HAL
open science

Réduction de pyridines pour la synthèse de Building-Blocks chiraux : peptidomimétiques de type imidazolique : synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt

Sylvain Petit

To cite this version:

Sylvain Petit. Réduction de pyridines pour la synthèse de Building-Blocks chiraux : peptidomimétiques de type imidazolique : synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt. Autre. INSA de Rouen, 2010. Français. NNT : 2010ISAM0029 . tel-00581586

HAL Id: tel-00581586

https://theses.hal.science/tel-00581586

Submitted on 31 Mar 2011

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.

ECOLE DOCTORALE NORMANDE DE CHIMIE

THESE

Présentée à

L'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN CHIMIE
Spécialité Chimie Organique

par

Sylvain PETIT

Réduction de pyridines pour la synthèse de building-blocks chiraux

-

Peptidomimétiques de type imidazolique – Synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt biologique

Soutenue publiquement le 10 Décembre 2010

Composition du jury

Rapporteurs :

M. LAMATY F.	Directeur de Recherche à l'Université de Montpellier 2
M. MICOUIN L.	Directeur de Recherche à l'Université Descartes Paris 5

Examinateurs :

M. ZHANG J.	Responsable Chimie des Produits Naturels et Glycochimie Sanofi-Aventis, Vitry sur Seine
M. PANNECOUCKE X.	Professeur à l'INSA de Rouen
M. BISCHOFF L.	Professeur à l'Université de Rouen
Melle FRUIT C.	Maitre de Conférences à l'Université de Rouen

ECOLE DOCTORALE NORMANDE DE CHIMIE

THESE

Présentée à

L'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN CHIMIE
Spécialité Chimie Organique

par

Sylvain PETIT

Réduction de pyridines pour la synthèse de building-blocks chiraux

-

Peptidomimétiques de type imidazolique – Synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt biologique

Soutenue publiquement le 10 Décembre 2010

Composition du jury

Rapporteurs :

M. LAMATY F.	Directeur de Recherche à l'Université de Montpellier 2
M. MICOUIN L.	Directeur de Recherche à l'Université Descartes Paris 5

Examinateurs :

M. ZHANG J.	Responsable Chimie des Produits Naturels et Glycochimie Sanofi-Aventis, Vitry sur Seine
M. PANNECOUCKE X.	Professeur à l'INSA de Rouen
M. BISCHOFF L.	Professeur à l'Université de Rouen
Melle FRUIT C.	Maitre de Conférences à l'Université de Rouen

Je remercie vivement Monsieur Frédéric Lamaty, Directeur de Recherche à l'Université de Montpellier II, Monsieur Laurent Micouin, Directeur de Recherche à l'Université Paris V Descartes, Monsieur Jidong Zhang, responsable Chimie des Produits Naturels et Glycochimie au sein de Sanofi-Aventis ainsi que Monsieur Xavier Pannecoucke, Professeur à l'INSA de Rouen, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et l'honneur qu'ils me font en acceptant de le juger.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique Fine et Hétérocyclique (LCOFH) de l'UMR 6014, COBRA au sein de l'institut de Recherche de Chimie Organique Fine (IRCOF).

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Messieurs le Pr. Francis Marsais et le Dr. Vincent Levacher, successivement directeurs du laboratoire, pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe et pour m'avoir permis de réaliser ces travaux de recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux Pr Laurent Bischoff et Dr. Corinne Fruit, respectivement directeur de ma thèse et co-encadrante de ma thèse, pour leur disponibilité, leur confiance, leur enthousiasme, leur soutien ainsi que pour toutes nos longues discussions, scientifiques ou non.

Un grand merci à Joëlle Linard et Véronique Chassagne sans qui l'organisation du laboratoire ne serait pas la même.

Je tiens également à remercier les collègues et amis du laboratoire pour leur gentillesse et la bonne humeur générale dégagée par l'équipe. Je remercie en particulier Vincent, Nico, Sylvain et Thomas pour les fous-rires et les batailles de fin de soirée mais également pour leurs conseils avisés. Je remercie également Thibaut pour les moments passés sur les trajets Rouen-Caen. Je remercie également Cécile, Camille, Alexandra, Abdallah, Anne-Sophie, Caroline, Catherine, Tony, Matthieu, Sophie,… encore là ou partis vers d'autres horizons.

Enfin, je remercie mes parents de m'avoir laissé la liberté de choisir mes études et de m'avoir toujours soutenu dans ces choix. Je remercie également Isabelle et Patrick de m'avoir encouragé de poursuivre mes études à une période charnière.

Pour terminer, mes pensées vont principalement à ma femme Dominique pour m'avoir toujours soutenu et encouragé dans les moments difficiles.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE ..... - 1 -

1 REDUCTION DE PYRIDINES POUR LA SYNTHESE DE BUILDING-BLOCKS CHIRAUX ..... - 7 -

1.1 INTRODUCTION ET ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ..... - 7 -

1.1.1 Fonctionnalisation des pyridines ..... - 8 -

1.1.1.1 La réaction d'orthométallation ..... - 8 -

1.1.1.2 L'échange halogène-métal en série pyridinique ..... - 10 -

1.1.1.3 Couplage croisé ..... - 10 -

1.1.1.4 Activation C-H ..... - 12 -

1.1.1.5 Conclusion concernant la fonctionnalisation des pyridines ..... - 14 -

1.1.2 Réduction des pyridines ..... - 15 -

1.1.2.1 Réduction totale ..... - 15 -

1.1.2.2 Réduction partielle ..... - 20 -

1.1.3 Ouverture des pyridines – Réaction de Zincke ..... - 25 -

1.1.4 Projet de thèse ..... - 27 -

1.2 QUATERNARISATION ET REDUCTION DE PYRIDINES POUR LA SYNTHESE DE BUILDING-BLOCKS. ..... - 29 -

1.2.1 Utilisation de la réaction de Mitsunobu pour la quaternarisation des cycles pyridiniques et imidazoliques ..... - 29 -

1.2.2 Stratégie de cyclisation intramoléculaire ..... - 34 -

1.2.3 Stratégie de quaternarisation intermoléculaire ..... - 38 -

1.2.4 Quaternarisation-Réduction par les chloroformiates et anhydrides ..... - 40 -

1.2.4.1 Préparation des 2-aminopyridines substituées ..... - 40 -

1.2.4.2 Quaternarisation-Hydrogénation : optimisation des conditions réactionnelles ..... - 41 -

1.2.4.3 Vers des synthons linéaires ..... - 44 -

1.3 CONCLUSION ET PERSPECTIVES ..... - 48 -

2 PEPTIDOMIMETIQUES DE TYPE IMIDAZOLIQUE – SYNTHESE ET APPLICATION A LA SYNTHESE D'ANALOGUES D'INTERET BIOLOGIQUE. ..... - 53 -

2.1 INTRODUCTION GENERALE ..... - 53 -

2.1.1 Les peptides ..... - 53 -

2.1.2 Les peptidomimétiques ..... - 57 -

2.1.2.1 Définition et introduction ..... - 57 -

2.1.2.2 Possibilités structurales – Vue d'ensemble ..... - 58 -

2.1.3 Peptidomimétiques en série hétéroaromatique à 5 chaînons ..... - 66 -

2.1.3.1 Thiazoles, Oxazoles, Tetrazoles ..... - 66 -

2.1.3.2 Tétrazoles et triazoles ..... - 70 -

2.1.3.3 Imidazoles ..... - 73 -

2.2 SYNTHESE DE PSEUDOPEPTIDES DE TYPE IMIDAZOLIQUE ..... - 83 -

2.2.1 Etude de faisabilité par l'intermédiaire cyanométhylamine ..... - 83 -
2.2.1.1 Rétrosynthèse envisagée ..... - 83 -
2.2.1.2 Alkylation de l'aminoacide – Formation de la cyanométhylamine ..... - 84 -
2.2.1.3 Couplage peptidique ..... - 85 -
2.2.1.4 Formation du thioamide ..... - 88 -
2.2.1.5 Cyclisation ..... - 89 -
2.2.2 Synthèse revisitée par un intermédiaire aminoacetamide ..... - 91 -
2.2.2.1 Rétrosynthèse envisagée ..... - 91 -
2.2.2.2 N-alkylation par l'iodoacetamide ..... - 92 -
2.2.2.3 Couplage peptidique de l'aminoacetamide ..... - 93 -
2.2.2.4 Thionation sélective ..... - 93 -
2.2.2.5 Cyclisation ..... - 94 -
2.2.2.6 Synthèse du thioamide « one-pot » ..... - 96 -
2.2.2.7 Synthèse « one-pot » d'autres couples de dipeptides ..... - 97 -
2.2.3 Optimisation de la réaction de cyclisation ..... - 100 -
2.2.4 Application à la synthèse de couples de dipeptides ..... - 105 -
2.2.5 Détermination des propriétés acido-basiques du mime imidazolique ..... - 106 -
2.2.5.1 Dicétopipérazine S-CH_3 ..... - 107 -
2.2.5.2 Dicétopipérazine $S0_2$-CH_3 ..... - 109 -
2.2.5.3 Dicétopipérazine non substituée ..... - 110 -
2.2.5.4 Détermination des pKa des dicétopipérazines ..... - 113 -
2.3 VERS LA SYNTHESE D'ANALOGUES DE MOLECULES BIOACTIVES ..... - 115 -
2.3.1 Introduction générale ..... - 115 -
2.3.2 Analogues de l'endomorphine II – évaluation biologique et analyse structurale ..... - 115 -
2.3.2.1 Introduction et contexte du projet ..... - 115 -
2.3.3 Méthode originale de couplage peptidique – Utilisation des carboxylates de lithium ..... - 121 -
2.3.3.1 Introduction ..... - 121 -
2.3.3.2 Etude la réaction ..... - 123 -
2.4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES ..... - 128 -

***PARTIE EXPERIMENTALE* ..... - 133 -**

CHEMICAL PROCEDURES ..... - 137 -

PYRIDINIUMS AND REDUCTION ..... - 137 -
IMIDAZOLES BASED PEPTIDOMIMETICS ..... - 155 -

ANNEXES ..... - 197 -

CURRICULUM VITAE ..... - 198 -
PUBLICATIONS ..... - 201 -

Introduction générale

La recherche menée dans le cadre de cette thèse est consacrée à deux sujets indépendants développés dans notre laboratoire sur, d'une part, l'utilisation de la pyridine comme précurseur de molécules saturées, et d'autre part, le développement d'un mime de type imidazolique en remplacement d'un lien amide.

Concernant le premier thème, la possibilité d'utiliser la pyridine comme matière première pour synthétiser des alcaloïdes telle que la lentiginosine et ses épimères en très peu d'étapes avait été étudiée par Rabah Azzouz au cours de sa thèse. Les étapes clé sont une alkylation de pyridinium par réaction de Mitsunobu, ainsi qu'une réduction du pyridinium en pipéridinium.

L'utilisation de ces réactions afin de préparer des synthons saturés mais acycliques, représente une extension particulièrement intéressante, en particulier lorsqu'appliquée à la synthèse d'alkylamines chirales. D'une part, la haute diversité de fonctionnalisation pouvant être introduite en série aromatique permet l'accès rapide à des dérivés pyridiniques élaborés. Par ailleurs, la simplicité et l'efficacité des réactions de quaternarisation et de réduction du pyridinium obtenu, permettront d'envisager l'obtention de produits de réduction puis ouverture des cycles pyridiniques en peu d'étapes. Il était donc important de trouver des conditions efficaces, objectif que nous nous sommes efforcés d'atteindre au cours du travail présenté.

Le second sujet s'inscrit dans la continuité directe des travaux développés par Alain Crépin et Nicolas Wattier, au cours, respectivement, de leurs stages d'ingénieur CNAM et de Master II. Ceux-ci avaient permis la synthèse de mercaptoimidazoles dérivés d'aminoacides en remplacement de la fonction acide ou amine d'aminoacides, ainsi que d'imidazoles non substitués. Des essais préliminaires de préparation de dérivés dipeptidiques n'avaient pu aboutir, l'étape de couplage impliquée dans la synthèse se révélant particulièrement difficile. Ces dérivés nous semblaient d'un grand intérêt d'un point de vue structural, d'une part en tant qu'analogue non hydrolysable d'amide, et d'autre part, en tant qu'analogue de conformation cis bloquée. Cette particularité pourra être exploitée dans la synthèse d'analogues de composés d'intérêt biologique comme preuve de conformation bioactive. Il nous a semblé de toute première importance de surmonter les obstacles synthétiques rencontrés afin de développer cette nouvelle famille de pseudopeptides afin d'en étudier les avantages et les limites.

Le fil conducteur de cette thèse apparait assez hétérogène par ses objectifs, nous traiterons donc les deux parties de façon totalement indépendantes.

La première partie, mineure, du manuscrit est consacrée à la synthèse de building-blocks chiraux à partir de la pyridine. Des rappels bibliographiques concernant les différentes méthodes de fonctionnalisation (*ortho*-métallation, réduction, ouverture) seront présentées. Par la suite, une extension de la réaction de Mitsunobu intramoléculaire à une version intermoléculaire est présentée et appliquée à la préparation d'autres substrats (imidazoliums, acridiniums, aminoalcools,…). Enfin, les différentes stratégies mises en œuvre afin d'accéder aux composés linéaires fonctionnalisés sont détaillés, mettant en jeu une réaction de quaternarisation-réduction en une seule étape *via* un intermédiaire de type *N*-acylpyridinium.

La seconde partie sera, quant à elle, dédiée à la préparation de peptidomimétiques de type imidazolique et l'application de ce mime à la synthèse d'analogues de composés d'intérêt biologique. Après une introduction concernant les peptides et les peptidomimétiques, différentes catégories en seront exposées et particulièrement la série des hétéroaromatiques à 5 chaînons dont l'imidazole fait partie. Après des rappels bibliographiques concernant les imidazoles dérivés d'aminoacides, le travail effectué sera présenté en détaillant les différentes voies d'accès étudiées. Nous décrirons ainsi la première synthèse, à notre connaissance, de pseudopeptides imidazoliques exemplifiée par la préparation de plusieurs couples de dipeptides.

Dans une dernière partie, le mime considéré a été incorporé avec succès dans des analogues de l'Endomorphine II, l'étude structurale ainsi que l'évaluation biologique des ces composés faisant l'objet d'une collaboration avec des équipes de biologistes et d'étude structurale par RMN. Afin de résoudre un problème d'épimérisation apparu au cours de la synthèse ces analogues, une étude concernant le couplage de dérivés de type carboxylate de lithium a été effectuée.

Le plan général du mémoire s'établit donc comme suit :

Chapitre 1 : Réduction de pyridines pour la synthèse de building-blocks chiraux

Chapitre 2 : Peptidomimétiques de type imidazolique – Synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt biologique.

Réduction de pyridines pour la synthèse

de Building-blocks chiraux

1 Réduction de Pyridines pour la synthèse de Building-Blocks chiraux

1.1 Introduction et étude bibliographique

La réduction partielle ou totale d'un cycle pyridinique est une réaction très importante en chimie organique. En effet, le squelette pipéridinique est fréquemment rencontré dans de nombreux alcaloïdes synthétiques ou naturels comme la coniine, les alcaloïdes du quiquina ou encore l'acide pipécolique (Figure 1).

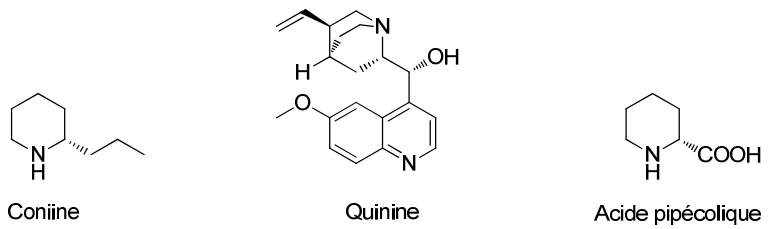


Figure 1

Dans les prochains paragraphes seront présentées les méthodes de fonctionnalisation, de réduction ainsi que d'ouverture des pyridines. En effet, la fonctionnalisation du noyau pyridinique puis sa réduction représente une approche synthétique plus directe car plusieurs centres asymétriques seront créés en une seule étape. De plus, l'incorporation de fonctionnalités sur un cycle aromatique sera plus aisée et permettra l'accès à une grande diversité.

1.1.1 Fonctionnalisation des pyridines

Notre laboratoire possède une grande expertise dans la fonctionnalisation des cycles pyridiniques. Dans les prochains paragraphes sera présenté l'état de l'art concernant ces méthodes de fonctionnalisation.

1.1.1.1 La réaction d'orthométallation

La fonctionnalisation régiosélective des cycles aromatiques constitue l'un des problèmes majeurs lors de la synthèse de nombreux composés. La réaction de métallation *ortho*-dirigée permet de résoudre efficacement ce problème. Elle est également, dans le cas de cycles benzéniques, complémentaire de la substitution électrophile qui donne les composés substitués en *méta* et *para*.

Les premiers travaux dans ce domaine ont été conduits par Wittig[1] et Gilman[2], suivis de ceux de Hauser[3]. Cette réaction constitue aujourd'hui une méthode de choix pour la synthèse de cycles aromatiques et hétéroaromatiques polyfonctionnalisés[4].

La réaction d'ortho-métallation consiste en l'arrachement, à l'aide d'une base forte (généralement des alkyllithiens ou amidures de lithium), d'un proton aromatique situé en ortho d'un groupe directeur (GD). Le lithien intermédiaire peut ensuite être piégé par un électrophile (Schéma 1).

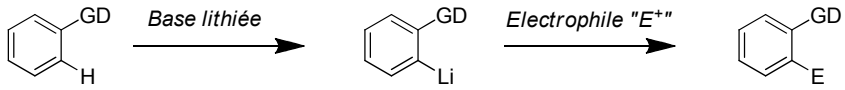


Schéma 1

Cette méthode a permis de fonctionnaliser des cycles aromatiques puis hétéroaromatiques π-excédentaires tels que le furane, le pyrrole et le thiophène[5]. Par la suite, la réaction d'ortho-

[1] a) Wittig, G.; Pockels, U.; Droge, H. *Ber.* **1938**, *71B*, 1903; b) Wittig, G.; Fuhrman, G. *Ber.* **1940**, *73*, 1197.
[2] a) Gilman, H.; Bebb, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *61*, 109; b) Gilman, H.; Morton, J. W. *Organic Reactions (New York)* **1954**, 258.
[3] Puterbaugh, W. H.; Hauser, C. R. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 853.
[4] a) Narasimham, N. S.; Mali, R. S. *Synthesis* **1983**, 957; b) Snieckus, V. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 879; c) Godard, A.; Marsais, F.; Plé, N.; Trécourt, F.; Turck, A.; Quéguiner, G. *Heterocycles* **1995**, *40*, 1055; d) Green, L.; Chauder, B. Snieckus, V. *J. Het. Chem.* **1999**, *36*, 1453; e) Quéguiner, G. *J. Het. Chem.* **2000**, *37*, 615; f) Familioni, O. B. *Synlett* **2002**, 1181.
[5] Gronowitz, S.; Editor Thiophene and its Derivatives, Part Five. In: *Heterocycl. Compd.* 1992.

métallation a été étendue aux cycles aromatiques π-déficients tels que les quinoléines[6], les triazines[7], les diazines[8] et les benzodiazines[9].

Concernant le groupe ortho-directeur, il comporte un ou plusieurs hétéroatomes. Ceux-ci interviennent par plusieurs effets :

- Effet cinétique : l'hétéroatome, s'il est lié directement au cycle, confère au groupe directeur un caractère attracteur inductif qui augmente l'acidité de l'hydrogène situé en ortho et facilite ainsi sa déprotonation. Il favorise également l'approche de l'agent métallant par chélation (Complex Induced Proximity Effect[10]) et ainsi la déprotonation régiospécifique en ortho.

- Effet thermodynamique : lorsque le lithien est formé, la complexation du cation métallique par l'hétéroatome stabilise l'espèce lithiée.

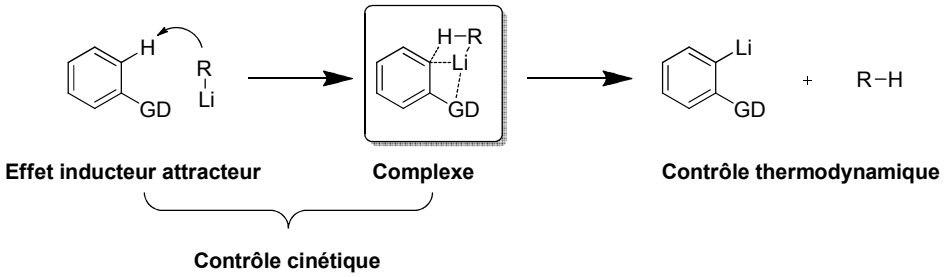


Schéma 2

La grande diversité des groupes utilisés et des électrophiles qui peuvent être introduits (Tableau 1) permettent la synthèse de très nombreux composés aromatiques polyfonctionnalisés.

Fonctions	Groupes Directeurs (GD)	Fonctions Introduites
Halogénées	F, Cl, Br, I	F, Cl, Br, I
Oxygénées	OR, $OCONR_1R_2$, OCH_2OCH_3	OH (*via* $B(OH)_2$)
Azotées	NHCO*t*Bu, NHCOO*t*Bu	NH_2 (*via* N_3)
Carbonées	CF_3, COOH, $CONR_1R_2$, oxazoline, $CH_2(OLi)NR_1R_2$,CN	CH_3, $C(OH)R_1R_2$, $C(NHR_1)R_2R_3$, COOH, $CONR_1R_2$, COR,CN
Sulfurées	SR, SOR, SO_2R, SO_3R, $SO_2NR_1R_2$	SR, SOR, SO2R

[6] Quéguiner, G.; Marsais, F.; Snieckus, V.; Epsztajn, J. *Advances in Heterocyclic Chemistry* **1991**, *52*, 187
[7] Plé, N.; Turck, A.; Quéguiner, G.; Glassl, B.; Neunhoffer, H. *Annalen der Chemie* **1993**, 583.
[8] Turck, A.; Plé, N.; Quéguiner, G. *Heterocycles* **1994**, 37, 2149.
[9] Turck, A.; Plé, N.; Mongin, F.; Quéguiner, G. *Tetrahedron* **2001**, 57, 4489.
[10] a) Gschwend, H. W.; Rodriguez, H. R. *Organic Reactions* (Ed.: Dauben, W. G.) **1979**, *26*, 1; b) Wang, W.; Snieckus, V. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 424; c) Whisler, M. C.; MacNeil, S.; Snieckus, V.; Beak, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2206.

Phosphorées	$P(O)R_1R_2$, $P(O)(NMe_2)_2$, $PS(NR_1R_2)R_3$, $P(=NR_1)(R_2)_2$	PPh_2, $P(O)Ph_2$ (*via* PPh_2)
Autres		SiR_3, SnR_3, $B(OH)_2$, MgCl, ZnCl, Cu,…

Tableau 1

La réaction a été largement appliquée à la synthèse de dérivés pyridiniques hautement fonctionnalisés[11]. Cette méthode permet en outre l'introduction de groupements halogénés, trialkylsilyle, trialkylstannyle ou encore d'esters boroniques particulièrement intéressants pour la réalisation de réactions de couplages croisés au palladium (développé dans partie 1.1.1.3).

1.1.1.2 L'échange halogène-métal en série pyridinique

La réaction d'un halogénure organique avec un organométallique au cours de laquelle le métal et l'halogène s'échangent est appelée réaction halogène-métal (Schéma 3). Ce type de réaction a été largement développé en série pyridinique et s'est révélé être une méthode de choix pour la fonctionnalisation de cet hétérocycle. L'échange est réalisé à l'aide du butyllithium à basse température (-78°C) pour éviter l'addition nucléophile.

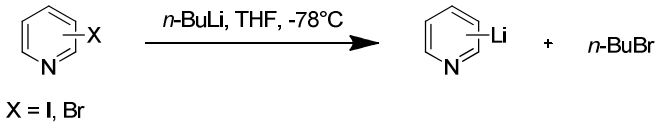


Schéma 3

Plus récemment, Knochel a largement contribué aux developpements de nouveaux systèmes pour les réactions halogène-métal sur des strutures aromatiques ou aliphatiques.

1.1.1.3 Couplage croisé

Une approche importante de fonctionnalisation des cycles pyridiniques est basée sur les réactions de couplage croisé catalysées par les complexes de palladium[12]. En effet, ces réactions

[11] a) Marsais, F.; Breant, P.; Guiguene, A.; Quéguiner, G. *J. Organomet. Chem.* **1981**, *216*, 139; b) Quéguiner, G.; Marsais, F.; Snieckus, V.; Epsztajn, J. *Advances in Heterocyclic Chemistry* **1991**, *52*, 187.

[12] a) Campeau, L.-C.; Fagnou, K. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1058 b) Schroeter, S.; Stock, C.; Bach, T. Tetrahedron **2005**, *61*, 2245.

permettent l'accès à une grande variété de substitutions. C'est dans les années 70 que les différentes méthodes de couplages pallado-catalysés (Heck, Stille, Suzuki, Sonogashira, Tsuji-Trost et Negishi) ont été découvertes (Schéma 4).

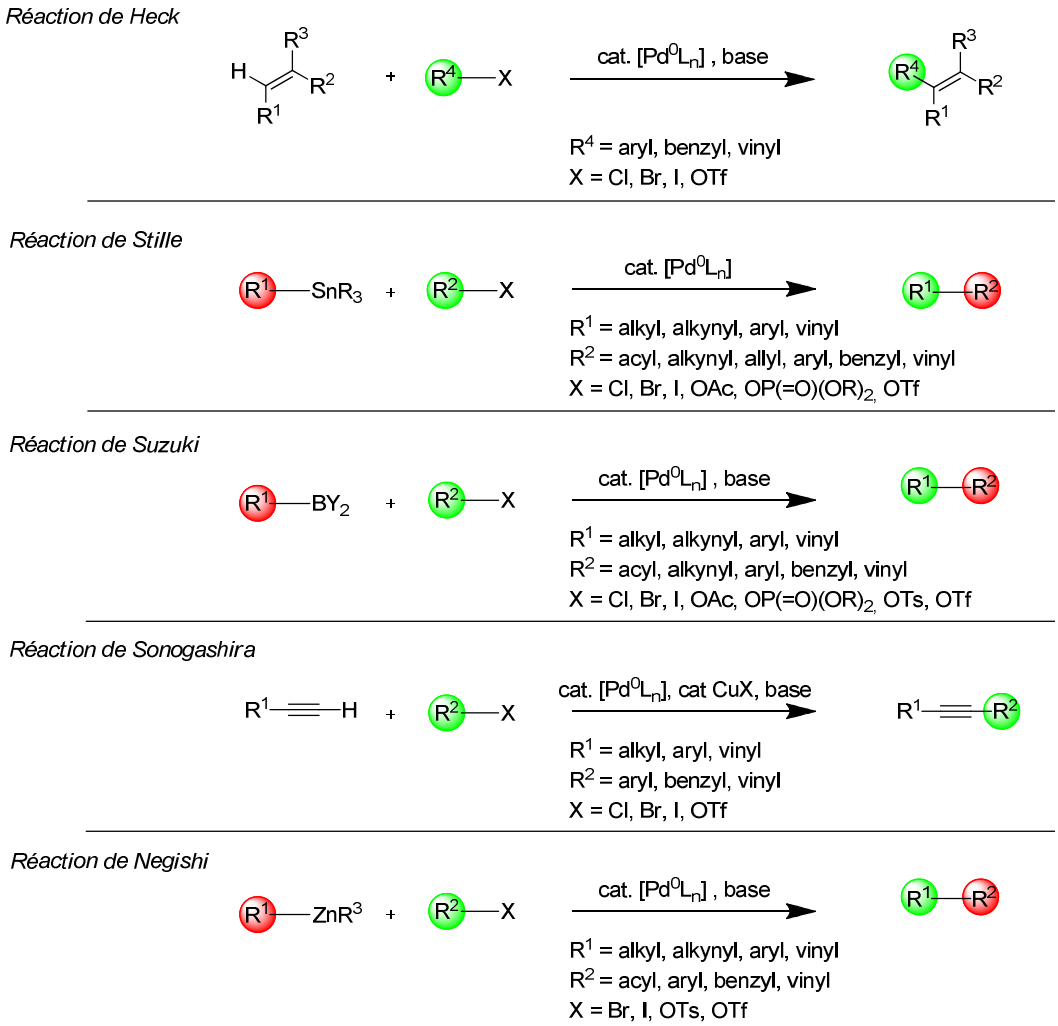


Schéma 4

Elles ont par la suite été considérablement développées, largement documentées[13] et appliquées en synthèse totale[14].

[13] a) *Metal-Catalyzed cross-Coupling Reactions, 2nd ed.* (Eds.: de Meijere, A.; Diedrich, F.), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**; b) Hegedus, L. S. *Transition Metals in the Synthesis of Complex Molecules, 2nd edition*, University Science Books, Sausalito, **1999**; c) *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis* (Ed.: Negishi, E.), Wiley Interscience, New York, **2002**; d) Cross-*Coupling Reactions: A Practical Guide* (Ed.: Miyaura, N.), Springer, Berlin, **2002** (Series Topics in Current Chemistry, N°219); e) Negishi, E. *J. Organomet. Chem.* **2002**, 653, 34.

[14] Nicolaou, K. C.; Bulger, P. G.; Sarlah, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442 et références citées.

1.1.1.4 Activation C-H

Le couplage par activation C-H est basé sur l'activation d'une liaison carbone-hydrogène afin de créer une liaison carbone-nucléophile. Dans le cas des couplages croisés (Suzuki-Miyaura, ,Heck, Negishi, Stille, Hiyama, Kumada), de l'allylation de Tsuji-Trost ou encore de l'amination de Buchwald-Hartwig, la réaction s'effectue entre un dérivé halogéné (ou équivalent) et un nucléophile (Schéma 5). Cela nécessite alors la préparation du dérivé nucléophile, bien que les méthodes d'accès à ce type de composés aient considérablement évolué.

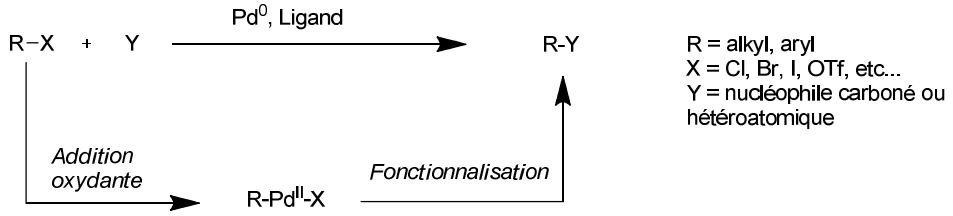


Schéma 5

Les possibilités de fonctionnalisation par insertion du palladium dans une liaison carbone-hydrogène non-activée sont quasi-illimitées. Cette réaction n'offre pas uniquement une réactivité complémentaire mais surtout de nouvelles disconnections pour la synthèse de molécules plus complexes (Schéma 6). En effet, l'introduction d'un groupement halogéné peut se révéler être un problème synthétique majeur dans le cas de composés hautement fonctionnalisés.

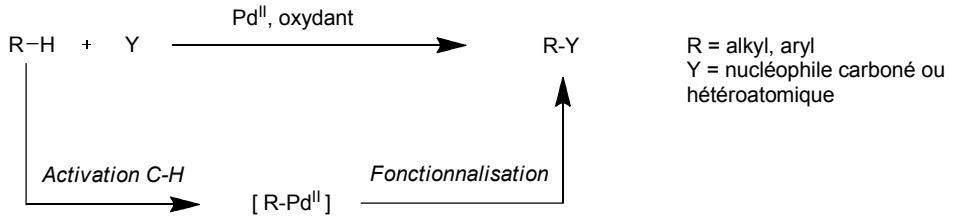


Schéma 6

Cette réaction a été très largement utilisée dans des réactions d'oléfination, d'arylation, ou des réactions tandem aussi bien pour des liaisons C(*sp²*)-H qu'avec des liaisons C(*sp³*)-H[15]. Plus récemment, Yu *et al.*[16] ont développé une méthode de desymétrisation de composés méso par C(*sp²*)-H arylation asymétrique (Schéma 7).

[15] Chen, X.; Engle, K. M.; Wang, D.-H.; Yu, J.-Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5094 et références citées.
[16] Shi, B.-F.; Maugel, N.; Zhang, Y.-H.; Yu, J. Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4882.

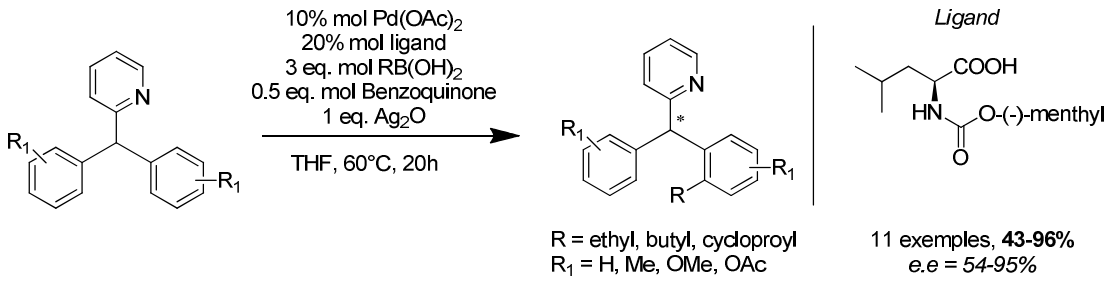


Schéma 7

Des travaux ont également été menés concernant la fonctionnalisation de la pyridine par fonctionnalisation C-H. Suite aux travaux pionniers de Jordan *et al.* mettant en jeu l'α-picoline et le propène catalysé par un complexe de zirconium[17], Moore *et al.* ont développé peu de temps après une méthode d'acylation de la pyridine en position 2 en présence de monoxyde de carbone et d'une oléfine catalysée par le ruthénium[18]. Ce n'est qu'à partir de 2005 et avec le développement important des réactions de fonctionnalisation C-H que de nombreux groupes se sont intéressés à la pyridine. Le cas des pyridines fonctionnalisées en 2 a été particulièrement étudié du fait de la faible stabilité des espèces organométalliques en position 2 de la pyridine et de leur difficulté d'accès. Les exemples d'utilisation dans des réactions de couplages croisés sont de ce fait rares[19].

Afin d'activer cette position, les *N*-oxydes de pyridines ont été utilisés car ils sont faciles d'accès[20] ou commerciaux et sont stables, ce qui est un avantage comparativement aux 2-métallopyridines. En 2005, Fagnou *et al.* ont reporté une arylation régiosélective des *N*-oxydes de pyridines en position 2[21] (Schéma 8) et a ensuite étendu la méthode aux diazines[22]. Hiyama *et al.* ont également réalisé des vinylations des *N*-oxydes de pyridines[23] par réaction d'alcynes en présence d'un catalyseur au nickel. Charette *et al.* ont également développé des méthodes d'arylation pallado-catalysées sur des pyridines activées sous forme d'iminopyridinium en position 2[24] ainsi qu'en position benzylique[25].

---

[17] Jordan, R. F.; Taylor, D. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 778.
[18] Moore, E. J.; Pretzer, W. R.; O'Connell, T. J.; Harris, J.; LaBounty, L.; Chou, L.; Grimmer, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5888.
[19] a) Molander, G. A.; Biolatto, B. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4302 et références citées; b) Hodgson, P. B.; Salingue, F. H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 685.
[20] a) Murray, R. W.; Jeyaraman, R. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2847; b) van den Heuvel, M.; van der Berg, T. A.; Kellogg, R. M.Choma, C. T.; Feringa, B. L. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 250.
[21] Campeau, L.-C.; Rousseaux, S.; Fagnou, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18020.
[22] Leclerc, J.-P.; Fagnou, K. . *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7781.
[23] Kanyiva, K. S.; Nakao, Y.; Hiyama, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8872.
[24] Larivée, A.; Mousseau, J. J.; Charrette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 52.

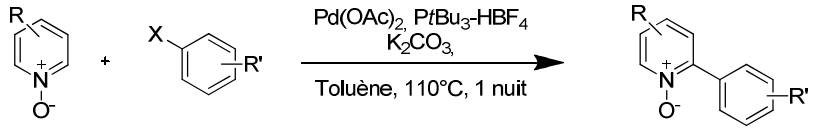


Schéma 8

La pyridine non activée a ensuite été arylée par Sames *et al.* par l'utilisation d'un catalyseur au ruthénium[26] suivi par des travaux d'Ellman concernant l'alkylation et la vinylation catalysée par le rhodium[27] (Schéma 9). Enfin, Hiyama a adapté le système développé de vinylation des pyridines-N-oxydes aux pyridines par ajout d'un acide de Lewis[28].

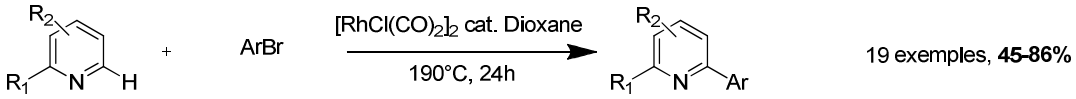


Schéma 9

1.1.1.5 Conclusion concernant la fonctionnalisation des pyridines

Nous avons donc vu que les méthodes d'obtention de pyridines porteuses de fonctionnalités variées ont largement été développées dans la littérature. De plus, nombre d'entre elles sont accessibles commercialement. Nous pourrons appliquer ces différentes méthodes afin d'obtenir des pyridines fonctionnalisées et après démonstration de la preuve de concept, des synthons chiraux porteurs de ces substitutions.

[25] Mousseau, J. J.; Larivée, A.; Charrette, A. B *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1641.
[26] Godula, K.; Sezen, B.; Sames, D. J. Am. Chem. Soc. **2005**, 127, 3648.
[27] a) Berman, A. M.; Lewis, J. C.; Bergman, R. G.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14926; b) Yotphan, S.; Bergman, R. G.; Ellman, J. A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2978.
[28] Nakao, Y.; Kanyiva, K. S.; Hiyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2448.

1.1.2 Réduction des pyridines

1.1.2.1 Réduction totale

La réduction totale des cycles hétéroaromatiques a largement été étudiée car elle donne accès à des composés chiraux de manière rapide. En effet, cette réaction peut conduire à la synthèse de cinq centres asymétriques contigus en un seul processus (pour l'exemple de la pyridine) (Schéma 10). La limitation de la méthode réside dans la formation des composés *cis* exclusivement.

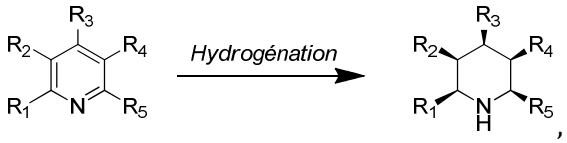


Schéma 10

Dans la plupart des cas, cette méthode se révèle plus avantageuse que de préparer le composé par cyclisation. De cette manière, des hydrogénations de quinoxaline[29], quinoléine[30], indole[31], pyrrole[32] et furane[33] ont été développées avec de bons résultats jusqu'à 98% d'excès énantiomérique.

On peut considérer deux voies d'accès distinctes :

- La réduction diastéreosélective, cas pour lequel un élément de chiralité est présent sur la pyridine à réduire (2nde génération).

---

[29] a) Bianchini, C.; Barbaro, P.; Scapacci, G.; Farnetti, E.; Graziani, M.*Organometallics* **1998**, *17*, 3308; b) Henschke, J. P.; Burk, M. J.; Malan, C. G.; Herzberg, D.; Peterson, J. A.; Wildsmith, A. J.; Cobley, C. J.; Casy, G. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 300.

[30] a) Reetz, M.; Li, X. *Chem. Comm.* **2006** 2159; b) Deport, C.; Buchotte, M.; Abecassis, K.; Tadaoka, Ayael, T.; Ohshima, T.; Genêt, J. P.; Mashima, K.; Ratovelomanana-Vidal, V. *Synlett* **2007**, *17*, 2743; c) Mrsic, N.; Lefort, L.; Boogers, J. A. F.; Minnaard, A. J.; Feringa, B. L.; de Vries, J. G. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1081; d) Lu, S. M.; Bolm, C. *Adv, Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1101; e) Egenstein, M.; Thomas, A.; Theuerkauf, J.; Francio, G.; Leitner, W. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 725; f) Tadaoka, H.; Cartigny, D.; Nagano, T.; Gosavi, T.; Ayad, T.; Genêt, J. P.; Ohshima, T.; Ratovelomanana-Vidal, V.; Mashima, K. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9990.

[31] a) Kuwano, R.; Sato, K.; Kurokawa, T.; Karube, D.; Ito, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7614; b) Kuwano, R.; Kaneda, K.; Ito, T.; Sato, K.; Kurokawa, T.; Ito, Y. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2213; c) Kuwano, R.; Kashiwabara, M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2653; d) Kuwano, R.; Kashiwabara, M.; Sato, K.; Ito, T.; Kaneda, K.; Ito, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*,521–535.

[32] Kuwano, R.; Kashiwabara, M.; Ohsumi, M.; Kusano, H. *J. Am. Chem.Soc.* **2007**, *129*, 808.

[33] a) Ohta, T.; Miyake, T.; Seido, N.; Kumobayashi, H.; Takaya, H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 357; b) Kaiser, S.; Smidt, S. P.; Pfaltz, A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006** *45*, 5194; c) Feiertag, P.; Albert, M.; Nettekoven, U.; Spindler, F. *Org. Lett.* **2006** *8*, 4133.

- La réduction énantiosélective mettant en jeu des réactifs chiraux (4ème génération)

Concernant les conditions réactionnelles, le cycle pyridinique est fréquemment réduit sous pression d'hydrogène en présence d'un activateur externe (acide) ou interne (forme activée de pyridine synthétisée au préalable). Certains exemples font état de réduction dans des conditions plus douces, notamment sous pression atmosphérique d'hydrogène mais sont beaucoup plus rares.

Plusieurs exemples de réduction diastéreosélective de cycles pyridiniques ont été décrits dans la littérature mais conduisent à des sélectivités faibles[34]. Un exemple particulièrement efficace a été décrit par Glorius *et al.*[35]. Des oxazolidinones chirales de type Evans sont introduites en position 2 de la pyridine qui est hydrogénée, conduisant aux pipéridines chirales avec bonnes énantiosélectivités et de bons rendements (Schéma 11).

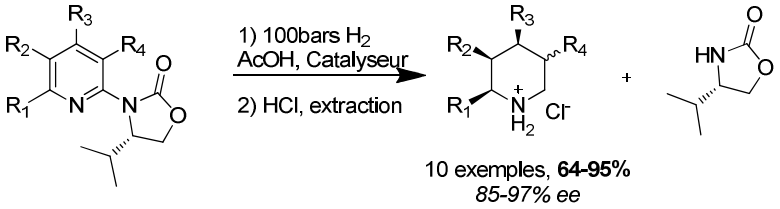


Schéma 11

Les auteurs expliquent les bonnes diastéréosélectivités obtenues par la formation d'interactions fortes entre le pyridinium (formé dans les conditions acides de la réaction) et l'oxazolidinone. Il en résulte un intermédiaire plan dans lequel une des faces est encombrée par le groupement isopropyle porté par l'oxazolidinone (Schéma 12). Le mécanisme faisant intervenir un intermédiaire iminium/énamine, l'obtention de pipéridines énantioenrichies substituées en position 3 se révèle plus complexe.

[34] a) Steiner, H.; Giannousis, P.; Pische-Jacques, A.; Blaser, H.-U. *Top. Catal.* **2000**, *13*, 191; b) Solladié-Cavallo, A.; Marsol, C.; Yaakoub, M.; Azyat, K.; Klein, A.; Roje, M.; Suteu, C.; Freedman, T. B.; Cao, X.; Nafie, L. A. *J. Org. Chem.* **2003** *68*, 7308; c) Douja, N.; Malacea, R.; Banciu, M.; Besson, M.; Pinel, C. *Tetrahedron Lett.* **2003** *44*, 6991; d) Douja, N.; Besson, M.; Gallezot, P.; Pinel, C. *J. Mol. Catal. A,* **2002**, *186*, 145; e) Hegedus, L.; Hada, V.; Tungler, A.; Mathe, T.; Szepesy, L. *Appl. Catal. A,* **2000** *201*, 107; f) Raynor, S. A.; Thomas, J. M.; Raja, R.; Johnson, B. F. G.; Belle, R. G.; Mantle, M. D. *Chem. Commun.* **2000** 1925; g) Studer, M.; Wedemeyer-Exl, C.; Spindler, F.; Blaser, H.-U. *Monatsh. Chem.* **2000** *131*, 1335.

[35] Glorius, F.; Spielkamp, N.; Holle, S.; Goddard R.; Lehmann, C.W. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, *43*, 2850.

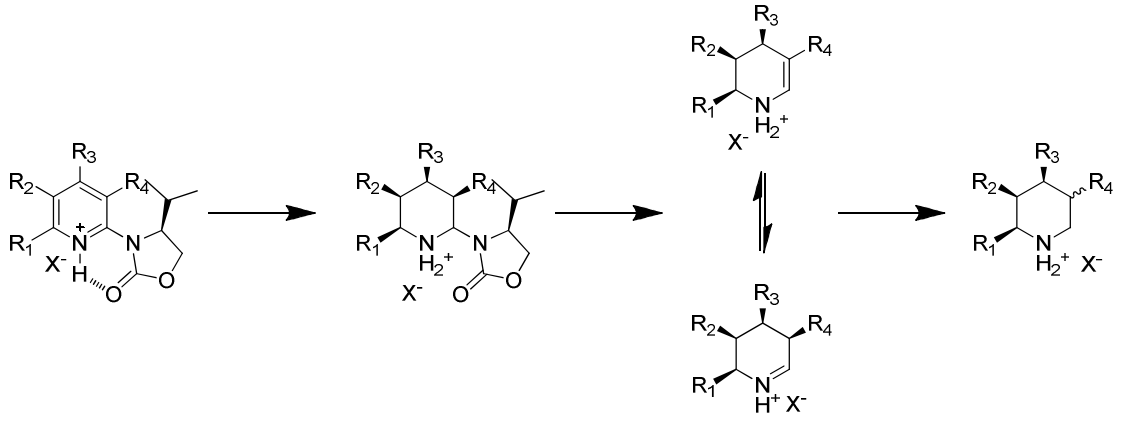


Schéma 12

Il est à noter qu'en utilisant des conditions différentes, les auteurs sont en mesure d'isoler un composé gem-diazoté avec de bonnes diastéréosélectivités (Figure 2).

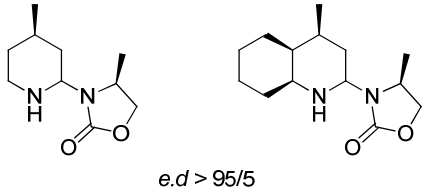


Figure 2

Cette méthode est aujourd'hui la méthode la plus efficace pour la formation des pipéridines à partir des pyridines. Cependant, il est nécessaire de former la pyridine porteuse de l'oxazolidinone par un couplage de type carbamatation de Buchwald[36] et l'utilisation de fortes pressions d'hydrogène représente un frein à l'utilisation de cette méthode.

