C., CUSHMAN D. W., DEFORREST J. M., DEJNEKA T., LOOTS M. J., PERRI M. G., PETRILLO, Jr. E. W., POWELL J. R. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31(1), 204-212.
- ¹⁴⁶ SHIN I., LEE M.-R., LEE J., JUNG M., LEE W., YOON J. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65(22), 7667-7675.
- ¹⁴⁷ a) ROSSELLO A., NUTI E., CARELLI P., ORLANDINI E., MACCHIA M., NENCETTI S., ZANDOMENEGHI M., BALZANO F., BARRETTA G. U., ALBINI A., BENELLI R., CERCIGNANI G., MURPHY G., BALSAMO A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15(5), 1321-1326. b) TUCCINARDI T., MARTINELLI A., NUTI E., CARELLI P., BALZANO F., UCCELLO-BARRETTA G., MURPHY G., ROSSELLO A. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14(12), 4260-4276.
- ¹⁴⁸ YANG D., LI B., NG F.-F., YAN Y.-L., QU J., WU Y.-D. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66(22), 7303-7312.
- ¹⁴⁹ WEBER I., POTIER P., THIERRY J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40(39), 7083-7086.
- ¹⁵⁰ STANG P. J., HANACK M., SUBRAMANIAN L. R. *Synthesis*, **1982**, 85-126.
- ¹⁵¹ HOFFMAN R. V., KIM H.-O. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34(13), 2051-2054.
- ¹⁵² TŐKE L., JÁSZAY Z. M., PETNEHÁZY I., CLEMENTIS G., VERECZKEY G. D., KÖVESDI I., ROCKENBAUER A., KOVÁTS K. *Tetrahedron*, **1995**, 51(33), 9167-9178.
- ¹⁵³ LAI M. Y. H., BRIMBLE M. A., CALLIS D. J., HARRIS P. W. R., LEVI M. S., SIEG F. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13(2), 533-548.
- ¹⁵⁴ RAO I. N., BORUAH A., KUMAR S. K., KUNWAR A. C., DEVI A. S., VYAS K., RAVIKUMAR K., IQBAL J. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69(6), 2181-2184.
- ¹⁵⁵ CARRASCO M. R., BROWN R. T. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68(23), 8853-8858.

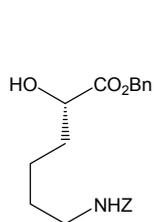
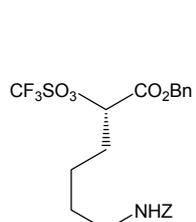
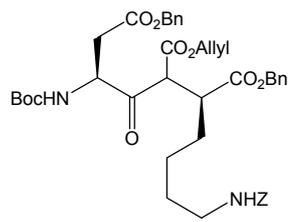
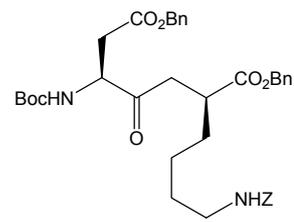
-
- ¹⁵⁶ SEKO T., KATO M., KOHNO H., ONO S., HASHIMURA K., TAKIMIZU H., NAKAI K., MAEGAWA H., KATSUBE N., TODA M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11(8), 1901-1913.
- ¹⁵⁷ YOKOKAWA F., INAZUMI A., SHIOIRI T. *Tetrahedron*, **2005**, 61(6), 1459-1480.
- ¹⁵⁸ SHIKATA K., NIRO H., AZUMA H., TACHIBANA T., OGINO K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13(4), 613-616.
- ¹⁵⁹ KUBOTA S., GASKIN F., YANG J. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94(12), 4328-4337.
- ¹⁶⁰ LUDOLPH B., EISELE F., WALDMANN H. *ChemBioChem*, **2002**, 3(9), 901-904.
- ¹⁶¹ ETTOUATI L., SALVI J.-P., TRESOL-BIÉMONT M. C., WALCHSHOFER N., GERLIER D., RABOURDIN-COMBE C., PARIS J. *Peptide Res.*, **1996**, 9(5), 248-253.
- ¹⁶² KOUBEISSI A., RAAD I., ETTOUATI L., GUILLET D., DUMONTET C., PARIS J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(21), 5700-5703.