Concernant les réductions énantiosélectives de pyridines, Charette *et al.*[37] ont développé une méthode de réduction de *N*-iminopyridinium en présence d'un catalyseur à l'iridium dérivé de phosphinoxazolines (PHOX) développé par Pflatz[38] (Schéma 13).

[36] Klapars, A.; Huang, X.; Buchwald, S. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7421.
[37] Legault, C. Y.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8966.
[38] Helmchen, G.; Pfaltz, A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 336.

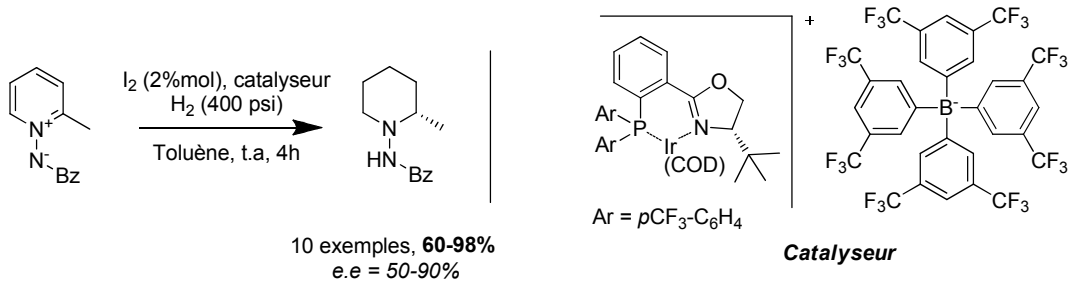


Schéma 13

Les auteurs reportent une baisse de l'énantiosélectivité dans le cas de substrats disubstitués ainsi que dans le cas des pyridiniums substitués en position 3. Les *N*-aminopipéridines obtenues peuvent ensuite être coupées en utilisant le Nickel de Raney[39] ou la réduction de Birch[40] donnant ainsi accès aux pipéridines énantioenrichies.

De nombreux exemples de réduction de pyridines substituées en position 5 par des groupements électroattracteurs ont été développés dans les années précédentes. En effet, les 2-alkyl-7,8-dihydroquinoléin-5(6H)-one sont des substrats de choix pour la réaction d'hydrogénation. Ils donnent, de plus, accès à des structures intéressantes pour la synthèse de produits naturels.

Rueping *et al.*[41] ont développé un processus intéressant de réduction énantiosélective organocatalysée de ce type de substrats, ainsi qu'à ceux porteurs d'un groupement cyano en position 5. L'ester diéthylique de Hantzsch est ici utilisé comme réducteur en présence d'un acide chiral de Brønsted, dans ce cas un phosphate dérivé du binaphtol (Schéma 14), donnant ainsi accès aux produits de réduction avec de bons rendements et de bonnes énantiosélectivités.

[39] Alexakis, A.; Lensen, N.; Tranchier, J.-P.; Mangeney, P.; Dupont-Feneau, J.; Declercq, J. P. *Synthesis* **1995**, 1038.
[40] Denmark, S. E.; Nicaise, O.; Edwards, J. P. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6219.
[41] Rueping, M. R.; Antonchick, A. P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4562.

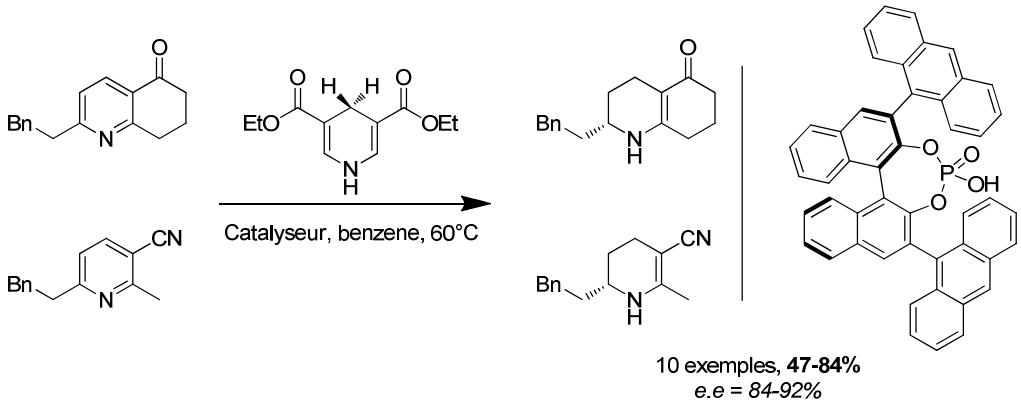


Schéma 14

Les produits obtenus sont des intermédiaires fonctionnalisés intéressants pour la synthèse d'analogues de produits naturels tel que la *diepi*-Pumiliotoxine C[42](Schéma 15).

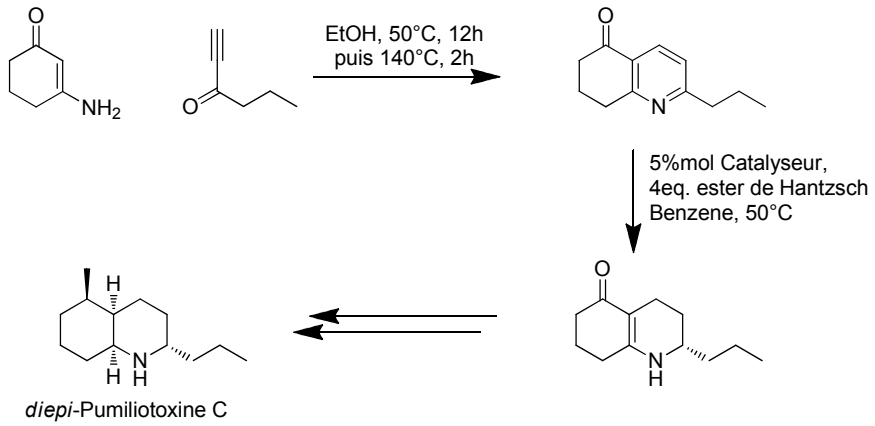


Schéma 15

Zhou *et al.* ont particulièrement contribué au développement de processus efficaces d'hydrogénation des cycles pyridiniques et quinoléiniques par l'utilisation de complexes d'iridium chiraux[43]. On peut notamment citer un exemple de réduction des pyridines trisubstituées avec très bons résultats [44](Schéma 16).

[42] Sklenicka, H. M.; Hsung, R. P.; McLaughlin, M. J.; We, L.-L.; Gerasyuto, A.I., Brennessel, W.B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10435.

[43] a) Wang, W. B.; Lu, S. M.; Yang, P. Y.; Han, X. W.; Zhou, Y. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10536; b) Yang, P. Y.; Zhou, Y. G. *Tetrahedron : Asymmetry* **2004**, *15*, 1145; c) Lu, S. M.; Han, X. W.; Zhou, Y. G. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 909; d) Wang, X.-B.; Zhou, Y.-G. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5640; e) Wang, D. W.; Wang, X. B.; Wang, D. S.; Lu, S. M.; Zhou, Y. G.; Li, Y. X. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2780.

[44] Wang, X.-B.; Zeng, W.; Zhou, Y.-G. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4922.

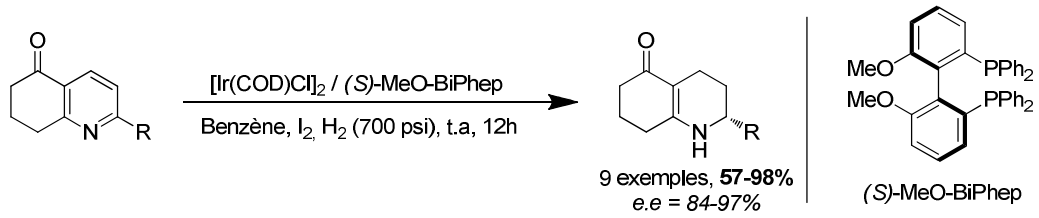


Schéma 16

Cependant, la présence d'un groupement cyano en position 3 ou de la cétone en position 2 de la pyridine conduit à une baisse significative de l'excès énantiomérique ce qui constitue une limitation de la méthode.

Très récemment, Chan *et al.*[45] ont également développé un processus similaire avec l'utilisation d'une phosphine légèrement différente que dans le cas précédent, donnant ainsi accès aux hexaquinolinones avec des très bons rendements et de très bonnes énantiosélectivités (Schéma 17).

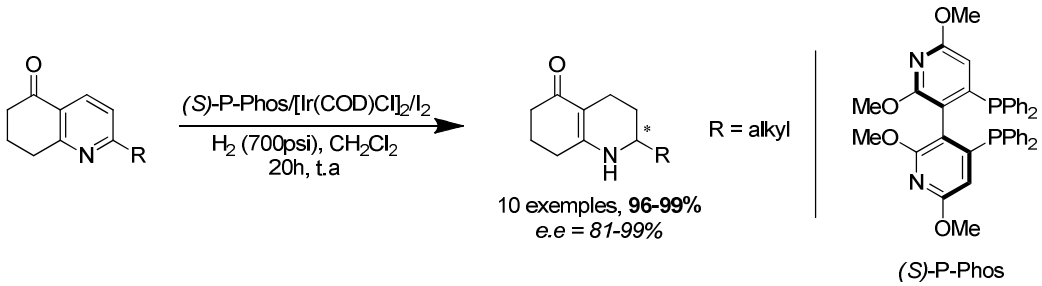


Schéma 17

1.1.2.2 Réduction partielle

Les 1,2 ou 1,4-dihydropyridines[46], produits de réduction partielle d'un cycle pyridinique, sont des intermédiaires particulièrement intéressants d'un point de vue synthétique et ont suscité l'intérêt de nombreux groupes de recherches. Ce sont également de bons ligands des canaux calciques. C'est Fraenkel *et al.*[47] qui ont réalisé les travaux pionniers de réduction partielle d'une

[45] Tang, W.-J.; Tan, J.; Xu, L.-J.; Lam, K.-H.; Fan, Q.-H.; Chan, A. S. C. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 1055.

[46] a) Stout, D. M.; Meyers, A. I. *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 223; b) Sausins, A.; Duburs, G. *Heterocycles* **1988**, *27*, 291; c) Comins, D. L.; O'Connor, S. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1988**, *44*, 199.

[47] Fraenkel, G.; Cooper, J. W.; Fink, C. M. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1970**, *9*, 523.

4-picoline activée par le chloroformiate d'éthyle par action d'un réactif de Grignard. Cependant la réaction est peu régiospécifique et conduit à un mélange de 1,2 et de 1,4-dihydropyridine.

Par la suite, Fowler *et al.*.[48] ont réduit la pyridine par action d'un hydrure sur une forme activée par un chloroformiate d'alkyle. Ils accèdent ainsi à des 1,2-dihydropyridines, utilisées comme diènes dans la réaction de Diels-Alder pour la synthèse d'alcaloïdes et la construction de nouveaux systèmes cycliques[49].

C'est seulement une dizaine d'années plus tard que cette réaction fut redécouverte en vue de son utilisation pour la synthèse de composés naturels. Une raison de ce lent développement est vraisemblablement la faible régiosélectivité de l'addition des alkyl Grignards et l'obtention de mélanges. Au contraire, les aryl[50], vinyl[51] *et al.*kynyl[52] Grignards conduisent majoritairement aux 1,2-dihydropyridines.

C'est Comins qui a le plus largement contribué au développement de méthodologies de synthèse de réduction partielle de pyridines. Dans un premier temps, la régiosélectivité de l'addition des alkyl Grignards fut contournée par l'utilisation d'un groupement triméthylstannyle[53], puis trialkylsilyle[54] en position 3 de la pyridine. Ces groupements limitent en effet l'addition 1,4 au profit de la position 6 et sont facilement clivés.

Par la suite, il développa des méthodologies d'accès au motif dihydropyridone. Cet intermédiaire a un potentiel considérable en tant que building-block chiral car il présente une grande diversité de fonctions réactives. La partie énone peut être utilisée en tant qu'accepteur de Michael[55]. On

---

[48] Fowler, F. W.; *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 1321.
[49] a) Baldwin, J. E.; Bischoff, L.; Claridge, T. D. W.; Heupel, F. A.; Spring, D. R. Whitehead, R. C. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 2271; b) Comins, D. L.; Brooks, C. A.; Al-Awar, R. S.; Goehring, R. R. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 229; c) Teyssot, M. L.; Lormier, A.-T.; Chataigner, I.; Piettre, S. R. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2364; d) Lemire, A.; Charette, A. B. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2077; e) Nakano, H.; Osone, K.; Takeshita, M Kwon, E.; Seki, C.; Matsuyama, H.; Takanoa, N.; Koharia, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4827.
[50] a) Comins, D. L.; Abdullah, A. H. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4315; b) Comins, D. L.; Mantlo, N. B. *J. Heterocycl. Chem.* **1983**, *20*, 1239; c) Comins, D. L.; Stroud, E. D.; Herrick, J. J. *Heterocycles* **1984**, *22*, 151.
[51] a) Nataume, M.; Ogawa, M. *Heterocycles* **1981**, *16*, 973; **1983**, *20*, 601; b) Yamaguchi, R.; Nakazono, Y.; Kawanisi, M. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1801.
[52] Agawa, T.; Miller, S. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *83,* 449.
[53] Comins, D. L.; Weglarz, M. A.; O'Connor, S. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1751 et references citées.
[54] Comins, D. L.; Myoung, Y. C. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 292.
[55] a) Comins, D. L.; Brown, J. D. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4549; b) Comins, D. L.; Killpack, M. 0. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10972 et références citées.

peut également envisager des additions 1,2 sur le carbonyle[56]. Enfin, les positions 3 et 5 peuvent être fonctionnalisées respectivement par substitution électrophile[57] ou alkylation d'un énolate[58] (Figure 3).

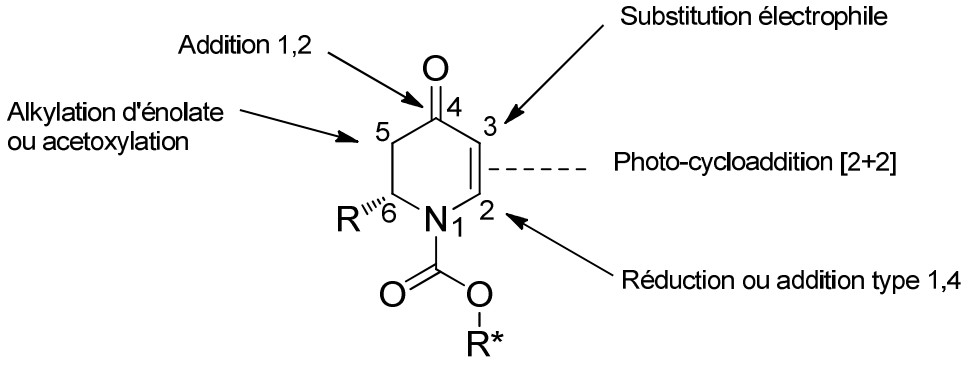


Figure 3

Cette dihydropyridone est facilement accessible par attaque d'un réactif de type Grignard sur un sel de pyridinium formé in-situ par réaction d'un chloroformiate dérivé du pool chiral et d'une pyridine substituée[59] (Schéma 18).

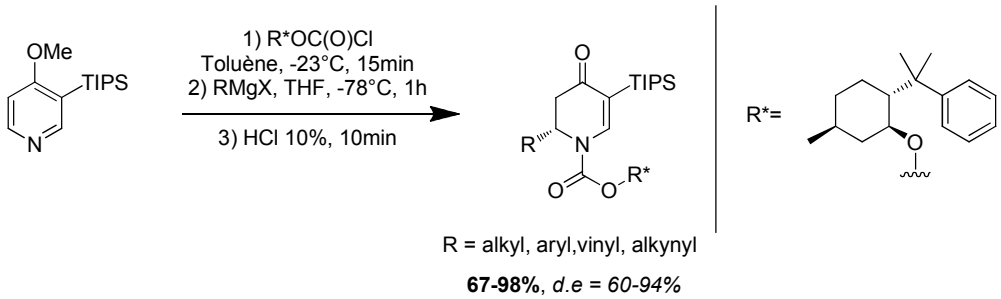


Schéma 18

Parallèlement, Normant *et al.* ont développé des voies d'accès aux 1,4-dihydropyridines chirales par l'utilisation d'organocuivreux[60].

---

[56] Comins, D. L.; Hong, H.; Salvador, J. M. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 7197.
[57] Comins, D. L.; Morgan, L. A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5919.
[58] Comins, D. L.; Zeller, E. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5889.
[59] a) Comins, D. L.; Kuethe, J. T.; Hong, H.; Lakner, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2651; b) Comins, D. L.; Zhang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12248; c) Comins, D. L.; Guerra-Weltzien, L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3807; (d) Comins, D. L.; Joseph, S. P.; Goehring, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4719; e) Comins, D. L.; Goehring, R. R.; Joseph, S. P.; O'Connor, S. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2574.
[60] Gosmini, R.; Mangeney, P.; Alexakis, A.; Commerpon, M.; Normant, J.-F. *Synlett* **1991**, *111*.

Toutes ces méthodologies de synthèse ont été largement utilisées pour la synthèse d'alcaloïdes tels que la Brevicolline[61], la Solenopsine[62], l'Elaeokanine[63], la Cannabisativine[64] ou encore la Porantheridine[65] (Schéma 19).

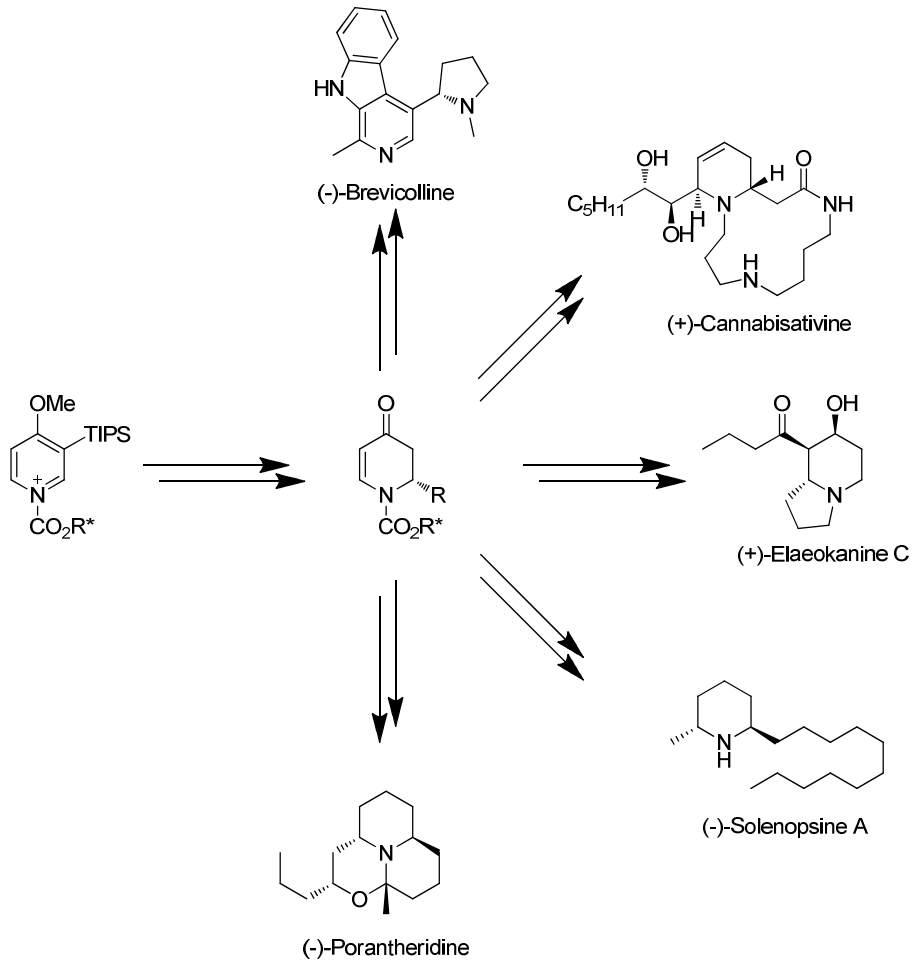


Schéma 19

Des espèces organométalliques prochirales ont également été additionnées en position 2 d'un acylpyridinium conduisant à la formation de deux centres asymétriques contigus avec une haute diastéréosélectivité[66] (Schéma 20).

[61] Wagner, F. F.; Comins, D. L. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3549.
[62] a) Comins, D. L.; Weglarz, M. A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2506; b) Comins, D. L.; Benjelloun, N. R.;*Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 829.
[63] Comins, D. L.; Hong, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6672.
[64] a) Kuethe, J. T.; Comins, D. L. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5219; b) Kuethe, J. T.; Comins, D. L. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 855.
[65] Comins, D. L.; Hong, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8851.
[66] Comins, D. L.; Kuethe, J. T.; Hong, H.; Lakner, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2651.

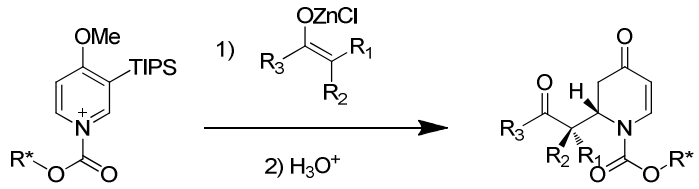


Schéma 20

Cette méthode a également été utilisée pour la préparation de dérivés pyridiniques fonctionnalisés. Après attaque d'un réactif organométallique sur le pyridinium, la dihydropyridine peut être réoxydée donnant ainsi accès aux pyridines fonctionnalisées[67]. Un exemple intéressant a été développé pour la synthèse de dérivés fonctionnalisés de la nicotine (Schéma 21).

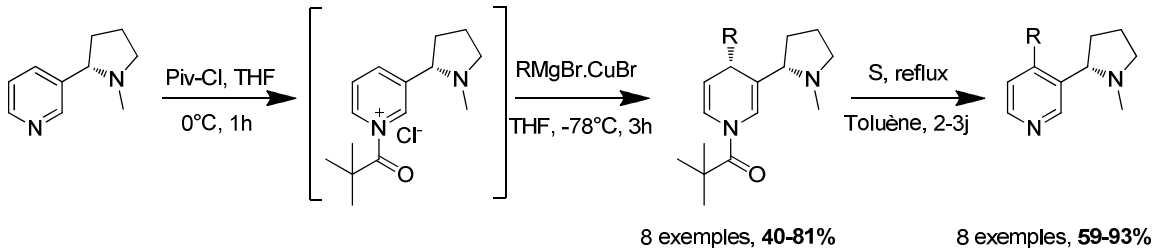


Schéma 21

Charette *et al.* ont également réalisé des réductions diastéréosélectives de pyridiniums par l'utilisation de systèmes activés comparables au cas de l'hydrogénation asymétrique préalablement décrit. La pyridine est activée sous forme de *N*-iminopyridinium dérivé d'aminoacide puis engagée dans la réaction d'addition nucléophile en présence d'un réactif de Grignard[68]. Après hydrolyse, les dihydropyridones sont obtenues avec de bons rendements et de bonnes diastéréoselectivités. La méthodologie a permis la synthèse des Barrénazines A et B, alcaloïdes cytotoxiques[69] (Schéma 22).

[67] Comins, D. L.; King, L. S.; Smith, E. D.; Février, F. C. Org. Lett. **2005**, *7*, 5059.
[68] Focken, T.; Charette, A. B. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2985.
[69] Chill, L.; Aknin, M.; Kashman, Y. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2433.

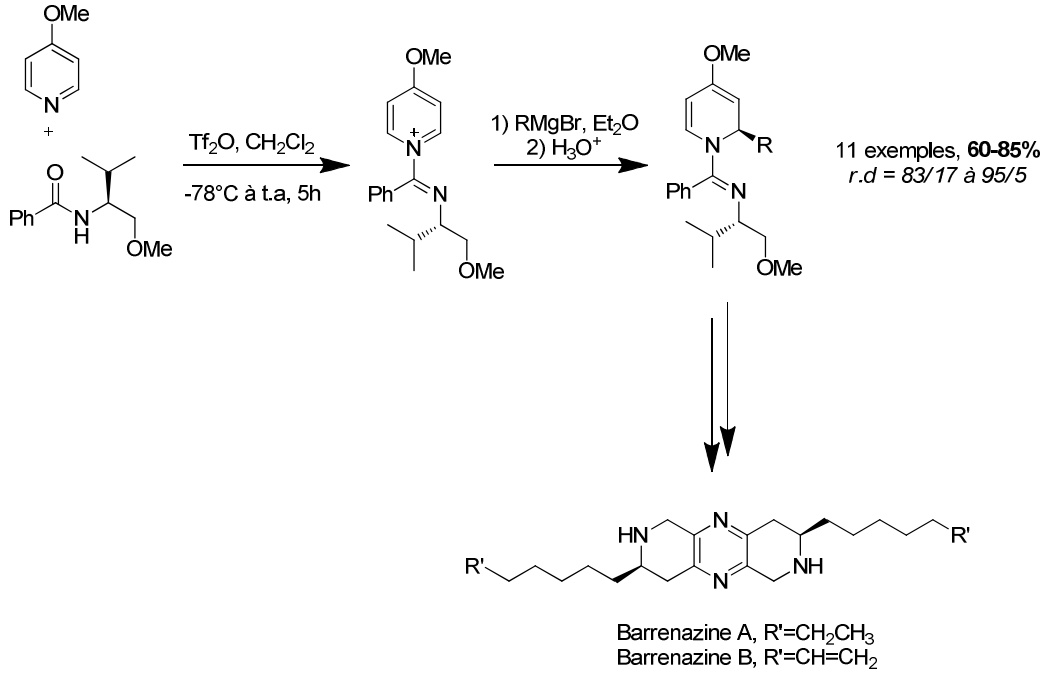


Schéma 22

1.1.3 Ouverture des pyridines – Réaction de Zincke

C'est en 1903 que Zincke[70] et Konig[71] décrivirent la réaction d'ouverture de cycle d'un sel de pyridinium. L'activation des pyridines sous formes de pyridinium a pour effet de rendre les positions 2 et 4 très électrophiles et ouvre des possibilités en synthèse, par ouverture du cycle ou non. Le traitement d'un pyridinium activé par une base primaire conduit à la formation du pyridinium tandis qu'une amine secondaire conduit au 5-amino-2,4-pentadienal aussi appelé aldéhyde de Zincke (Schéma 23).

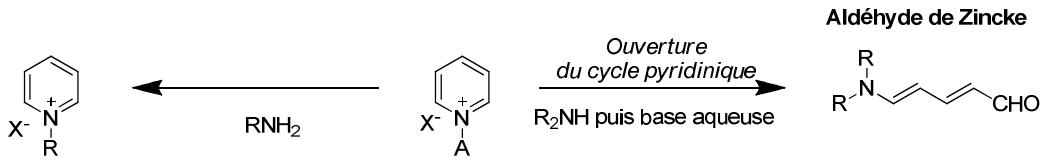


Schéma 23

Bien que donnant accès à un motif polyinsaturé particulièrement intéressant, cette réaction ne fut que peu exploitée du fait de la haute polarité des pyridiniums, les rendant difficilement

[70] Zincke, T. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1903**, *330*, 361; b) Zincke, T. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1904**, *333*, 296; c) Zincke, T.; Wurker, W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1905**, *338*, 107.
[71] König, K. *J. Prakt. Chem.* **1904**, *69*, 105.

purifiables. De plus cette réaction nécessite souvent de hautes températures et peut se révéler incompatible avec la synthèse de molécules complexes.

Marazano *et al.* se sont particulièrement intéressés aux développements de la réaction de Zincke et en particulier à la synthèse de pyridiniums chiraux[72]. Dans un premier temps, ils ont été utilisés comme inducteur pour des additions en position 2 du pyridinium et appliqués à la préparation d'intermédiaires de synthèse de la famille des benzomorphanes et des morphinanes, comme la (+)-Normétazocine et le (+)-Nordextrorphan. Dans un second temps, des pyridiniums dérivés du phénylglycinol ont été utilisés pour la synthèse énantiosélective de 3-alkylpipéridines et notamment de la (-)-PPP[73], *via* des intermédiaires oxazolines de pyridine (Schéma 24). Des applications récentes à la synthèse de pyridiniums dérivés d'amino-acides[74] ont été développées ainsi que pour la synthèse de molécules cytotoxiques d'origine marine[75].

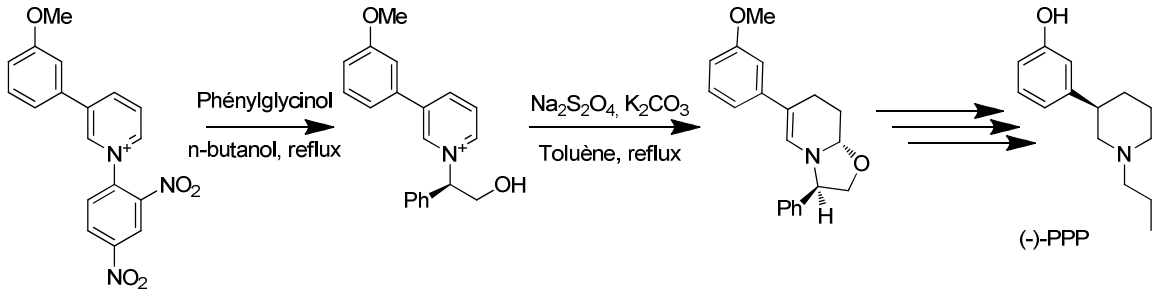


Schéma 24

Les exemples précédents sont relatifs à la formation de pyridiniums chiraux mais la pyridine n'est pas utilisée comme une source de chaine carbonée linéaire. Des développements et applications récentes d'ouverture sont dus aux travaux de Vanderval *et al.* et ont été utilisés pour la construction d'indoles substitués ou d'acylpyrrolines dans un premier temps (Schéma 25) puis la construction des structures plus complexes des porothramycines A et B[76], démontrant la haute tolérance de cette réaction (Schéma 26).

[72] Génisson, Y.; Marazano, C.; Das, B. C. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2052.
[73] Wong, Y.-S.; Marazano, C.; Gnecco, D.; Génisson, Y.; Chiaroni, A.; Das, B. C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 729.
[74] Nguyen , T. M.; del Rayo Sanchez-Salvatori, M.; Wypych, J. C.; Marazano, C. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5916.
[75] Michelizza, S.; Al-Mourabit, A.; Gateau-Olesker, A.; Marazano, C. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6474.
[76] Michels, T. D.; Kier, M. J.; Kearney, A. M.; Vanderwal, C. D. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3093.

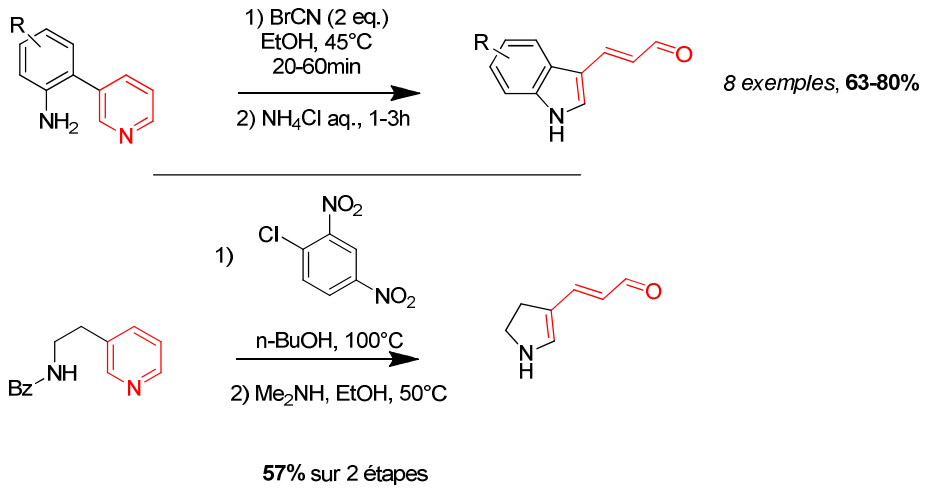


Schéma 25

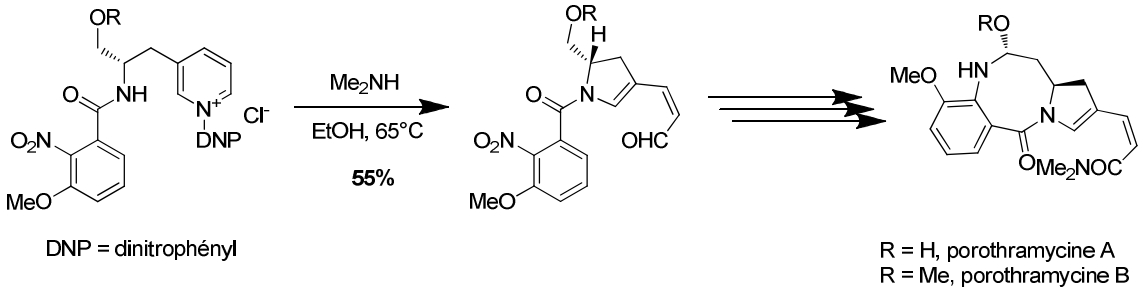


Schéma 26

D'autres applications, notamment pour la préparation de dérivés stannnylés polyinsaturés[77], la synthèse totale de composés de la famille de l'aspidospermine[78] ou de lactames via des réactions péricycliques[79], ont également été reportées.

1.1.4 Projet de thèse

Le sujet s'inscrit dans un tout nouveau projet consistant à utiliser la pyridine comme source de carbone et d'azote. Le concept est basé sur une pyridine substituée en position 2 par un hétéroatome et potentiellement sur les autres positions. Après quaternarisation puis réduction du cycle aromatique, la 2-hétéroatome-pyridine (hémiaminal ou aminal) pourrait être ouverte conduisant alors à une diamine ou un aminoaldéhyde (ou aminoalcool) à 5 atomes de carbones

[77] Michels, T. D.; Rhee, J. U.; Vanderwal, C. D. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4787.
[78] Martin, D. B. C.; Vanderwal, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3472.
[79] Steinhardt, S. E.; Vanderwal, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7546.

porteur de substitutions. En utilisant une copule chirale (ou un catalyseur chiral) pour l'étape de réduction, on pourrait avoir accès à ces mêmes building-blocks substitués chiraux (Schéma 27).

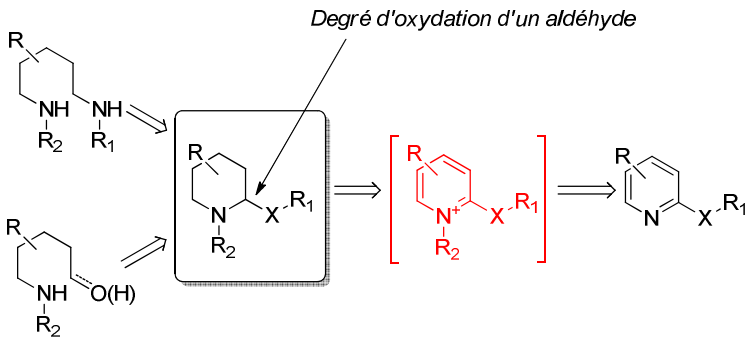


Schéma 27

Afin de valider notre concept, plusieurs paramètres devront être étudiés tels que :

- La nature de l'hétéroatome X.
- La nature des groupements R, R_1 et R_2.
- La méthode de quaternarisation du cycle pyridinique.
- La méthode d'ouverture de l'hémiaminal ou aminal.
- La nature et positions des groupements pouvant induire une diastéréoselectivité.

Les composés obtenus seront idéalement incorporés dans des synthèses totales de produits naturels. Dans les cas des diamines chirales, elles pourraient être utilisées dans des réactions asymétriques organométalliques (cyclopropanation d'oléfines[80], oxydation[81], aldolisation[82], acylation asymétrique[83], pour le dédoublement d'aldéhydes racémiques ou encore en chimiothérapie pour la compléxation des métaux comme le platine).

---

[80] a) Li, Z.; Quan, R. W.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5889 ; b) Simal, F.; Demonceau, A.; Noels, A.F. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3493.

[81] a) Jacobsen, E.N. *Catalytic Asymmetric Synthesis,* Ed.: Ojima, I.; VCH Publishers ; New York, **1993**, 159; b) Kolb, H. C.; VanHieuwenhze, M.S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.*, **1994**, *94*, 2483; c) Corey, E. J.; Noe, M. C.; Grogan, M. J. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4899; d) Hamachi, K.; Irie, R.; Katsuki, C. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4979.

[82] Kobayashi, S.; Furuya, M.; Ohtsubo, A.; Mukaiyama, T. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1991**, *2*, 635; b) Kobayashi, S.; Uchiro, H.; Shiina, I.; Mukaiyama, T. *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 1761.

[83] Oriyama, T.; Imai, K.; Hosoya, T.; Sano, T. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 397; b) Oriyama, T.; Imai, K.; Sano, T.; Hosoya, T. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3529.

1.2 Quaternarisation et réduction de pyridines pour la synthèse de building-blocks.

Au cours de son doctorat, Rabah Azzouz[84] avait décrit l'utilisation d'une réaction de Mitsunobu intramoléculaire entre un chlorhydrate de pyridinium et un alcool primaire. Cette réaction avait conduit à la synthèse de la lentiginosine et de certains de ses épimères (Schéma 28).

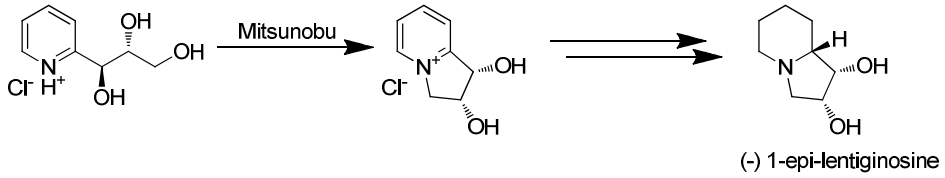


Schéma 28

Cependant, des doutes concernant le mécanisme subsistaient. En effet, le contre-anion chlorure serait en mesure de venir substituer l'alcool activé par la triphénylphosphine au cours de la réaction de Mitsunobu. De plus, des essais de réaction intermoléculaire entre le méthanol et le chlorhydrate de pyridinium ne conduisent à la formation du chlorhydrate de méthylpyridnium qu'avec un rendement de 50%. L'hypothèse envisagée était la formation *in-situ* partielle de chlorure de méthyle hautement volatil (Schéma 29).

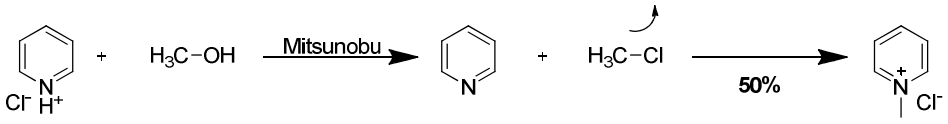


Schéma 29

1.2.1 Utilisation de la réaction de Mitsunobu pour la quaternarisation des cycles pyridiniques et imidazoliques

Afin de clarifier cette incertitude, nous nous sommes intéressés à la réaction de quaternarisation intermoléculaire de pyridiniums associés à des contre-anions non nucléophiles, ce qui serait une preuve formelle d'une réaction de type Mitsunobu. Pour cela, nous avons préparé dans un premier temps le tetrafluoroborate de pyridinium puis l'avons engagé dans une réaction de

[84] Azzouz, R. *Thèse de Doctorat*, INSA de Rouen, **2008**.

Mitsunobu avec le méthanol. Après extraction en phase aqueuse, le tetrafluoroborate de méthylpyridinium **1.** a pu être isolé avec un rendement quantitatif (Schéma 30).

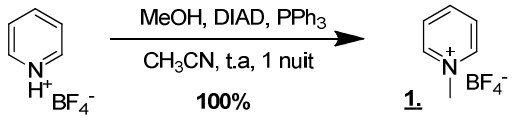


Schéma 30

Nous avons ensuite fait varier les alcools et observé que la réaction était incomplète. C'est seulement en utilisant 5 équivalents d'alcool, 2 équivalents de DIAD et de triphénylphosphine que la réaction était totale. Ayant ces conditions à notre disposition, nous avons pu synthétiser les différents tetrafluoroborates de pyridinium avec de bons rendements comme présenté Schéma 31 et Figure 4.

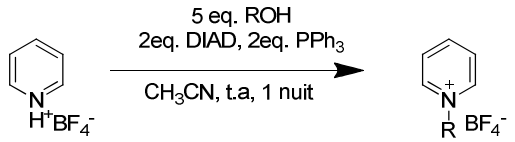


Schéma 31

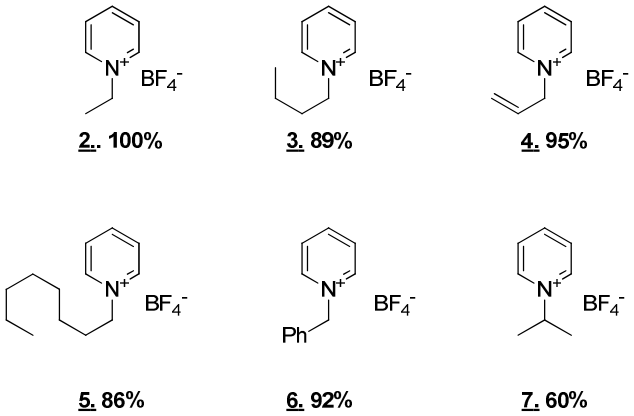


Figure 4

Nous avons ensuite souhaité étendre cette méthodologie au tetrafluoroborate de méthylimidazolium. Les résultats obtenus sont proches de ceux obtenus avec les sels de pyridinium et présentés Figure 5.

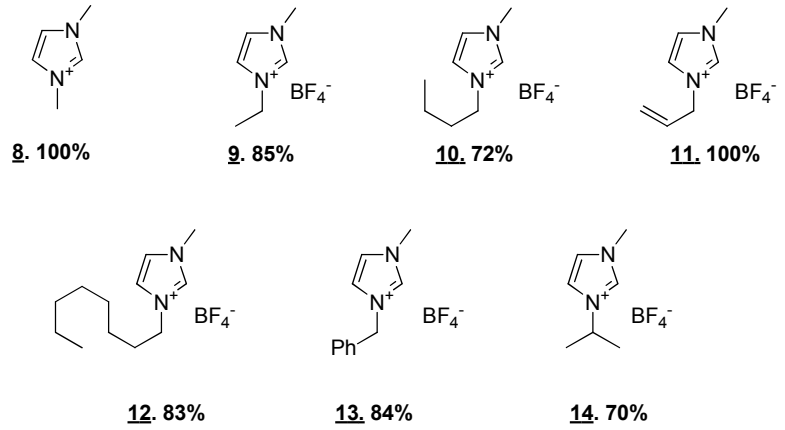


Figure 5

L'influence du contre-anion sur l'efficacité de la réaction a également été examinée. Nous avons choisi quatre contre-ions dont l'acide est disponible commercialement, à savoir l'acide tetrafluoroborique, l'acide hexafluorophosphorique, l'acide triflique et le triflimide. Les différents sels de pyridiniums et d'imidazoliums ont été engagés dans la réaction de Mitsunobu avec le méthanol. Les résultats sont présentés dans le Tableau 2.

Contre-ion X^-	Méthylpyridinium.X	Méthylimidazolium.X
BF_4^-	89%	72%
PF_6^-	95%	90%
$CF_3SO_2O^-$	90%	72%
$(CF_3SO_2O)_2N^-$	100%	100%

Tableau 2

Les résultats obtenus sont très bons. L'ion tetrafluoroborate donne les moins bons résultats mais nous l'avons cependant utilisé pour l'exemplification des alcools pour des raisons pratiques.

Nous nous sommes alors intéressés à appliquer cette réaction à l'alkylation d'amino-alcools sous contrôle de pKa. En effet, le pyridinium est plus acide qu'un ammonium et sera donc le nucléophile le plus facilement déprotonné par le complexe DIAD/PPh_3. La protonation de l'amine peut alors être considérée comme une protection de la fonction amine.

Nous avons alors réalisé la réaction entre le pyridinium et l'amino-alcool sous forme ammonium comme présenté Schéma 32. Nous obtenons un rendement correct en pyridiniums alkylés.

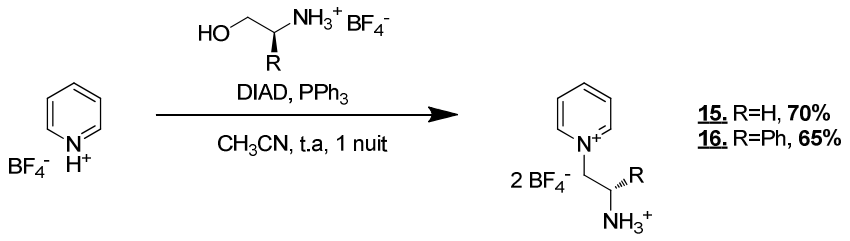


Schéma 32

La méthode a également été appliquée à des nucléophiles faibles, à savoir le sel de la 2,6-lutidine avec un rendement quantitatif (Schéma 33) ainsi que celui de l'acridine avec un rendement moyen (Schéma 34).

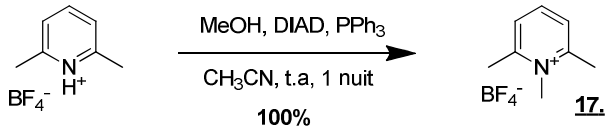


Schéma 33

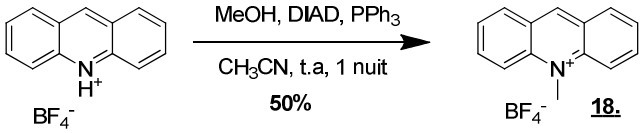


Schéma 34

Nous avons développé une méthode originale de synthèse de pyridiniums et d'imidazoliums substitués[85]. Cette réaction représente une alternative aux conditions classiques utilisées pour la quaternarisation des cycles pyridine et imidazole. En effet, la formation de ces composés requiert habituellement une activation thermique forte puis une procédure d'échange d'ions nécessaire dans le cas des préparations de liquides ioniques.

Nous avons ensuite souhaité étendre cette réaction à d'autres nucléophiles azotés. Nous nous sommes tout d'abord focalisés vers la synthèse de composés cycliques et en particulier d'iminocyclitols. Ces composés ont été particulièrement étudiés mais leur synthèse reste longue et fastidieuse. Notre rétrosynthèse est basée sur la formation d'un aminoalcool dérivé de sucre que nous souhaitons engager dans la réaction de Mitsunobu intramoléculaire après formation de l'ammonium in-situ. Nous avons tout d'abord réalisé un essai sur un composé modèle, à savoir

[85] Petit, S.; Azzouz, R.; Fruit, C.; Bischoff, L.; Marsais, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3663.

l'aminopentanol et l'aminobutanol. Après formation de l'ammonium in-situ, les réactifs de Mitsunobu sont ajoutés et la cyclisation opère avec un rendement quantitatif (Schéma 35).

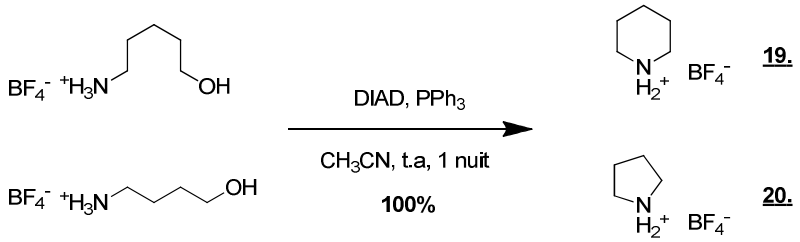


Schéma 35

Nous avons alors préparé l'amine secondaire dérivée de l'arabinose par amination réductrice. Le composé **21.** est obtenu avec un bon rendement (Schéma 36).

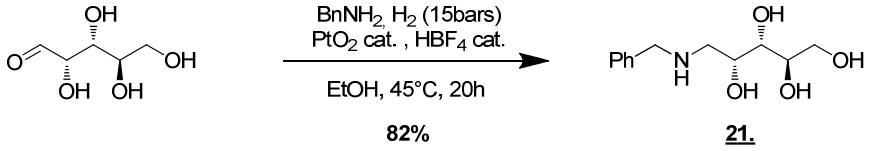


Schéma 36

Nous avons alors engagé ce composé dont l'ammonium est formé in-situ dans la réaction de Mitsunobu intramoléculaire. Malgré tous nous efforts, nous n'avons pas été en mesure d'isoler le produit de cyclisation (Schéma 37).

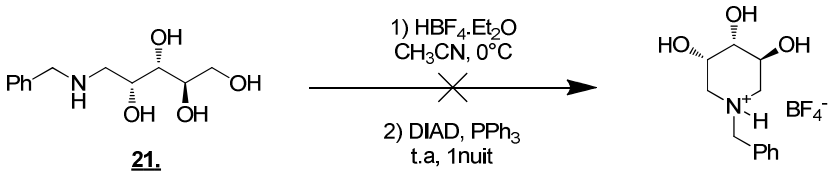


Schéma 37

Le composé **21.** a alors été débenzylé par hydrogénation catalytique pour conduire au composé **22.** avec un bon rendement (Schéma 38).

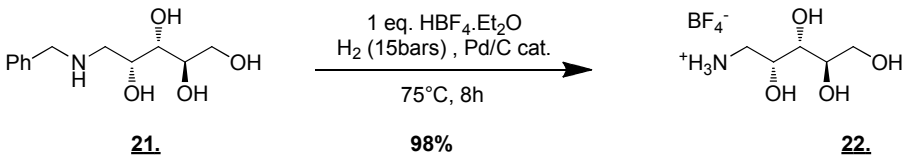


Schéma 38

Le composé est alors engagé dans la réaction de Mistunobu. Une nouvelle fois, le composé de cyclisation n'a pas pu être isolé et on récupère uniquement le réactif initial (Schéma 39).

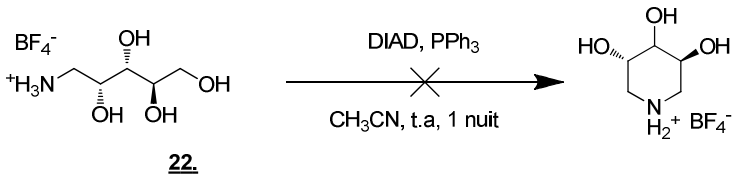


Schéma 39

Malgré tous nos efforts, la méthodologie précédemment mise au point n'a pu être étendue à la synthèse d'iminocyclitols. D'autres investigations concernant l'utilisation d'ammoniums comme nucléophiles dans la réaction de Mitsunobu ont été menées au sein de notre laboratoire et seront reportées prochainement.

1.2.2 Stratégie de cyclisation intramoléculaire

Notre première approche est inspirée des travaux de Glorius concernant l'hydrogénation diastéreosélective de pyridines porteuses d'une oxazolidinone chirale en position 2 (cf chapitre 1.1.2.1). Nous nous sommes tout d'abord intéressés à la synthèse de composés bicycliques basés sur la cyclisation intramoléculaire d'un alcool sur un pyridinium. Celui-ci serait obtenu par substitution nucléophile aromatique d'une halogénopyridine par un aminoalcool dérivé d'aminoacide. La chaine latérale devrait alors favoriser l'approche du complexe hydrogène-catalyseur par l'une des faces. L'aminal alors obtenu pourrait être clivé conduisant ainsi à un aminoaldéhyde (Schéma 40).

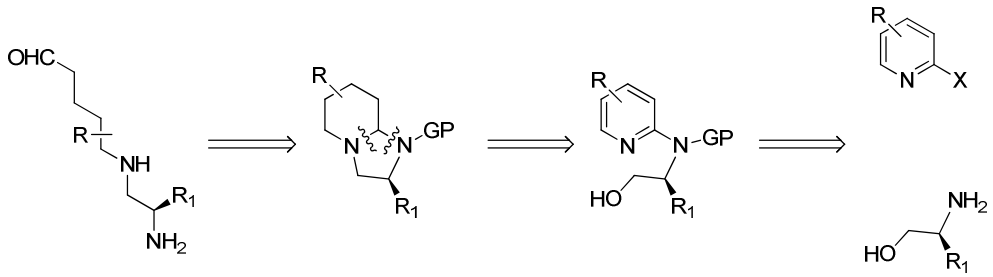


Schéma 40

Plusieurs paramètres restent à déterminer :

- La présence et la nature du groupement protecteur (GP) pouvant faciliter ou au contraire empêcher l'ouverture en aminoaldéhyde.
- La nature du groupement R_1 nécessaire à une bonne diastéréosélectivité.
- La méthode d'ouverture de l'aminal, qui reste un verrou synthétique au départ du projet.

Dans un premier temps, nous avons choisi la 2-bromopyridine et le phénylglycinol comme modèles pour tester la faisabilité de la synthèse.

Birman *et al.* ont réalisé la substitution nucléophile du phénylglycinol sur des 2-halogénopyridines en présence de base sans solvant pour la synthèse de 2,3-dihydroimidazo[1.2-a]pyridine, composés utilisés pour le dédoublement d'alcools racémiques[86]. Nous avons reproduit cette préparation et obtenu le produit **23.** avec un rendement de 61% (Schéma 41).

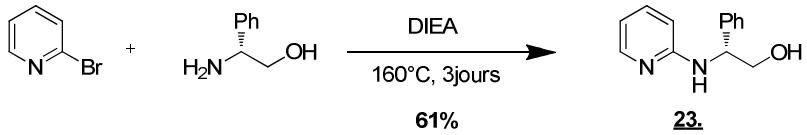


Schéma 41

Dans le même article, Birman procédait ensuite à la cyclisation intramoléculaire par chloration de l'alcool primaire puis cyclisation en milieu basique (Schéma 42).

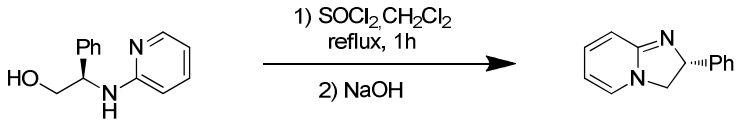


Schéma 42

Dans le but d'obtenir une espèce cationique plus facilement réductible par hydrogénation sous faible pression, nous avons utilisé la cyclisation intramoléculaire par réduction de Mitsunobu précédemment mise au point par Rabah Azzouz. Nous l'avons appliqué au composé **23.** et avons obtenu le composé **24.** avec un rendement de 92% après lyophilisation (Schéma 43).

[86] a) Birman, V. B.; Uffman, E. W.; Jiang, H.; Li, X.; Kilbane, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12226; b) Birman, V. B.; Li, X.; Jiang, H.; Uffman, E. W. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 285.

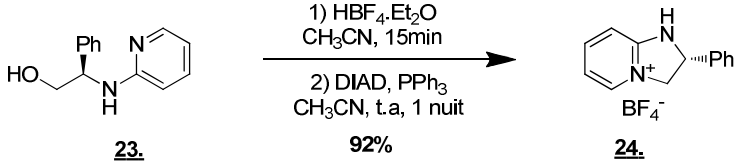


Schéma 43

Au cours de sa thèse, Rabah Azzouz avait utilisé l'hydrogénation catalytique à pression atmosphérique pour la synthèse de la (-)-1-*epi*-lentiginosine avec une bonne diastéréosélectivité (Schéma 44).

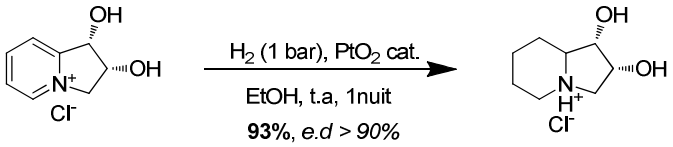


Schéma 44

Nous avons donc ensuite engagé le produit de cyclisation dans l'étape d'hydrogénation catalytique. Nous n'avons pas obtenu le composé totalement réduit mais un produit de type amidine présentant une double liaison en tête de pont avec un rendement quantitatif (Schéma 45).

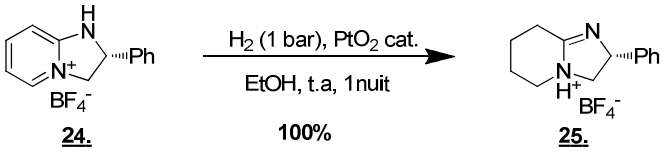


Schéma 45

Nous avons tenté de réduire la double liaison par hydrogénation sous forte pression ou encore par des réducteurs ($NaBH_4$, $LiAlH_4$) mais nous n'avons pas été en mesure d'isoler le produit souhaité.

Nous avons alors pensé à substituer l'azote en position 2 de la pyridine, ce qui rendrait impossible la mésomérie de la double liaison et devrait conduire au composé totalement hydrogéné. Nous nous sommes alors intéressés à d'autres groupements protecteurs de l'azote et en particulier aux carbamates. Les protections de l'azote sous forme de carbamate d'allyle (Alloc), carbamate de trichloroéthyle (Troc) et carbamate de benzyle (Cbz) ont été tentées. Malheureusement, nous n'avons jamais été en mesure d'isoler le composé de *N*-protection mais uniquement du produit de *O*-protection qui se révèle peu stable.

La protection sous forme de carbamate de tert-butyle a été réalisée et nous avons obtenu le composé **26.** avec un rendement quantitatif (Schéma 46).

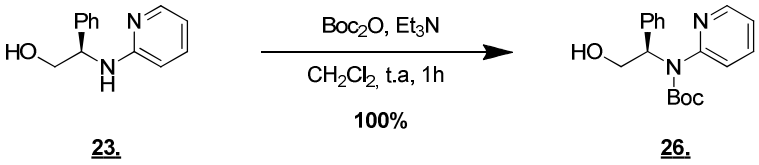


Schéma 46

Nous avons tenté de l'engager dans la réaction de Mitsunobu intramoléculaire. Cette étape nécessite la formation du pyridinium par action d'un acide. Comme nous l'avions envisagé, la réaction n'a pas conduit au composé de cyclisation et uniquement au produit de déprotection du carbamate (Schéma 47).

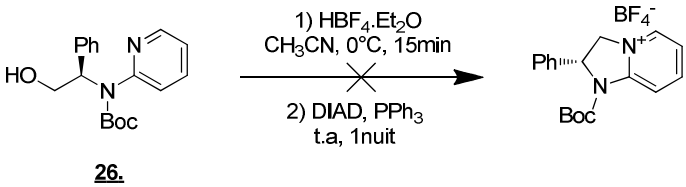


Schéma 47

Au cours de l'essai de protection sous forme de carbamate de trichloroéthyle, nous avons pu observer la formation d'un produit avec un rendement de 50% qui se révéla être l'oxazolidinone **27.** formée par cyclisation intramoléculaire de notre aminoalcool. Suite à la *N*- ou *O*-protection, la fonction nucléophile libre doit alors être en mesure d'attaquer la fonction carbonyle et libérer le trichloroéthanol qui se révèle être un bon groupe partant dans ce cas particulier (Schéma 48).

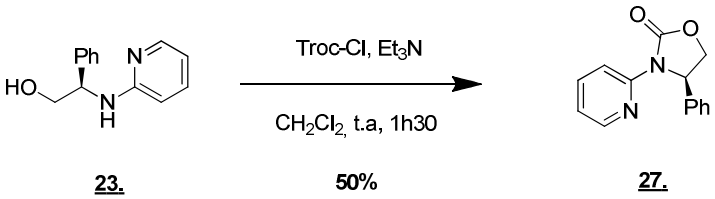


Schéma 48

La stratégie postulée n'a pas permis l'accès aux composés désirés. Cependant, l'étude a permis de découvrir une stratégie de synthèse des 2-oxazolidinone pyridines inconnues dans la littérature à ce jour.

1.2.3 Stratégie de quaternarisation intermoléculaire

Le composé obtenu par cette réaction inattendue a été utilisé par Glorius *et al.* dans son article concernant l'hydrogénation diastéréosélective. Comme dit précédemment, les auteurs sont en mesure d'isoler des structures de type aminal au cours de leur étude en utilisant un système MeOH/HCl pour l'hydrogénation (Schéma 49). Ce type de structure est très proche de celles que nous envisageons d'obtenir. En effet, le carbone « aminalique » est alors au degré d'oxydation équivalent à un aldéhyde.

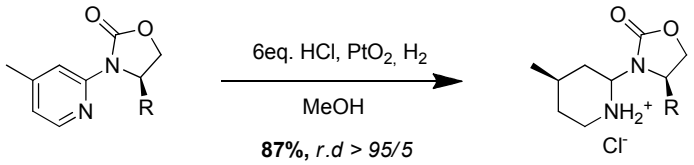


Schéma 49

Nous avons alors choisi de synthétiser la pyridine di-substituée par la méthode utilisée ci-dessus, en position 2 par l'oxazolidinone dérivée de la valine et en position 5 par un groupement trifluorométhyle. La 2-chloro-5-trifluorométhylpyridine, utilisée comme réactif initial, présente l'avantage d'être porteuse d'atomes de fluor, facilitant l'analyse du brut réactionnel. Le groupement isopropyle, présent sur le valinol, devrait encombrer une des faces. De plus, il est facilement accessible synthétiquement et moins onéreux que le *tert*-leucinol.

Nous avons tout d'abord préparé le valinol par réduction de la valine selon la méthode décrite par Meyers et Grauz[87]. La réaction s'effectue en présence d'iode et de $NaBH_4$ (formation *in situ* de BH_3). Après distillation au four à boules, le valinol **28.** est isolé avec un rendement moyen de 68% (Schéma 50).

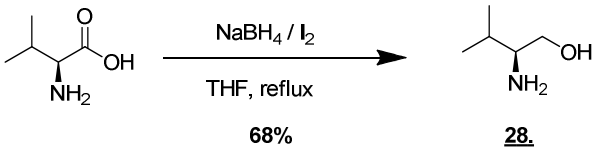


Schéma 50

La 2-bromo-5-trifluorométhyl-pyridine est alors alkylée par le valinol par la méthode précédemment utilisée. Le composé **29.** est obtenu avec un rendement de 60% (Schéma 51).

[87] MacKennon, M. J.; Meyers, A. I.; Grauz, K.; Schwarn, M. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3568.

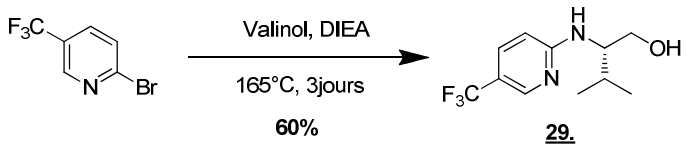


Schéma 51

Le composé **29.** a ensuite été engagé dans la réaction de cyclisation en présence de chloroformiate de trichloroéthyle et nous avons obtenu l'oxazolidinone **30.** avec un rendement faible de 41% (Schéma 52).

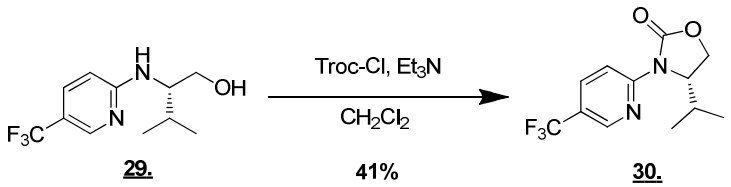


Schéma 52

Nous avons également tenté de reproduire les conditions utilisées par Glorius pour la synthèse du composé **30.** . Il est obtenu par carbamatation de type Buchwald[88] entre la *(S)*-4-isopropyloxazolidinone et la 2-chloro-5-trifluoropyridine en présence d'une catalyse au cuivre. Cependant, nous n'avons pu isoler le composé souhaité qu'avec un faible rendement de 28% malgré les précautions prises et le nombre important d'essais réalisés (Schéma 53).

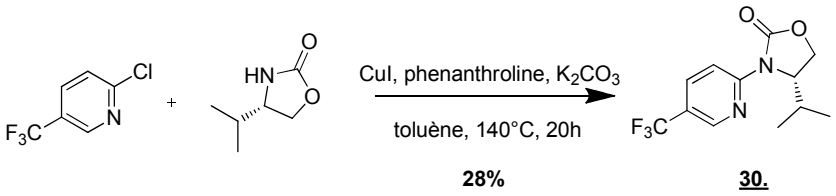


Schéma 53

Nous avons alors engagé le produit **30.** dans l'étape d'hydrogénation diastéreosélective décrite par Glorius en utilisant les conditions donnant accès à l'intermédiaire aminal. Nous n'avons jamais obtenu le composé désiré mais uniquement le chlorhydrate de la 5-trifluorométhylpipéridine (Schéma 54). La présence des atomes de fluor peut être une explication à la non-formation du composé souhaité.

[88] Klapars, A.; Huang, X.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7421.

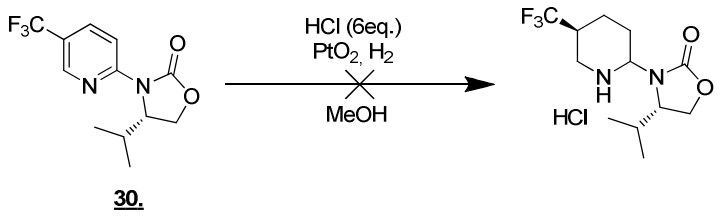


Schéma 54

Suite à ces essais infructueux, nous avons alors revu notre stratégie d'accès aux composés de réduction.

1.2.4 Quaternarisation-Réduction par les chloroformiates et anhydrides

Suite aux essais infructueux pour obtenir les composés de type aminal décrits par Glorius *et al.*, nous nous sommes alors concentrés sur la quaternisation du cycle pyridinique sous forme de *N*-acyliminium. En effet, cela pourrait constituer une solution pour pouvoir isoler les composés porteurs de deux atomes d'azote sur le même carbone. Nous avons postulé que dans le cas de quaternarisation par un acide et comme Glorius le présentait, la copule placée en position 2 était un suffisamment bon groupe partant. Nous nous sommes alors orientés vers la famille des 2-aminopyridines qui semblent être de bons candidats. En effet, après quaternarisation-réduction, le carbone porteur des deux atomes d'azote est au degré d'oxydation d'un aldéhyde. Le choix opportun des protections R_1 et R_2 devrait conduire à l'ouverture du cycle pipéridinique (Schéma 55).

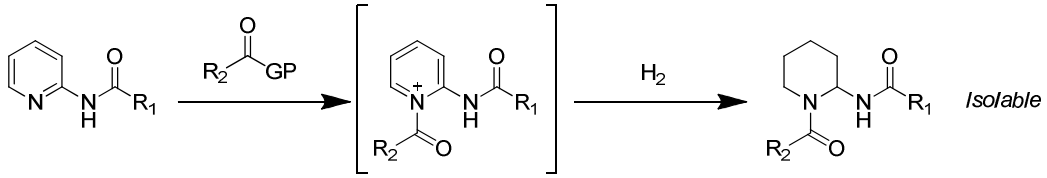


Schéma 55

1.2.4.1 Préparation des 2-aminopyridines substituées

Nous avons tout d'abord préparé différentes 2-aminopyridines protégées sous forme de carbamate ou d'amide sur la chaine latérale comme présenté Schéma 56 et Figure 6. Les

composés sont obtenus avec des rendements moyens à bons et avec une régioselectivité totale en faveur de la fonction amine en position 2.

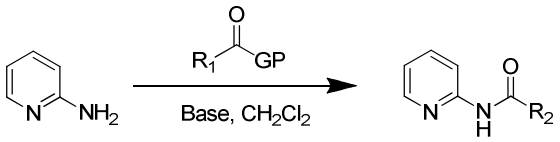


Schéma 56

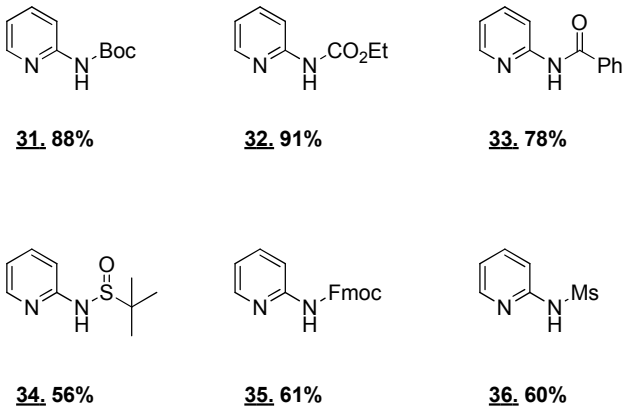


Figure 6

En utilisant la *N*-méthyl-2-aminopyridine et en utilisant les mêmes conditions réactionnelles, les deux composés présentés Figure 7 ont pu être préparés avec des rendements moyens.

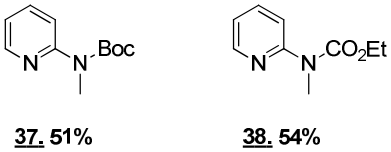


Figure 7

Disposant de ces composés en quantité suffisante, nous nous sommes alors focalisés sur l'étape suivante de quaternarisation-réduction.

1.2.4.2 Quaternarisation-Hydrogénation : optimisation des conditions réactionnelles

Cette étape consiste en la quaternarisation puis la réduction du cycle en une seule étape. En effet, la pyridine activée ne peut pas être isolée. Comins a utilisé cette méthode dans de nombreux articles par l'utilisation d'un chloroformiate dérivé du menthol pour des additions de nucléophiles carbonés (cf étude bibliographique). Nous avons utilisé les composés **31.** et **32.**

comme substrats modèles car ce sont les plus facilement accessibles synthétiquement. Nous avons dans un premier temps utilisé le chloroformiate d'éthyle afin de réaliser la quaternarisation, le milieu étant préalablement sous atmosphère d'hydrogène en présence d'oxyde de platine. Les résultats sont présentés dans le Schéma 57 et le Tableau 3.

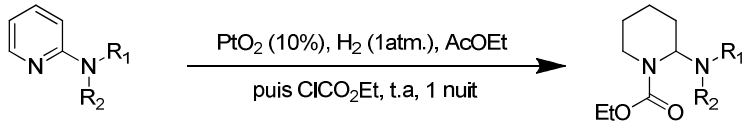


Schéma 57

Composé	Résultat
R_1 = CO_2tBu ; R_2 = Me	Réactif initial
R_1 = CO_2Et ; R_2 = Me	Réactif initial
R_1 = S(O)*t*Bu ; R_2 = H	Dégradation
R_1 = Fmoc ; R_2 = H	Dégradation
R_1 = Ms ; R_2 = H	Dégradation
R_1 = Me ; R_2 = H	Conversion <10%
R_1 = COPh ; R_2 = H	Conversion = 19% ; rendement = 16%
R_1 = CO_2tBu ; R_2 = H	Conversion = 25% ; Rendement = 19%
R_1 = CO_2Et ; R_2 = H 39.	Conversion = 50% ; Rendement = 46%

Tableau 3

Nous n'avons pu observer du produit souhaité que dans les cas où l'azote est protégé sous forme de carbamate d'éthyle ou de tert-butyle mais avec des rendements faibles. La réaction est limitée par la formation d'une molécule de chlorure d'hydrogène pour chaque molécule de réactif initial ayant été réduite. Celle-ci est alors captée par une molécule de substrat initial et la réaction est alors bloquée à une conversion maximale de 50% (Schéma 58). Des essais d'ajout de base (Et_3N, DIEA ou éponge à protons) conduisent à une conversion nulle.

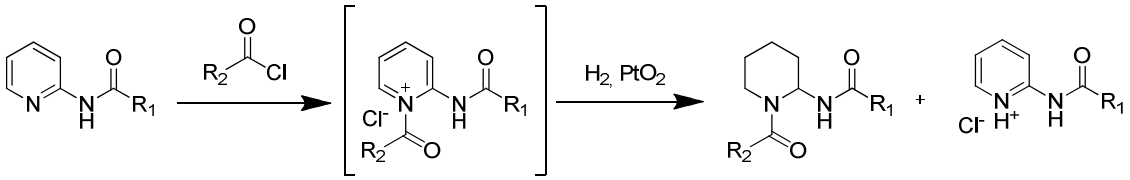


Schéma 58

On observe également que la réaction n'opère pas dans plusieurs cas ou conduit à la dégradation du réactif initial. Nous avons donc choisi de nous focaliser sur les cas où l'amine est protégée sous forme de carbamate de tert-butyle, d'éthyle ou de benzamide uniquement pour la suite de l'étude.

Les chloroformiates conduisant à la formation d'un équivalent de HCl défavorable à la séquence réactionnelle, il nous fallait trouver un agent capable d'activer la pyridine sous forme de *N*-acylpyridinium sans pour autant former de sous produits acides. Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation de Boc_2O.

Nous avons alors engagé le composé **32.** dans la réaction de quaternarisation-réduction puis fait varier des paramètres comme le solvant de la réaction, le temps, la présence d'additif (Schéma 59 et Tableau 4).

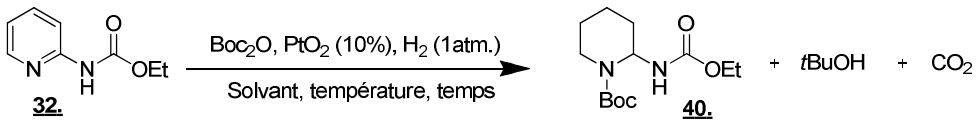


Schéma 59

Solvant	Nb équivalents Boc_2O	Temps/Température	Additif	Conversion (%)
AcOEt	2	16h (t.a)	-	50
AcOEt	2	6jours (t.a)		100
AcOEt	2	16h (t.a)	5% acide sulfamique	50
AcOEt	2	16h (t.a)	50% acide sulfamique	0
AcOEt	2	16h (t.a)	5% SuOH	50
AcOEt	2	16h (t.a)	5% BtOH	50
CH_3CN	2	16h (t.a)	-	10
THF	2	16h (t.a)	-	35
***i*PrOH**	2	16h (t.a)	-	10
***t*-BuOH**	5	24h (40°C)	-	100

Tableau 4

On observe que la réaction est très lente. En effet, dans les conditions initialement choisies, la réaction est complète après 6 jours. L'ajout d'additif n'a pas d'influence sur la cinétique de la réaction. Après avoir étudié l'influence du solvant, les conditions optimales sont obtenues en utilisant 5 équivalents de Boc_2O dans le *tert*-butanol à 40°C pendant 24h. Cette température est nécessaire afin de conserver un milieu liquide homogène compte-tenu du point de fusion proche de la température ambiante.

Avec ces conditions, nous avons été en mesure de synthétiser les composés **40.**, **41.** et **42.** avec de bons rendements (Figure 8).

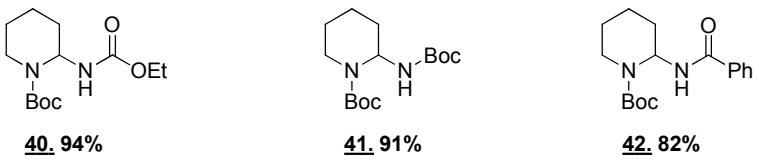


Figure 8

1.2.4.3 Vers des synthons linéaires

Ayant à disposition de bonnes conditions pour accéder à ce type de structure, nous nous sommes intéressés aux possibilités d'ouverture du cycle. Aggarwal *et al.*[89] ont utilisé des substrats de structure proche dans des réactions d'aziridination (Schéma 60).

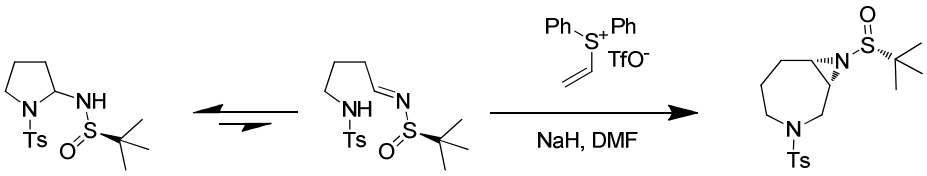


Schéma 60

Nous avons tenté d'appliquer cette méthode sur notre substrat **40.** en ajoutant un réducteur en fin de réaction. Nous avions émis l'hypothèse que le proton est suffisamment acide pour être arraché par la base. Malheureusement, nous n'avons jamais observé de réaction sur notre composé quelque soit la base utilisée et il est totalement récupéré après traitement (Schéma 61). Une explication envisageable est la stabilisation par chelation du lithium par le groupement carbonyle du carbmate de tert-butyle après déprotonationpar la base lithiée, ce complexe ne pouvant alors provoquer l'ouverture du composé *gem*-diaminé.

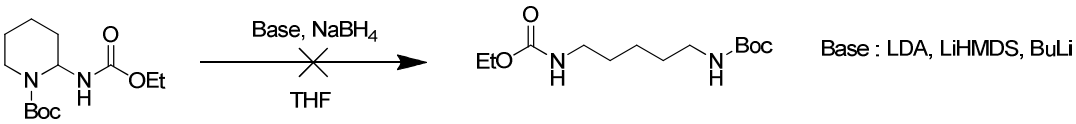


Schéma 61

Dans le cas où une faible partie du composé se trouve sous forme ouverte, l'imine devrait être un bon électrophile pour des réactifs de type Grignard. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons tenté d'additionner le bromure de phénylmagnésium sur notre composé **40.** . Une nouvelle fois, le composé s'est révélé inerte vis-à-vis de ces conditions réactionnelles et l'on récupère le réactif initial (Schéma 62).

[89] Unthank, M. G.; Hussain, N.; Aggarwal, V. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7066.

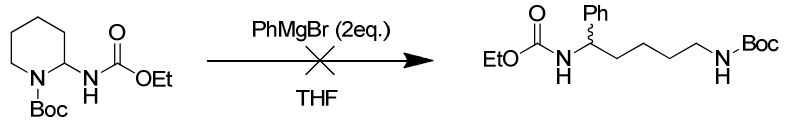


Schéma 62

Une autre approche envisagée consistait à garder le degré d'oxydation d'un aldéhyde mais sous forme d'une énamine. Nous avons trouvé dans la littérature l'exemple suivant dans lequel Rossen *et al.*[90] ont décrit la formation de ène-carbamates sur des dérivés de l'ornithine ou de lysine cycliques avec des rendements corrects (Schéma 63).

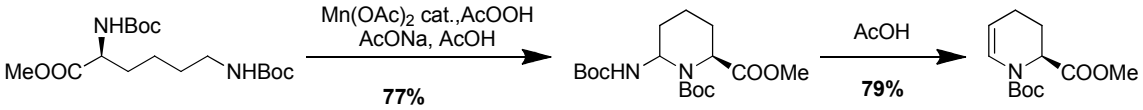


Schéma 63

Du fait de la forte ressemblance de ces substrats avec les produits de nos composés de réduction, nous avons souhaité appliquer ces conditions. De plus, ce type de composés présente un grand intérêt synthétique. Ils peuvent être utilisés pour la création de liaison carbone-carbone, carbone-azote, ou encore dans des réactions tandems et sont des nucléophiles particulièrement puissants (Schéma 64)[91].

[90] Rossen, K.; Kolarovic, A.; Baskakov, D.; Kiesel, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3023.

[91] a) Carbery, D. R. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3455 et références citées; b) Matsubara, R.; Kobayashi, S. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 292 et références citées; c) Terada, M.; Machioka, K.; Sorimachi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10336; d) Terada, M.; Machioka, K.; Sorimachi, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2553.

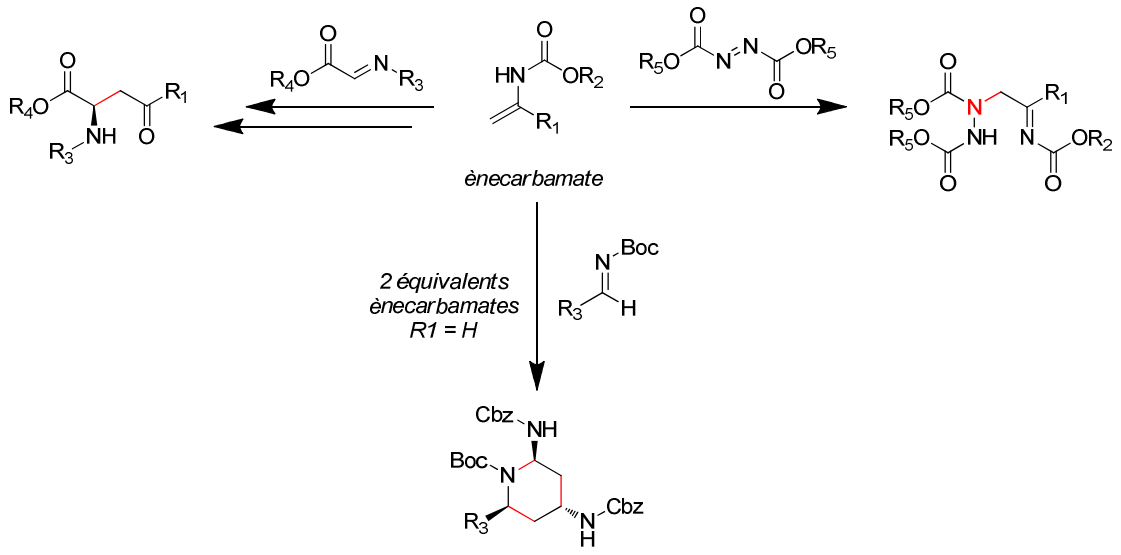


Schéma 64

De plus, la présence de la double-liaison représente une possibilité d'ouverture par coupure oxydante ou de fonctionnalisation permettant l'ouverture.

Nous avons alors engagé notre composé dans la réaction d'élimination. Nous avons obtenu le produit désiré **43.** mais avec un rendement faible de 9%. Nous avons alors fait varier les conditions comme présenté Schéma 65 et Tableau 5.

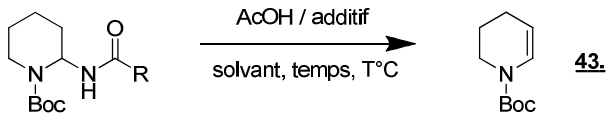


Schéma 65

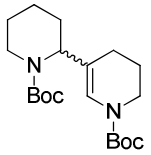
Nature de R	Conditions réactionnelles	Rendement isolé
R = 0*t*Bu	AcOH (2eq.), CH_2Cl_2, t.a, 1 nuit	0%
R = Et	AcOH, 60°C, 16h	28%
R = Et	AcOH, M.O, 120°C, 15min	12%
R = Et	AcOH/H_2O 2/1, 60°C, 16h	8%
R = Et	AcOH/AcONa, 60°C, 16h	14%
R = 0*t*Bu	AcOH, 60°C, 16h	24%
R = Ph	AcOH, 60°C, 16h	21%

Tableau 5

Nous n'avons jamais réussi à obtenir des rendements comparables à ceux décrits par les auteurs malgré le nombre de conditions testées. Des essais ont également été menés en présence d'autres acides (HCl, TFA,…) mais n'ont conduit qu'à des produits de dégradation. Nous avons

pris contact avec les auteurs de l'article mais ils n'ont pas pu nous renseigner sur les conditions exactes utilisées permettant l'obtention de rendements satisfaisants.

De plus, nous avons pu isoler dans certains cas un produit de polarité intermédiaire entre le réactif initial et le ène-carbamate avec un rendement de 21%. Nous en avons déduit après analyse RMN qu'il s'agissait d'un produit de dimérisation du ènecarbamate de structure présentée Figure 9. Nous avons envisagé que la formation de ce dimère pouvait se produire lors du traitement du brut réactionnel.



44.

Figure 9

Malgré tous nos efforts, nous n'avons pas pu obtenir une quantité suffisante de ène-carbamate pour pouvoir réaliser les étapes suivantes.

1.3 Conclusion et perspectives

En conclusion, nous avons étudié la faisabilité de préparer des synthons de type diamines ou aminoaldéhydes à partir de la pyridine comme source de chaine carbonée azotée, la stratégie de synthèse étant basée sur la quaternarisation, la réduction puis l'ouverture du cycle.

Dans un premier temps, nous avons développé une nouvelle méthode de quaternarisation des cycles pyridines et imidazoles par l'utilisation de la réaction de Mitsunobu. La nature du groupement R fixé sur l'azote du cycle est facilement modulée et nous a ainsi donné accès à une famille de composés de type liquides ioniques avec de bons rendements (Schéma 66).

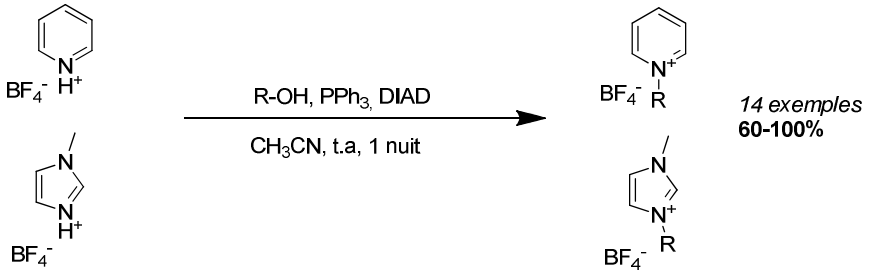


Schéma 66

La méthode a également permis d'alkyler des substrats peu nucléophiles tels que la 2,6-lutidine et l'acridine. Enfin, en présence d'un ammonium, on observe uniquement la déprotonation du pyridinium puis son alkylation. On peut alors parler de protection sous forme d'ammonium.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'étape de quaternarisation-réduction.

Une première approche nous a conduit à la formation d'amidine dérivée du pool-chiral mais qui s'est révélée infructueuse pour atteindre les composés ciblés. Une seconde approche basée sur des intermédiaires décrits par Glorius n'ont malheureusement pas pu être reproduits. Par la suite, une dernière approche a permis d'accéder à des produits d'hydrogénation des cycles 2-aminopyridines par quaternarisation par un chloroformiate ou un dicarbonate (Schéma 67).

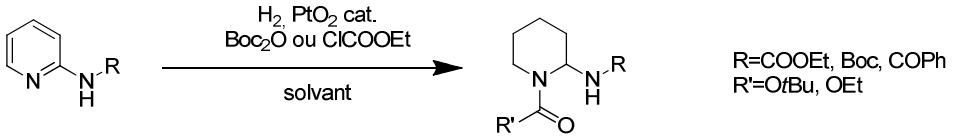


Schéma 67

Malheureusement, nous n'avons pas pu obtenir les produits d'ouverture à partir de ces composés réduits. En effet, l'étape d'ouverture s'est révélée délicate et les conditions décrites dans la littérature non reproductibles ou non applicables à nos substrats.

Les perspectives de ce sujet seront focalisées sur plusieurs points :

- L'optimisation de l'étape d'ouverture des composés de réduction, par l'introduction d'un groupement protecteur de l'amine en position 2 de la pipéridine clivable sélectivement.
- Le développement d'une version diastéreosélective de la réaction par l'utilisation d'une copule chirale pour la quaternarisation ou comme groupement protecteur de l'amine externe.

Le travail réalisé au cours de cette partie a conduit à une publication.

Petit, S.; Azzouz, R.; Fruit, C.; Bischoff, L.; Marsais, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3663.

Peptidomimétiques de type imidazolique

–

Synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt biologique

2 Peptidomimétiques de type imidazolique – Synthèse et application à la synthèse d'analogues d'intérêt biologique.

2.1 Introduction générale

2.1.1 Les peptides

C'est au début du XXe siècle que la chimie des peptides fit son apparition grâce aux travaux d'Hermann Emil Fischer. En étudiant la synthèse des protéines, il parvint à déterminer la nature de la liaison reliant les aminoacides les uns aux autres : la liaison peptidique. Grâce à cette découverte, il fut en mesure de synthétiser des dipeptides[92], puis par la suite des tripeptides et des polypeptides.

Cependant, l'intérêt porté par les scientifiques à la chimie peptidique n'évolua guère jusque dans les années 1940. A cette époque, le nombre de peptides connus présentant une activité biologique était très limité. En effet, mis à part la Glutathione (Glu-Cys-Gly)[93], la Carnosine (β-Ala-His)[94] et la Gramicidine S (dont la séquence des acides aminés fut élucidée en 1947[95]), seuls quelques autres composés avaient été découverts (Figure 10).

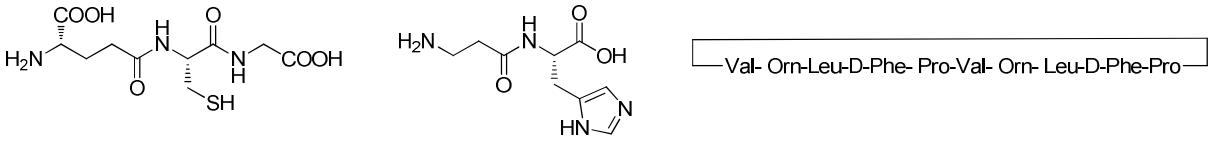


Figure 10 – La Glutathione, la Carnosine et la Gramicidine (de gauche à droite)

C'est seulement depuis les années 50 et la première synthèse de l'oxytocine par Du Vigneaud[96] que la communauté scientifique s'est fortement intéressée à l'utilisation des peptides comme médicaments naturels. Il démontra que le peptide synthétisé artificiellement présentait la même activité que le naturel. Ceci ouvrit en outre la possibilité de synthétiser des peptides afin d'étudier leurs relations structure-activité.

---

[92] Fischer, E.; Fourneau, E.; *Ber. them. GM.;* **1901**, *34,* 2868.
[93] Harington, C. R.; Mead, H. Mead, *Biochem. J.* **1935**, *29*, 1602
[94] Siffert, R.H.; Du Vigneaud, V.; *J. Biol.Chem.* **1935**, *108*, 753
[95] Consden, R.; Gordon, A. H.; Martin, A. J. P.; Synge, R. L.M. *Biochem. J.* **1947**, *41*,596.
[96] Du Vigneaud, V.; Ressler, C.; Swan, J. M.; Roberts, C. W.; Katsoyannis, P. G.; Gordon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 4879.

Cependant, la synthèse peptidique restait à cette époque longue et fastidieuse, ne permettant pas d'envisager l'utilisation de telles substances d'un point de vue thérapeutique. En effet, la grande propension des peptides à la coupure enzymatique a comme résultat direct une augmentation de la quantité nécessaire à administrer afin d'atteindre la dose active. C'est grâce aux travaux de Merrifield[97] sur le développement de résines pour la synthèse peptidique, aussi appelée SPPS, pour lesquels il reçut le prix Nobel en 1984, que la synthèse peptidique a été révolutionnée. En effet, ceci permit de supprimer les étapes de purification associée à la synthèse classique en phase liquide et permit d'envisager l'automatisation par l'utilisation de robots. Dès lors, l'intérêt porté pour les peptides et leurs analogues n'a cessé de croître. En parallèle, le développement important des techniques de Chromatographie Liquide Haute Performance ainsi que des nouvelles méthodes d'extraction, telle que l'extraction en phase solide, n'ont fait qu'augmenter les possibilités d'obtention de cette gamme de composés.

Cette tendance s'est encore accrue par les avancées dans le domaine des techniques recombinantes pour l'expression des peptides et protéines dans les microorganismes[98], et plus récemment des méthodes de production de ceux-ci *via* les animaux[99] et les plantes transgéniques[100].

Toutes ces avancées, combinées à la découverte croissante de nombreux peptides présentant des propriétés biologiques, ainsi que le nombre décroissant de petites molécules issues de synthèse présentées à la *Food and Drug Administration*, ont poussés de nombreux laboratoires pharmaceutiques à s'orienter depuis quelques années vers la conception de médicaments de type peptidique ou peptidomimétique. En 2004, plus de 20% des médicaments appartenant au top 200 des médicaments les plus vendus au monde étaient à base de protéines ou de peptides avec un chiffre d'affaires d'environ 40 milliards de $, soit environ 10% du chiffre d'affaires global de l'industrie pharmaceutique[101]. Environ 650 peptides étaient en phase de développement et 150 se situaient en phase clinique dans différents domaines tels que le traitement des cancers, du SIDA, de l'ostéoporose ou encore des maladies neurodégénératives[102]. On peut citer quelques exemples marquants, tel que la Goséréline (Zoladex®), un analogue de l'hormone de libération

[97] Merrifield, B.; *J. Am. Chem. Soc.;* **1963**, *85*, 2149.
[98] Itakura, K.; Hirose, T.; Crea, R.; Riggs, A. D.; Heyneker, H. L.; Bolivar, F.; Boyer, H.; *Science* **1977**, *198*, 1056.
[99] Wright, G.; Carver, A.; Cottom, D.; Reeves, D.; Scott, A.; Simons, P.; Wilmut, I.; Garner, I.; Colman, A.; *Biotechnology* **1991**, *9*, 830.
[100] Cunningham, C.; Porter, A. J.; R.; Eds.; *Methods in Biotechnology* **1997,** *Vol 3: Recombinant Proteins from Plants-Production, Isolation of Clinically Useful Compounds*, Humana Press.
[101] McGee, P.; *Drug Discovery Dev*. **2005**, *4*.
[102] Lien, S.; Lowman, H.B.; *Trends Biotechnol.* **2003**, *21*, 556.

de l'hormone lutéinizante, utilisé comme traitement du cancer du sein ou de la prostate, ou encore l'Octréotide, un octapeptide cyclique qui imite la somatostatine et qui est utilisé pour le traitement des diarrhées ainsi que de l'acromégalie (augmentation anormale de la taille des pieds et des mains ainsi qu'une déformation du visage) (Figure 11).