PRODUITS DU CHAPITRE II

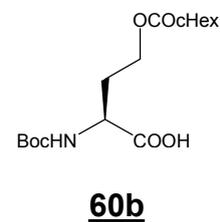
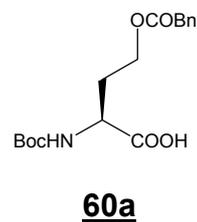
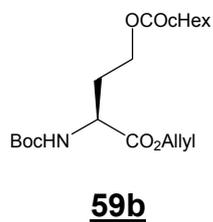
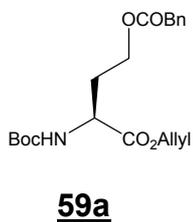
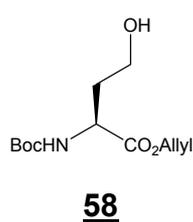
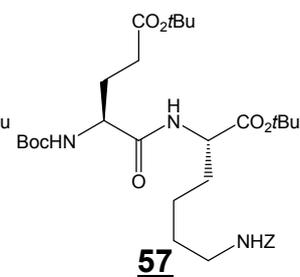
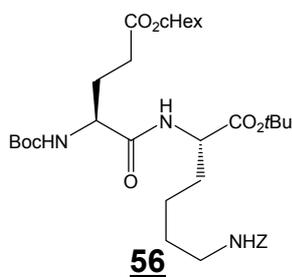
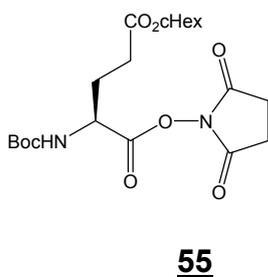
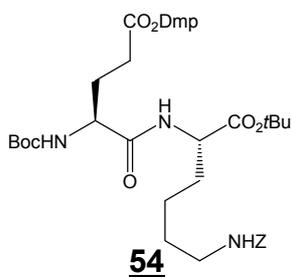
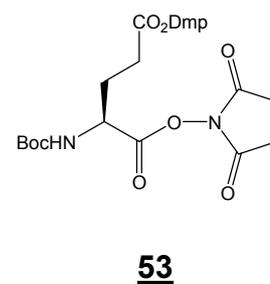
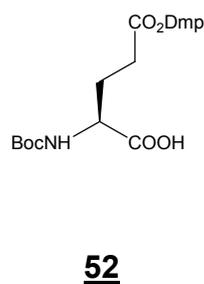
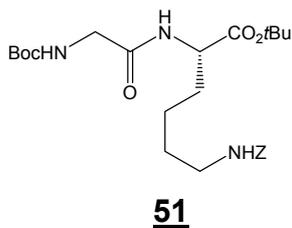
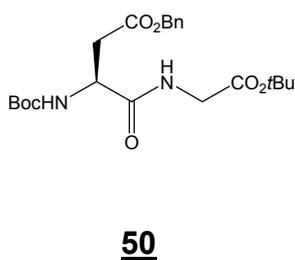
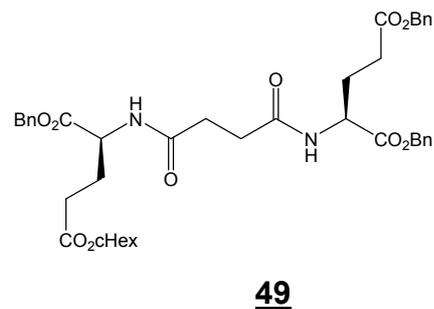
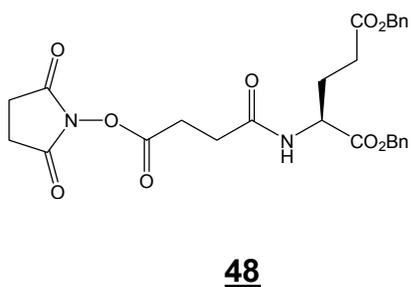
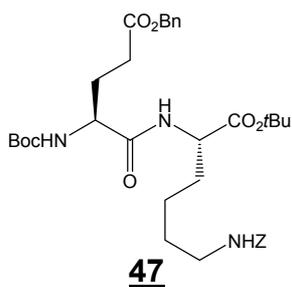
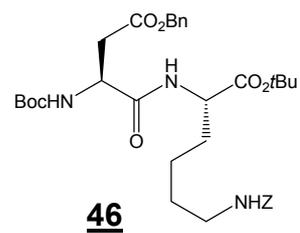
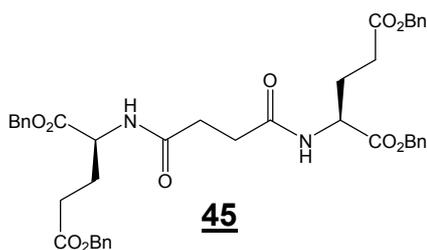
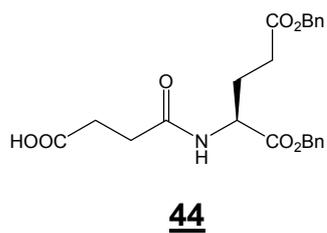
**1a****1b****2****3a****3b****4a****4b****5****6****7****8****8'****9****10****11****9b****9a****12****13****9c****9d**