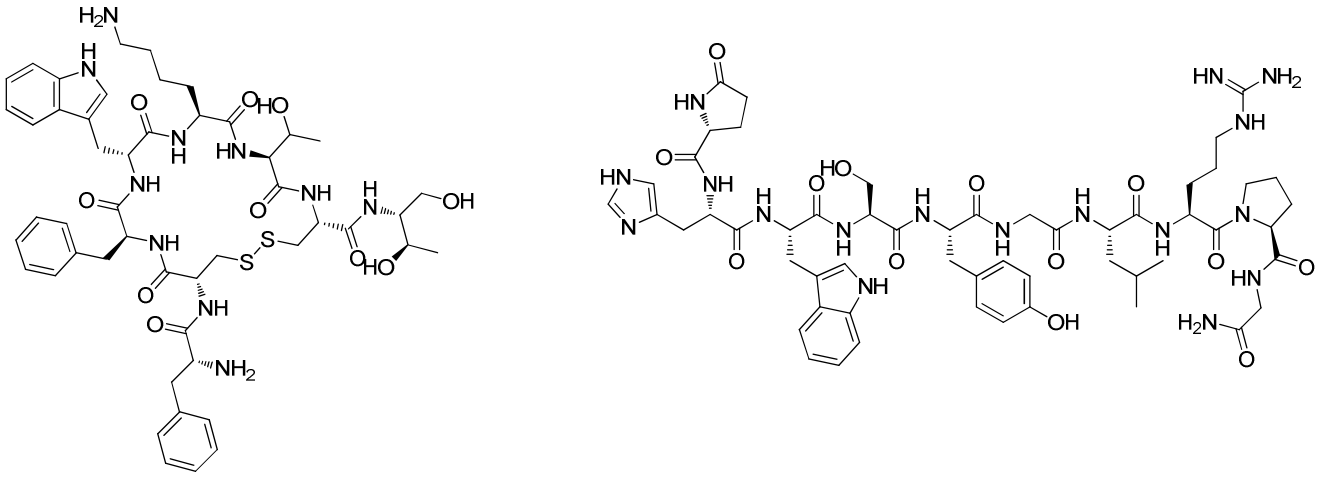


Figure 11 –L'Octréotide et la Goséréline (Zoladex)

La production de peptides à grande échelle est désormais possible et à moindre coût, ce qui est un élément important à considérer pour un médicament.

Les peptides offrent plusieurs avantages par rapport aux petites molécules qui constituent les médicaments traditionnels. Le premier avantage est que, représentant souvent la plus petite partie fonctionnelle d'une protéine, ils offrent une efficacité, une sélectivité et une spécificité que les concepteurs de petites molécules ont du mal à atteindre[103]. Un deuxième avantage est que les produits de dégradation des peptides sont des acides aminés, ce qui élimine grandement les risques de toxicité[104].

[103] Hummel, G.; Reineke,U.; Reimer, U.; *Mol. Biosyst.* **2006**, *2*, 499
[104] Loffet, A.; *J. Peptide Sci.* **2002**, *8*, 1.

La conception de peptides à usage thérapeutique reste toutefois extrêmement compliquée et soulève un grand nombre de problèmes. En premier lieu, les peptides n'obéissent pas aux règles de Lipinski[105] :

- Un poids moléculaire inferieur à 500
- Un maximum de cinq sites donneurs et de dix sites accepteurs de liaisons hydrogène
- Un log de P inférieur à 5
- Un maximum de cinq cycles fusionnés
- Un maximum de dix liaisons à libre rotation

En considérant ces règles classiquement appliquées dans l'industrie pharmaceutique, les médicaments peptidiques ne peuvent être considérés comme administrable par voie orale et de ce fait sont fréquemment injectés par voie intraveineuse, d'où un certain inconfort pour le patient. Des solutions sont actuellement en développement pour palier à ces inconvénients, notamment en utilisant des formulations ou des modes d'administration alternatifs[106]. Un second aspect à considérer est la biodégradabilité des peptides dû aux peptidases du système gastro-intestinal. Il en résulte une durée de demi-vie faible, variant de quelques minutes jusqu'à quelques heures au maximum.

D'autre part, du fait de leur caractère fortement hydrophile et polaire, les peptides présentent en général une faible perméabilité membranaire. Ils sont ainsi incapables de traverser certaines barrières biologiques comme les parois intestinales ou la barrière hémato-encéphalique et sont facilement éliminés par excrétion rénale.

Enfin, la haute flexibilité conformationnelle, en particulier celle des chaînes latérales, constitue un inconvénient majeur pour les peptides. Bien qu'ils soient flexibles et en équilibre, seul un conformère sera reconnu et interagira avec le site actif récepteur. D'autre part, cette instabilité conformationnelle peut entrainer l'activation d'autres récepteurs et donc des effets secondaires non désirés.

Pour conclure, les applications potentielles des peptides en tant qu'agents thérapeutiques paraissent évidentes. Cependant, leur utilisation pharmaceutique se heurte à de nombreuses limites, qu'elles soient liées à leur administration difficile, à leur faible capacité à traverser les

[105] Lipinski, C. A. *et al. Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3.
[106] a) Prego, C. *et al.*; *J. Control Release,* **2005**, *101*, 151; b) Maggi, E.T. *Drug Delivery Companies Report,* **2005**, *13*, 29; c) Skyler, J.S. *et al.*;. *The Lancet*, **2001**, *357*, 331; d) Stout, R.R. *et al.*; *Drug. Delivery Techn.;* **2007**, *7*(2). (e) Malkov, D.; *et al.*; *Curr. Drug Delivery,* **2005**, *2*, 191.

membranes, ou encore à leur faible durée de demi-vie. Afin de minimiser ces inconvénients, la recherche peptidique s'est depuis quelques années orientée vers la synthèse de peptides modifiés, les peptidomimétiques.

2.1.2 Les peptidomimétiques

2.1.2.1 Définition et introduction

C'est Gante[107] qui, en 1994, donna la première définition d'un peptidomimétique. Il le définit comme une molécule présentant des analogies structurelles avec le peptide natif, nécessaires à l'interaction avec le récepteur concerné. Une molécule sera considérée comme un peptidomimétique si elle est capable de reproduire l'effet biologique du peptide original tout en ayant une meilleure stabilité métabolique ainsi qu'une biodisponibilité augmentée.

La conception d'un peptidomimétique est basée sur la connaissance de la conformation, de l'orientation et de la structure électronique du peptide natif que l'on essaye de mimer, ce qui, en d'autres termes, correspond à la partie active du récepteur ou du site actif de l'enzyme avec laquelle il interagit. Les interactions protéine-ligand jouent donc un rôle majeur dans ce design. Cela doit prendre en compte deux facteurs structuraux essentiels en vue de l'utilisation de telles molécules comme substances thérapeutiques potentielles :

- Une bonne inclusion au sein du récepteur prenant en compte les contraintes structurales et spatiales du site actif. Si cela est nécessaire, la conformation peut être bloquée par l'introduction d'éléments apportant de la rigidité.
- Le positionnement de certains éléments structurels, tels que des groupements fonctionnels apportant hydrophobie ou polarité de manière à créer les interactions nécessaires à une bonne reconnaissance avec le site actif (régions hydrophobes, zones polaires, interactions électrostatiques,…)

Classiquement, la conception d'un peptidomimétique se déroule en plusieurs étapes. On identifie la protéine cible, puis l'effecteur (ligand, peptide bioactif ou protéine partenaire). Dans le cas

[107] Gante, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 1699.

idéal, on réalise une co-cristallisation de la protéine-cible en présence de son ligand naturel. Dans les cas ou ceci n'est pas réalisable, des solutions utilisant la modélisation moléculaire ou le screening in silico représentent une alternative de plus en plus utilisée. On détermine le site d'interaction le plus court possible. Cela permet l'obtention d'un modèle pharmacophore, permettant de cribler les banques de données afin de trouver les petites molécules respectant au mieux les contraintes chimiques et spatiales du pharmacophore déterminé[108].

2.1.2.2 Possibilités structurales – Vue d'ensemble

A fortiori, il existe une infinité de modifications structurales donnant accès à des peptidomimétiques. Dans les faits, il existe des classes de modifications largement développées, d'autres nettement moins. Certaines de ces modifications peuvent être très faibles (introduction d'un groupement méthyle par exemple) mais favorisant une structure bioactive par exemple. Dans d'autres cas, c'est un enchainement de plusieurs aminoacides qui va être mimé par une structure d'encombrement stérique similaire ayant les fonctions chimiques nécessaires. Dans cette partie les différents types de peptidomimétiques décrits dans la littérature seront présentés.

Un des problèmes majeurs des peptides est leur haute flexibilité conformationnelle. Il existe des angles de torsions au sein d'un peptide, et c'est la modification de ceux-ci qui donnera au peptidomimétique synthétisé une meilleure spécificité pour le récepteur ciblé, d'où une meilleure activité. Il est donc nécessaire de connaître les angles de torsion de la structure bioactive afin de mimer la structure secondaire du peptide (Figure 12).

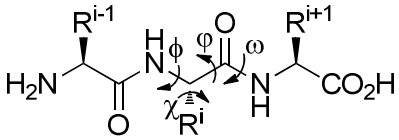


Figure 12

La mésomérie de la liaison peptidique a pour conséquence de rendre celle-ci plane, d'où l'existence des conformations *cis* et *trans*. Dans la grande majorité des cas, c'est la conformation *trans* qui est favorisée (rapport *cis*/*trans* 1/1000). Cependant, les peptides de type X-Pro ont

[108] Hummel, C.; Reineke, U.; Reimer, U. *Mol. Biosyst.* **2006**, *2*, 499.

tendance à aller vers un rapport 1/3, probablement dû à une forte similarité entre les carbones α et γ, qui rend les formes *cis* et *trans* proches énergétiquement (Figure 13).

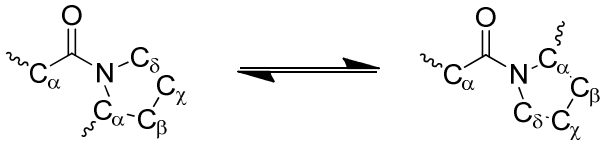


Figure 13

2.1.2.2.1 Modifications des acides aminés

La première approche consiste à modifier un aminoacide de la séquence peptidique. On peut envisager toute une palette de modifications comme présenté dans la Figure 14.

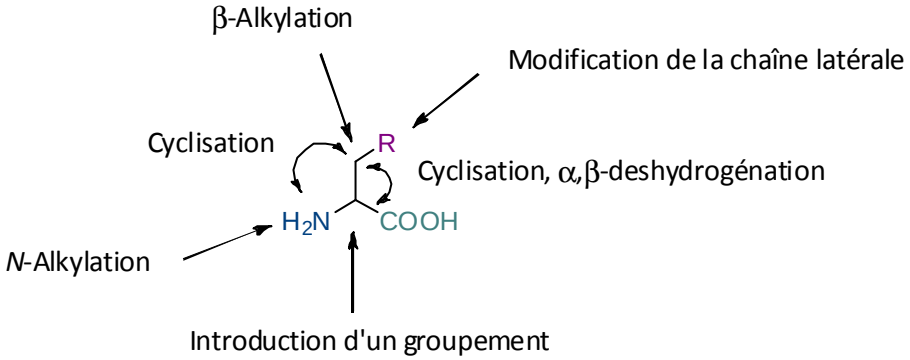


Figure 14

De part leur nature, les différents aminoacides sont plus a même de favoriser la création d'hélices α, feuillets β ou encore de β-turn (Figure 15) et ainsi provoquer la formation d'une conformation bioactive ou non.

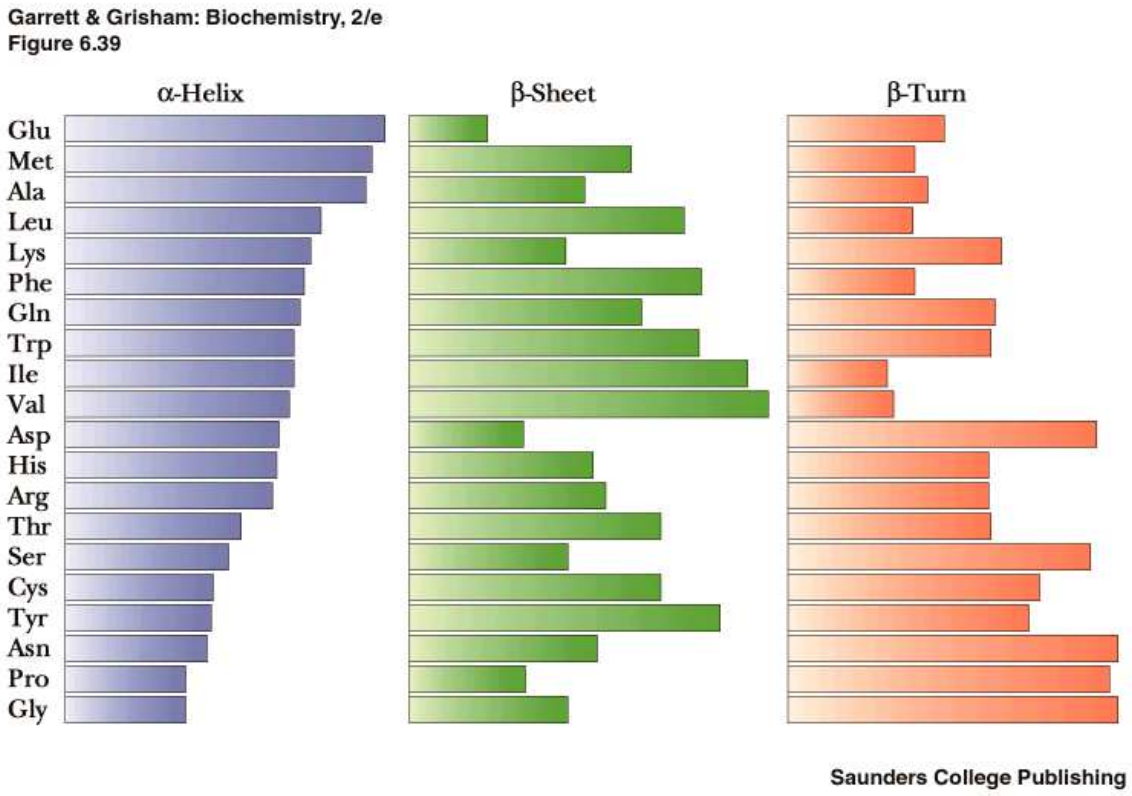


Figure 15

En effet, les modifications des chaines latérales, comme la *C*-alkylation en α du carbone asymétrique (incorporation de dérivés de dialkylglycine, acide carboxylique d'α aminoalcane, d'α-méthylcystéine[109],) auront pour effet de contraindre les angles de torsion χ, ω et ϕ (Figure 12) mais également de faciliter l'équilibre *cis*/*trans* de la liaison amide. De même, l'introduction d'acides aminés de configuration *D* ou de proline au sein d'un peptide aura comme effet principal la formation de β-turn (Figure 16).

[109] a) Goodman *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1303; b) Goodman *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5240.

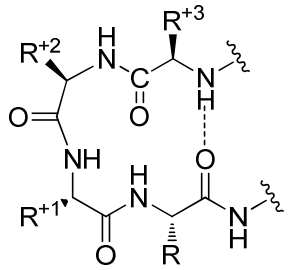


Figure 16

Cela peut être réalisé par la création d'un cycle grâce aux chaînes latérales des aminoacides[110] ou entre une chaine latérale et le lien amide[111112]. Dans la plupart des cas, 2 résidus aminoacides sont impliqués dans la conception de l'analogue mais certains cas n'impliquent qu'un seul aminoacide[113]. Quelques exemples sont donnés dans la Figure 17.

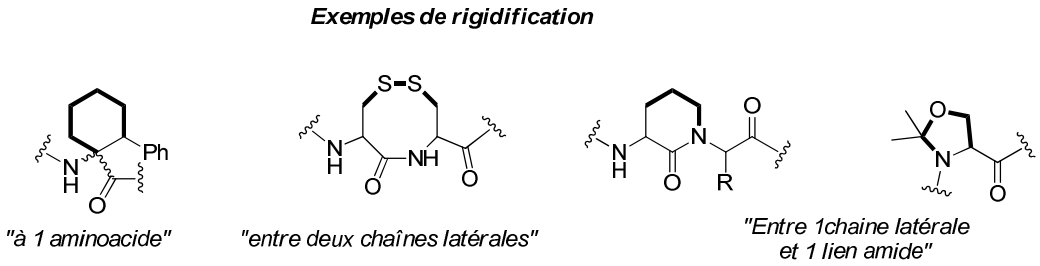


Figure 17

2.1.2.2.2 Pseudopeptides et isostères

Une seconde approche consiste à modifier la liaison peptidique elle-même, par remplacement du lien amide. On parlera alors de pseudopeptides. On peut également parler dans certains cas d'isostères, dans ce cas corrélés à une analogie stérique ou électronique du lien amide. Cette approche a été largement développée, avec par exemple le remplacement du lien amide par un thioamide[114], alcène possédant ou non des atomes de fluor (fluorooléfine[115] ou

---

[110] a) Rone, R.; Manesis, N.; Hassan, M.; Goodman, M.; Hagler, A. T.; Kitson, D. H.; Roberts, V. A. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 895; b) Manesis, N.; Goodman, M. *J. Org.Chem*. **1987**, *52*, 5331.

[111] a) Freidinger, R. M.; Veber, D. F.; Perlow, D. S.; Brooks, J. R.; Saperstein, R. *Science* **1980**, *210*, 656; b) Freindiger, R. M.; Perlow, D. S.; Veber, D. F. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 104; c) Freidinger, R. M. *J. Org. Chem*. **1985**, *50*, 3631; d) Garvey, D. S.; May, P. D.; Nadzan, A. M. *J. Org. Chem*. **1990**, *55*, 936.

[112] Dumy, P.; Keller, M.; Ryan, D. E.; Rohwedder, B.; Wöhr, T.; Mutter, M. *J. Am. Chem. Soc*. **1997**, *119*, 918.

[113] Cativiela, C.C.; Diaz de Villegas, M.D.; Avenoza, A.; Peregrina, J.M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10987.

[114] Artis, D.R.; Lipton, M.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12200.

[115] a) Dutheuil, G.; Couve-Bonnaire, S.; Pannecoucke, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1290; b) Couve-Bonnaire, S.; Cahard, D.; Pannecoucke, X. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1151; c) Yamaki, Y.; Shigenaga, A.; Li,

trifluorooléfine[116]), un lien sulfonamide[117], des liaisons de type rétro (amide[118] ou thioamide). On peut également citer des exemples où l'azote est remplacé par un hétéroatome dans des formes réduites (éthylène[119], hydroéthylène[120], , thioéther[121], ,…), ou non réduites (cétométhylène[122], hydroxycétométhylène[123],…) ou encore des structures de type azapeptide ou peptoïde (Figure 18).

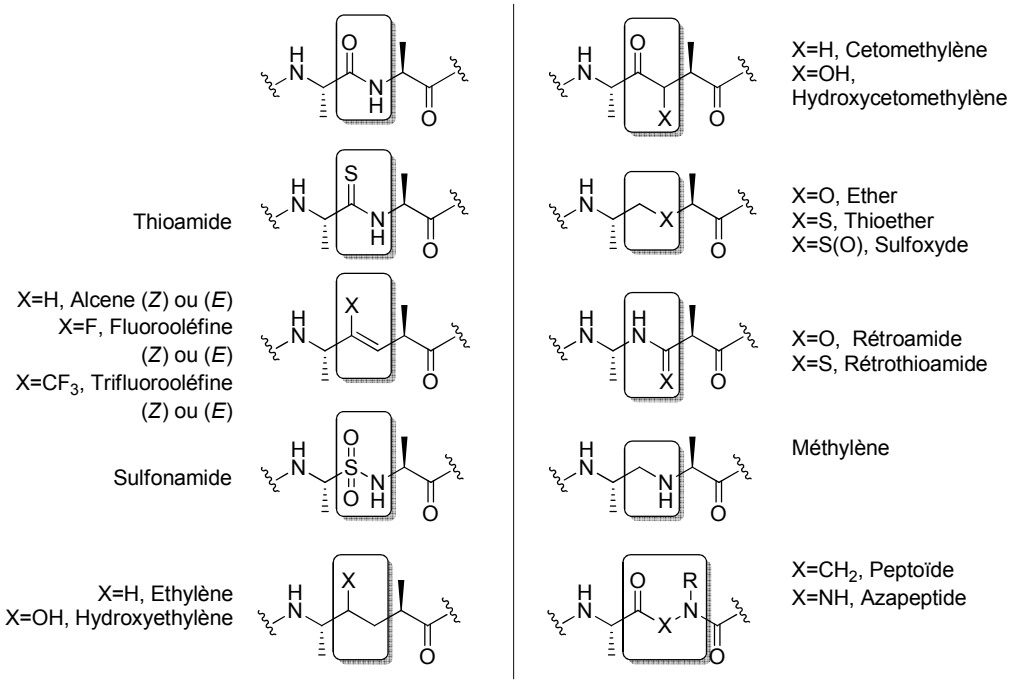


Figure 18

J.; Shimohigashi, Y.; Otaka, A. *J. Org. Chem*. **2009**, *74*, 3278; d) Oishi, S.; Kamitani, H.; Kodera, Y.; Watanabe, K.; Kobayashi, K.; Narumi, T.; Tomita, K.; Ohno, H.; Naito, T.; Kodama, E.;Matsuoka, M. Fujii, N. *Org. Biomol. Chem* **2009**, *7*, 2872; e) Narumi, T.; Hayashi, R.; Tomita, K.; Kobayashi, K.; Tanahara, N.; Ohno, H.; Naito, T.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Oishi, S.; Fujii, N. *Org. Biomol. Chem*. **2010**, *8*, 616.

[116] a)Wipf, P.; Henninger, T.C.; Gerb, S.J. *J. Org. Chem*. **1998**, *63*, 6088; b) Xiao, J.; Weisblum, B.; Wipf, P. *J. Am. Chem. Soc*. **2005**, *127*, 5742; c) Kobayashi, K.; Narumi, T.; Oishi, S.; Ohno, H.; Fujii, N. *J. Org. Chem*. **2009**, *74*, 4626.

[117] a) Paik, S.; White, E. H. *Tetrahedron* **1996**, *15*, 5303; b) Yang, K. W.; Golich, F. C.; Sigdel, T. K.; Crowder, M. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5150.

[118] a) Shemiyakin, M.M.; Ovchinnikov, Y.A.; Ivanov, V.T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 492; b) Chorev, M.; Goodman, M. *Acc. Chem. Res.;* **1993**, *26*, 266.

[119] Kende, A.S.; Dong, H.-Q.; Mazur, A.W.; Ebetino, F.H. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6015.

[120] a) Umezawa, H.; Aoyagi, T.; Morishima, H.; Matzuzaki, M.; Hamada, M.; Takeuchi, T. *J. Antibiot*. **1970**, *23*, 259; b) Erdal, E.P.; Martásek, P.; Roman, L.J.; Silverman, R.B. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 6096.

[121] a) Rubini, E.; Gilon, C.; Selinger, Z.; Chorev, M. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 6039; b) Englebretsen, D.R.; Garnham, B.; Alewood, P.F. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5883

[122] a) Steinmetzer, T.; Zhu, B.Y.; Konishi, Y. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3109; b) Torbeev, V.Y.; Mandal, K.; Terechko, V.A.; Kent, S.B.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4554.

[123] Baldwin, E.T.; Bhat, T.N.; Gulnik, S.; Liu, B.; Topol, I.A.; Kiso, Y.; Mimoto, T.; Mitsuya H.; Erickson, J.W. *Structure* **1995**, *3*, 581.

Dans la plupart des isostères de la liaison amide, le remplacement de la liaison peptidique possède plusieurs avantages. Tout d'abord, on observera un effet direct sur l'hydrolyse du peptidomimétique par les peptidases de l'organisme. En effet, une structure hétérocyclique ou de type oléfine sera beaucoup plus résistante, d'où une durée de demi-vie augmentée. L'hydrophobie sera également augmentée en diminuant le caractère polaire de la liaison amide. Enfin, une nouvelle géométrie est apportée par l'isostère puisque la structure secondaire du pseudopeptide est modifiée et par conséquent son activité le sera aussi. Dans ce cas, les métabolites ne sont plus des aminoacides classiques et les problèmes de toxicité de ceux-ci peuvent être un inconvénient en vue d'une utilisation thérapeutique.

2.1.2.2.3 Modification des structures secondaires et tertiaires

Contraindre la structure secondaire des peptides par l'utilisation de peptidomimétiques est également un enjeu majeur. L'existence de structures secondaires vient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. Ainsi, une protéine peut être décrite par une séquence d'acides aminés mais aussi par un enchaînement d'éléments de structure secondaire. Le but est de bloquer ces conformations bioactives en mimant les interactions qui se créaient au sein d'un peptide natif. De nombreux mimes de β-turn ont ainsi pu être synthétisés, certains montrant de nombreux points de ressemblance avec un peptide[124], alors que d'autres structures ne s'y apparentent plus du tout [125](Figure 19).

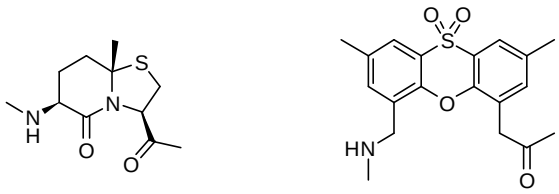


Figure 19 – Inducteurs de β-turn (type peptidique et non-peptidique)

[124]a) Feigel, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 181 ; b) Wagner, G.; Feigel, M.; *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10831 ; c) Brandmeier, W.H.; Sauer, B.; Feigel, M.; *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 70.
[125]a) Sato, K.; Nagai, U. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1231 ; b) Nagai, U.; Sato, K.; Nakamura, R.; Kato, R.; *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 3577.

Un exemple particulièrement intéressant a été récemment proposé par Hanessian *et al.*.[126]. Ils se sont intéressés à la formation de peptidomimétiques contraints de la séquence Pro-Phe-Arg du PPACK, inhibiteur irréversible connu de la thrombine, à travers une structure rigidifiée de type indolizidine. Pour ce type de structure, ils ont obtenu un IC_{50} de 4nM, alors que son analogue hydroxylé présentait un IC_{50} de 20nM (Figure 20).

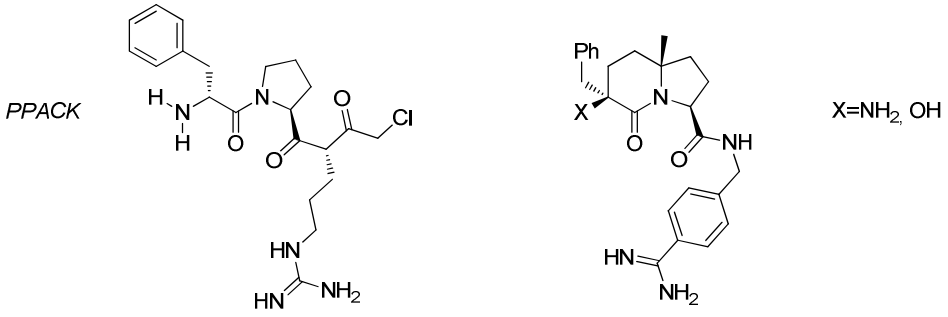


Figure 20

2.1.2.2.4 Structures non-peptidiques et plateformes de répartition

Une autre approche consiste à envisager le peptidomimétique comme une plateforme de répartition pour des groupements fonctionnels en vue de leur interaction avec les sites du récepteur considéré. De nombreux exemples de ce type de mimes ont été réalisés au cours des vingt dernières années, utilisant des structures aromatiques[127], des sucres[128], des motifs totalement saturés tels que des cyclohexanes[129] ou encore des stéroïdes[130]. Ci-dessous (Figure 21) sont présentés quelques exemples de mimes avec les peptides correspondants.

---

[126]a) Hanessian, S.; Balaux, E.; Musil, D. Olsson, L- L.; Nilson, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 243 ; b) Hanessian, S.; Therrien, E.; Grandberg, K.; Nillson, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2907 ; c) Hanessian, S.; Sailes, H.; Munro, A.; Therrien, E. *J. Org. Chem*. **2003**, *68*, 7219 ; d) Hanessian, S.; Sailes, S.; Therrien, E. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 7047.e) Hanessian, S.; Therrien, E.; Warrier, J. S.; Charron, G. *Heterocycles*, **2006,** *70*, 461.

[127] Alig, L.; Edenholfer, A.; Hadvary, P.; Hürzeler, M.; Knoop, D.; Müller, M.; Steiner, B.; Trzeciak, A.; Weller, T. *J. Med. Chem*. **1992**, *35*, 4393.

[128] Hirschmann, R.; Sprengler, P.A.; Kawasaki, T.; Leahy, J.W.; Shakespeare, W.C.; Smith III, A.B. *J. Am. Chem. Soc*. **1992**, *114*, 9699 ; *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3665.

[129] Hirschmann, R.; Nicolaou, K. C.; Pietranico, S.; Leahy, E. M.; Salvino, J.; Arison, B.; Cichy, M. A.; Spoors, P.G.; Shakespeare, W. C.; Sprengeler, P. A.; Hamley, P.; Smith III, A. B.; Resine, T.;Raynor, K.; Maechler, L.; Donaldson, C.; Vale, W.; Freidinger, R. M.; Cascieri, M. R.; Strader, C. D. *J. Am. Chem. Soc*. **1993**, *115*, 12550.

[130] a) Marshall, G. R.; *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3547; b) Hirschmann, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 1278.

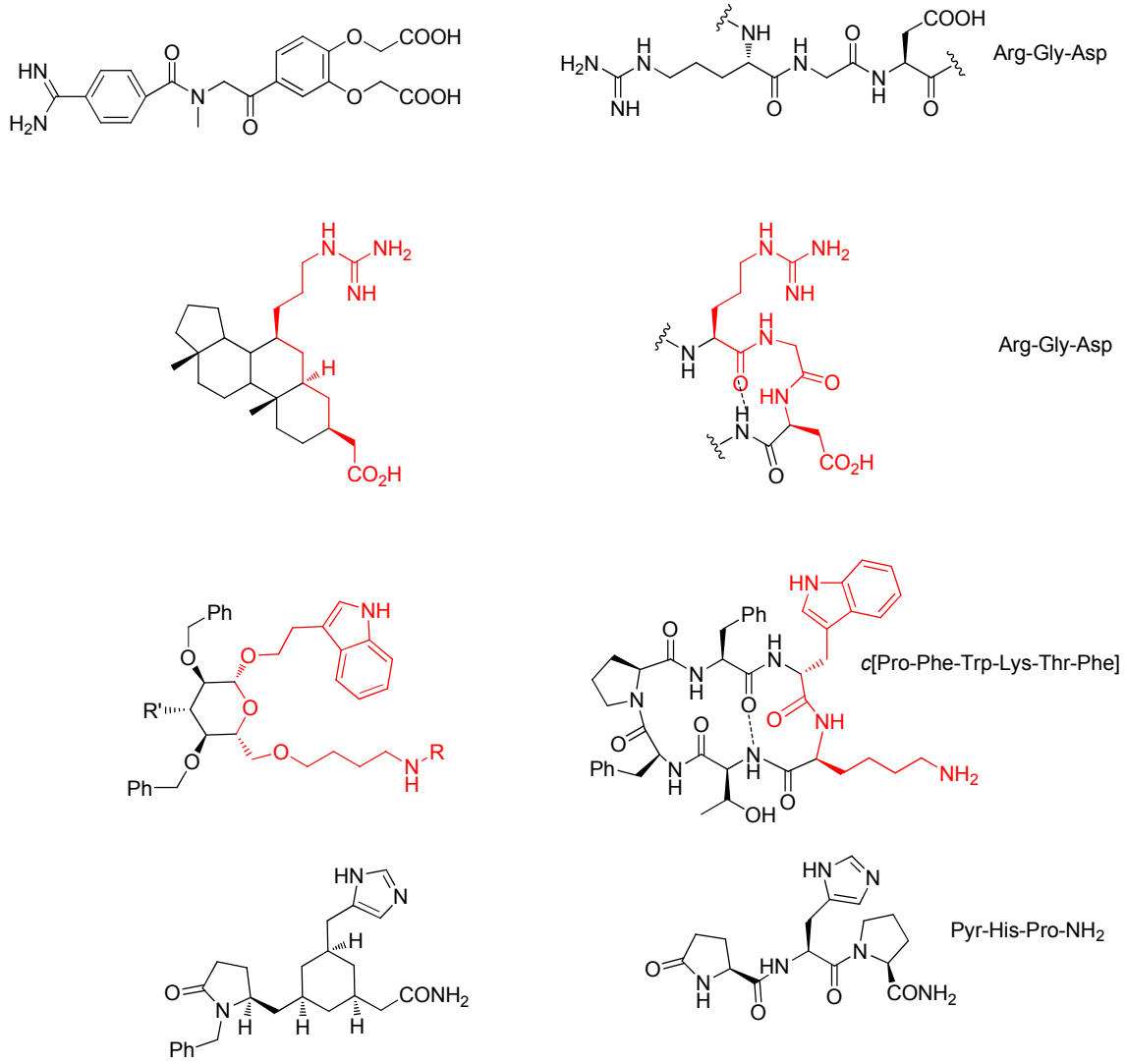


Figure 21

On peut citer un exemple remarquable utilisant des structures de type céragénines[131]. Ces structures sont dérivées de l'acide cholique et utilisées comme mime d'un peptide antimicrobien. Des fonctions polaires sont introduites sur le stéroïde de manière à rendre une des faces hydrophile tandis que l'autre reste hydrophobe, approximant la conformation du peptide natif antimicrobien (Figure 22). Les mimes ainsi synthétisés ont été testés sur diverses souches résistantes aux antibiotiques fréquemment utilisés et ont montré des activités *in-vitro* et *in-vivo* égales voire supérieures aux peptides antimicrobiens endogènes mimés. De plus, les céragénines présentent l'avantage de résister aux protéases et sont bien tolérées par les cellules. Par ailleurs, leur production ainsi que leur purification restent plus simples et moins coûteuses que pour les peptides antimicrobiens.

[131] Lai, X. Z.; Feng, Y.; Pollard, J.; Chin, J. N.; Ryback, M. J.; Bucki, R.; Epand, R. F.; Epand, R. M.; Savage, P. B. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1233 et références associées.

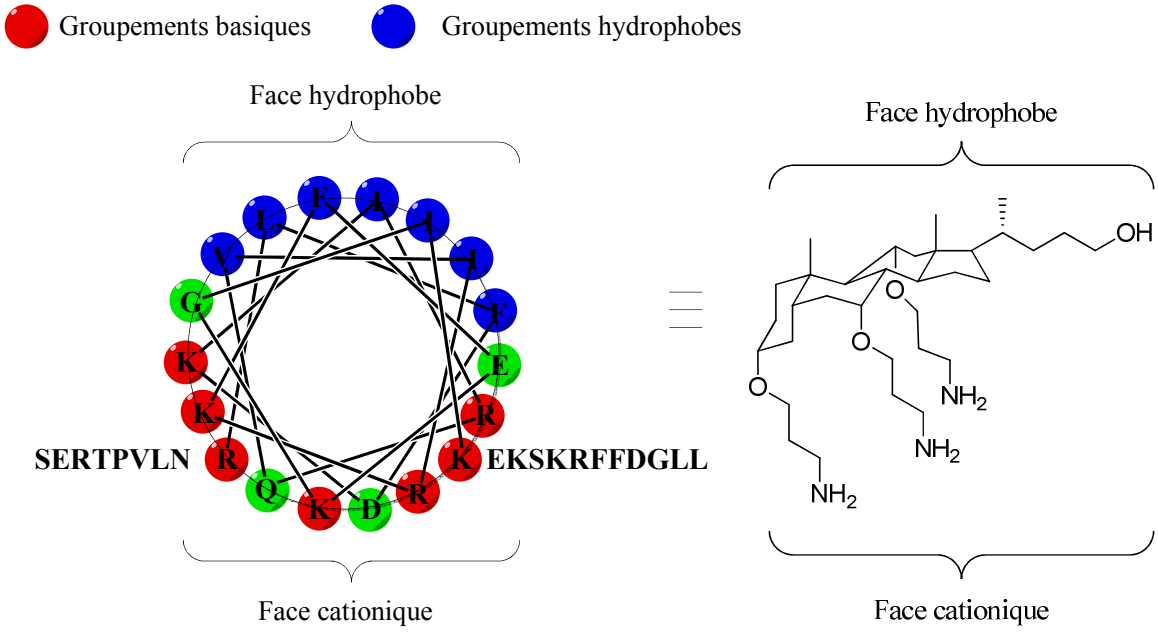


Figure 22

2.1.3 Peptidomimétiques en série hétéroaromatique à 5 chaînons

2.1.3.1 Thiazoles, Oxazoles, Tetrazoles

Les hétérocycliques aromatiques à 5 chaînons de type thiazoles et oxazoles sont une classe importante de peptidomimétiques et ont été largement étudiés dans la littérature car nombre d'entre eux sont issus de la biosynthèse des protéines. En effet, les oxazoles et thiazoles sont synthétisés à partir d'unités sérine, thréonine ou cystéine par cyclisation de la fonction alcool ou thiol sur l'amide adjacent. L'oxazoline ou thiazoline obtenue subit ensuite une oxydation permettant l'aromatisation du thiazole ou oxazole correspondant (Schéma 68). Cependant, on ne peut pas parler d'analogue dipeptidique dans ce cas car il ne s'agit pas d'un remplacement du lien amide.

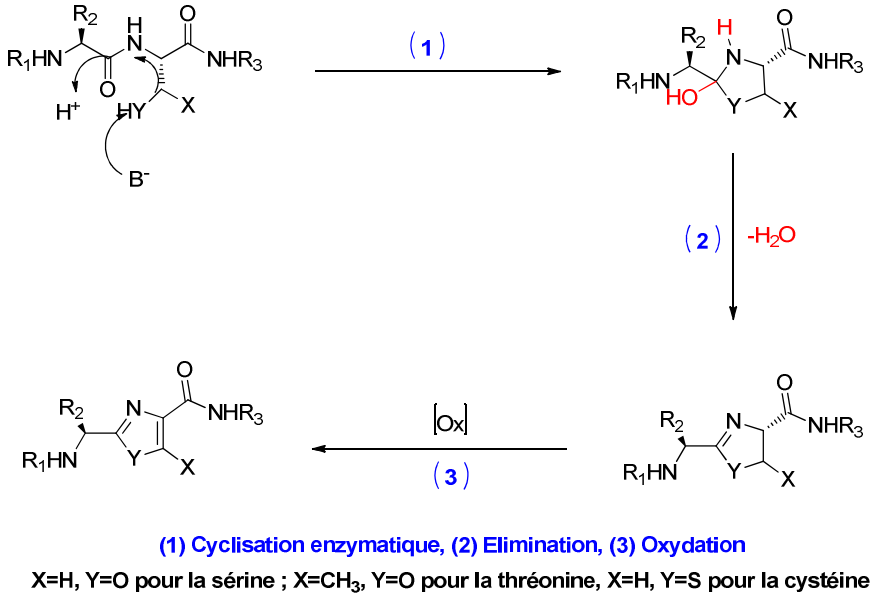


Schéma 68

Les oxazoles ont été utilisés de nombreuses fois en remplacement de fonction amide et incorporés dans des peptides. Ils sont synthétisés grâce au réactif de Burgess[132] (methyl *N*-(triethylammoniumsulfonyl)-carbamate) puis oxydés en utilisant CuBr/Cu(OAc)$_2$/ester tert-butylique d'acide perbenzoique[133], ou par action du mélange DBU/CCl$_4$/acetonitrile/pyridine[134]. D'autres exemples mentionnent l'utilisation de CuBr$_2$/DBU/HMTA[135] ou encore la dichlorodibenzoquinone (ou DDQ)[136]. Un exemple récent de Scherkenbeck *et al.*[137] propose la synthèse d'un analogue de neuropeptide d'insecte, la proctoline H-Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr-OH. Les auteurs ont synthétisé des analogues contenant un ou plusieurs remplacements de liens amide par des oxazoles (Schéma 69) puis testé leur activité myotropique. Malheureusement, cette série perd totalement l'activité comparée à la molécule de référence.

[132] a) Atkins, G. M.; Burgess, E. M.; *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4744; b) Burgess, E. M.; Harold, H. R. Jr.; Taylor, E. A. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 26.
[133] Meyers, A. I.; Tavares, F. X.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8207.
[134] Videnov, G.; Kaiser, D.; Kempter, C.; Jung, G.; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1604.
[135] a) Barrish, J. C.; Singh, J.; Spergel, S. H.; Han, W.; Kissick, T. P.; Kronenthal, D. R.; Mueller, R. H. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4494; b) Li, G.; Warner, P. M.; Jebaratham, D. J.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 778.
[136] a) McGarvey, G. J.; Wilson, K. J.; Shanholtz, C. E. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2641; b) Padwa, A.; Rasmussen, J. K.; Tremper, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2605.
[137] Plant, A.; Stieber, F.; Scherkenbeck, J.; Lösel, P.; Dyker, H. *Org. Lett.* **2001**, *22*, 3424.

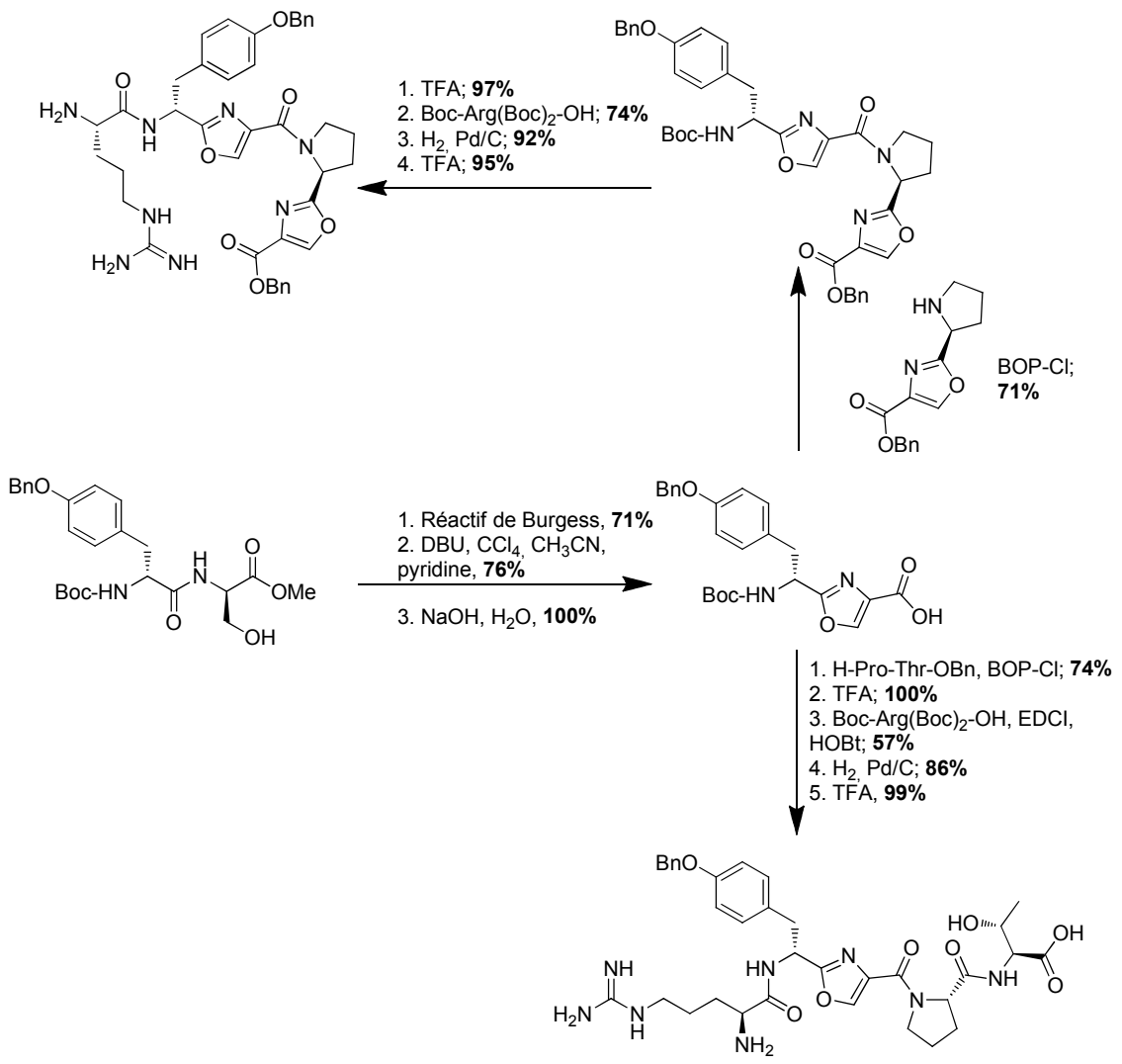


Schéma 69

Une autre approche pour l'obtention des oxazoles dérivés d'aminoacides a également été appliquée récemment par Keesler *et al.*[138] à la synthèse d'une molécule macrocyclique. Les oxazoles sont obtenus à partir d'α-amino-β-cetoesters sur lesquels un couplage peptidique puis une iodation-cyclisation par action du couple I_2/PPh_3[139] (Schéma 70).

[138] Mann, E.; Kessler, H. *Org. Lett.* **2003**, *24*, 4567.

[139] Carpino, L.A.; Cohen, B.J.; Stephens, K.E.Jr.; Sadat-Aalae, Y.; Tien, J.-H.; Landgridge, D.C. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3734.

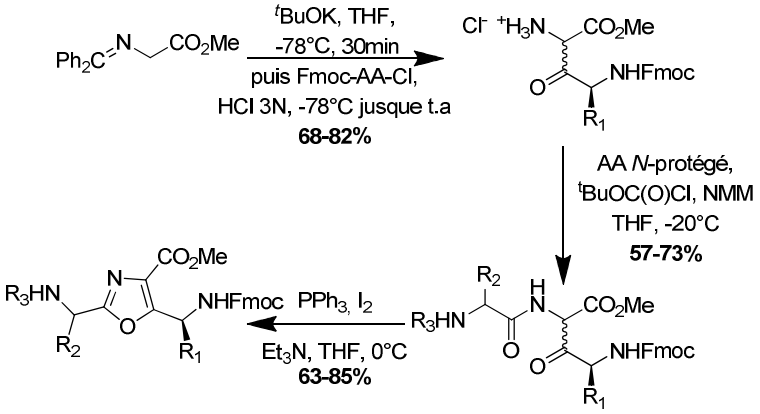


Schéma 70

Dans un autre article paru récemment, Kessler *et al.* ont appliqué cette méthodologie de synthèse en phase solide et l'ont également étendue à la synthèse de *N*-tosylimidazole[140]. Ils ont ainsi prouvé sa compatibilité avec les protections utilisées en SPPS ainsi que la possibilité d'une construction itérative sur phase solide (Schéma 71).

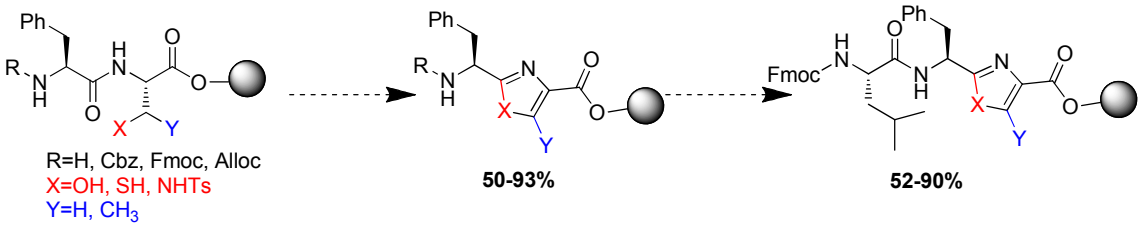


Schéma 71

Les thiazoles sont également des composés hétérocycliques particulièrement étudiés. En effet, on les retrouve dans beaucoup de structures d'antibiotiques thiopeptidiques[141]. Un exemple récent[142] présente le remplacement d'une fonction acide terminale par un thiazole, obtenu par synthèse de Hantzsch entre la bromocétone et l'amide correspondant. L'analogue a ensuite été testé comme inhibiteur de l'apoptose, donnant des résultats jusqu'à 20nM (Schéma 72).