PRODUITS DU CHAPITRE III

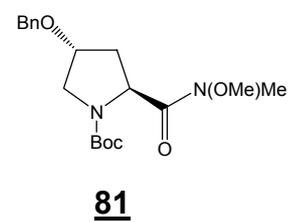
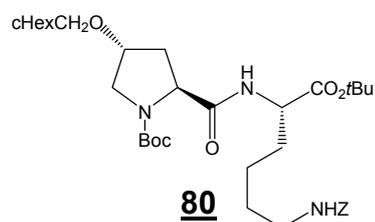
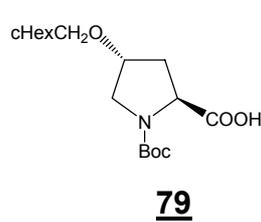
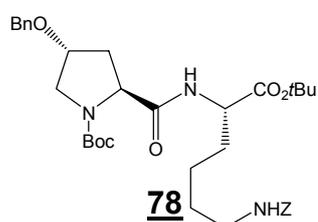
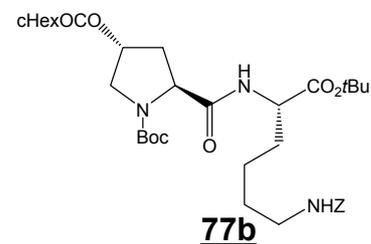
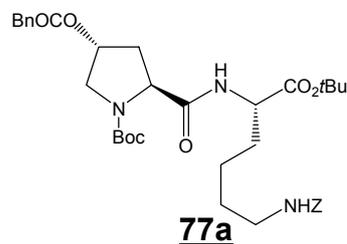
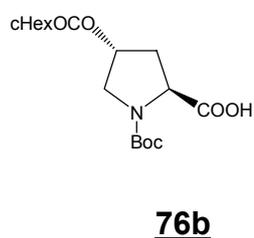
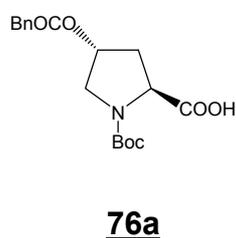
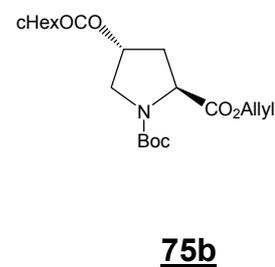
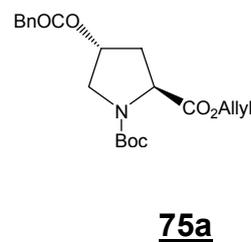
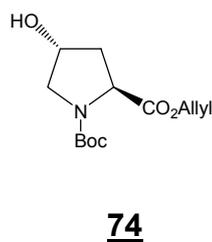
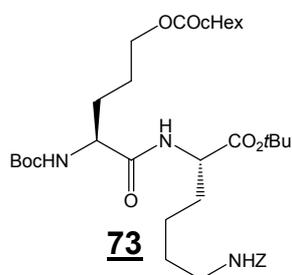
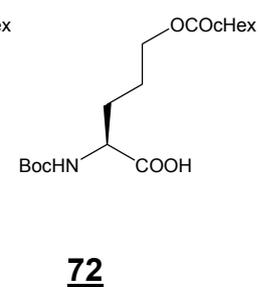
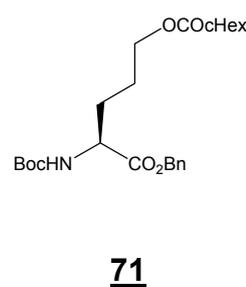
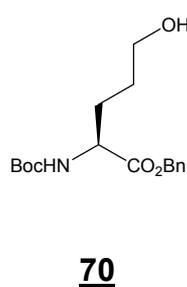
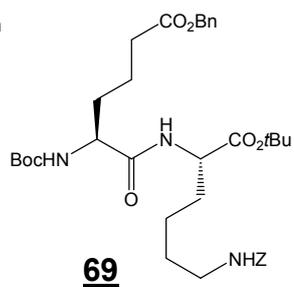
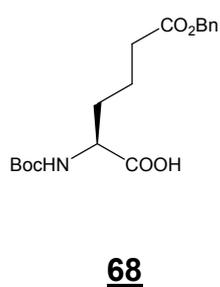
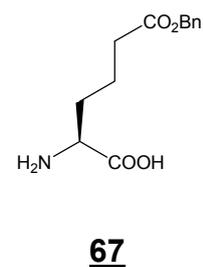
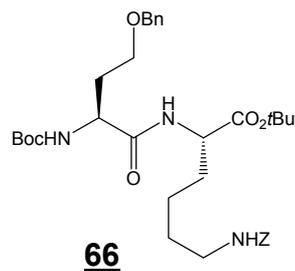
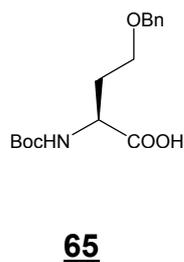
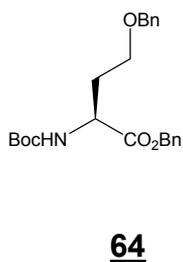
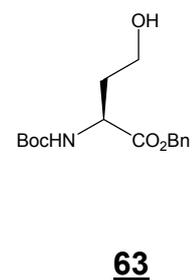
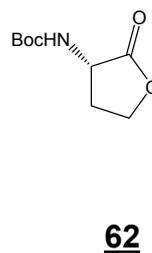
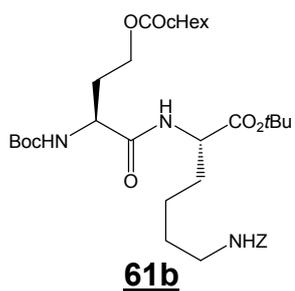
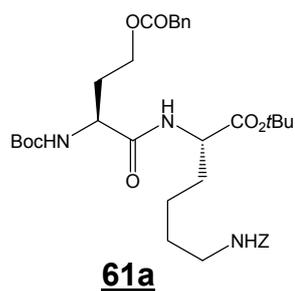
**14****15****16****17****18****19****20****21****22****23****24****25****26****27****28****29****30****31****32****33****34****35****36****37****38****39**