[140] Biron, E.; Chaterjee, J.; Kessler, H. *Org. Lett.* **2006,** 11, 2417.
[141] a) Bagley, M. C.; Dale, J. W.; Merritt, E. A.; Xiong, X. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 685. b) Hughes, R. A.; Moody, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7930.
[142] Cohe, F.; Koehler, M. F. T.; Bergeron, P.; Elliott, L. O.; Flygare, J. A.; Franklin, M. C.; Gazzard, L.; Keteltas, S. F.; Lau, K.; Ly, C. Q.; Tsui, V.; Fairborther, W. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2229.

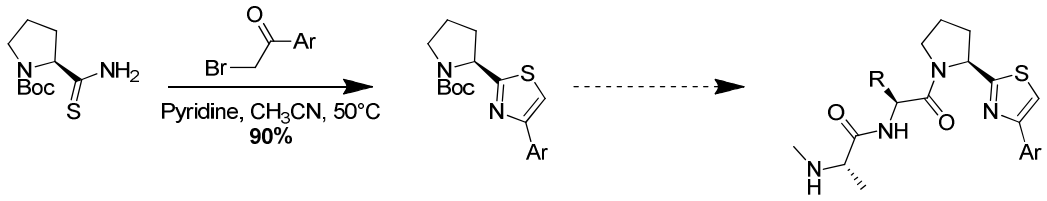


Schéma 72

2.1.3.2 Tétrazoles et triazoles

Les tétrazoles ont été les premiers hétéroaromatiques azotés à 5 chainons à être étudiés en tant que peptidomimétiques par Johnson[143] en 1987. La réaction d'un dipeptide avec le pentachlorure de phosphore puis l'acide azothydrique permet d'obtenir les analogues tétrazolés de dipeptides avec des rendements compris entre 34 et 82%. Cette méthode s'accompagne d'une perte de la pureté optique au niveau du centre en α du coté *N*-terminal. Plus tard, Marshall *et al.*[144]. ont prouvé qu'il est possible d'éviter cette racémisation par l'ajout de quinoléine. La dicétopipérazine correspondante a été préparée et a montré une ressemblance de 88% avec celle porteuse d'un lien amide classique d'après les calculs théoriques de l'impact des modifications géométriques et stériques (Schéma 73). L'incorporation d'un tétrazole reste toutefois compliquée car la construction *N*-terminale conduit majoritairement aux dicétopipérazines et non au polypeptide.

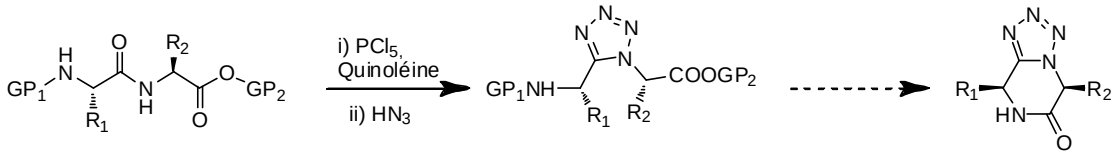


Schéma 73

Les triazoles sont certainement les hétérocycles les plus utilisés en tant qu'isostères de la liaison amide. Premièrement, leurs méthodes de synthèse sont bien connues et la possibilité d'obtenir différents régioisomères augmente leurs possibilités d'application. En effet, depuis la découverte de la cycloaddition 1,3-dipolaire par Huisgen[145] par activation thermique, de nombreux

[143] Yu, K.L.; Johnson, R.L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2051.
[144] Zabrocki, J.; Smith, G.D.; Dunbar, J.B.; Iijima, H.; Marshall, G.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5875.
[145] Huisgen, R. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*; Padwa, A.; Ed.;Wiley: New York, **1984**.

systèmes catalytiques ont été développés, notamment au cuivre par Meldal[146] et Sharpless[147], puis au ruthénium par Sharpless et Fokin[148] afin d'inverser la régiosélectivité de la réaction.

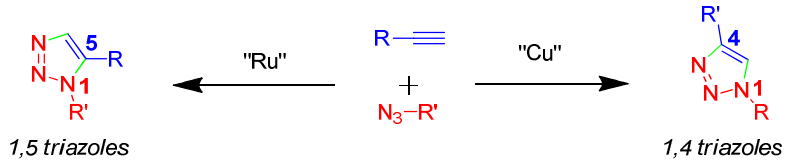


Schéma 74

La forte similarité entre le lien amide et les 1,2,4-triazoles 1,4-disubstitués a été démontré par des calculs théoriques, tant en terme de distance entre les carbone en α du triazole qu'en terme de planéité de la liaison (Figure 23).

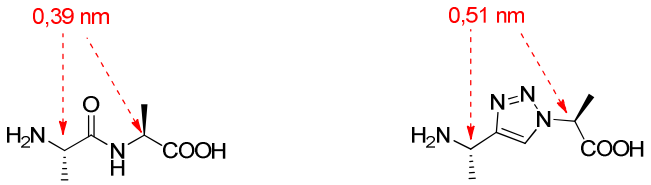


Figure 23

Tous ces développements méthodologiques ont été largement appliqués aux peptidomimétiques. En 2005, Burgess *et al.* ont utilisé la cycloaddition alcyne/azoture comme moyen de fermeture de cycles formant des β-turn dans des unités dipeptidiques[149]. Malgré les conditions douces utilisées dans cette méthode, les auteurs reportent la formation du monomère mais aussi des dimères dans des proportions monomère/dimère allant de 54/46 jusque 18/82 en fonction de la nature des aminoacides (Schéma 75).

[146] Tornoe, C.W.; Christensen, C.; Meldal,M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
[147] a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew.Chem.; Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596; b) Rodionov, V. O.; Presolski, S. I.; Diaz Diaz, D.; Fokin, V. V, Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12705; c) Meldal, M.; Tornoe, C.W. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952.
[148] a) Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998; b) Boren, B. C.; Narayan, S.; Rasmussen, L. K.; Zhang, L.; Zhao, H.; Lin, Z.; Jia, G.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923.
[149] Angell, Y.; Burgess, K. *J. Org. Chem*, **2005**, *23*, 9595.

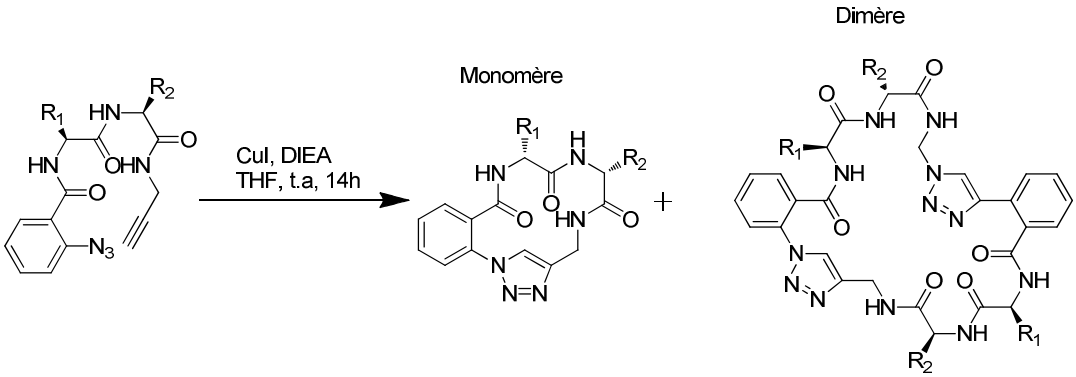


Schéma 75

Un exemple anormal a été observé par Hiemstra *et al.*[150] concernant la cyclisation d'un tétrapeptide potentiellement inhibiteur de tyrosinase. Dans ce cas, aucun monomère n'est observé dans des conditions douces mais uniquement des dimères et oligomères. Ce n'est qu'à haute température que la cyclisation s'effectue ce qui va à l'encontre des postulats mécanistiques sur la cyclisation 1,3-dipolaire (Schéma 76).

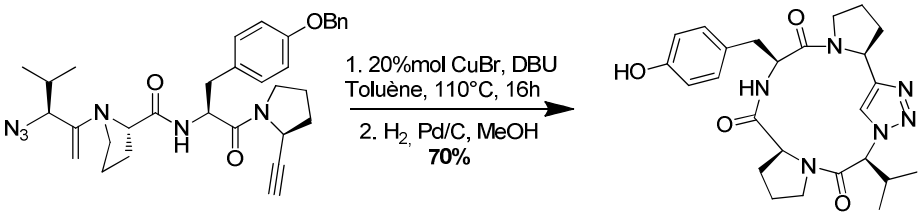
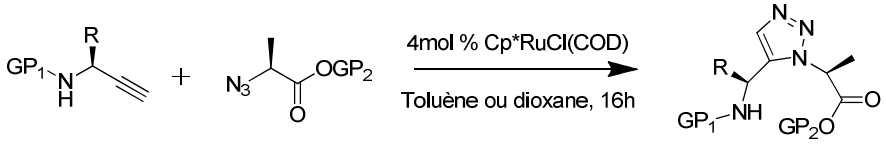


Schéma 76

La régioselectivité 1,5 a été également utilisée pour la conception de peptidomimétiques. Raines *et al.*[151] ont réalisé la cyclisation 1,3-dipolaire catalysée par un complexe de ruthénium sur différents alcynes et azotures dérivés d'aminoacides obtenant alors des mimes de lien amide de type *cis*. Le couple Asn-Pro a pu ainsi être mimé (sous la forme Asn-Ala) puis incorporé au sein d'un peptide. Des mesures de dichroïsme circulaire ont prouvé la forte ressemblance entre le peptide d'origine naturelle et ceux incorporant le motif 1,5 triazole (Schéma 77).

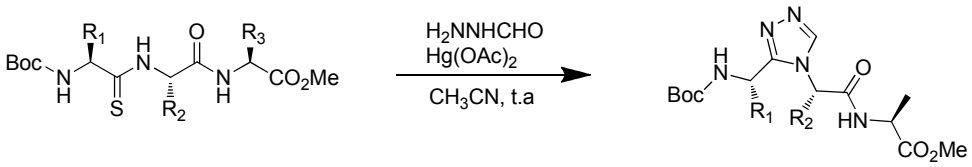
[150] Bock, V. D.; Perciaccante, T. P.; Jansen, H.; Hiemstra, H. Maarseveen, J. J.V. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 919.
[151] Tam, A.; Arnold, U.; Soellner, M. B.; Raines, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12670.



7 exemples, **45-92%**

Schéma 77

Un autre type de triazole existe également sans être obtenu par cyclisation 1,3 dipolaire, à savoir les triazoles 1,2,4. Ceux-ci ont également été utilisés comme substitut de fonction amide de géométrie *cis* dans des structures peptidomimétiques. En 2002, Takeya *et al.*[152] ont synthétisé ce type d'analogue par cyclisation d'un thionopeptide[153] en présence de N-formylhydrazine et d'acétate de mercure obtenant les triazolopeptides de façon très efficace et avec une bonne tolérance vis-à-vis des chaines latérales (Schéma 78). De plus, la construction du coté N-terminal est possible, ce qui n'était pas le cas pour les triazoles qui formaient majoritairement des dicétopipérazines.



13 exemples, **13-87%**

Schéma 78

En 2003, Martinez et Fehrentz[154] ont également étudié ce type de triazoles mais en ajoutant des substituants sur les positions 3,4,5. Ils ont également transposé la méthode à la phase solide avec de très bons résultats.

2.1.3.3 Imidazoles

2.1.3.3.1 Introduction

L'imidazole est un hétérocycle aromatique à 5 chainons comportant deux atomes d'azote et classifié comme un alcaloïde. Sa structure est planaire et il existe, si l'azote n'est pas substitué,

[152] Shalaby, M. A.; Grote, C. W.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9045.
[153] Hitotsuyanagi, Y.; Motegi, S.; Fukaya, H.; Takeya, K. *J. Org.Chem.* **2002**, *67*, 3266.
[154] Boeglin, D.; Cantl, S.; Heitz, A.; Martinez, J.; Fehrentz, J. A. *Org. Lett.* **2003**, *23*, 4465.

sous deux formes tautomères équivalentes. C'est un composé hautement polaire, soluble dans l'eau ainsi que dans la plupart des solvants organiques polaires. Sa synthèse a été découverte par Dubus[155] par réaction d'une 1,2 dicétone et d'un aldéhyde en présence d'ammoniac (Schéma 79).

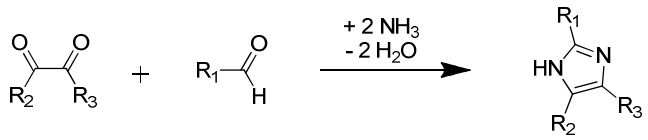


Schéma 79

Du fait de la présence des deux atomes d'azote, il possède à la fois un caractère basique et acide, d'où un pK_A de 14.5 en tant qu'acide et un pK_{BH+} de 7. Il est souvent utilisé comme base ou encore comme groupe partant en synthèse organique.

C'est également une brique essentielle au niveau biologique puisqu'on le retrouve dans l'acide aminé histidine et dans son dérivé l'histamine (Figure 24) ainsi que dans l'adénine.

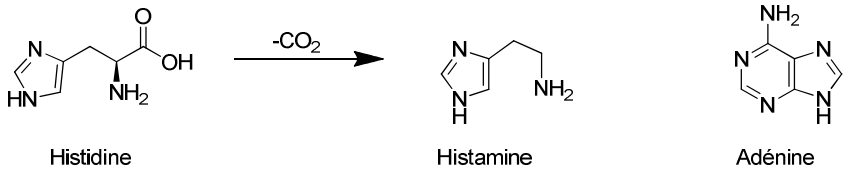


Figure 24

Il apparait également dans de nombreux principes actifs pharmaceutiques[156] antifongiques comme le ketoconazole (Nizoral®), le miconazole ou le clotrimazole (Canesten®) et également dans des agents anticancéreux tels que le matronidazole(Figure 25). Il est également connu pour être un bon ligand du zinc dans les métalloenzymes, comme les métalloprotéases[157], et apparaît fréquemment dans les sites basiques des enzymes[158].

[155] Dubus, H.; *Annalen Chem. Pharm.* **1858**, *107*, 199.
[156] Grimment, M. R.; Katritsky, A. R. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry,* **1996**, *Vol 3*, Pergamon Press, Oxford.
[157] a) Vallee, B. L.; Auld, D. S. *Biochemistry*, **1990**, *29*, 5647; b) Vallee, B. L.; Auld, D. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1990,** *87*, 220; c) Matthews, B. W.; *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 333.
[158] a) Rebek, J. Jr. *Struct. Chem.* **1990**, *1*, 129; b) Winkler, F. K.; D'Arcy, A.; Hunziker, W. *Nature*, **1990**, *343*, 771.

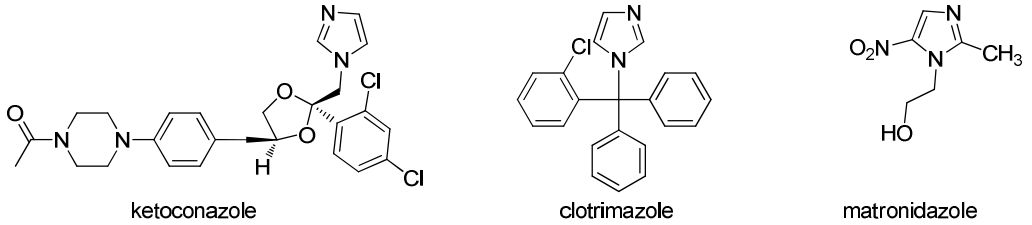


Figure 25

2.1.3.3.2 Les imidazoles dérivés d'aminoacides : étude bibliographique

Quelques exemples récents d'incorporation d'imidazoles dans des structures de type aminoacides ou peptidomimétiques ont été décrits dans la littérature, comme nous le verrons plus en détails dans la partie suivante.

Nenajdenko *et al.* ont développé une méthode diastéréoselective d'accès à des imidazoles chiraux[159] mettant en jeu une réaction de Thio-Ugi[160] (acides substitués par des thioacides dans les réactions de Ugi[161]), donnant ainsi accès à un intermédiaire pour la synthèse formelle du SB203386[162], un inhibiteur de protéase du VIH-1(Schéma 80).

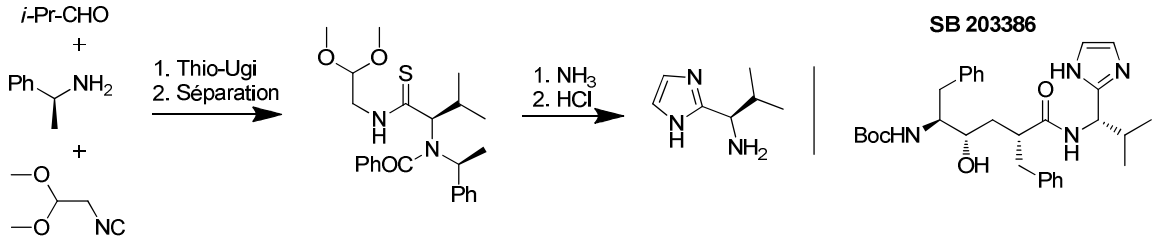


Schéma 80

Une autre approche pour l'accès à des mimes de fonction acide porteurs d'imidazoles a été développée par Abell *et al.* et fait intervenir une cyclisation palladocatalysée de type amino-Heck entre un pentafluoroamidoxime et un groupement allyle[163]. Les auteurs précisent que la méthode n'est pas racémisante dans les conditions réactionnelles (couplage avec un autre aminoacide et mesure de l'excès diastéréoisomérique par RMN ^{1}H et ^{13}C) (Schéma 81).

[159] Gulevich, A. V.; Balenkova, E. S.; Nenajdenko, G. *J. Org. Chem*, **2007**, *72*; 7878.
[160] Kolb, J.; Beck, B.; Almstetter, M.; Heck, S.; Herdtweck, E. Dömling, *A. Mol. Div*. **2003**, *6*, 297.
[161] a) Dömling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2000**, *39*, 3168; b) Dömling, A. *Chem. Rev*. **2006,** *106*, 17
[162] Pridgen, L. N.; Mokhallalti, M. K.; McGuire, M. A.; *Tetrahedron Lett*. **1997**, *38*, 1275.
[163] Zaman, S.; Mitsuku, K.; Abell, A. *Org. Lett*. **2005**, *4*, 609.

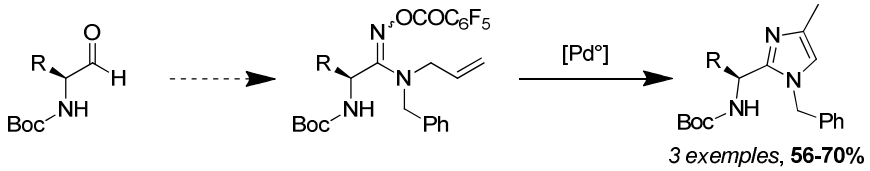


Schéma 81

Une autre voie d'accès aux mimes de fonction acide comportant un imidazole à été développée par Kelly par la mise au point d'une méthode conduisant également à des imidazolines par cyclisation de dipeptides comportant un motif β-amino-α-aminoester[164] avec un parfait contrôle de la stéréochimie, puis oxydées dans les mêmes conditions que ci-dessus (Schéma 82).

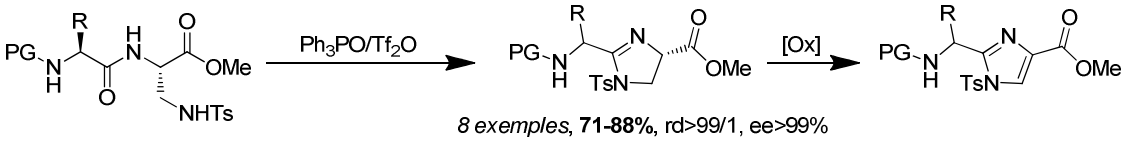


Schéma 82

Quelques années plus tard, Arndt *et al.*. ont fait intervenir un processus de type aza-Wittig *via* un *N*-acetyl-azidosulfonamide donnant ainsi accès aux imidazolines, oxydables dans des conditions douces en imidazoles[165] (Schéma 83).

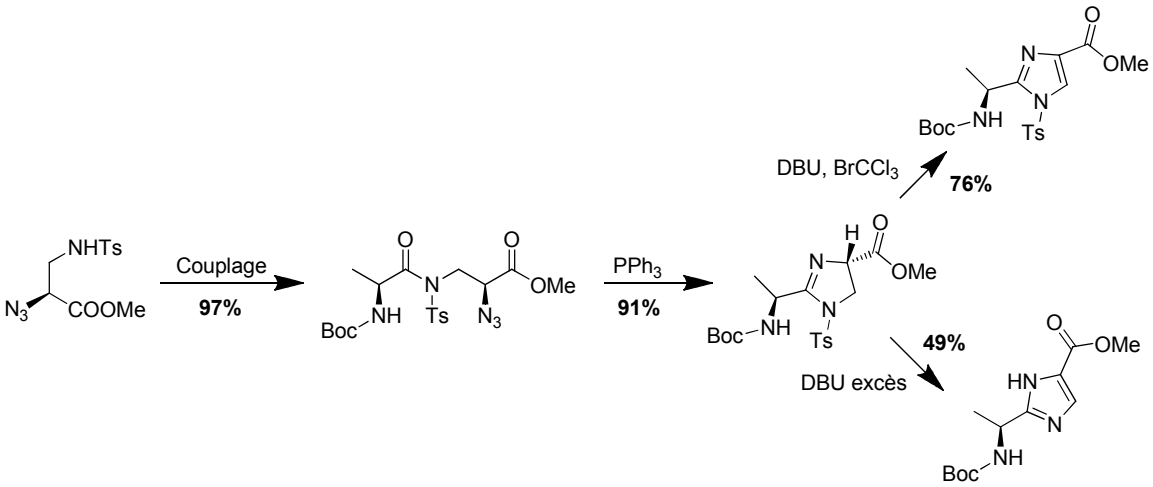


Schéma 83

Une dernière approche développée par Prati et Favi en 2009 est basée sur la construction d'un imidazole à la place de la fonction amine cette fois. La séquence réactionnelle complète est basée

[164] You, S-L.; Kelly, J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1681.
[165] Loos, P.; Riendrich, M.; Arndt, H. D. *Chem. Comm.* **2009**, 1900.

sur une addition conjuguée de type Michael entre l'aminoester et le diazadiène, suivie par la condensation avec un aldéhyde conduisant à l'électrocyclisation 1,5 de « l'ylure azavylique d'azométhine »[166]. Les auteurs reportent une rétention de la configuration du centre asymétrique, sauf dans le cas d'acides aminés sensibles comme la phénylglycine (Schéma 84).

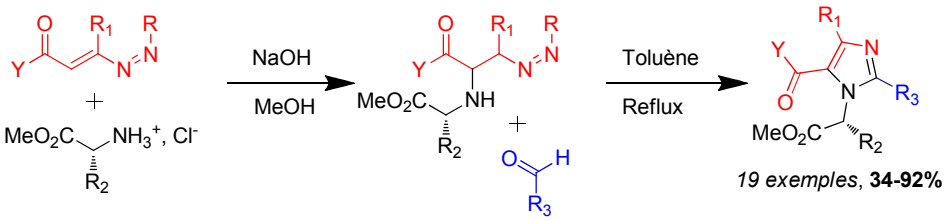


Schéma 84

Haberhauer a également fortement contribué à la synthèse de structures cycliques de symétrie C_2, C_4[167] et C_3[168] contenant des imidazoles dérivés d'acides aminés et leurs applications en reconnaissance moléculaire et chimie supramoléculaire. Il a en particulier réalisé la synthèse d'analogues de Lissoclinum[169], des cyclopeptides d'origine marine comme la westiellamide et l'ascidiacyclamide particulièrement étudiés pour leurs capacités de complexation de métaux[170] ainsi leurs structures particulièrement rigides[171](Figure 26).

[166] Attanasi, O. A.; Caselli, E.; Davoli, P.; Favi, G.; Mantellini, F.; Ori, C.; Prati, F. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2840.
[167] Haberhauer, G.; Pintér, A.; Oeser, T.; Rominger, F. *Eur. J. Org. Chem*. **2007**, 1779.
[168] a) Haberhauer, G.; Oeser, T.; Rominger, F, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6718; b) Haberhauer, G. *Synlett*, **2004**, 1003; c) Haberhauer, G.; Oeser, F.; Rominger, F. *Chem. Commun*. **2004**, 2044.
[169] Haberhauer, G.; Rominger, F. *Eur. J. Org. Chem*. **2003**, 3209.
[170] a) Bernhardt, P. V.; Comba, P.; Fairlie, D. F.; Gahan, L. R.; Hanson, G. R.; Lötzbeyer, L.; *Chem. Eur. J*. **2002**, *8*, 1527; b) Cusack, R. M.; Grøndahl, L.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P.; Gahan, L. R. Hanson, G. R.; Hambley, T. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **2000**, 323; c) Freeman, D. J.; Patenden, G.; Drake, A. F.; Siligardi, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*,**1998**, 129; d) Brenk, A. L. v. d.; Fairlie, D. P.; Gahan, L. R.; Hanson, G. R.; Hambley, T. W. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1095; e) Wipf, P.; Venkatraman, S.; Miller, C. P.; Geib, S.J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1516; f) Brenk, A. L. v. d.; Fairlie, D. P.; Hanson, G. R.; Gahan, L. R.; Hawkins, C. J.; Jones, A. *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 2280.
[171] a) Singh, Y.; Stoermer, M. J.; Lucke, A. J.; Glenn, M. P.; Fairlie, D. P. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3367; b) Pattenden, G.; Thompson, T.; *Tetrahedron Lett*. **2002**, *43*, 2459; c) Singh, Y.; Sokolenko, N.; Kelso, M. J.; Gahan, L. R.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 333; d) Pattenden, G.; Thompson, T. *Chem. Comm.* **2001**, 717; e) Haberhauer, G.; Somogyi, L.; Rebek, J. Jr. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5013; f) Mink, D.; Mecozzi, S.; Rebek, J. Jr.; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5709.

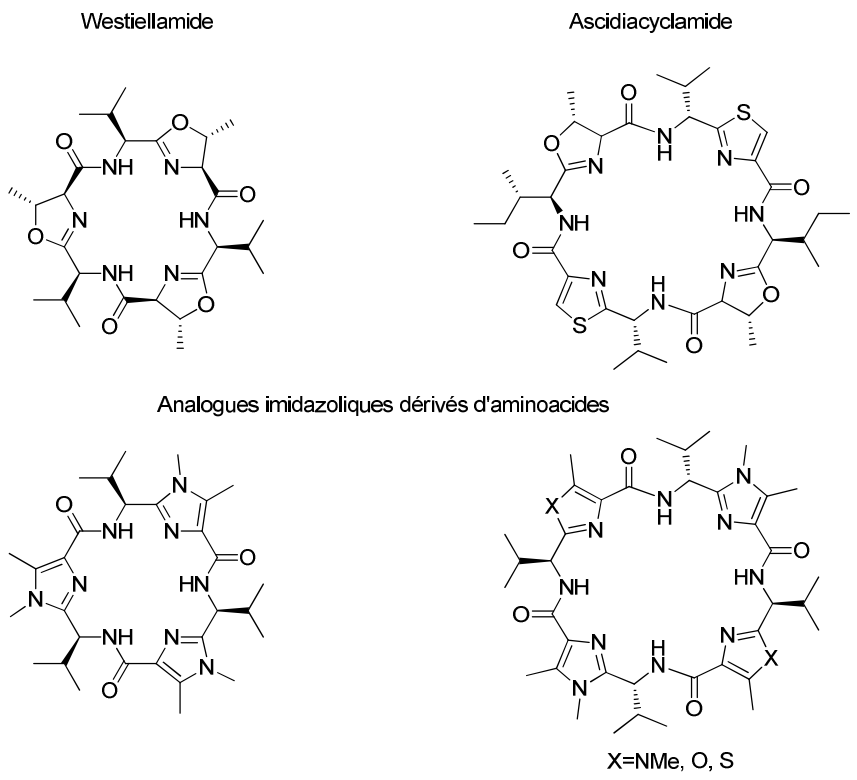


Figure 26

Dans ce cas, les imidazoles synthétisés sont obtenus à partir d'un intermédiaire amidocétone qui subit une condensation-cyclisation en milieu acide [172](Schéma 85).

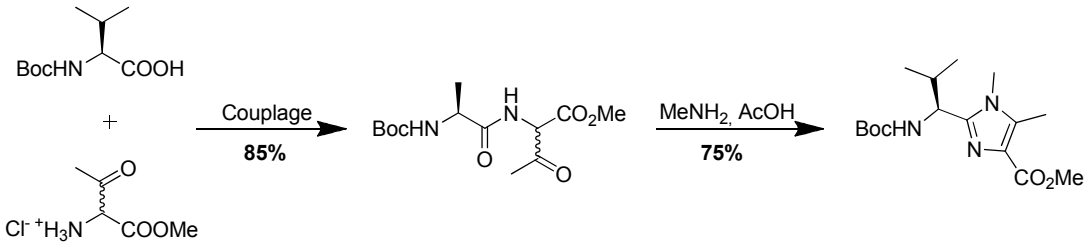


Schéma 85

2.1.3.3.3 Travaux antérieurs du laboratoire et projet de thèse

Notre équipe a également apporté sa contribution à la synthèse d'imidazoles dérivés d'aminoacides[173]. Nous nous sommes intéressés à la synthèse d'aminoacides comportant des motifs imidazoles des cotés *C* et *N*-terminaux (Schéma 86).

[172] Haberhauer, G.; Rominger, F. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6335.

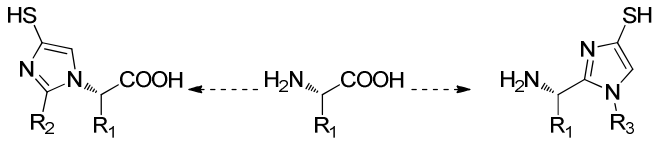


Schéma 86

La stratégie de synthèse est basée sur la cyclisation intramoléculaire d'un amide et d'un thioamide, obtenu à partir du dérivé amidoacétonitrile correspondant (Schéma 87).

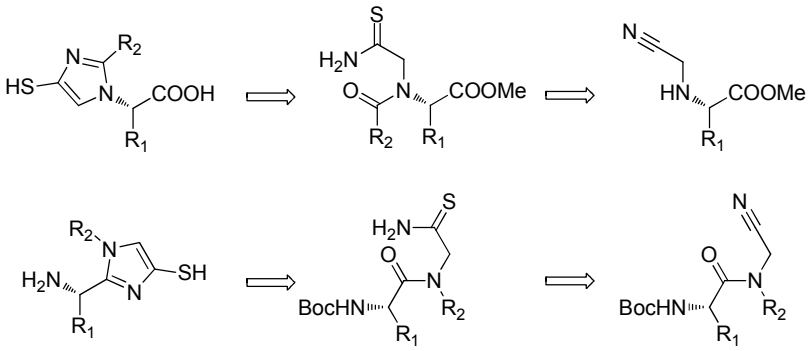


Schéma 87

La synthèse d'un composé modèle a tout d'abord été réalisée afin d'étudier la faisabilité de la réaction (Schéma 88).

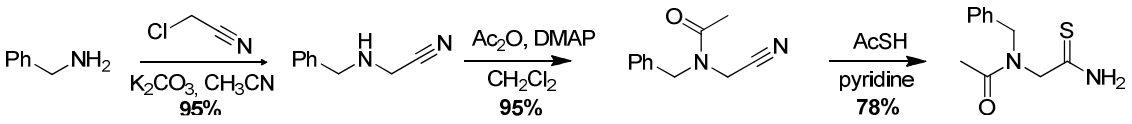


Schéma 88

Les essais préliminaires concernant la réaction de cyclisation ont été décevants. Cette réaction avait été décrite par Hopkins *et al.*[174](entrée 2) vingt ans auparavant, cependant nous n'avons pas été en mesure de reproduire les rendements décrits, même sur un modèle simplifié. Il a donc été nécessaire de réaliser une optimisation sur le composé modèle (Schéma 89) et les résultats observés sont présentés dans le Tableau 6.

[173] Crépin, A.; Wattier, N.; Petit, S.; Bischoff, L.; Fruit, C.; Marsais, F. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 128.
[174] Holler, T.; Ruan, F.; Spaltenstein, A.; Hopkins, P. B. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4570

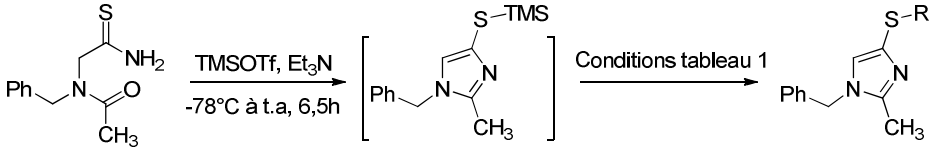


Schéma 89

Conditions	Rendement isolé
$NaBH_4$, puis Bn-Cl	R=Bn, 24%
$NaBH_4$ puis PMB-Cl	R=PMB, 32%
$NaBH_4$ puis Boc_2O, 3h	R=Boc, 31%
Boc_2O, 3h	R=Boc, 30%
Boc_2O, DMAP, 12h	R=Boc, 50%
MeOH, puis Boc_2O, DMAP, 16h	R=Boc, 60%

Tableau 6

Il est à noter que d'autres méthodes de synthèse des mercaptoimidazoles avaient été décrits dans la littérature, notamment grâce aux travaux de Deprez *et al.*[175] au sein du groupe Roussel-Uclaf, donnant accès à des imidazoles totalement substitués.

Ayant des conditions conduisant à des rendements acceptables, nous avons poursuivi l'étude et les avons appliquées à la synthèse d'imidazoles *C*- et *N*-terminaux (Schémas 90 et 91).

[175] a) Deprez, P.; Mandine, E.; Vermond, A.; Lesuisse, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1287. b) Deprez et al. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2357. c) Heitsch, H.; Wagner, A.; Yadav-Bhatnagar, N.; Griffoul-Marteau, C. *Synthesis* **1996**, 4383.

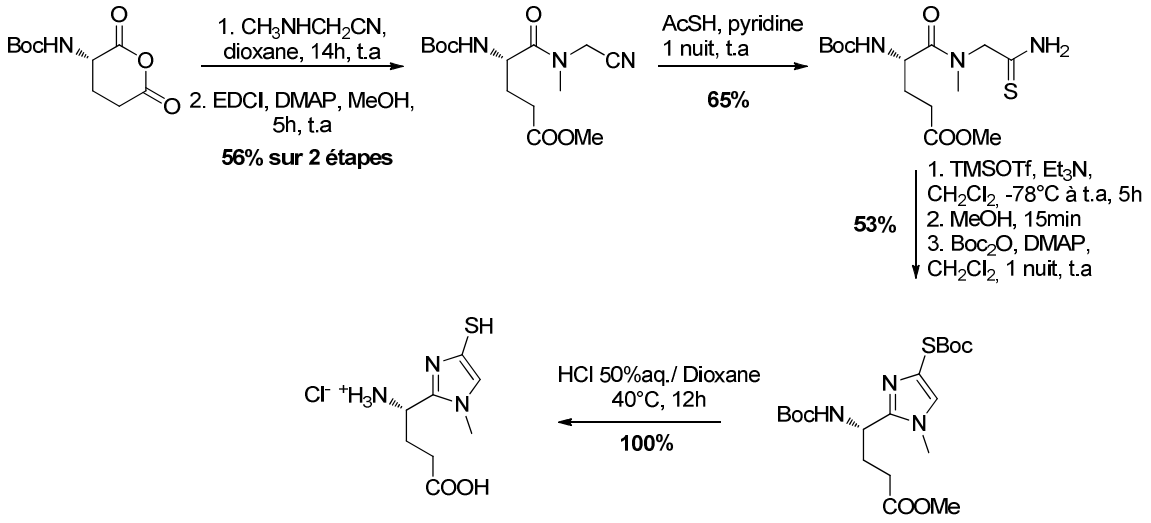


Schéma 90 – Application à un imidazole *C*-terminal

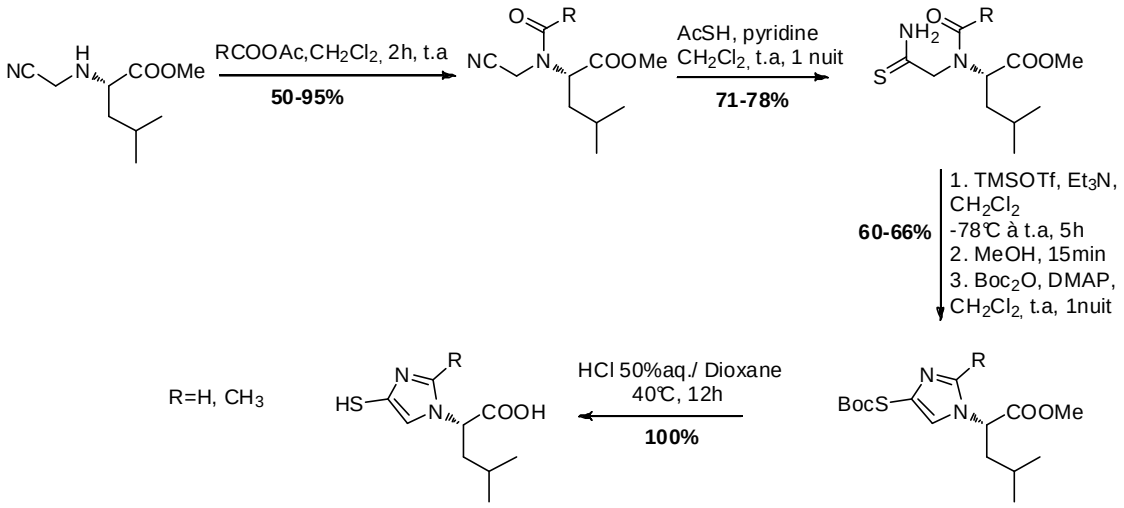


Schéma 91 – Application à un imidazole *N*-terminal

Souhaitant par la suite adapter potentiellement cette méthode à la SPPS, nous avons examiné la compatibilité de notre méthodologie avec un autre lien amide présent sur le substrat. Pour cela, nous avons réalisé l'étude sur le couple Phe-Gly. Celui-ci est engagé dans la même séquence réactionnelle que vu précédemment et nous donne ainsi accès aux composés S-Boc et S-Me (Schéma 92).

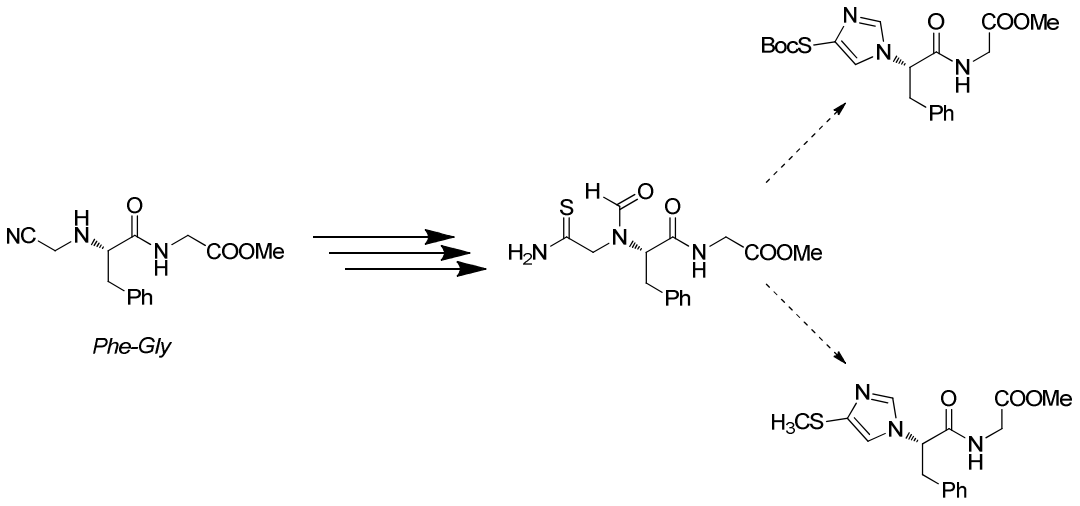


Schéma 92 - Compatibilité avec un lien peptidique

Par analogie avec les méthodes décrites précédemment, nous souhaitions accéder aux imidazoles non substitués. Des tentatives de désulfurisation des dérivés S-Boc n'ont pas conduit au produit désiré, alors que le traitement par le Nickel de Raney du méthylsulfanyl nous permet d'accéder à l'imidazole non substitué en positions 4 et 5 (Schéma 93).

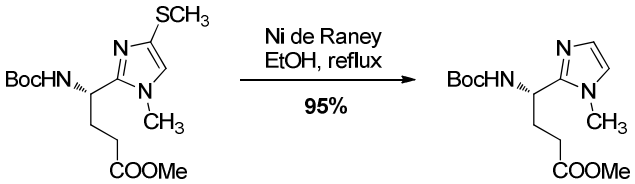


Schéma 93 – Accès aux imidazoles non substitués

Le projet de thèse s'inscrit dans la suite des travaux présentés ci-dessus et déjà effectués au laboratoire. En effet, suite aux travaux concernant la synthèse de mercaptoimidazoles dérivés d'aminoacides, l'objectif premier est de synthétiser des dipeptides comportant un cycle imidazole mime du lien amide (Figure 27).

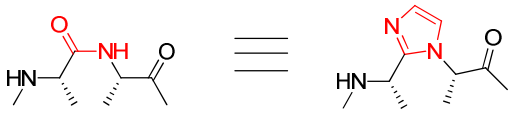


Figure 27

Dans un second temps, nous allons nous intéresser à la synthèse d'analogues peptidiques comprenant notre mime, et en particulier à l'endomorphine II. Lors de cette synthèse une méthode de couplage engageant des carboxylates de lithium a été mise au point. Ce point particulier sera développé dans une troisième partie.

2.2 Synthèse de pseudopeptides de type imidazolique

2.2.1 Etude de faisabilité par l'intermédiaire cyanométhylamine

2.2.1.1 Rétrosynthèse envisagée

Notre étude initiale pour la synthèse d'imidazoles *C* et *N*-terminaux dérivés d'aminoacides nous a conduit à la synthèse de composés où la liaison amide est remplacée par un imidazole. La rétrosynthèse envisagée est présentée Schéma 94.

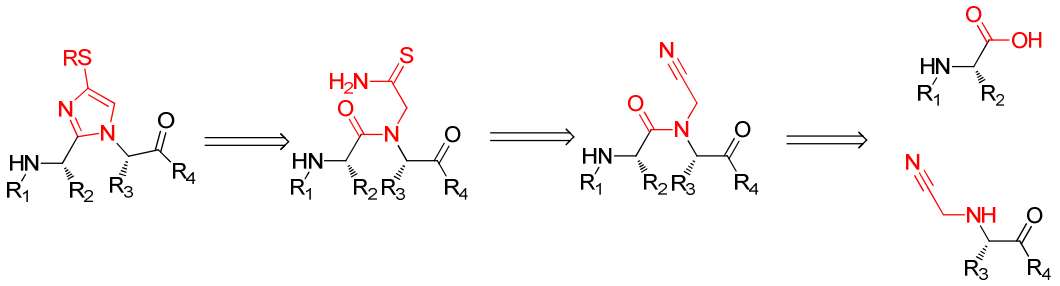


Schéma 94

L'imidazole doit pouvoir être obtenu par cyclisation d'un thioamide sur le carbonyle de l'amide tertiaire, lui-même obtenu à partir de la fonction nitrile correspondante. Ce « cyanométhylamide » serait obtenu par couplage peptidique entre un acide aminé N-protégé et une cyanométhylamine.

Nous avons choisi le dipeptide modèle Ala-Ala afin d'étudier la faisabilité de la synthèse. Ce modèle permet :

- d'avoir deux centres asymétriques et d'observer une éventuelle épimérisation
- d'utiliser un couple d'aminoacides moyennement encombrés
- d'avoir deux chaînes latérales identiques (R_2 et R_3) afin de constater l'influence des deux positions respectives de l'imidazole sur le déplacement chimique en RMN, ceci afin de plus facilement interpréter les spectres RMN des molécules futures.

2.2.1.2 Alkylation de l'aminoacide – Formation de la cyanométhylamine

Nous avons dans un premier temps étudié la réaction de *N*-alkylation de l'ester méthylique de l'alanine. Pour cela, nous avons traité l'alanine avec du chloroacétonitrile en présence de DIEA. Malgré les précautions prises (réaction à froid, contrôle de la quantité et de la vitesse d'ajout de la base), nous n'avons pas pu isoler le produit désiré car de nombreux sous produits se forment. Nous avons donc abandonné cette voie (Schéma 95).

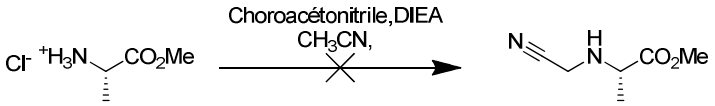


Schéma 95

Katritsky *et al.* ont décrit une méthode de *N*-dérivatisation par réaction de type Mannich utilisant le benzotriazole et le formaldéhyde à partir d'aminoesters ou d'amides (Schéma 96) [176].

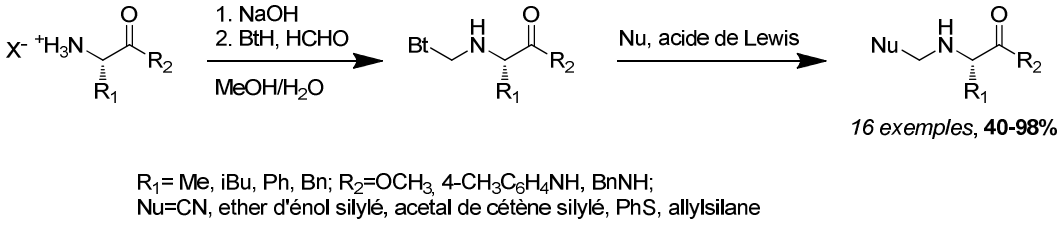


Schéma 96

Nous avons donc appliqué cette méthode au chlorhydrate de l'ester méthylique de l'alanine en utilisant le cyanure de sodium comme nucléophile. Après distillation au four à boules, le produit **45.** est obtenu avec un rendement de 61% (Schéma 97). Des précautions sont à prendre car les cyanométhylamines peuvent relarguer de l'acide cyanhydrique par décomposition à chaud.

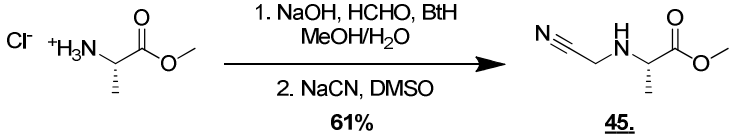


Schéma 97

[176]. Katritzky, A.R.; Kirichenko, N.; Rogovoy, B.V.; He, H.-Y.; *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9088.

2.2.1.3 Couplage peptidique

Le composé **45.** a ensuite été engagé dans la réaction de couplage peptidique. L'amine utilisée présente l'inconvénient d'être secondaire et donc encombrée, mais d'être surtout désactivée par le groupement nitrile. Le couplage peptidique d'un tel composé n'était pas été décrit dans la littérature. Cependant, Miyazawa *et al.* ont démontré la possibilité de réaliser des couplages peptidiques avec des amines porteuses d'un bras -CH_2-CO_2Me dans des conditions classiques[177].

Dans le tableau 7 sont présentées les différentes conditions de couplage testées pour la réaction de couplage entre le produit **45.** et l'alanine *N*-protégée (sous forme de carbamate de benzyle) (Schéma 98).

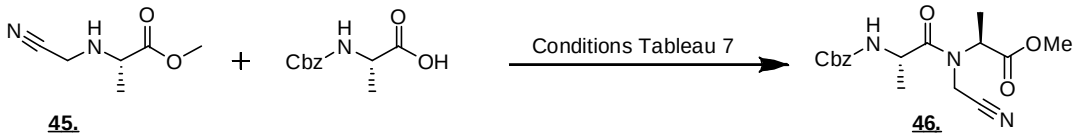


Schéma 98

Conditions	Résultat
$SOCl_2$/Et_3N	Pas de produit attendu
DCC/DMAP	Pas de produit attendu
2-fluoro-*N*-ethylpyridinium/DIEA	Pas de produit attendu
***i*-BuOC(O)Cl/DIEA**	Pas de produit attendu
HATU/DMAP/DIEA	Pas de produit attendu
Chlorure d'acide de Yamaguchi/DMAP/DIEA	Pas de produit attendu
BOP/DIEA	Pas de produit attendu

Tableau 7

Malgré la grande diversité des conditions réactionnelles testées (formation du chlorure d'acide, activation sous forme d'anhydride mixte, utilisation d'agents de couplage de type uroniums, phosphoniums, pyridiniums,…), aucun produit de couplage n'a pu être isolé. Les réactifs initiaux sont récupérés après neutralisation du milieu réactionnel.

[177] Miyazawa, T.; Hiramatsu, S.; Yamada, T.; Kuwata, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, *58*, 1976.

Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation du T3P (ou anhydride propanephosphonique) suite à des discussions avec des collaborateurs.

Le T3P est un puissant déshydratant commercialisé par divers fournisseurs, en particulier la société Archimica (Francfort, Allemagne) et utilisé pour la formation de liaisons peptidiques classiques ou difficiles[178] et ceci jusqu'à l'échelle de la centaine de tonnes avec des rendements élevés et une faible épimérisation. D'autres applications de ce réactif ont été développées, telles que la formation d'amides de Weinreb dérivés d'aminoacides[179], d'esters[180], de liaisons carbone-carbone[181] ou d'hétérocycles[182], pour la conversion d'acides carboxyliques en nitriles, la déshydratation ou l'oxydation d'alcools[183]. Il présente l'avantage d'être moins toxique que les carbodiimides, moins sensible à l'air que les sels d'uroniums et de phosphoniums et d'avoir des sous-produits ioniques facilement éliminables par extraction (Schéma 99). Il est intéressant de noter qu'en biochimie, c'est également un triphosphate, l'ATP, qui constitue la réserve d'énergie chimique potentielle utilisée en activation de fonctions.

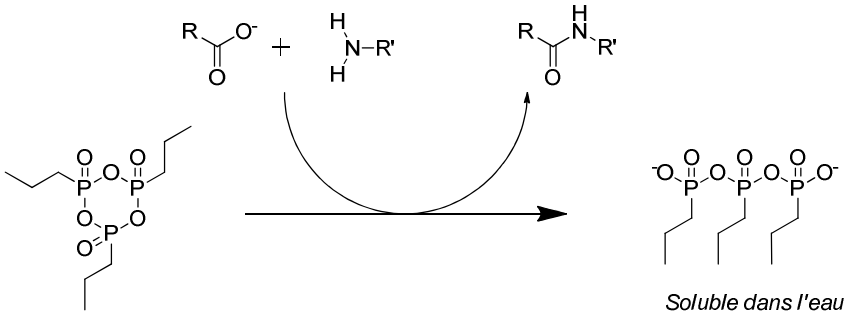


Schéma 99

C'est uniquement en utilisant ce réactif que nous avons obtenu le produit de couplage avec un rendement de 65% (Schéma 100).

[178] a) Wissmann, H.; Kleiner, H. -J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 133; b) Escher, R.; Bünning, P. *Angew.Chem.; Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 277. c) Wehner, M.; Kirschbaun, B.; Deutscher, L.; Wagner, H. J.; Hoessl, H. PCT Int. Appl. WO 2005014604, **2005**; *Chem.Abstr.* **2005**, *142*, 198208; d) Schrader, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*,904; e) Rzepecki, P.; Gallmeier, H.; Geib, N.; Cernovska,K.; König, B.; Schrader, T. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5168; f) Davies, J. S. *J. Pept. Sci.* **2003**, *9*, 471.

[179] Burkhart, F.; Hoffmann, M.; Kessler, H. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1191.

[180] Wedel, M.; Walter, A.; Montforts, F. -P. *Eur. J. Org. Chem.***2001**, 1681

[181] Hermann, S. Ger. Offen. DE 10063493, **2002**; *Chem. Abstr.***2002**, *137*, 47003

[182] Holla, W.; Napierski, B.; Rebenstock, H. -P. Ger. Offen. DE 19802969, **1999**; *Chem. Abstr.* **1999**, *131*, 131507

[183] Meudt, A.; Scherer, S.; Nerdinger, S. PCT Int. Appl. WO 2005070879, **2005**; *Chem. Abstr.* **2005**, *143*, 172649

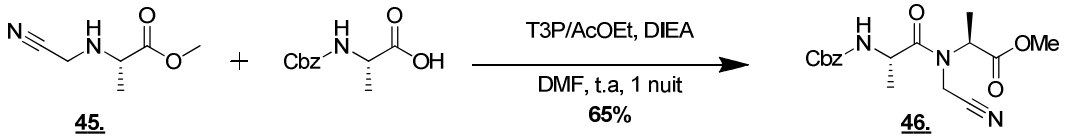


Schéma 100

Ce résultat nous a semblé très encourageant car c'était la première fois que nous obtenions le produit de couplage. Malheureusement, ce rendement n'a jamais pu être reproduit et les essais suivants ont conduit à des rendements variant entre 15 et 30%.

Nous avions également envisagé la formation du dipeptide natif suivie de l'alkylation de la liaison amide. Pour cela nous avons préparé le composé par couplage entre l'alanine *N*-protégée sous forme de carbamate de benzyle et l'alanine *C*-protégée sous forme d'ester méthylique (Schéma 101).

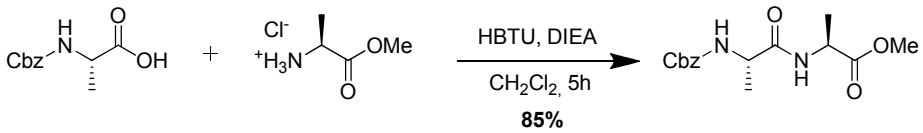


Schéma 101

Le produit désiré a été isolé avec un rendement de 85%.

Au cours des essais infructueux de couplage des cyanométhylaminoesters, nous avons tenté en parallèle de résoudre ce problème par une possible alkylation de la fonction amide créée par un halogénoacétonitrile. Pour cela, nous avons envisagé deux méthodes. Dans un premier temps, nous avons engagé le produit dans une réaction de déprotonation avec l'hydrure de sodium dans le DMF puis une alkylation par le chloroacétonitrile (Schéma 102).

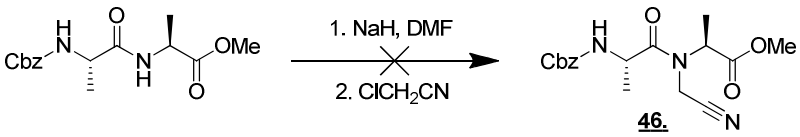


Schéma 102

Malheureusement, cet essai a conduit à une dégradation du réactif initial.

Nous avons alors essayé de former un intermédiaire silylé *in-situ* puis de le piéger par le bromoacétonitrile qui devrait être plus réactif que le chloroacétonitrile (Schéma 103).

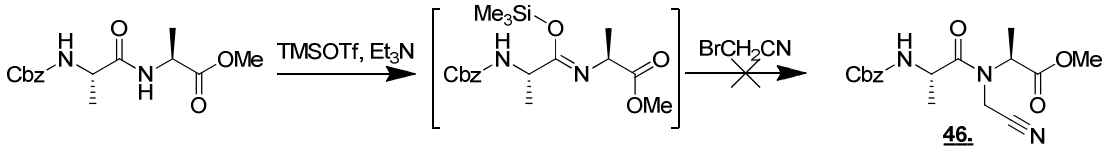


Schéma 103

Nous voyons la formation d'un produit de plus faible polarité. Malheureusement, cet intermédiaire se trouve inactif vis-à-vis de l'électrophile car même après 24h de réaction, on recupère le réactif initial après neutralisation du milieu réactionnel.

2.2.1.4 Formation du thioamide

Malgré ces problèmes, nous avons continué la synthèse en utilisant le produit de couplage **46.** dans l'étape suivante. Comme présenté dans les travaux antérieurs du laboratoire, le groupement cyano peut être transformé en thioamide par réaction avec l'acide thioacétique suivant le protocole de Sato *et al.*[184]. Il est à noter que les auteurs de cet article présentent la méthode comme ne nécessitant qu'un équivalent d'acide thioacétique alors que les quantités indiquées dans la partie expérimentale correspondent à 8 équivalents. De précédents essais réalisés par Alain Crépin dans le laboratoire ont démontré que la réaction nécessite bien un excès de réactif pour obtenir de bons rendements[185]. Le produit **46.** a été engagé dans cette réaction et avons obtenu le thioamide **47.** avec un rendement de 61% (Schéma 104).

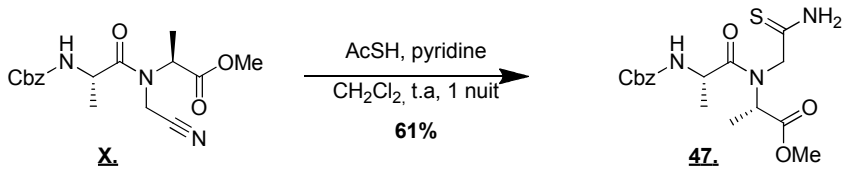


Schéma 104

[184] Ikeda, K .; Kitani, S.; Sato, K.; Suzuki, T.; Hosokawa, C.; Suzuki, Y.; Tanaka, K.; Sato, M. *Carbohydrate Res.* **2004**, *339*, 1367

[185] Crépin, A. Mémoire ingénieur CNAM, **2006**.

2.2.1.5 Cyclisation

Nous avons ainsi pu tester la réaction de cyclisation préalablement mise au point pour la synthèse des imidazoles *C* et *N*-terminaux dérivés d'aminoacides. En utilisant le même nombre d'équivalents de triflate de triméthylsilyle et de triéthylamine, la conversion n'a pas été totale. C'est seulement en utilisant 5 équivalents de triflate de triméthylsilyle et 8 équivalents de triéthylamine que l'on a pu observer la disparition totale du réactif initial. Malgré la conversion totale et après piégeage du thiol par le dicarbonate de di-tert-butyle, nous avons pu isoler 52% de produit cyclisé **48.** après purification (Schéma 105).

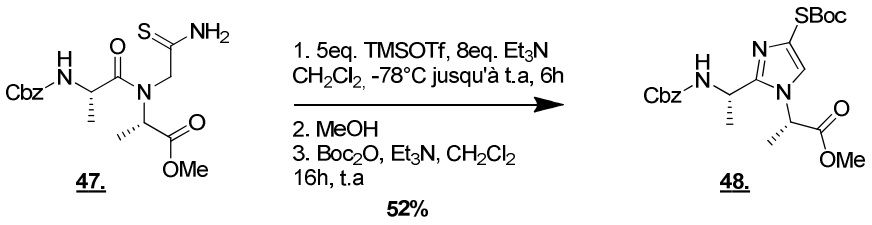


Schéma 105

D'autres électrophiles utilisés pour le piégeage lors de la dernière étape donnent accès à d'autres dérivés différemment substitués sur l'atome de soufre comme le dérivé méthylsulfanyle qui présente l'avantage de pouvoir donner accès à l'imidazole non substitué (Schéma 106).

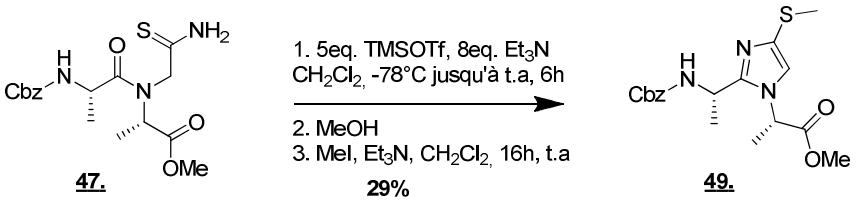


Schéma 106

Le composé **49.** est obtenu avec un rendement faible de 29% mais qui reste cohérent par rapport aux résultats obtenus sur les mimes *C* et *N*-terminaux.

Nous avons également utilisé l'acrylate de tert-butyle comme accepteur de Michael. Il présente l'avantage d'introduire une chaîne donnant facilement accès à l'acide correspondant, fonctionnalité pouvant être utilisée comme fonction réactive pour l'accrochage de synthons ou comme groupement apportant de la solubilité (Schéma 107).

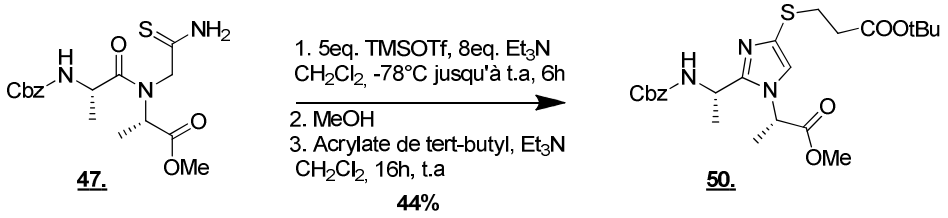


Schéma 107

Le composé **50.** a été obtenu avec un rendement de 44%.

En utilisant la même stratégie de synthèse, nous avons pu obtenir les composés **48.**, **49.** et **50.** dans lesquels le lien amide est remplacé par un imidazole. A notre connaissance, c'est le premier exemple de synthèse d'un isostère d'un lien amide de ce type. Le rendement global est de 6% sur quatre étapes (pour le composé **48.**) à partir de l'ester méthylique de l'alanine (Schéma 108).

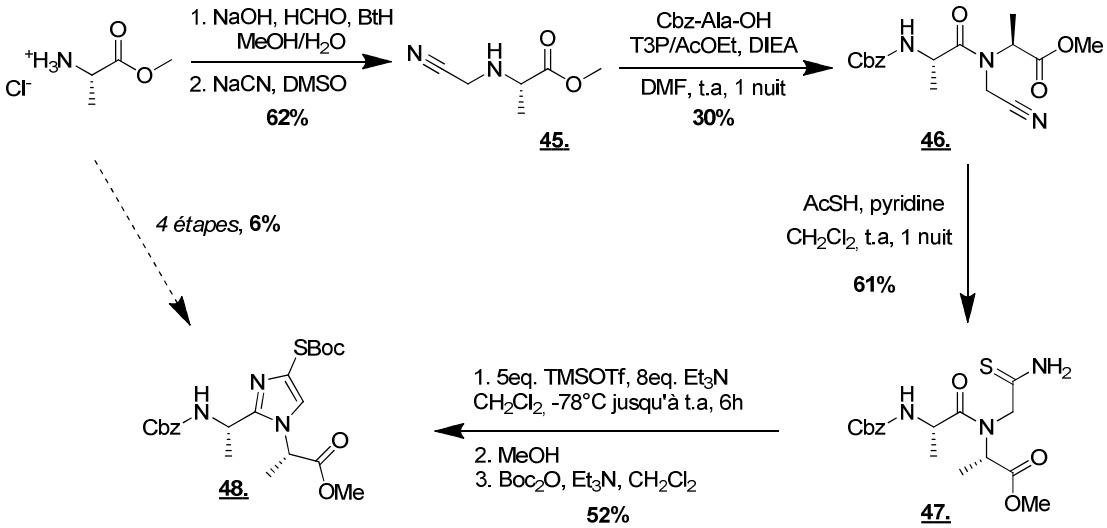


Schéma 108

L'étape limitante de cette voie de synthèse est la formation de l'amide tertiaire, ne conduisant qu'à de faibles rendements de produit de couplage et qui sont de plus difficilement reproductibles. La formation de l'imidazole conduit également à des rendements moyens, mais semblables à ceux obtenus pour la formation des imidazoles *C* et *N*-terminaux. Nous pouvons présager que dans le cas d'aminoacides plus encombrés, ces difficultés seront encore accentuées, ce qui nous a poussés à revisiter la voie de synthèse.

2.2.2 Synthèse revisitée par un intermédiaire aminoacetamide

2.2.2.1 Rétrosynthèse envisagée

Dans la partie précédente, nous avons validé la possibilité de synthétiser des isostères imidazoliques de lien amide dans des structures dipeptidiques. Cependant, la voie de synthèse utilisée est peu efficace, ne conduisant qu'à un rendement global de 6% sur 4 étapes. Nous avons donc revu notre voie de synthèse (Schéma 109).

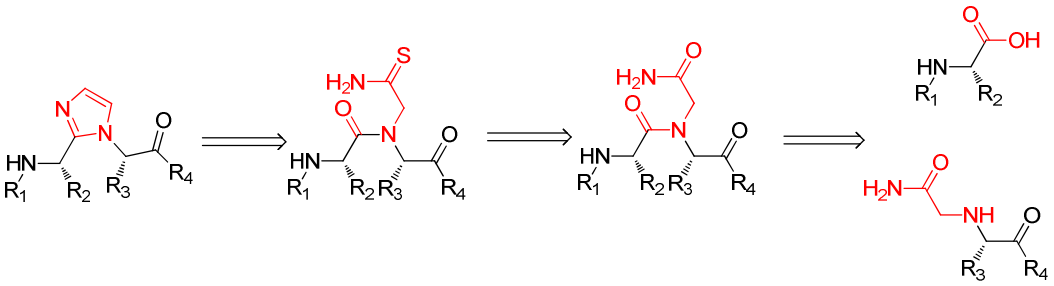


Schéma 109

Nous avons souhaité passer par un intermédiaire de type amidoacétamide, qui pourrait facilement donner accès à l'amidothioamide clef **47.** L'incertitude qui demeure concerne la sélectivité de la thionation qui devra être en faveur de l'amide primaire par rapport à l'amide tertiaire, au carbamate et à l'ester[186]. Cet amidoacétamide serait obtenu rapidement par couplage d'un acide aminé et d'un *N*-carboxamidométhylaminoacide, produit de N-alkylation d'un acide aminé.

Nous avons utilisé le même modèle Ala-Ala pour cette étude. Néanmoins, nous avons changé la nature des groupements protecteurs des aminoacides et avons choisi l'ester de tert-butyle ainsi que le carbamate de tert-butyle. La déprotection simultanée des fonctions acide et amine permettrait ainsi accéder au peptidomimétique zwitterionique comme présenté Schéma 110.

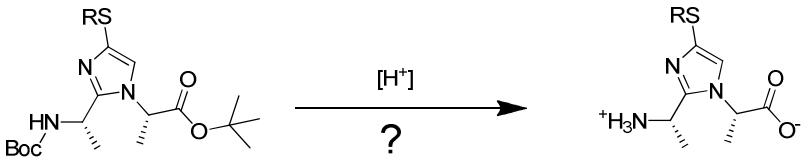


Schéma 110

[186] Ori, M.; Nishio, T. *Heterocycles* **2000**, *52*, 111

2.2.2.2 N-alkylation par l'iodoacetamide

A notre connaissance, l'introduction d'un groupement carboxamidométhyle par alkylation d'un aminoester dérivé d'aminoacide n'a pas été décrite dans la littérature. On peut cependant citer des travaux du groupe Merck qui a travaillé sur des amines chirales de cyclopentane pour leur activité en tant qu'antagonistes des récepteurs NK_1[187]. Ils ont utilisé l'iodoacétamide pour alkyler les amines en présence de DIEA dans l'acétonitrile (Schéma 111).

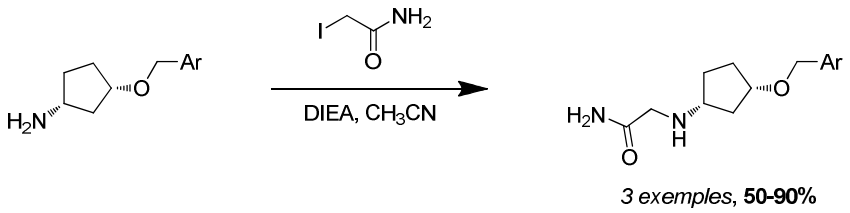


Schéma 111

Nous avons appliqué les mêmes conditions réactionnelles au chlorhydrate de l'ester *tert*-butylique de l'alanine (Schéma 112).

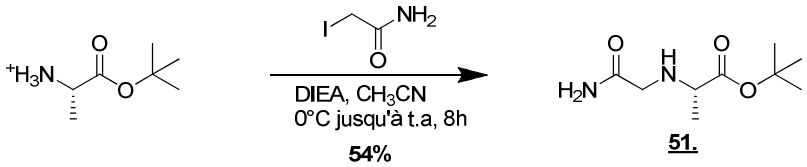


Schéma 112

Nous avons observé la disparition totale de l'amine de départ mais n'avons pu isoler le produit **51.** qu'avec un rendement moyen de 54%. Nous l'expliquons par la forte hydrophilie du composé formé, porteur du bras acétamide. Cette méthode permet néanmoins la préparation du composé désiré. De plus, comparativement à la première voie de synthèse, elle évite l'utilisation du cyanure de sodium et les réactions sont beaucoup plus rapides.

[187] Fincke, P. E. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4497.

2.2.2.3 Couplage peptidique de l'aminoacetamide

Nous avons engagé le produit **51.** dans la réaction de couplage peptidique avec le carbamate de tert-butyle de l'alanine en utilisant le T3P comme agent de couplage, seul réactif ayant donné accès au produit désiré dans la première voie de synthèse (Schéma 113).

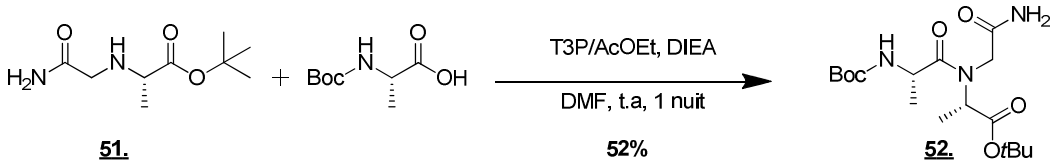


Schéma 113

Le produit attendu **52.** a été isolé avec un rendement de 52% et de façon reproductible, ce qui en fait une méthode efficace, contrairement au couplage du dérivé aminoacétonitrile. Nous reviendrons sur l'optimisation de cette étape par la suite.

2.2.2.4 Thionation sélective

En 2005, Yonezawa *et al.* ont décrit une thionation sélective d'amide primaire *vs* amide tertiaire et carbamate par l'utilisation du réactif de Lawesson[189][190] dans le diméthoxyéthane sur des structures peptidomimétiques de type bistratamides[191] (Schéma 114).

[189] Scheibye, S.; Shabana, R.; Lawesson, S. O.; Romming, C. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 993.
[190] Ozturk, T.; Ertas, E.; Mert, O. Chem. Rev. 2007, 5210.
[191] Yonezawa, Y.; Tani, N.; Shin, C.-G. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*; **2005**, *78*, 1492.

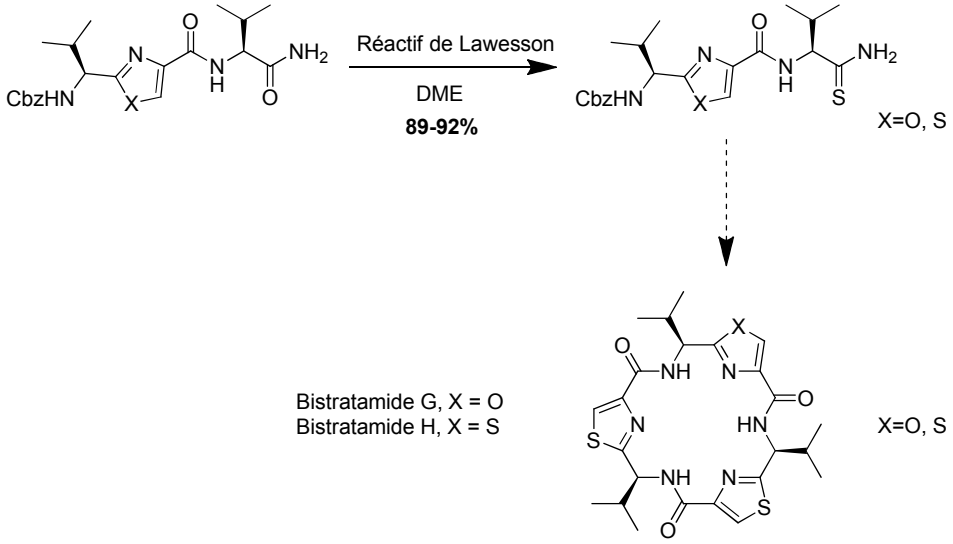


Schéma 114

Afin de tester ces conditions dans notre cas, nous avons engagé le produit **52.** dans cette étape de thionation sélective avec le réactif de Lawesson dans le diméthyléthylèneglycol (Schéma 115).

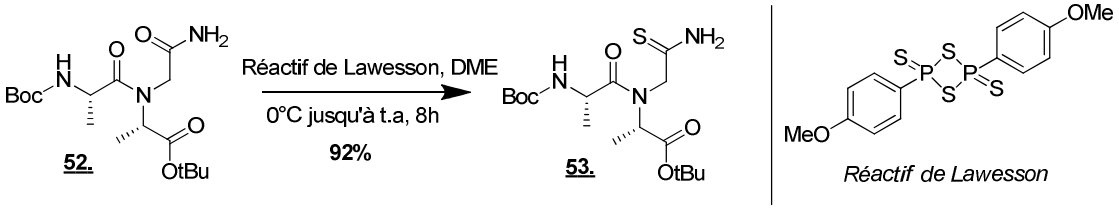


Schéma 115

Le produit de thionation **53.** a été obtenu avec un rendement de 92% après purification. Aucune trace de thionation non sélective n'a été observée.

Comparativement à la première voie de synthèse, nous obtenons le thioamide clef pour la cyclisation avec un rendement de 26% sur trois étapes contre 11% dans le cas précédent.

2.2.2.5 Cyclisation

Nous avons engagé le produit **53.** dans la réaction de cyclisation comme vu précédemment (Schéma 116).

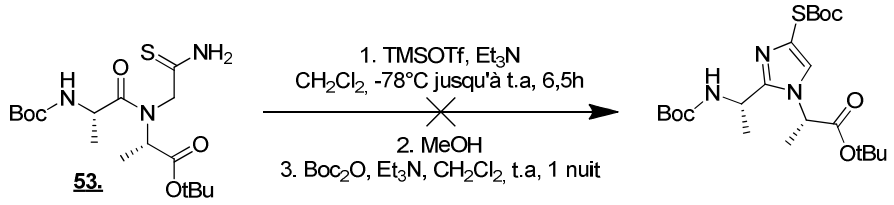


Schéma 116

Malheureusement, nous n'avons jamais observé le produit de cyclisation mais uniquement des produits de dégradation. Nous pensons que l'ester tert-butylique est déprotégé par action du triflate de triméthylsilyle[192] ce qui résulte en la perte du produit en phase aqueuse. Après extraction de celle-ci, nous n'avons pas été en mesure d'isoler le produit souhaité.

Nous avons alors opté pour des groupes protecteurs plus résistants aux électrophiles, à savoir l'ester méthylique et le carbamate de tert-butyle selon une séquence réactionnelle identique (Schéma 117).

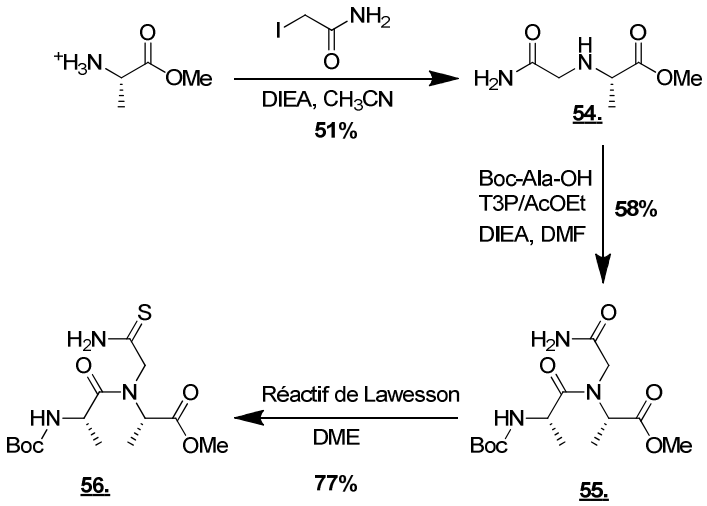


Schéma 117

Au cours d'études précédentes, Alain Crépin[193] et Nicolas Wattier[194] avaient démontré la compatibilité du groupement Boc avec les conditions de cyclisation. Cependant, nous n'avons jamais observé le produit de cyclisation pour cette réaction (Schéma 118).

[192] Gennet, V. *Thèse de doctorat*, **2004**, Ecole Polytechnique
[193] Crépin, A. *Stage Ingénieur CNAM*, **2006**, Université de Rouen.
[194] Wattier, N. *Stage Master 2*, **2007**, Université de Rouen.

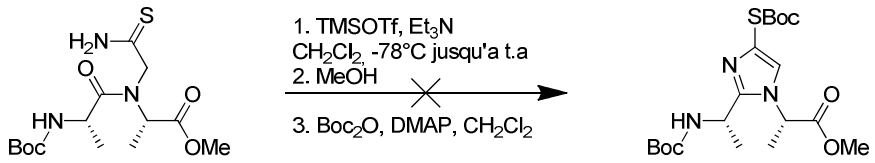


Schéma 118

Devant les problèmes rencontrés avec les groupements protecteurs de type Boc-NH et CO_2tBu, nous avons abandonné cette voie de synthèse pour revenir aux groupements protecteurs utilisés précédemment, à savoir le carbamate de benzyle et l'ester méthylique.

2.2.2.6 Synthèse du thioamide « one-pot »

Désirant offrir aux futurs utilisateurs de cette méthode un outil efficace dans la synthèse de peptidomimétiques, nous avons examiné la possibilité de réaliser une procédure « one-pot » à partir de l'acide aminé *C*-protégé jusqu'au thioamide (Schéma 119).

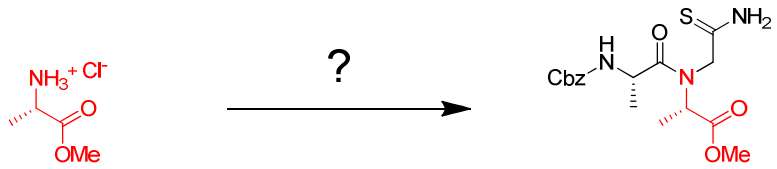


Schéma 119

En effet, nous avons pensé qu'en raison de la polarité élevée des intermédiaires aminoacetamide et amidoacetamide, les étapes d'extraction et de purification sur gel de silice devaient occasionner des pertes importantes. Ceci était corroboré par le fait que les suivis de réaction par CCM montraient, paradoxalement, une conversion totale.

Nous avons donc engagé l'ester méthylique de l'alanine dans la première étape d'alkylation. Après 6h, la CCM montre une conversion totale. Nous avons alors ajouté le carbamate de benzyle de l'alanine ainsi que le T3P et la DIEA de manière à réaliser le couplage peptidique. Après une nuit, la réaction de couplage semble être terminée (disparition de l'intermédiaire aminoacetamide). Cependant, devant la haute teneur en sous-produits des étapes précédentes, nous avons procédé à une extraction, puis engagé le brut réactionnel dans l'étape de thionation sélective en présence du réactif de Lawesson. La réaction est terminée après 8h (Schéma 120).

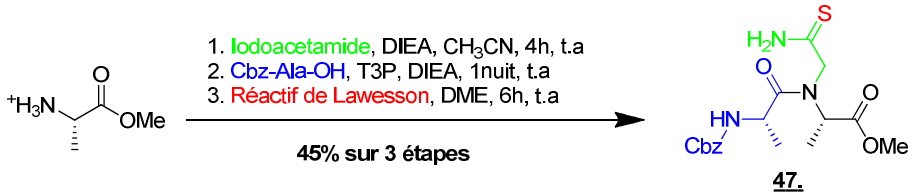


Schéma 120

Après traitement et purification sur gel de silice, le produit **47.** est isolé avec un rendement de 45% sur trois étapes, soit un rendement moyen par étape de 77% et ceci jusqu'à une échelle de 15g. On peut comparer les différentes voies d'accès à ce composé dans le Tableau 8.

Voie de synthèse	Rendement global en composé 47.	Etapes de purification
Voie A intermédiaires 45., 46. et 47.	11%	1 distillation, 2 Flash Chromatographies
Voie B intermédiaires 51., 52. et 53.	26%	2 Flash Chromatographies
Voie C « one-pot »	45%	1 Flash Chromatographie

Tableau 8 – Comparatif des voies de synthèse

Nous observons que les rendements obtenus pour la voie de synthèse en un seul pot sont bien supérieurs à ceux des voies séquencées.

2.2.2.7 Synthèse « one-pot » d'autres couples de dipeptides

Dans le but de généraliser notre méthode de synthèse de pseudopeptides imidazoliques, nous avons voulu étendre notre méthode de synthèse de thioamides « one pot » à d'autres couples de dipeptides (Schéma 121).

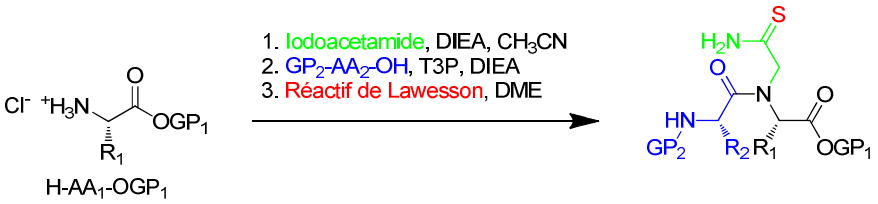


Schéma 121

Pour cela, nous nous sommes intéressés aux couples AA_1-AA_2 suivants :

- Tyr-Ala : compatibilité avec une chaine latérale porteuse d'un cycle aromatique.
- Asp-Phe : présence d'une chaine latérale acide.
- Ala-Lys et Arg-Phe : présence de chaines latérales basiques.
- Pro-Phe et Pro Leu : incorporation de proline.
- Phg-Phe : incorporation d'un acide aminé comportant un centre asymétrique sensible à l'épimérisation.

De plus, certains de ces couples sont des cibles intéressantes en vue de leur incorporation dans des peptides d'intérêt biologique, comme le dipeptide Tyr-Ala qui peut entrer dans la synthèse d'un analogue de l'endomorphine 2 (détaillée dans la partie 2.3). La compatibilité de la méthode avec un acide aminé *N*-terminal protégé sous forme de Fmoc sera également examinée par la synthèse du dipeptide Ile-Ala, ce qui permettrait d'envisager l'incorporation des modèles dipeptidiques en phase solide.

La phénylalanine étant souvent incorporée du coté *C*-terminal du dipeptide, il était plus simple expérimentalement pour nous de préparer une quantité suffisante (échelle de 5g) de l'amine porteuse du bras acétamidométhyle comme présenté dans le Schéma 122.

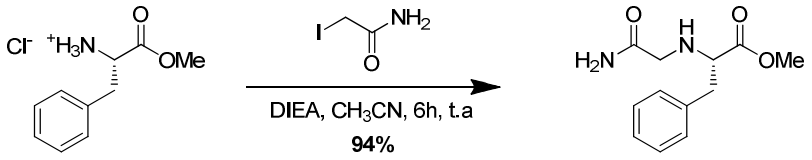


Schéma 122

L'ester méthylique de la phénylalanine est facilement alkylé par l'iodoacétamide donnant accès au composé avec un rendement de 94%. On observe que le rendement est bien supérieur au cas de l'alanine car le composé formé est plus hydrophobe et s'extrait plus facilement.

Les acides aminés *C*-protégés ont été engagés dans la réaction « one-pot » pour la formation des thioamides. Les molécules et résultats obtenus sont présentés dans le Schéma 123 et dans la Figure 30.

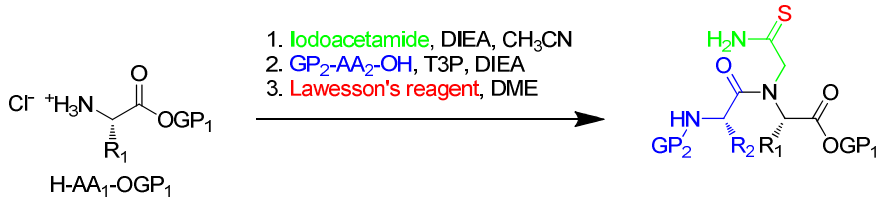


Schéma 123

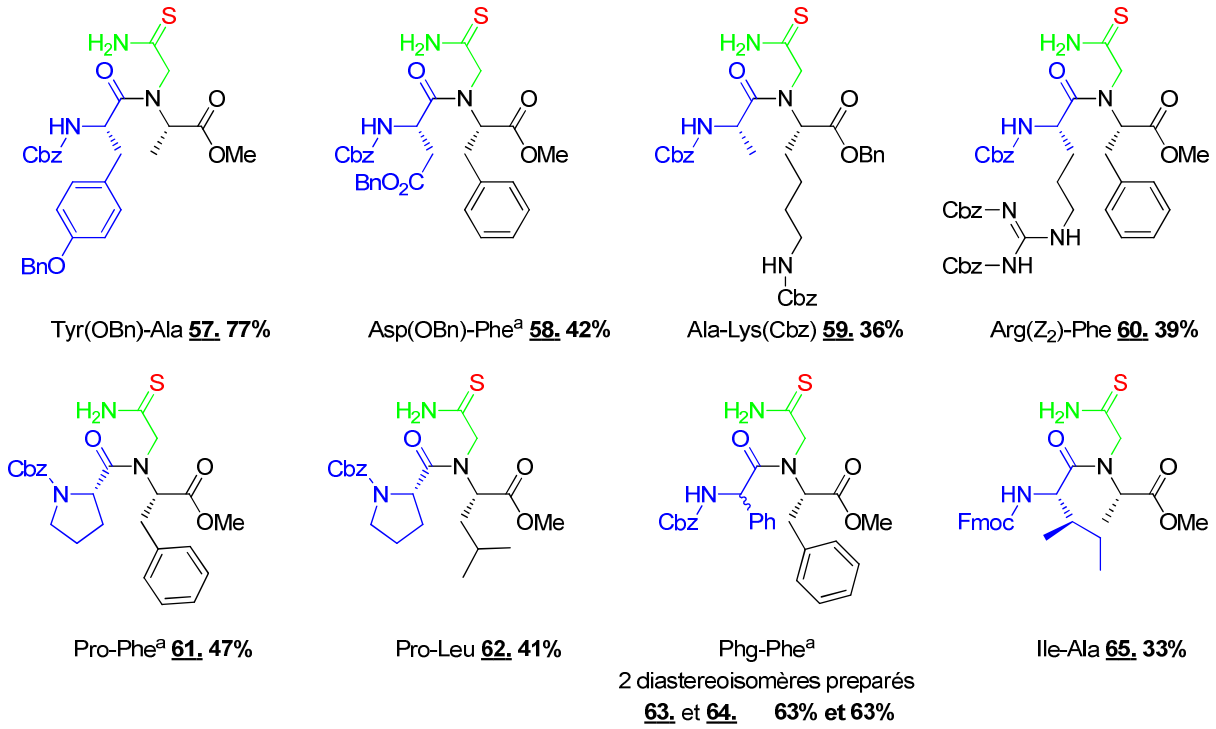


Figure 28

[a]Pour ces exemples, on a utilisé l'aminoacetamide dérivé de la phénylalalnine pour la réaction, rendement indiqué pour trois étapes.

Dans l'ensemble, nous obtenons des rendements moyens à satisfaisants, compte-tenu du fait qu'il s'agit de trois transformations en un seul pot. En ce qui concerne le couple phénylglycine–phénylalanine, les deux couples de diastéréomères ont été synthétisés et seront utilisés par la suite pour quantifier la racémisation de la cyclisation.

2.2.3 Optimisation de la réaction de cyclisation

Dans le paragraphe 2.2.1.5, nous avons montré la faisabilité de la synthèse du produit de cyclisation à partir du thioamide sur le modèle Ala-Ala. Cependant, le rendement de cette réaction est moyen et nous avons souhaité optimiser cette étape. Dans leur article sur l'obtention des imidazolethiols, Hopkins *et al.*[89] présentent des rendements compris entre 42 et 84% et font intervenir successivement le fluorure de sodium ainsi que le borohydrure de sodium (Schéma 124).

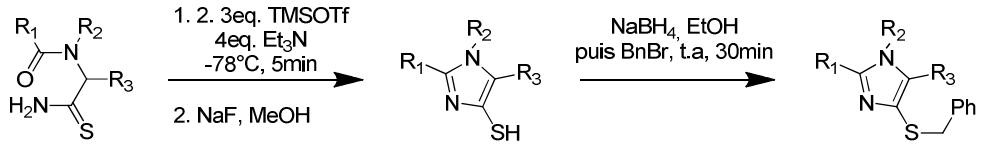


Schéma 124

Sur les mimes *C*- et *N*-terminaux d'aminoacides, A. Crépin avait démontré que cette méthode ne conduisait pas aux produits désirés. Nous avons néanmoins souhaité reprendre les conditions réactionnelles exactes décrites par Hopkins afin de tenter la cyclisation de notre modèle (Schéma 125).

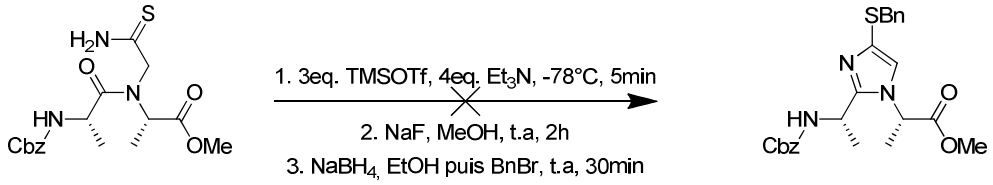


Schéma 125

Les conditions proposées par Hopkins ne permettent effectivement pas d'accéder au produit attendu et on récupère uniquement le réactif initial. Nous avons tenté d'augmenter le temps de réaction pour la première étape de cyclisation mais cela n'a eu aucune influence.

Nous avons ensuite revu les conditions ayant donné accès au produit **49.** porteur d'un groupement méthylsulfanyle, ceci représentant le cas le plus défavorable. Nous avons fait varier les paramètres comme la nature ou la quantité de l'agent activant de la cyclisation, de la base, le temps ou encore le solvant (Schéma 126). Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

[89] Holler, T.; Ruan, F.; Spaltenstein, A.; Hopkins, P. B. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4570

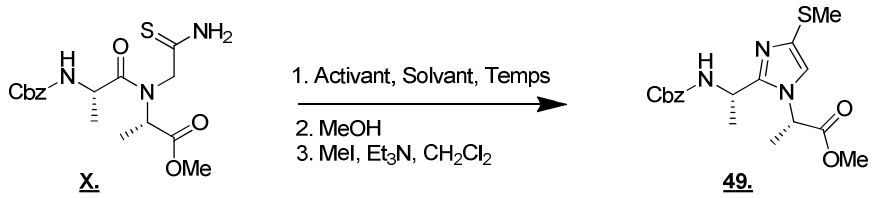


Schéma 126

Entrée	Conditions réactionnelles	Rendement isolé
1	3eq. TMSOTf, 4eq. Et_3N, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	7%
2	3eq. TMSOTf, 4eq. Et_3N, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 14h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	22%
3	5eq. TMSOTf, 8eq. Et_3N, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	31%
4	5eq. TMSOTf, 8eq. Et_3N, Toluène, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	43%
5	5eq. TMSOTf, 8eq. Et_3N, Toluène/CH_2Cl_2 9/1, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	49%
6	3eq. TMSOTf, 4eq. DBU, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	21%
7	3eq. TBDMSOTf, 4eq. Et_3N, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 6h ; MeOH, 15min ; MeI (1.2eq.), Et_3N (2.5eq.), CH_2Cl_2	0% (réactif initial)
8	1,2eq. Tf_2O, 2,5eq. Et_3N, CH_2Cl_2, -78°C jusqu'à t.a, 15min	Produit **46.**; 88%

Tableau 9

On observe que l'utilisation d'une quantité moins importante d'agent activant nuit au rendement de la réaction, même en augmentant le temps (entrées 1 et 2). Le changement d'agent activant par le TBDMSOTf plus encombré conserve le réactif initial (entrée 7) et le changement de base conduit au même rendement. Un meilleur résultat est obtenu en remplaçant le solvant de la réaction par le toluène anhydre (entrée 4). Cependant, le thioamide initial n'est que peu soluble dans le milieu et nous avons pensé que cela pouvait nuire à l'efficacité de la réaction. L'ajout de 10% de dichlorométhane supprime ce problème tout en ayant un effet bénéfique sur la réaction puisque le produit désiré a été isolé avec un rendement de 49% (entrée 5).

Il est à noter l'obtention du produit **46.** par l'utilisation de l'anhydride triflique avec un bon rendement (entrée 8). Ceci représente une alternative d'accès au dérivé de type cyanométhylamide.

Les conditions réactionnelles ont été appliquées au thioamide Tyr(OBn)-Ala **57.** comme présenté Schéma 127.