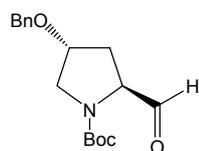
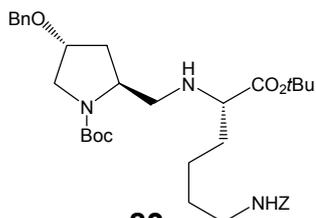
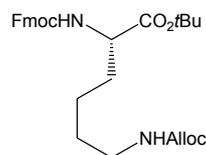
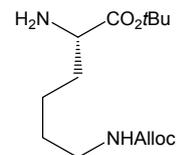
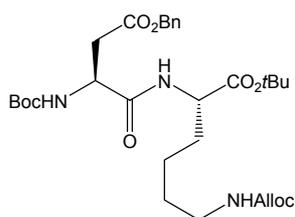
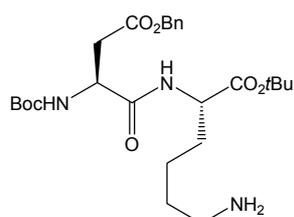
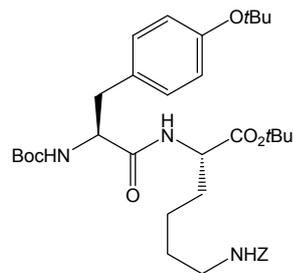
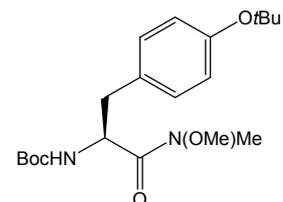
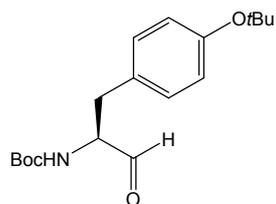
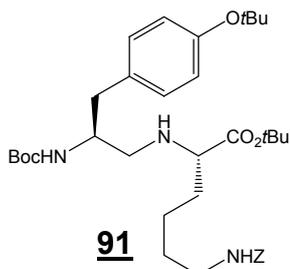
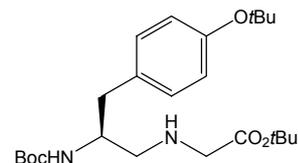
PRODUITS DU CHAPITRE III (suite)**40****41****42****43**