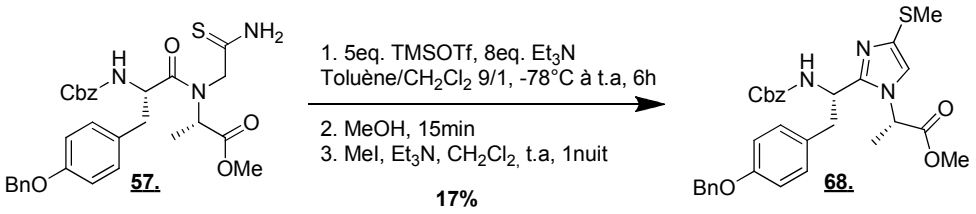


Schéma 127

Nous n'avons pu isoler le produit souhaité qu'avec un rendement de 17%. Cependant, nous avons observé la formation d'un autre produit de très faible polarité avec un rendement de 47%. Après des analyses RMN 1D (^{1}H et ^{13}C) et 2D (COSY, NOESY, HMQC, HMBC), nous avons déterminé la structure du composé présenté Figure 30.

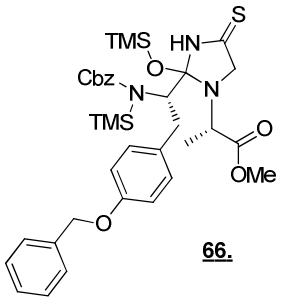
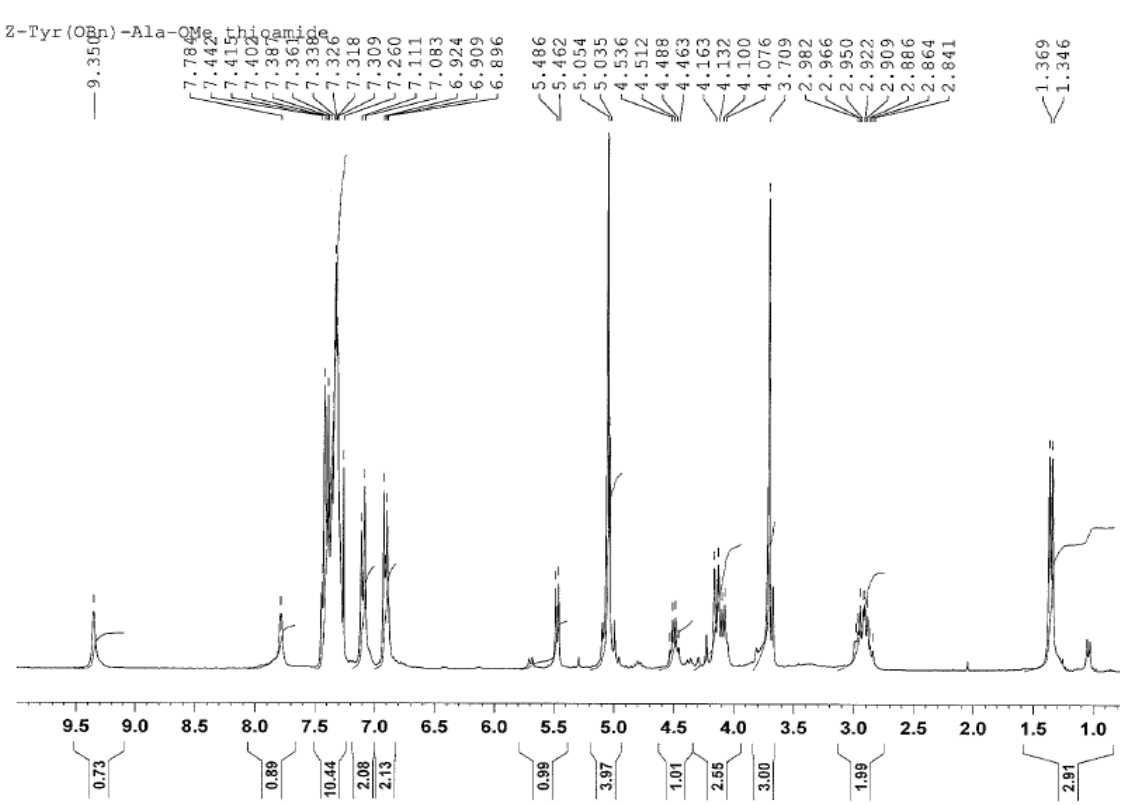
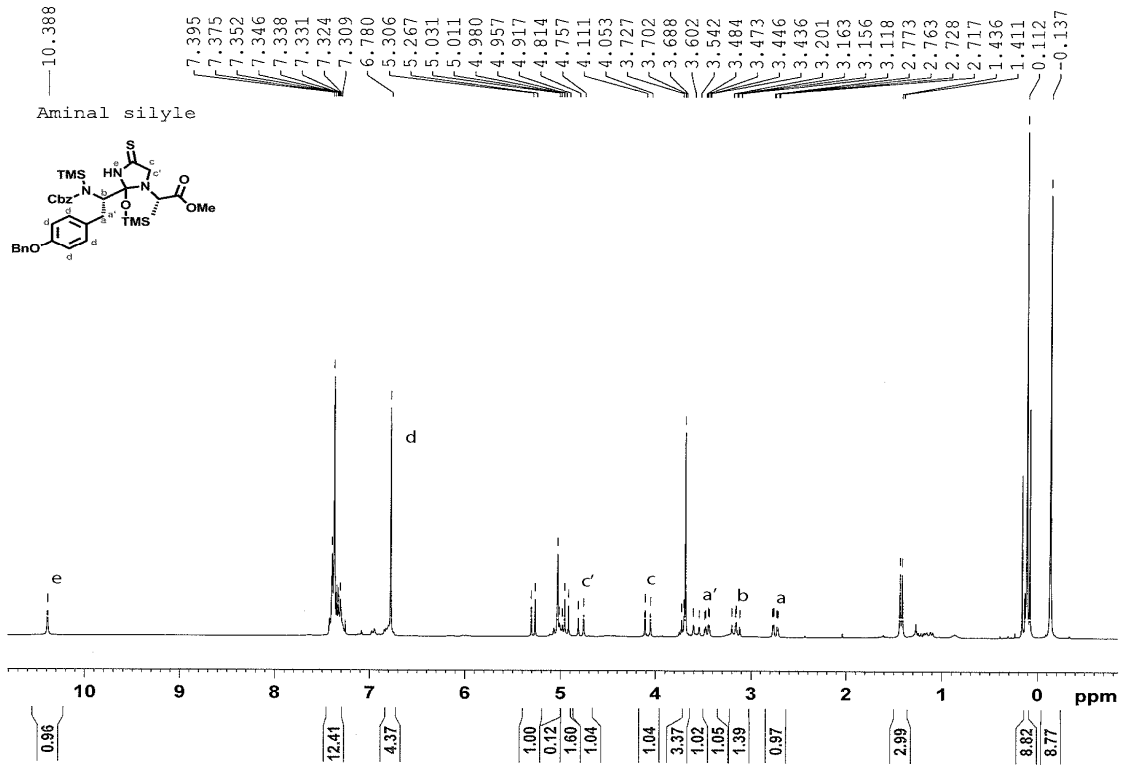


Figure 29

La détermination structurale de ce composé s'est avérée complexe. Cependant, certains signaux caractéristiques ont pu nous guider dans la résolution de ce problème. En effet, en RMN ^{1}H, le signal du CHα de la tyrosine protégée a subi un blindage très important (δ=3,15 ppm). De plus, sont apparus 2 pics à faible déplacement chimique (haut champ) caractéristiques des groupements triméthylsilyle ainsi qu'une disparition du proton du NH du carbamate. Enfin, on observe 2 protons diastéréotopiques correspondants aux protons en α du thioamide ainsi qu'une disparition d'un seul des protons du thioamide en même temps qu'un fort déblindage de l'autre NH. En RMN ^{13}C, la présence d'un signal à 201 ppm nous a prouvé la présence d'un thiocarbonyle, élément qui aurait dû disparaître au cours de la cyclisation. De plus, on observe la disparition du signal correspondant à l'amide tertiaire et l'apparition d'un signal de même

multiplicité mais beaucoup plus blindé. Des expériences de corrélations 2D COSY, NOESY, HMQC et HMBC nous ont confirmé la structure établie.





Ce produit est stable et peut être isolé par chromatographie sur gel de silice ce qui est apparu surprenant du fait de la silylation.

L'obtention de ce composé nous laisse penser que l'élimination du groupe triméthylsilylhydroxyl est une étape lente et peu favorable, surtout dans le cas de chaînes latérales encombrées et certainement plus lente que l'aromatisation du cycle imidazolique.

Afin de favoriser cette élimination, nous avons provoqué l'élimination-aromatisation par activation thermique (Schéma 128)

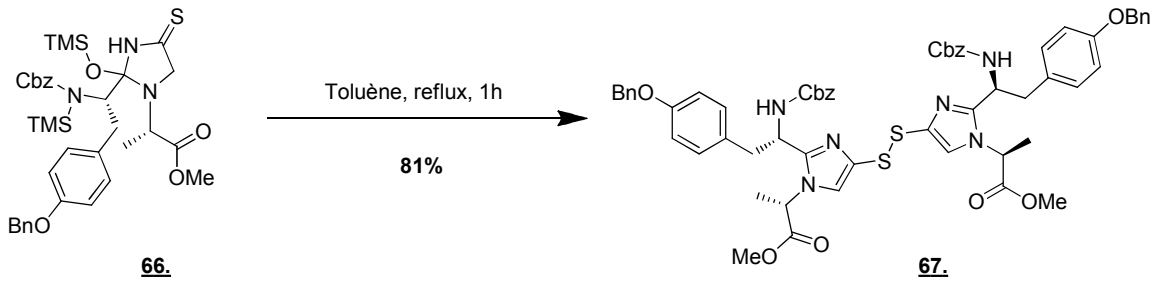


Schéma 128

Le disulfure **67.** est obtenu avec un rendement de 81% après purification. La transformation peut également s'effectuer en laissant le composé à l'air ambiant pendant deux jours et ceci sans observer de dégradation.

Le composé **67.** a subi une réduction du pont disulfure dans des conditions classiques par l'utilisation de dithiothréitol (DTT). L'intermédiaire thiol est ensuite piégé par l'iodure de méthyle donnant accès au composé désiré avec un rendement de 76% (Schéma 129).

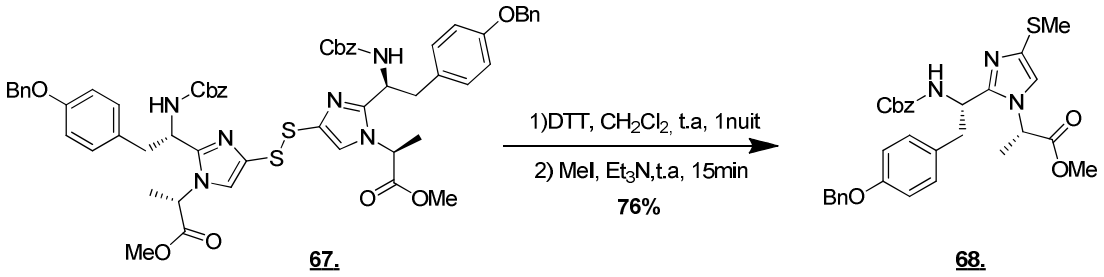


Schéma 129

Nous nous sommes alors intéressés au développement d'une autre méthode « one-pot » pour cette étape, dans laquelle l'intermédiaire silylé serait transformé en disulfure avant d'être réduit puis alkylé sans purifier les intermédiaires réactionnels. Nous avons repris notre composé modèle utilisé précédemment et l'avons engagé dans la séquence réactionnelle (Schéma 130).

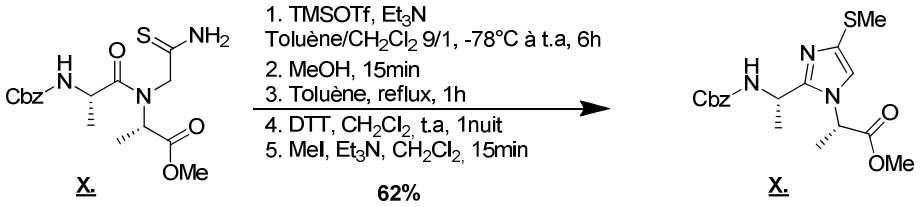


Schéma 130

Le composé désiré **49.** est obtenu avec un rendement de 62%. Nous avons changé l'électrophile ajouté en fin de réaction et avons obtenu les produits S-Boc **48.** et S-$(CH_2)_2$-CO_2tBu **50.** avec des rendements de 75% et 68% respectivement.

2.2.4 Application à la synthèse de couples de dipeptides

Ayant optimisé les conditions réactionnelles de cyclisation, nous les avons appliquées à la synthèse des pseudopeptides imidazoliques. Nous avons engagé les différents thioamides préparés précédemment dans la séquence de cyclisation « one-pot » comme présenté Schéma 131 et Figure 31.

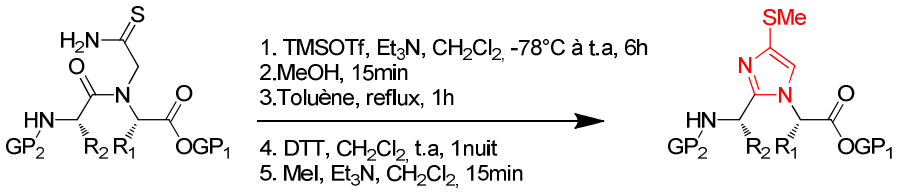


Schéma 131

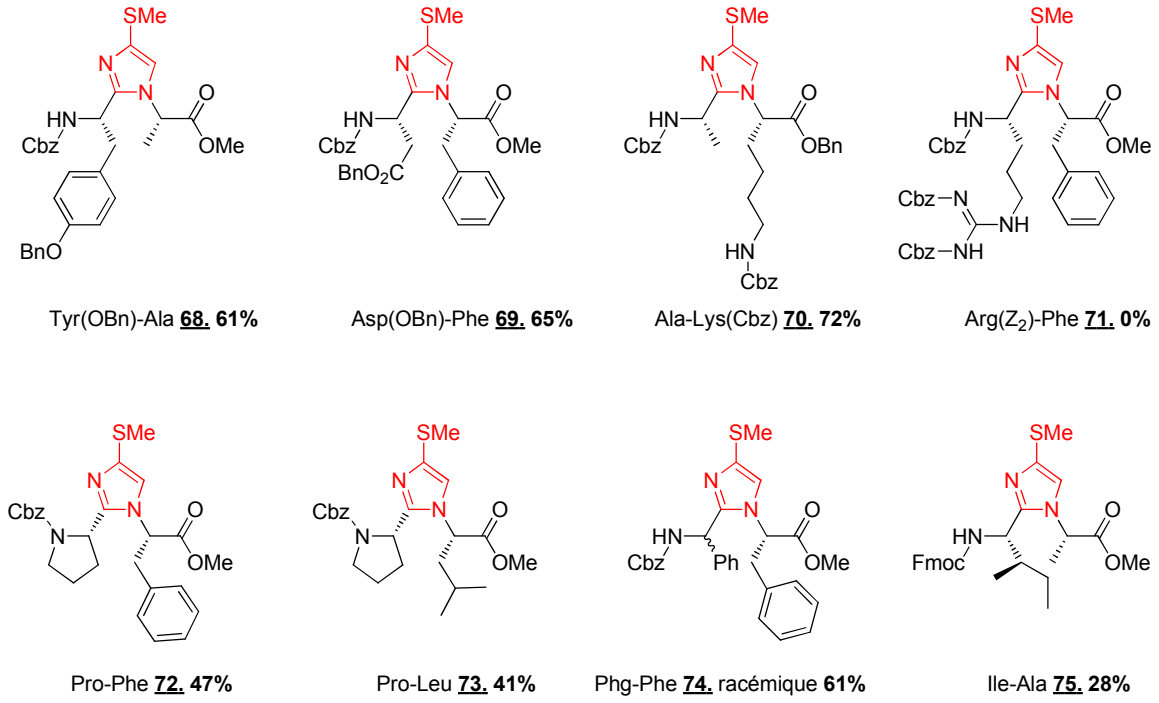


Figure 30

Les rendements obtenus pour les différents couples d'aminoacides sont moyens malgré des conversions totales. On observe la formation de plusieurs sous-produits de dégradation. Le groupement protecteur Fmoc semble une nouvelle fois être peu compatible avec la formation de ces peptidomimétiques. Les dipeptides contenant une proline donnent des rendements moyens mais cela est dû à leur difficulté de purification et non à la réaction en elle-même. La phénylglycine conduit au même mélange racémique, que l'on parte de l'un ou l'autre des deux thioamides diastéréoisomères préparés alors que l'acide aspartique, également sensible à la racémisation, présente une parfaite rétention de son centre asymétrique. Le couple Arg-Phe n'a jamais conduit au produit de cyclisation **71.** malgré de nombreux essais réalisés.

2.2.5 Détermination des propriétés acido-basiques du mime imidazolique

La connaissance des propriétés acido-basiques des peptidomimétiques est un élément important en vue de leur utilisation au niveau biologique. En effet, l'état de protonation de la molécule peut avoir une influence sur la capacité d'absorption ou de passage par les barrières biologiques de l'organisme. D'autre part, il convient, si l'on désire utiliser un peptidomimétique, d'éviter qu'il soit protoné à pH physiologique, car la ressemblance électronique avec l'amide serait alors perdue.

Nous nous sommes intéressés à la basicité de notre mime, en fonction de l'enrichissement électronique du cycle. Pour cela, nous souhaitons faire varier la densité électronique du cycle imidazole par modification des substituants, puis mesurer sa basicité. Nous nous sommes tournés vers la synthèse de trois dicétopipérazines (Figure 31), motif connu pour sa meilleure solubilité en phase aqueuse, ce qui présente un avantage pour des dosages acido-basiques. Nous avons choisi de travailler une nouvelle fois sur le motif Ala-Ala pour des raisons de simplicité et d'hydrophilie.

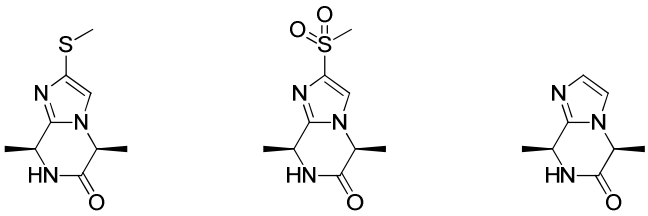


Figure 31

Ces molécules pourraient être obtenues par cyclisation intramoléculaire entre l'azote N-terminal et le carbone C-terminal. Les fonctionnalisations choisies sont l'imidazole substitué par un méthylsulfanyl, obtenu par la synthèse précédemment mise au point. Une oxydation ou une élimination de l'atome de soufre nous permettrait d'acceder aux deux autres structures.

2.2.5.1 Dicétopipérazine S-CH_3

Les groupements Cbz sont connus pour être coupés par hydrogénation catalytique. Cependant, la présence de l'atome de soufre a souvent un effet d'empoisonnement du catalyseur. Nous avons néanmoins engagé le produit **49.** dans la réaction d'hydrogénation catalytique mais aucun produit de déprotection n'a pu être observé.

Nous nous sommes alors tournés vers une autre méthode de déprotection des groupements Cbz utilisant les acides forts. En présence de 5 équivalents d'une solution d'acide bromhydrique dans l'acide acétique pendant 1 nuit, la coupure du groupement Cbz n'a pas été observée. En revanche, un très large excès de ce réactif (co-solvant) permet une déprotection totale en 2h (Schéma 132). Le produit **76.** a été isolé avec un rendement de 84% après précipitation/centrifugation.

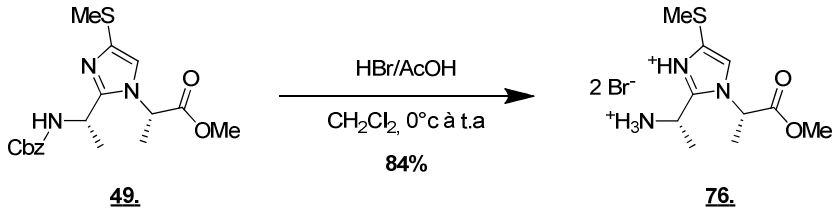


Schéma 132

La fonction amine a ensuite été déprotonnée par la triéthylamine de manière à cycliser la molécule. On observe une conversion totale en quelques minutes, mais nous n'avons pu séparer le produit **77.** des sels de triéthylammonium du fait de la grande solubilité du produit désiré (Figure 133).

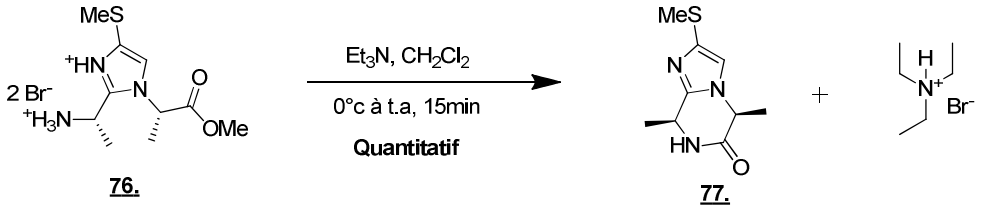


Schéma 133

Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation de réactifs supportés, et en particulier l'Amberlyte A-26. C'est une résine échangeuse d'ions de type ammonium quaternaire porteuse d'un anion hydroxyde. L'avantage d'utiliser cette résine est que l'on élimine facilement les réactifs en excès par simple filtration et que le sous-produit de la réaction est une molécule d'eau. Enfin, le réactif initial ainsi que le produit formé étant solubles dans l'eau, la réaction pourra être effectuée sans solvant organique.

Nous avons alors engagé le bromhydrate dans cette réaction. Nous obtenons le produit désiré **77.** après simple filtration avec un rendement de 87%. Cependant, on observe une épimérisation partielle d'un des centres asymétriques et la formation de diastéréoisomères dans un rapport 4/1 (Schéma 134).

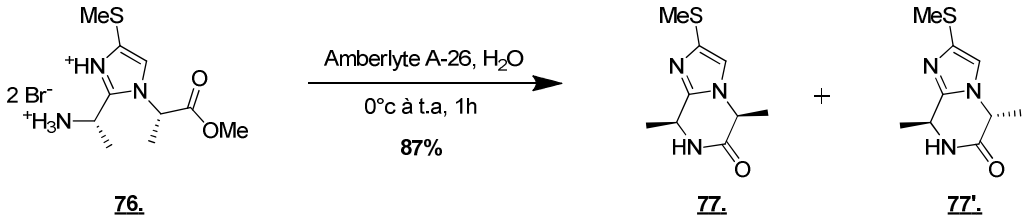


Schéma 134

Bien que cette épimérisation ne soit pas gênante pour les mesures à effectuer, nous avons souhaité résoudre ce problème dans un but synthétique. Nous avons pensé que la basicité de l'anion hydroxyde associé à la résine était trop importante et avons souhaité le remplacer par un contre-anion moins basique et ne donnant pas de sous produits soluble dans l'eau. Nous nous sommes alors tournés vers l'anion hydrogénocarbonate. La résine à été préparée par neutralisation des ions hydroxyde par une solution acide, puis percolation d'une solution saturée en hydrogénocarbonate de sodium suivie d'un rinçage à l'eau milli-Q (Schéma 135).

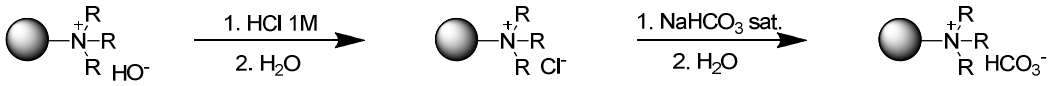


Schéma 135

La résine a ensuite été utilisée pour la formation des dicétopipérazines. Le produit **77.** est obtenu avec un rendement de 82% et un parfait contrôle des centres asymétriques (Schéma 136).

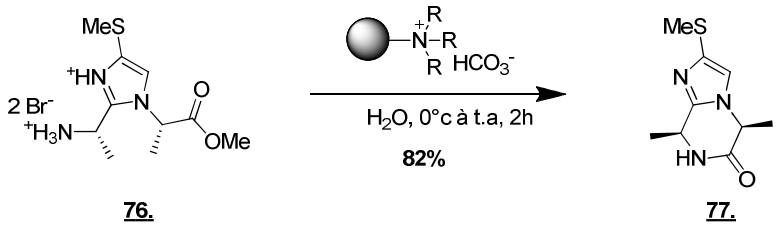


Schéma 136

Par la suite, cette méthode sera utilisée pour former les autres dicétopipérazines.

2.2.5.2 Dicétopipérazine SO_2-CH_3

Afin d'appauvrir en électrons le cycle imidazole et ainsi diminuer sa basicité, nous avons souhaité préparer un imidazole porteur d'une méthylsulfone en lieu et place du groupe méthylsulfanyle. Pour cela, nous avons utilisé l'une des méthodes classiques de la littérature utilisant le *m*CPBA comme oxydant, déjà utilisée sur des structures de type imidazoquinoléine[195].

[195] Bajusz, S.; Szell, E.; Bagdy, D.; Barabas, E.; Horvath, G.; Dioszegi, M.; Fittler, Z.; Szabo, G.; Juhasz, A.; Tomori, E.; Szilagyi, G. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1729.

En présence de 2,3 équivalents de *m*CPBA, la sulfone **78.** est obtenue avec un rendement de 77% (Schéma 137).

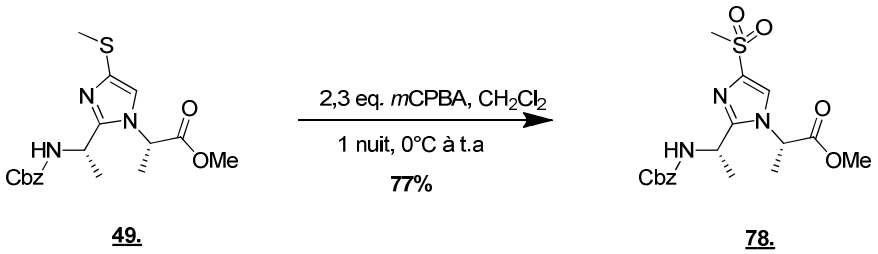


Schéma 137

L'impact sur le déplacement chimique du proton imidazolique est très important puisqu'on observe un déblindage d'environ 1ppm (passage de 6.9ppm à 7.7ppm).

Nous avons engagé le composé **78.** dans la réaction de déprotection puis de cyclisation. On obtient la dicétopipérazine substituée par la sulfone **79.** avec un rendement de 57% (Schéma 138).

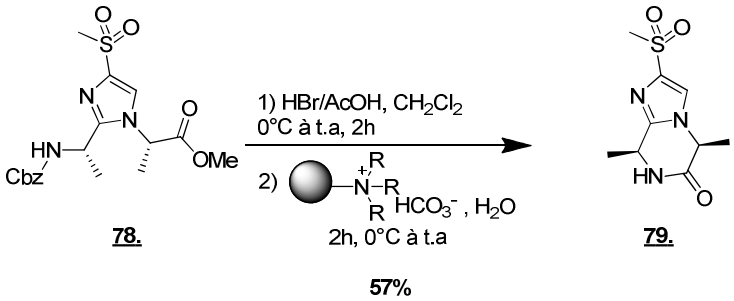


Schéma 138

2.2.5.3 Dicétopipérazine non substituée

Notre stratégie de synthèse donnant obligatoirement accès aux mercaptoimidazoles, la possibilité d'obtenir des imidazoles non substitués représente une cible particulièrement intéressante. De plus, la disparition de l'atome de soufre devrait avoir un effet important sur la basicité du cycle imidazole.

Au cours de son stage de Master 2, N. Wattier a montré, sur un exemple, la possibilité d'éliminer l'atome de soufre d'un imidazole porteur d'un groupe S-CH_3, par l'action du Nickel de Raney en utilisant des conditions de la littérature[196].

Nous avons alors engagé le produit **49.** dans cette transformation. Malgré le nombre d'essais réalisés, nous n'avons jamais été en mesure d'isoler le produit désiré (Schéma 139).

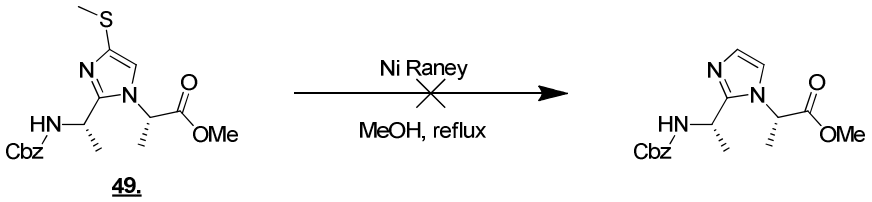


Schéma 139

L'analyse des bruts réactionnels nous a indiqué la disparition des signaux aromatiques ainsi qu'une forte dégradation du réactif initial. L'hypothèse est que le groupement Cbz est incompatible avec ces conditions réactionnelles, ce qui est peu surprenant. Aucune autre méthode pour réaliser cette transformation n'étant décrite dans la littérature, nous avons décidé de changer le groupement protecteur *N*-terminal.

Notre choix s'est porté sur le groupement Boc, certainement moins réactif qu'un groupe benzylique en présence du nickel de Raney.

Nous avons donc réalisé la transprotection, tout d'abord en déprotégeant le groupement Cbz dans les conditions vues précédemment, puis en protégeant l'ammonium formé avec un bon rendement (Schéma 140). Nous utilisons ici un large excès de Boc_2O afin de piéger l'amine dès sa libération dans le milieu, ceci afin d'éviter la formation de dicétopipérazine.

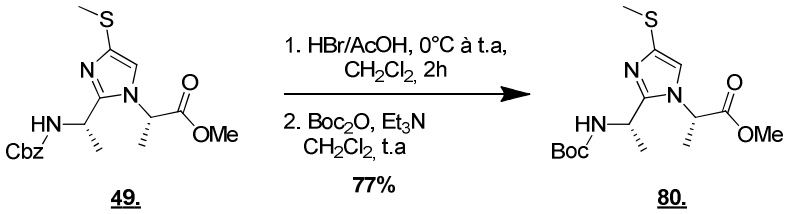


Schéma 140

[196] Tominaga, Y.; Shiroshita, Y.; Kawabe, M.; Goto, H.; Oniyama, Y.; Matsuda, Y. *Heterocycles* **1985**, *23*, 2531.

Dans l'objectif futur d'incorporer ces motifs peptidomimétiques par utilisation de la SPPS, nous avons également réalisé une transprotection vers un groupement Fmoc avec un bon rendement (Schéma 141).

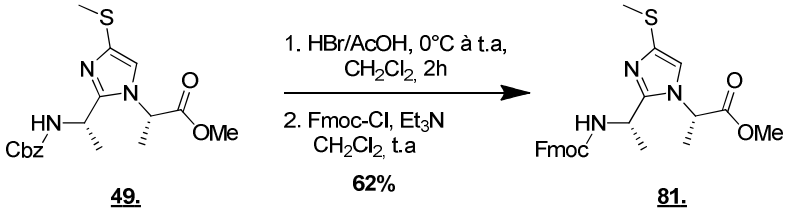


Schéma 141

Le produit **81.** a ensuite été engagé dans la désulfurisation en présence de Nickel de Raney. Le composé non substitué **82.** est obtenu avec un rendement correct après purification (Schéma 142).

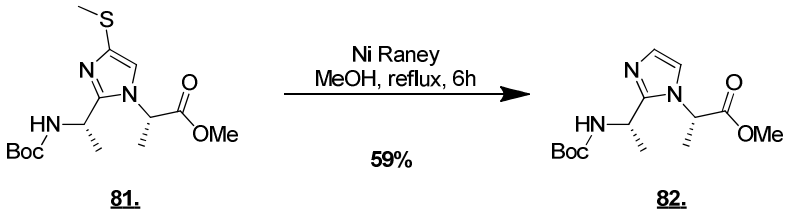


Schéma 142

Une déprotection du groupement Boc dans les conditions classiquement décrites suivi d'une cyclisation en utilisant la méthode précédemment utilisée conduit à la dicétopipérazine **83.** avec un rendement de 64% (Schéma 143).

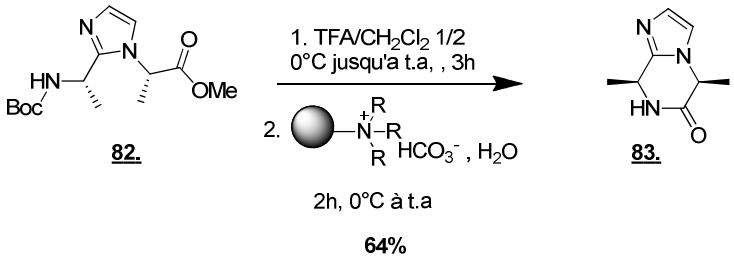


Schéma 143

2.2.5.4 Détermination des pKa des dicétopipérazines

Ayant synthétisé les trois dicétopipérazines avec des rendements globaux moyens (Schéma 144), nous avons souhaité déterminer la basicité du cycle imidazole en fonction des substituants présents sur le cycle imidazolique.

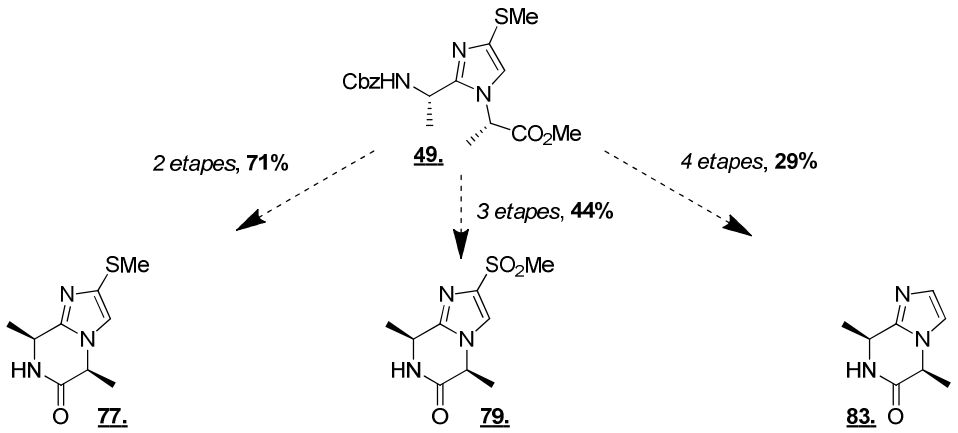


Schéma 144

Pour ce faire, nous avons tout d'abord tenté un dosage de la molécule sous forme base par un acide fort (HCl) de concentration connue. Malheureusement, cette méthode s'est révélée trop imprécise. Pour résoudre ce problème, nous avons récupéré les chlorhydrates des trois dicétopipérazines. Afin de vérifier la fiabilité de ce travail, nous avons également préparé le chlorhydrate de *N*-méthylimidazole qui nous servira de référence (Figure 32). Nous avons alors procédé au dosage de ces chlorhydrates par une solution de soude de concentration connue (C=5 10^{-2} mol/L). Grâce aux points de mesure, nous avons tracé la courbe présentée en Figure 33 de la variation du pH en fonction du volume de soude ajouté.

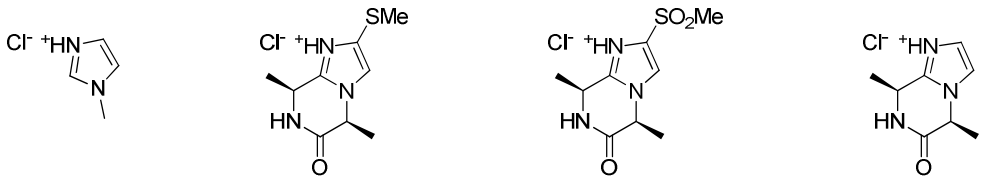


Figure 32

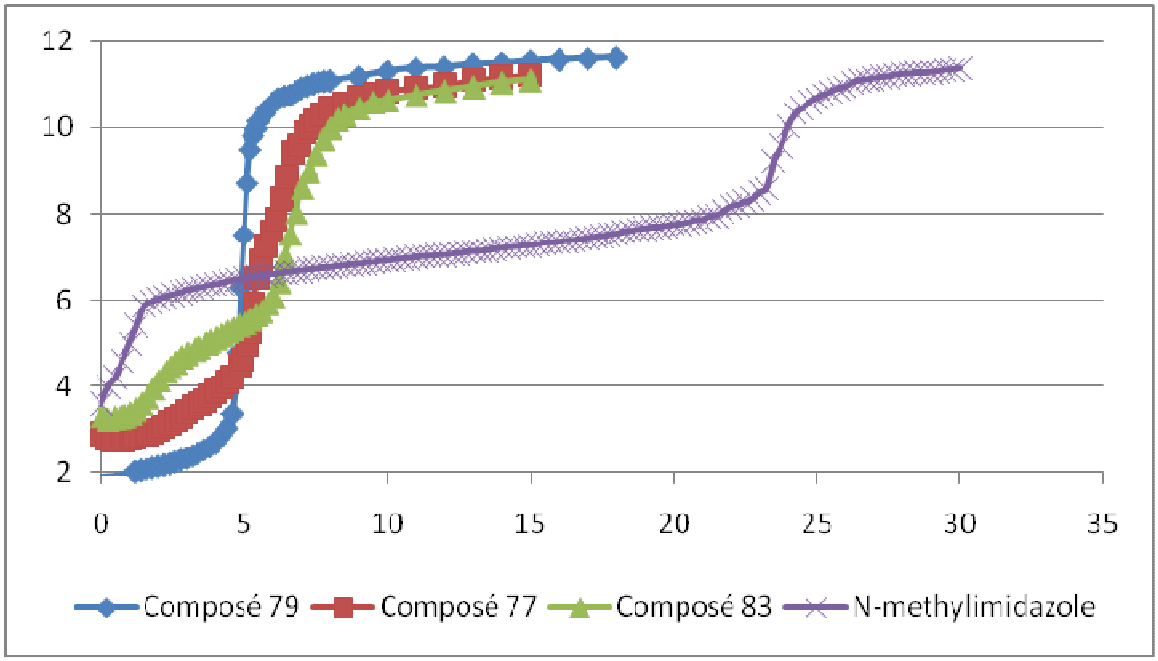


Figure 33

Les pH à la demi-équivalence nous permettent de mesurer les pKa des 4 molécules dosées.

Nous mesurons :

- Un pKa pour le composé **79.** porteur de la sulfone de 2,5.
- Un pKa pour le composé **77.** porteur du méthylsulfanyle de 3,3.
- Un pKa pour le composé **83.** non substitué de 4,8.
- Un pKa pour le chlorhydrate de N-méthylimidazole de 6,9 ce qui correspond à la valeur donnée dans la littérature (7,05) et qui prouve la fiabilité du dosage.

Les valeurs trouvées sont en accord avec nos attentes. En effet, l'effet très attracteur du groupement méthylsulfonyle a pour conséquence une diminution de la basicité du cycle imidazolique. Le composé non substitué a la valeur de pKa la plus élevée des trois dicétopipérazines, mais cependant assez éloignée de la valeur du *N*-méthylimidazole, ce qui montre un effet très important du lien amide. Le composé porteur du méthylsulfanyle se situe à une valeur intermédiaire, ce qui semble cohérent. Le soufre apporte un effet attracteur inducteur et un faible effet mésomère donneur dû à une mauvaise conjugaison des orbitales non-liantes du soufre avec les électrons Π du cycle imidazolique d'où une valeur intermédiaire.

Ces résultats nous confortent dans l'idée que notre mime ne sera vraisemblablement pas protonné à pH physiologique.

2.3 Vers la synthèse d'analogues de molécules bioactives

2.3.1 Introduction générale

Dans le chapitre précédent, nous avons mis au point une méthode efficace de synthèse de mimes imidazoliques de lien amide dans des structures dipeptidiques. La détermination du pKa du cycle imidazolique en fonction de la substitution portée par le cycle aromatique nous a donné une indication sur l'état éventuel de protonnation à pH physiologique. Nous cherchons maintenant à appliquer ce motif dans des structures plus complexes afin d'étudier son intérêt conformationnel ou en tant que mime de lien amide non hydrolysable.

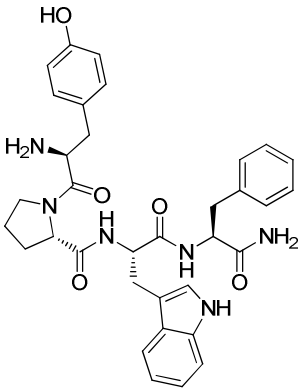
Dans cette partie, nous nous intéresserons à des analogues de l'endomorphine II.

2.3.2 Analogues de l'endomorphine II – évaluation biologique et analyse structurale

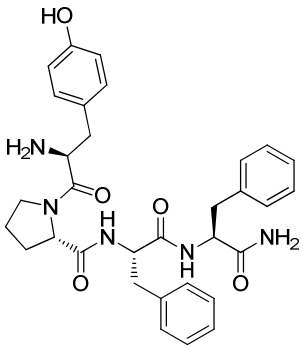
2.3.2.1 Introduction et contexte du projet

Un objectif majeur dans le domaine des opioïdes peptidiques est le développement de nouveaux analgésiques qui pourraient substituer l'usage de la morphine, connue pour ses effets antidouleur mais également pour ses effets de dépendance et d'accoutumance[197]agissant principalement sur les récepteurs μ-opioïdes (MOR)[198]. Aucun ligand endogène de ce type de récepteur n'avait été découvert avant 1997, date à laquelle deux tetrapeptides nommés endomorphine-I (EM-1, Tyr-Pro-Trp-Phe-NH_2) et endomorphine II (EM-2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH_2) ont été isolés du cerveau bovin[199] puis plus tard du cortex humain[200] (Figure 34).

[197] Olson, G.A.; Olson, R.D.; Vaccarino, A.L.; Kastin, A.J. *Peptides*, **1998**, *19*, 1791.
[198] Vaccarino, A.L.; Olson, G.A.; Olson, R.D.; Kastin, A.J. *Peptides*, **1999**, *20*, 1527.
[199] Zadina, J.E.; Hackler, L.; Ge, L. J.; Kastin, A.J. *Nature*, **1997**, *386*, 499.
[200] Hackler, L.; Zadina, J.E.; Ge, L. J.; Kastin, A.J. *Peptides*, **1997,** *18*, 1635.



EM-1, Tyr-Pro-Trp-Phe-NH_2



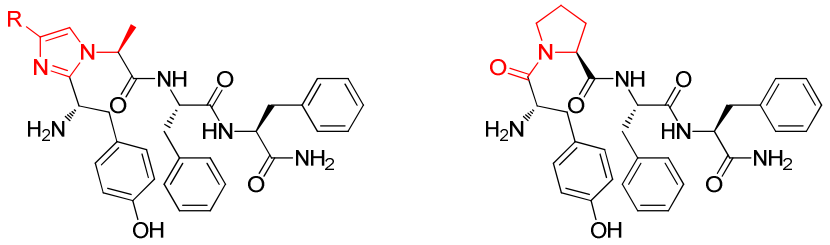
EM-2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH_2

Figure 34

Depuis plusieurs années, l'équipe du Pr do-Rego, du laboratoire de Neuropsychopharmacologie Expérimentale de l'Université de Rouen, en collaboration avec les équipes des Pr Fichna et Janecka de l'Université de Lodz en Pologne, synthétisent et étudient des analogues modifiés de l'EM-2. Ils ont obtenu des résultats particulièrement intéressants dans le cas d'incorporation d'acides aminés non naturels comme l'acide pipécolique ou ses isomères de position[201], d'analogues méthylés[202] ou encore de tyrosines encombrées et de naphtylalanine[203]. Des études structurales RMN ainsi que des calculs théoriques de ce type de composés sont également réalisées au sein de notre UMR par l'équipe du Pr Oulyadi[204].

Dans le cadre d'une collaboration entre notre équipe, celle du Pr do-Rego pour les tests biologiques et celle du Pr Oulyadi pour l'étude structurale, nous nous sommes intéressés à des analogues de l'EM-2 dans lesquelles le lien amide entre la tyrosine et la proline est remplacé par notre mime imidazolique du lien peptidique (Figure 35).

[201] Perlikowska, R.; Gach, K.; Fichna, J.; Toth, G.; Walkowiak, B.; do-Rego, J.-C.; Janecka, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3789.
[202] Kruszynski, R.; Fichna, J.; do-Rego, J.-C.; Janecki, T.; Kosson, P.; Pakulsa, W.; Costentin, J.; Janecka, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6713.
[203] Fichna, J.; do-Rego, J.-C.; Chung, N.N.; Lemieux, C.; Schiller, P.W.; Poels, J.; Vanden Broeck, J.; Costentin, J.; Janecka, A. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 512.
[204] Lameiras, P. *Thèse de doctorat*, **2009**, Université de Rouen.



mimes de EM-2 envisagés
R= SCH_3, SO_2CH_3, H

EM-2
Conformère *cis* Tyr-Pro

Figure 35

La rétrosynthèse envisagée (Schéma 145) passe par la synthèse de deux dipeptides, un natif correspondant à la partie Phe-Phe et l'autre partie contenant notre mime qui sera basée sur le motif Tyr-Ala, le résidu alanine mimant en partie la chaine latérale de la proline. Pour des raisons pratiques, les chaines latérales seront déprotégées à la fin de la synthèse.

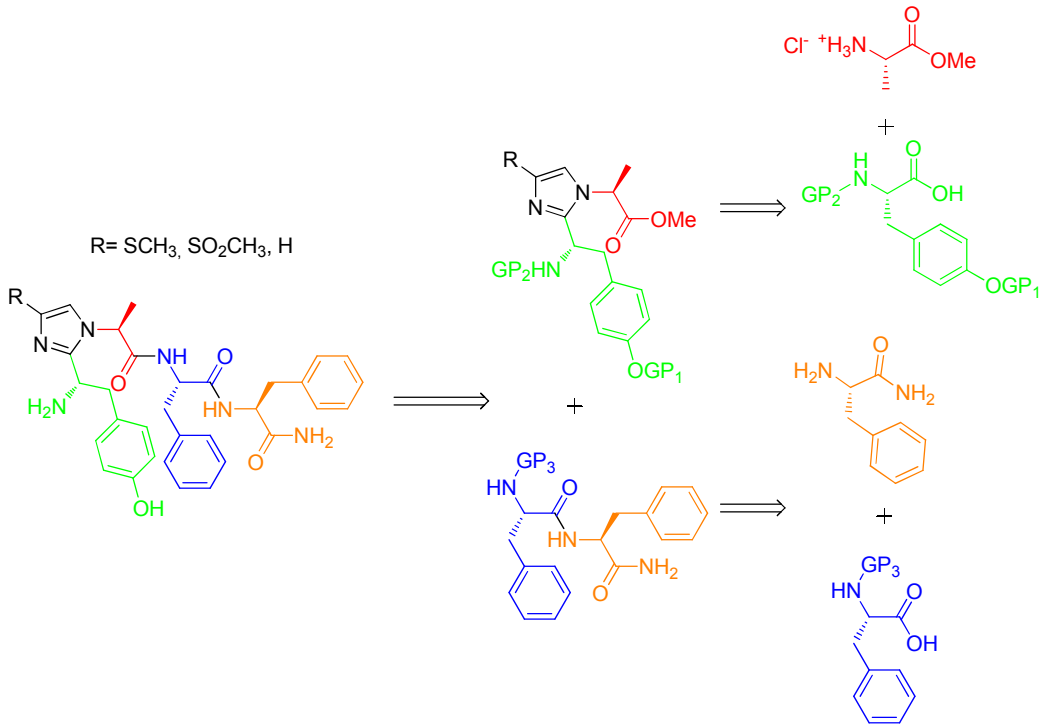


Schéma 145

Dans le chapitre précédent, la synthèse du dipeptide Tyr(OBn)-Ala avait été présentée. Nous avons réalisé cette synthèse une nouvelle fois avec un rendement de 47% sur deux processus « one-pot » (Schéma 146).