PRODUITS DU CHAPITRE IV



PRODUITS DU CHAPITRE IV (suite)



PRODUITS DU CHAPITRE IV (suite)**82****83****84****85****86****87****88****89****90****91****92**

RÉSUMÉ en français

Cette thèse s'inscrit dans un ensemble de travaux menés au laboratoire de Chimie Thérapeutique de Lyon sur la mise au point d'analogues de di- ou tripeptides hydrophobes appelés **réversines** susceptibles de moduler la chimiorésistance des cellules tumorales liée à l'expression de protéines de transport appartenant à la famille « ATP-Binding Cassette » (ABC). Des analogues de ces réversines ont été synthétisés afin d'augmenter leur activité et leur biodisponibilité et de préciser les requis structuraux nécessaires à cette activité vis-à-vis de deux protéines de transport, la glycoprotéine P (P-gp) et la « *Breast Cancer Resistance Protein* » (BCRP). Dans un premier temps, afin d'évaluer l'influence de la liaison peptidique, nous avons synthétisé des analogues aminométhyléniques des réversines les plus actives ainsi que des dérivés cétométhyléniques d'une réversine de référence. Dans un second temps, nous avons entrepris la synthèse d'autres dérivés modifiés au niveau de la chaîne latérale du côté *N*-terminal d'une réversine de référence ainsi que des dérivés contraints de cette chaîne latérale afin d'explorer l'espace conformationnel dans cette région de liaison aux protéines de type ABC. Les activités biologiques des analogues synthétisés ont été évaluées sur les deux protéines de transport de type ABC, P-gp et BCRP. Les premiers résultats ont montré une sélectivité des produits vis-à-vis de la P-gp par rapport à BCRP ainsi que l'interaction de la chaîne latérale du côté *N*-terminal avec le site de liaison de la P-gp. Cette démarche a permis d'aboutir à des analogues plus actifs que les réversines de référence sur P-gp notamment ceux des dérivés contraints.

TITRE en anglais Synthesis and biological study of di- and tripeptidic analogs of reversins that may modulate the activity of two transport proteins, P-glycoprotein and BCRP.

RÉSUMÉ en anglais

This thesis was carried out in the laboratory of Medicinal Chemistry in Lyon on the development of analogs of hydrophobic di- or tripeptides called **reversins** which may modulate the chemoresistance of tumor cells associated with the expression of proteins belonging to the "ATP-Binding cassette" (ABC) family. Some analogs of these reversins have been synthesized in order to increase their inhibitory activity and their bioavailability and to specify the necessary structural requirement for this activity towards two proteins, P-glycoprotein (P-gp) and the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP). Firstly, in order to evaluate the peptide bond influence, we have synthesized aminomethylene analogs of the most active reversins as well as ketomethylene derivatives of a reference reversin. Secondly, we have undertaken the synthesis of derivatives modified at the *N*-terminal side chain of a reference reversin as well as constrained derivatives of this side chain to explore the conformational space in this region of ABC proteins binding. The biological activities of the synthesized analogs were evaluated on two ABC proteins, P-gp and BCRP. Initial results showed selectivity of the products towards P-gp compared to BCRP and the interaction of the *N*-terminal side chain with the P-gp binding site. This approach has resulted in analogs that are more active than the original reversins on P-gp especially the constrained derivatives.

DISCIPLINE CHIMIE ORGANIQUE

MOTS-CLÉS réversines, pseudopeptides, peptides réduits, cétométhylène, contraints, chimiorésistance, glycoprotéine P (P-gp), *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP), protéines de transport.

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE

LABORATOIRE DE CHIMIE THÉRAPEUTIQUE, UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1, FACULTÉ DE PHARMACIE, 8 AVENUE ROCKEFELLER, 69373 LYON CEDEX 08