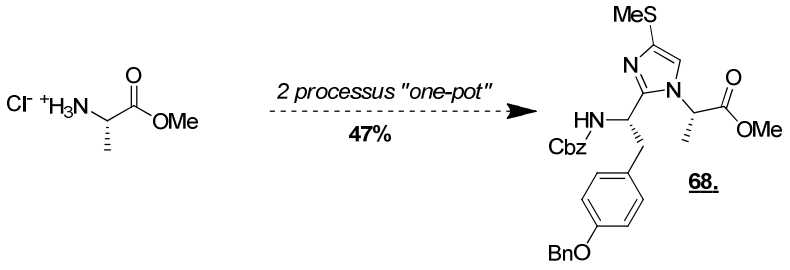


Schéma 146

Afin de pouvoir préparer l'analogue porteur de la sulfone, nous avons réalisé l'oxydation de la molécule **68.** afin d'obtenir la sulfone correspondante **84.** avec un rendement de 69% (Schéma 147).

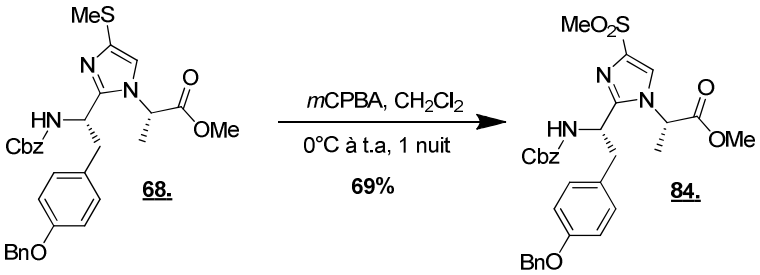


Schéma 147

Pour synthétiser l'autre dipeptide, nous sommes partis de la phénylalanine protégée sous forme de carbamate de *tert*-butyle et de l'amide de la phénylalanine. Nous avons réalisé un couplage peptidique dans des conditions classiques et avons obtenu le composé **85.** avec un rendement de 84% (Schéma 148).

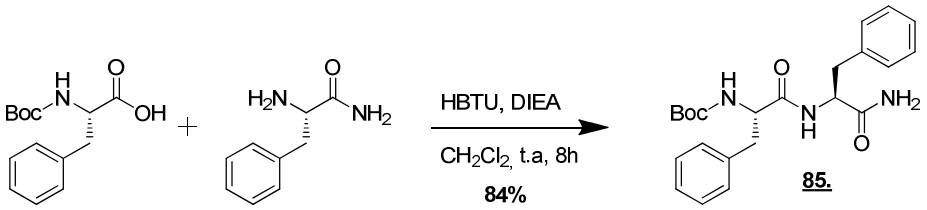


Schéma 148

Une déprotection du groupement Boc nous conduit au sel d'ammonium **86.** correspondant avec un rendement quantitatif (Schéma 149).

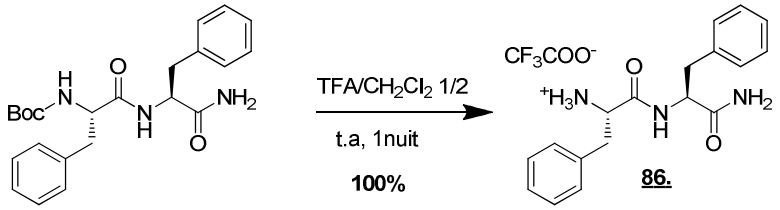


Schéma 149

Nous avons saponifié l'ester méthylique présent du coté *C*-terminal du composé **68.** dans les conditions décrites pour les aminoacides. L'acide correspondant **87.** a été obtenu avec un rendement de 74% (Schéma 150).

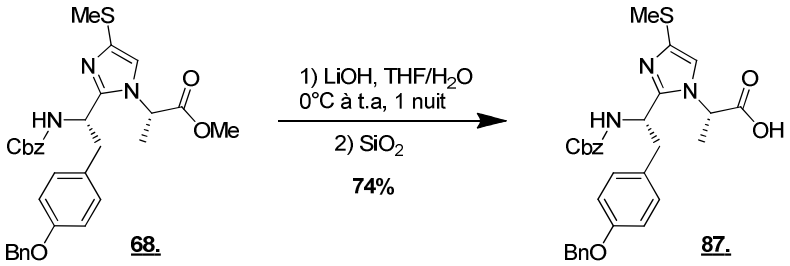


Schéma 150

Nous avons ensuite réalisé le couplage peptidique entre le dipeptide Tyr-Ala contenant notre mime **87.** et le dipeptide natif H-Phe-Phe-NH_2 **86.** préalablement préparé. On utilise le T3P comme agent de couplage (pour des raisons de disponibilité au laboratoire et d'élimination des sous-produits). Le produit **88.** est isolé avec un rendement moyen de 58%. On observe un mélange de deux diastéréoisomères en rapport 4/1 (Schéma 151).

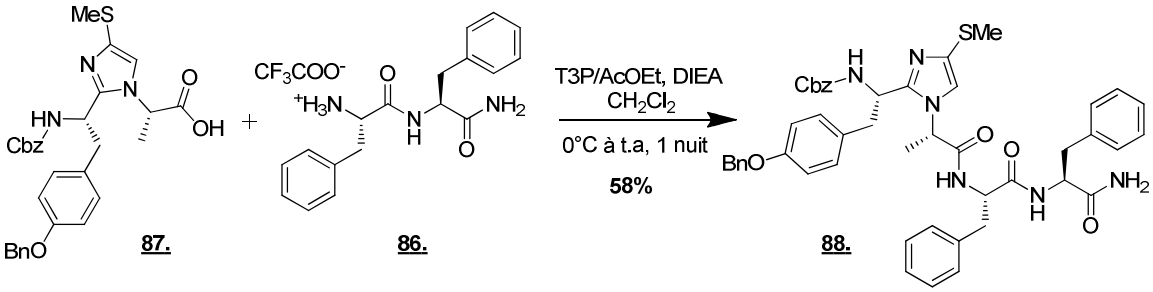


Schéma 151

Nous avons observé l'épimérisation partielle du centre asymétrique porteur du lien amide formé. Elle doit avoir lieu au cours de la saponification de l'ester méthylique, vraisemblablement due à la présence du cycle imidazolique électroattracteur qui rend le proton α assez acide. Cependant, nous n'avons jamais pu les séparer et avons décidé d'engager le mélange dans l'étape suivante.

Les groupements carbamate de benzyle et éther benzylique ont ensuite été clivés simultanément donnant ainsi accès à notre mime de l'endomorphine 2 **89.** avec un rendement de 62% après précipitation (Schéma 152).

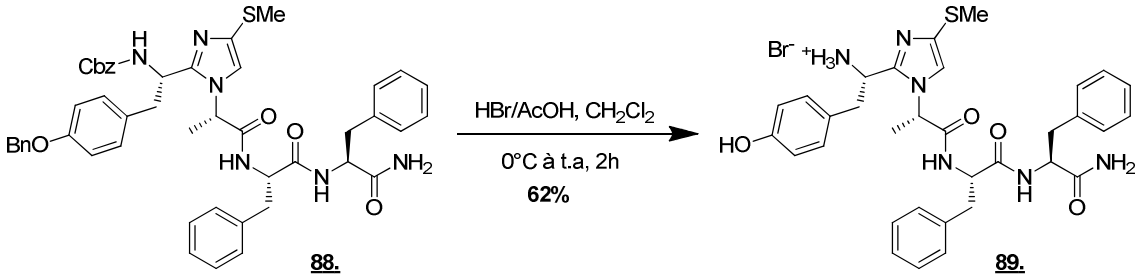


Schéma 152

Les deux diastéréoisomères ont ensuite été séparés par HPLC préparative mais seul le diatéréoisomère majoritaire a pu être isolé en quantité suffisante pour être transmis aux équipes de biologistes et de RMN.

Cependant, ce composé s'est montré instable à plusieurs reprises et n'a jamais permis une étude RMN complète. Les résultats biologiques de cette molécule se sont montrés médiocres, mais sont à confirmer compte-tenu de la faible stabilité du composé. Nous avons émit l'hypothèse que l'atome de soufre puisse être oxydé sous forme d'un sulfoxyde et que celui soit capable de cliver le composé en un mélange complexe de fragments.

Ayant déjà eu des problèmes de stabilité avec des composés porteurs de méthylsulfanyle, nous nous sommes alors intéressés à la synthèse de l'analogue porteur de la sulfone. Le composé **84.** a été saponifié dans les conditions précédemment utilisées donnant accès au composé **90.**, puis couplé avec l'autre dipeptide comme vu précédemment avec un rendement moyen et un rapport diastéréisomérique 3/1 (Figure 153).

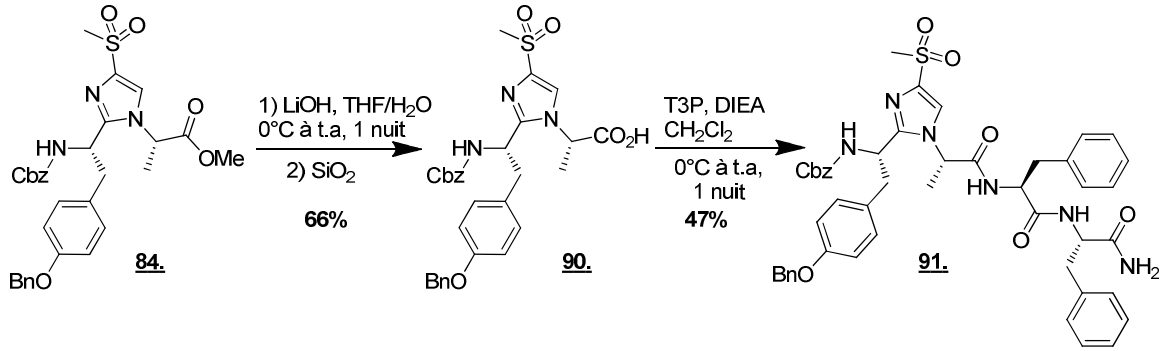


Schéma 153

Le clivage des groupements protecteurs conduit à l'obtention du produit **91.** avec un rendement de 67% après précipitation. La séparation des diastéréoisomères par HPLC préparative est actuellement en cours.

2.3.3 Méthode originale de couplage peptidique – Utilisation des carboxylates de lithium

2.3.3.1 Introduction

Afin de résoudre les problèmes d'épimérisation partielle au cours du couplage peptidique, nous nous sommes intéressés au développement d'une méthode de couplage peptidique originale. La saponification des composés **87.** et **90.** nous a posé problème du fait de la présence de l'imidazole, à la fois basique et électroattracteur. C'est au cours du traitement du milieu réactionnel que nous avons pensé que l'épimérisation partielle avait eu lieu.

Nous nous sommes alors demandé si le carboxylate de lithium formé au cours de la réaction pouvait être utilisé en lieu et place de l'acide dans la réaction de couplage peptidique. A notre connaissance, aucun article ne fait état de l'utilisation de carboxylate de lithium dans un couplage peptidique. Il en résulterait alors une séquence « one-pot » saponification-couplage peptidique particulièrement intéressante comme outil synthétique (Schéma 154).

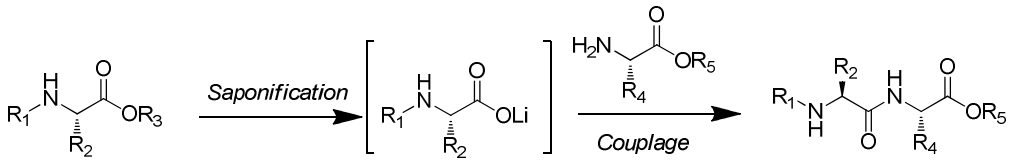


Schéma 154

Les réactions de couplage peptidique ont largement été étudiées depuis plusieurs décennies[205], avec le développement de nombreux agents de couplage tels que les carbodiimides, les uroniums, phosphoniums,…. On peut néanmoins différencier deux types d'agents de couplage :

- Les agents de couplage neutres comme les carbodiimides, ayant besoin d'une protonation pour l'activation mais ne nécessitant qu'un seul équivalent de base selon le mécanisme présenté Schéma 155. Le DCC et l'EDCI (DCC ayant un sous-produit soluble en phase aqueuse) sont les plus utilisés.

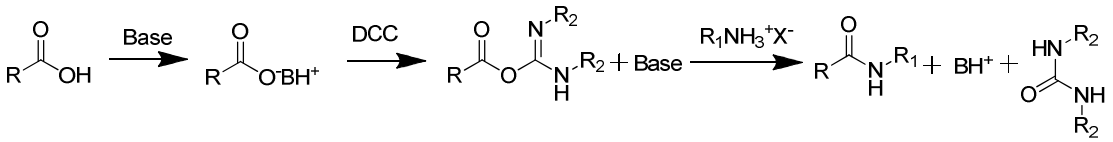


Schéma 155

- Les autres agents de couplage, la plupart du temps cationiques, ne nécessitant pas de protonation mais un plus grand nombre d'équivalents de base (afin de piéger l'acide généré au cours de la réaction) (Schéma 156).

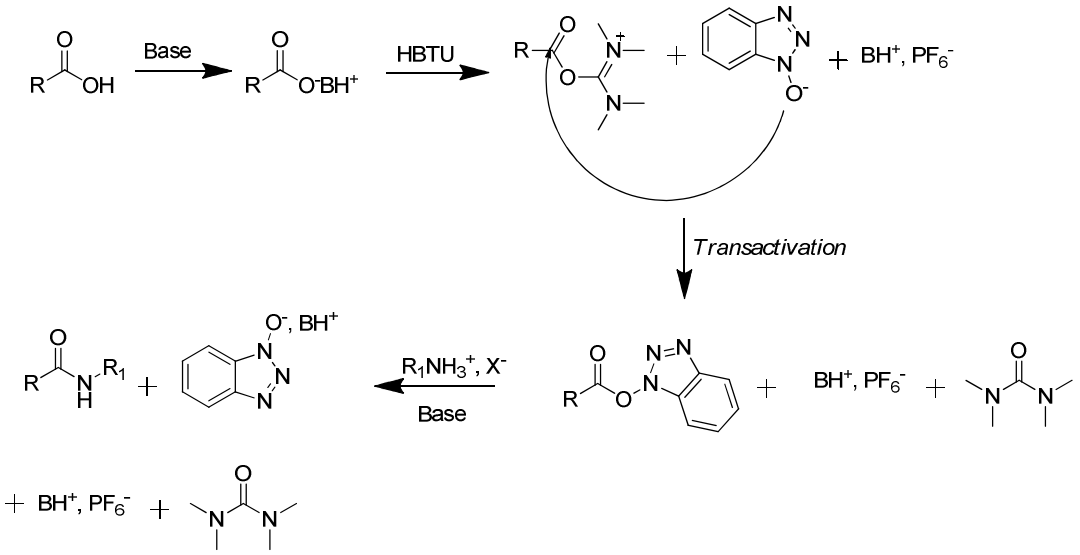


Schéma 156

[205] Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447.

2.3.3.2 Etude la réaction

Pour tester la viabilité de notre hypothèse, nous avons préparé le carbamate de benzyle de l'ester méthylique de l'alanine. L'ester méthylique de l'alanine a été mis en présence de base et des quantités d'eau croissantes ajoutées. La réaction est suivie par HPLC.

Nous avons observé que la réaction nécessite quatre équivalents d'eau pour se réaliser, ce qui semble correspondre à une saturation de la sphère de coordination du lithium, l'anion hydroxyde étant ensuite totalement libre pour effectuer la réaction de saponification. On observe d'ailleurs que la réaction est totale en seulement quatre heures. L'ajout d'un aminoacide (ici l'ester méthylique de la phénylalanine), d'HBTU comme agent de couplage ainsi que de base conduit à la formation du dipeptide sans trace d'épimérisation avec un rendement de 88% (Schéma 157).

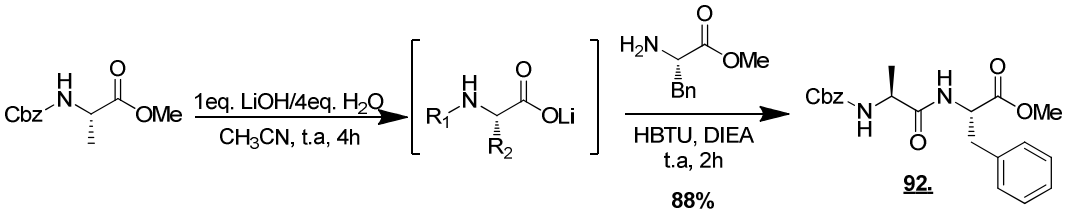


Schéma 157

Une fois cette hypothèse validée, nous nous sommes focalisés sur la construction *C*-terminale de dipeptides. Pour cela nous avons choisis comme modèle le dipeptide Z-Ala-R_1-OR_2. Nous étudierons plusieurs paramètres (Schéma 158):

- Le solvant de la réaction
- La nature de l'ester OR
- La nature du second aminoacide AA_2
- La nature du troisième aminoacide AA_3
- L'agent de couplage
- La quantité de lithine ajoutée en début de réaction

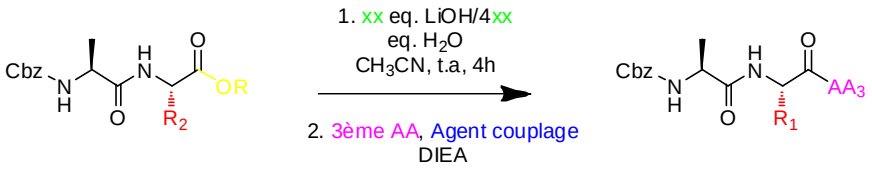


Schéma 158

Nous avons tout d'abord fait varier le solvant de la réaction et mesuré la conversion par HPLC. Les meilleurs résultats sont obtenus avec la *N*-méthylpyrrolidone et le diméthylformamide. Dans les autres cas, la réaction semble limitée par la faible solubilité des produits dans le solvant (Figure 36).

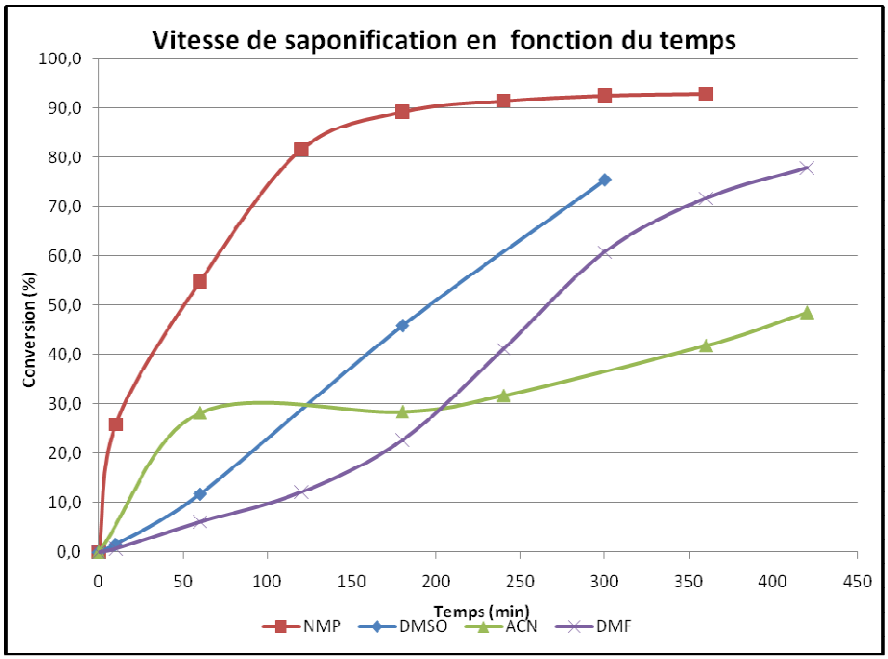


Figure 36

La nature de l'ester saponifié a ensuite été examinée sur le dipeptide Ala-Phe en utilisant la NMP comme solvant de la réaction et la conversion mesurée par HPLC (Figure 37).

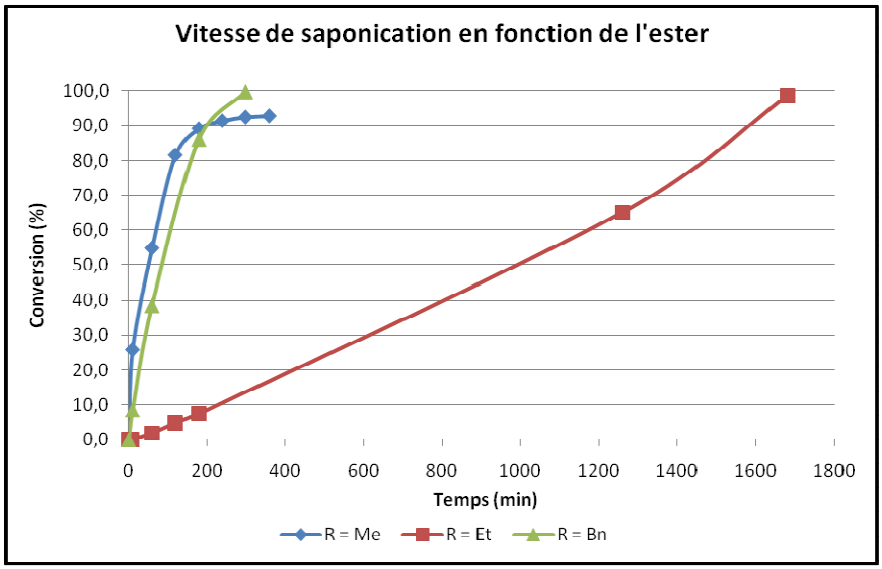


Figure 37

Comme on pouvait le penser, c'est l'ester méthylique, moins encombré, qui est le plus rapidement saponifié de même façon que l'ester benzylique. On observe également que la présence d'un ester éthylique ralentit considérablement la saponification.

Nous avons examiné différents agents de couplage, en prenant comme Z-Ala-Phe-OMe comme dipeptide modèle et l'ester *tert*-butylique du tryptophane comme 3ème acide aminé. Les résultats sont présentés dans le Tableau 10 et les meilleurs résultats sont obtenus en utilisant le HBTU.

Agent de couplage utilisé	Rendement en tripeptide
BOP	52%
T3P/AcOEt (50% masse)	65%
TFFH	36%
HBTU	82%

Tableau 10

Nous avons ensuite fait varier la nature du second aminoacide. Pour cela, nous avons alors préparé les différents dipeptides présentés Figure 38 par une réaction de couplage peptidique classique (Schéma 159).

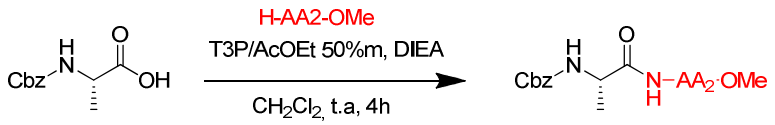


Schéma 159

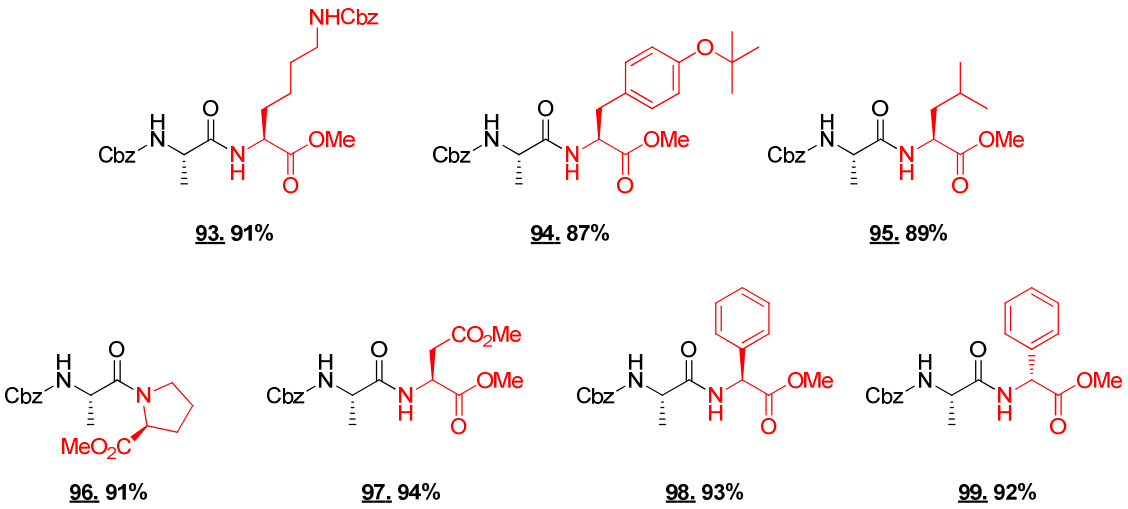


Figure 38

Nous avons choisi l'ester tert-butylique du tryptophane comme 3ème aminoacide utilisé et avons engagé les dipeptides préparés dans la réaction « one-pot » saponification-couplage (Schéma

160). On obtient les tripeptides avec de bons rendements avec une faible épimérisation du proton α du second aminoacide. La phénylglycine conduit à une épimérisation totale que l'on utilise l'un ou l'autre des énantiomères (composé **104.**) (Tableau 11).

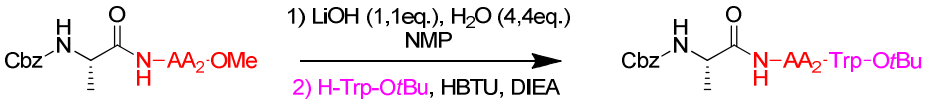


Schéma 160

Composé	Tripeptide obtenu	Rendement	% d'épimérisation de AA_2
100.	Cbz-Ala-Lys(Cbz)-Trp-O*t*Bu	81	<5%
101.	Cbz-Ala-Tyr(OBn)-Trp-O*t*Bu	88	<5%
102.	Cbz-Ala-Leu-Trp-O*t*Bu	77	<5%
103.	Cbz-Ala-Pro-Trp-O*t*Bu	81	<5%
104.	Cbz-Ala-*D*-Phg-Trp-O*t*Bu	81	50
104.	Cbz-Ala-*L*-Phg-Trp-O*t*Bu	83	50

Tableau 11

Par la suite, l'influence de l'aminoacide engagé dans la réaction de couplage peptidique a été étudiée. Pour cela, le dipeptide Cbz-Ala-Phe-OMe est engagé dans la séquence réactionnelle (Schéma 161) et les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 12. Les tripeptides sont obtenus de façon efficace et montrent une bonne rétention de l'information chirale du second aminoacide.

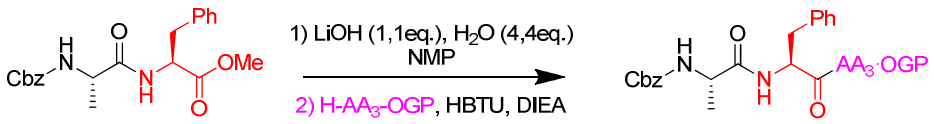


Schéma 161

Composé	Tripeptide obtenu	Rendement	% d'épimérisation de AA_2
105.	Z-Ala-Phe-Leu-OMe	68%	<5%
106.	Z-Ala-Phe-Pro-OMe	72%	<5%
107.	Z-Ala-Phe-Tyr(OtBu)-OMe	83%	<5%
108.	Z-Ala-Phe-Trp-O*t*Bu	82%	<5%

Tableau 12

D'autres essais sont actuellement en cours avec d'autres aminoacides et nous espérons pouvoir les présenter sous peu.

La possibilité de faire des couplages peptidiques de manière itérative nous a semblé une perspective très intéressante d'application de notre synthèse. En effet, à notre connaissance,

aucun exemple de la littérature ne fait état de construction itérative *C*-terminale de peptides. Un dipeptide, porteur d'un ester méthylique par exemple, serait engagé dans la séquence « saponification-couplage » puis dans une seconde séquence, voire dans une troisième. Nous aurions alors accès à des tétrapeptides ou des pentapeptides à partir d'un dipeptide en un seul pot. Des essais sont actuellement en cours au sein du laboratoire et nous espérons également les présenter sous peu.

2.4 Conclusion et perspectives

Nous avons ici développé la première synthèse de peptidomimétiques où le lien amide est remplacé par un imidazole. Nous avons pu appliquer cette méthodologie à la synthèse de différents dipeptides comportant des fonctionnalités variées et nous avons déterminé la basicité de notre motif en fonction de la substitution du cycle imidazole sur des motifs dicétopipérazines.

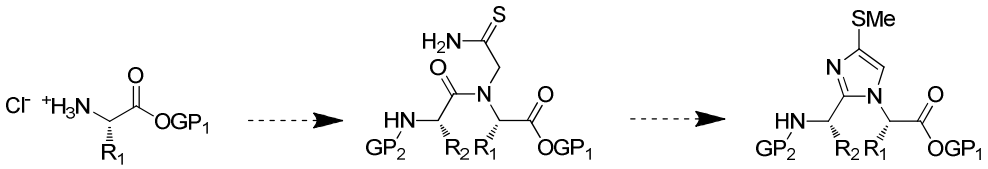


Figure 39

Nous avons également réalisé la synthèse d'analogues de composés bioactifs comprenant notre mime en lieu et place d'un lien amide afin d'étudier l'influence d'un point de vue structural et biologique.

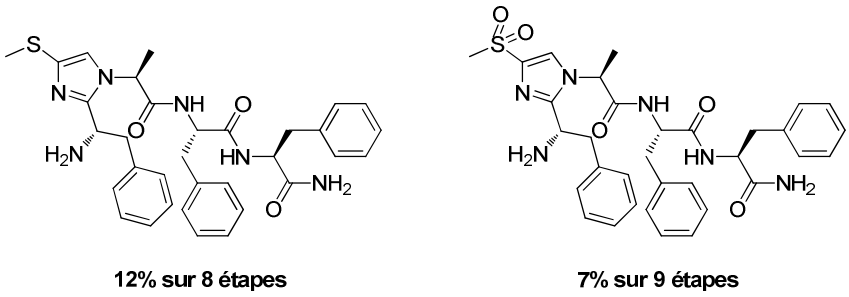


Figure 40

Enfin, nous avons développé une méthode originale de couplage peptidique utilisant les carboxylates de lithium comme intermédiaires non-isolables.

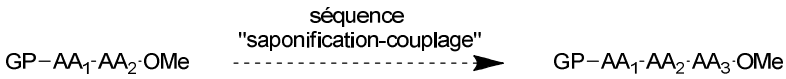


Schéma 162

Les perspectives de ce sujet sont multiples :

- D'une part, on peut envisager la synthèse de nouveaux analogues d'intérêt biologique de type peptidique ou profiter de la conformation cis-bloquée imposée par notre modèle pour la synthèse de peptides cycliques.

- La transposition de la méthodologie en phase solide est également à l'étude et permettrait l'utilisation de notre motif par des spécialistes de la phase solide.

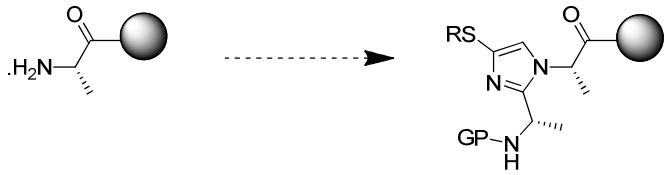


Schéma 163

- D'une autre part, la synthèse de nouveaux fluorophores dérivés de notre motif est également à l'étude sur des motifs proches de la GFP, résultant de la condensation de notre mercaptoimidazole porteur d'un groupement labile sur l'atome de soufre.

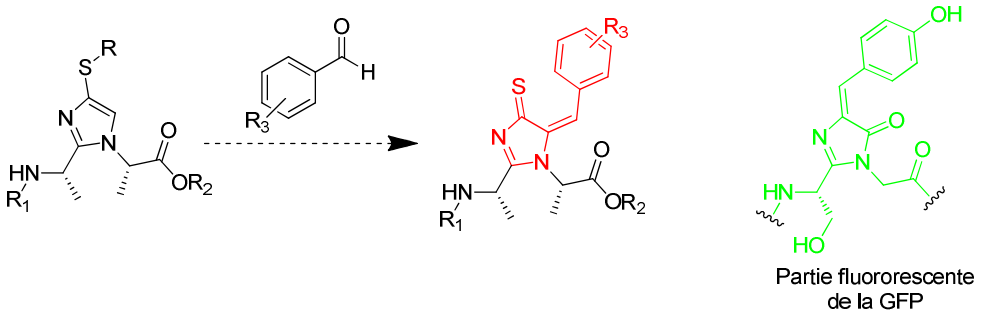


Schéma 164

- Enfin, des essais préliminaires de C-H arylation sur des dérivés méthylsulfonyle ainsi que de couplage direct des dérivés méthylsulfanyle ont été réalisés mais leur optimisation reste à réaliser. Une extension à la synthèse d'autres hétérocycles est également envisagée.

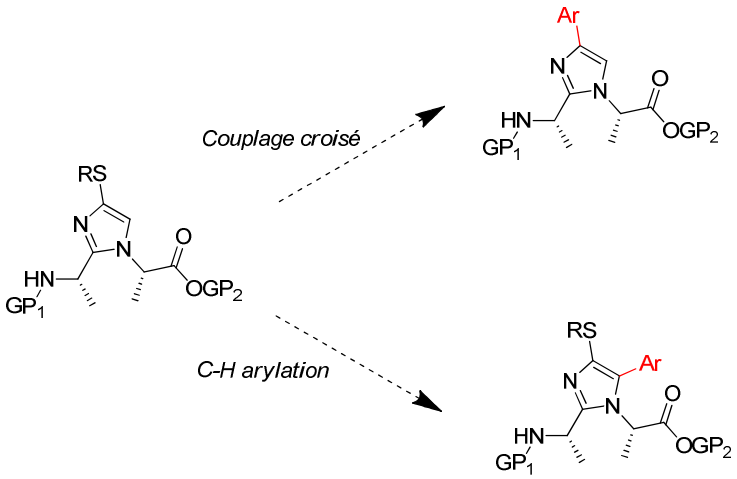


Schéma 165

Le travail réalisé au cours de cette partie a conduit à deux publications et deux autres sont en cours de finalisation.

Crépin, A.; Wattier, N.; Petit, S.; Fruit, C.; Bischoff, L.; Marsais, F. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 128.

Petit, S.; Fruit, C.; Bischoff, L. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4928.

Partie experimentale

General methods

Melting points

Melting points of solid compounds (°C) were mesured on a WME Köfler hot-stage with a precision of 2°C (+-2°C)

Nuclear Magnetic Resonance

NMR spectra were recorded on BRUKER AVANCE-300 (300MHz) spectrometer. ^{1}H at 300MHz, ^{13}C at 75MHz using $CDCl_3$, MeOD, C_6D_6, D_2O or DMSO as solvents and with the residual solvent signal as internal standards unless otherwise indicated. The following abbreviations are used to describe peak pattern: s (singlet), d (doublet), dd (doublet of doublet), t (triplet), m (multiplet), br s (broad singlet).

Elemental Analysis

Elemental analyses were carried out at the University of Rouen (Elemental Analyses Service Laboratory) on a CARLO ERBA 1160 apparatus. Measurement accuracy +- 0.4% on carbon.

Infrared spectrometry

IR spectra were recorded on a PERKIN ELMER IRTF 1650 spectrometer. Liquids were applied as a film both KBr windows and solids were dispersed in a KBr pellet. Absorption bands are given in cm^{-1}.

Mass spectrometry

Mass spectra analysis were performed by the Mass Spectrometry Laboratory of the University of Rouen. Mass spectra (EI, IC) were recorded with a JEOL JMS-AX500 spectrometer.

Optical rotation

Optical rotation were measured at 20°C on a PERKIN ELMER 641 polarimeter.

$[\alpha]^{20}_{D}$ were calculated with formula $[\alpha]^{20}_{D} = 100 \times \alpha \times (l \times c)^{-1}$

l = analytical tube length in dm.

c = concentration in g/100mL

α = rotation angle measurement in °

Chromatography

Thin layer chromatography

Analytical thin layer chromatographies (TLC) were performed on silica gel plates (Merck Kieselgel $^{60}F_{254}$) and compounds were visualized by irradiation with UV light or revealed with stains (phosphomolybdic acid, CAN, $KMnO_4$, vanillin or nihydrin).

Flash column chromatography

Chromatographies on silica gel were carried out using Merck silica gel (40-63 mesh ATSM).

High Performance Liquid Chromatography

Analytical HPLC analysis were performed using THERMO Hypersil Gold or THERMO Kromasil colums with TFA 0.1%/MeOH gradient as eluent.

Solvents and diverse reagents

Tetrahydrofuran (THF) and diethylether (Et_2O) were distilled from sodium/benzophenone ketyl and immediately used. Toluène, N,N-dimethylformamide, dichloromethane, methanol, acetonitrile and triéthylamine were distilled on CaH_2.

Chemical procedures

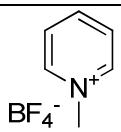
Pyridiniums and reduction

Standard procedure for alkylation of pyridiniums or imidazoliums via Mitsunobu reaction:

To a solution of pyridinium or imidazolium salt (1eq.) and triphenylphosphine (2eq.) in dry acetonitrile was added alcohol (5eq.). The solution was cooled to 0°C and diisoproyldiazodicarboxylate (2eq.) was added dropwise. The solution was allowed to react overnight at room temperature before been concentrated in vacuo. The residue was dissolved in 10mL water and 10mL Et2O. The aqueous layer was washed with Et2O (3x10mL)and freeze-dried. The alkylated pyridinium or imidazolium was obtained as a colorless oil.

All pyridiniums and imidazoliums are well described in literature so were just characterized by NMR.

N-methylpyridinium tetrafluoroborate **1.**

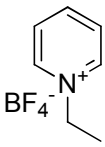


Mol. Formula: $C_6H_8N.BF_4$
Mol. Weight: 180.94g.mol^{-1}

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 4.38 (s, 3H), 8.03 (t, 2H, *J*=6.7Hz), 8.52 (t, 1H, *J*=7.8Hz), 8.76 (d, 2H, *J*=6Hz)

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 48.7, 128.2, 145.3, 145.6.

N-ethylpyridinium tetrafluoroborate **2.**

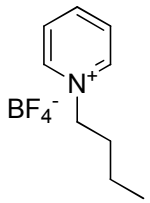


Mol. Formula: $C_7H_{10}N.BF_4$
Mol. Weight: 194.97 g.mol^{-1}

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 1.6 (t, 3H, *J*=7.4Hz), 4.61 (q, 2H, *J*=7.4Hz), 8.02 (t, 2H, *J*=6.8Hz), 8.5 (td, 1H, *J*=8.5, 1.2Hz), 8.82 (d, 2H, *J*=5.7Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz):15.5, 128.1, 143.8, 145.3.

N-butylpyridinium tetrafluoroborate **3.**

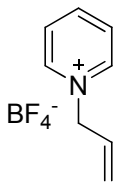


Mol. Formula: $C_9H_{14}N.BF_4$
Mol. Weight: 223.02

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz):0.91 (t, 3H, *J*=6.4Hz), 1.32 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), , 4.58 (t, 2H, *J*=7.4Hz), 8.03 (t, 2H, *J*=6.8Hz), 8.50 (td, 1H, *J*=7.8, 1.1Hz), 8.80 (d, 2H, *J*=5.5Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 12.5, 18.6, 32.5, 61.6, 128.1, 144.1, 145.3.

N-allylpyridinium tetrafluoroborate **4.**

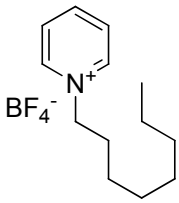


Mol. Formula: $C_8H_{10}N.BF_4$
Mol. Weight: 206.98

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 5.21 (d, 2H, *J*=6.2Hz), 5.46 (d, 1H, *J*=17Hz), 5.53 (d, 1H, *J*=10.4Hz), 6.15 (m, 1H), 8.00 (t, 2H, *J*=7.0Hz), 8.55 (t, 1H, *J*=7.8Hz), 8.82 (d, 2H, *J*=4.9Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 63.4, 122.9, 128.2, 129.9, 144.2, 145.8.

N-octylpyridinium tetrafluoroborate **5.**

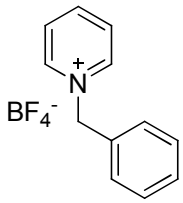


Mol. Formula: $C_{13}H_{22}N.BF_4$
Mol. Weight: 279.13

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 0.82 (t, 3H, *J*=6.4 Hz), 1.5–1.7 (m, 10H), 1.99 (q, 2H, *J*=7.5 Hz), 4.58 (t, 2H, *J*=7.3 Hz), 8.03 (t, 2H, *J*=7.1 Hz), 8.51 (t, 1H, *J*=7.9 Hz), 8.80 (d, 2H, *J*=5.6 Hz)

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 14.1, 22.7, 28.0, 29.3, 30.4, 31.9, 71.9, 128.4, 146.0, 146.1.

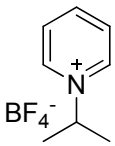
N-benzylpyridinium tetrafluoroborate **6.**



Mol. Formula: $C_8H_{10}N.BF_4$
Mol. Weight: 257.03

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 5.74 (s, 2H), 7.42 (m, 5H), 8.00 (t, 2H, *J*=7.4Hz), 8.48 (t, 1H, *J*=7.4Hz), 8.83 (t, 2H, *J*=5.5Hz).
^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 64.5, 128.2, 129.0, 129.4, 129.8, 132.6, 144.2, 145.8.

N-isopropylpyridinium tetrafluoroborate **7.**

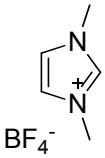


Mol. Formula: $C_8H_{12}N.BF_4$
Mol. Weight: 208.99

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.63 (d, 6H, *J*=6.8Hz,), 4.90 (hept, 1H, *J*=6.6Hz,), 8.05 (d, 2H, *J*=6.7Hz,), 8.59 (t, 1H, *J*=7.5 Hz,), 8.87 (d, 2H, *J*=5.6 Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 28.2, 63.4, 128.4, 146.0, 147.1.

N,N'-dimethylimidazolium tetrafluoroborate **8.**

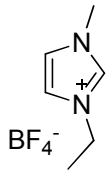


Mol. Formula: $C_5H_9N_2.BF_4$
Mol. Weight: 208.99

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 3.76 (s, 6H), 7.28 (s, 2H), 8.50 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 35.5, 123.3, 136.5.

***N-ethyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 9.**

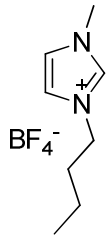


Mol. Formula: $C_6H_{11}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 197.97

^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 1.45 (t, 3H, *J*=7.4Hz,), 3.84 (s, 3H), 4.18 (t, 2H, *J*=7.4Hz), 7.37 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 8.65 (s, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 18.6, 36.4, 56.2, 122.8, 123.6, 135.4.

***N-butyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 10.**

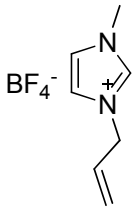


Mol. Formula: $C_8H_{15}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 226.02

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 0.87 (t, 3H, *J*=7.4Hz,), 1.26 (hex, 2H, *J*=7.7 Hz,), 1.79 (q, 2H, *J*=7.0 Hz), 3.83 (s, 3H), 4.14 (t, 2H, *J*=7.0 Hz), 7.36 (d, 1H, *J*=1.5 Hz), 7.41 (d, 1H, *J*=1.5 Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 14.2, 20.8, 31.6, 36.8, 56.0, 122.8, 123.4, 136.2.

***N-allyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 11.**

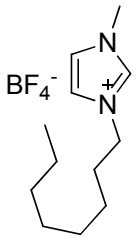


Mol. Formula: $C_7H_{11}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 209.98

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 3.83 (s, 3H), 4.74 (d, 2H, *J*=6.2Hz), 5.30 (d, 1H, *J*=18.6Hz), 5.38 (d, *J*=10.4Hz, 3H), 5.90–6.05 (m, 1H), 7.38–7.40 (m, 2H), 8.66 (s, 1H)

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 36.4, 61.6, 116.4, 122.6, 123.1, 132.8, 138.2.

***N-octyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 12.**

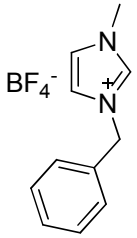


Mol. Formula: $C_{12}H_{23}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 282.13

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 0.81 (t, 3H, *J*=6.6Hz), 1.15–1.3 (m, 10H), 1.81 (quint, 2H, *J*=7.2Hz), 3.84 (s, 3H), 4.13 (t, 2H, *J*=7.0Hz), 7.38 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 8.65 (s, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 14.2, 22.7, 25.6, 26.8, 29.3, 30.4, 36.8, 54.9, 122.8, 123.7, 138.2.

***N-benzyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 13.**

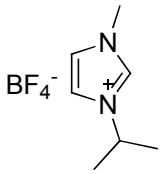


Mol. Formula: $C_{11}H_{13}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 260.04

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 3.82 (s, 3H), 5.32 (s, 2H), 7.25–7.40 (m, 5H), 8.69 (s, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 36.9, 58.6, 122.4, 123.9, 124.8, 126.9, 128.4, 136.1.

***N-isopropyl-N'-methylimidazolium tetrafluoroborate* 14.**

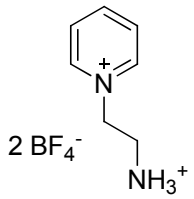


Mol. Formula: $C_7H_{13}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 212.00

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 1.48 (d, 6H, *J*=6.8Hz), 3.82 (s, 3H), 4.56 (hept, 1H, *J*=6.6Hz), 7.36 (d, 1H, *J*=1.7Hz), 7.48 (d, 1H, *J*=1.7Hz), 8.70 (s, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 25.0, 36.9, 54.2, 122.5, 123.7, 137.6.

N-(2-Aminoethyl)pyridinium bis-tetrafluoroborate **15.**

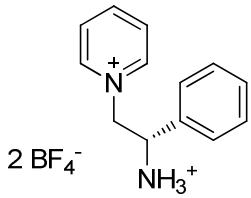


Mol. Formula: $C_8H_{12}N.BF_4$
Mol. Weight: 208.99

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 3.70 (t, 2H, *J*=6.4Hz), 4.90 (t, 2H, *J*=6.4Hz), 8.15 (t, 2H, *J*=6.2Hz), 8.64 (t, 1H, *J*=6.6Hz), 8.93 (d, 2H, *J*=6.5Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 38.9, 56.3, 128.1, 145.3, 146.7.

N-[(2S)-2-Amino-2-phenylethyl]pyridinium bis-tetrafluoroborate **16.**

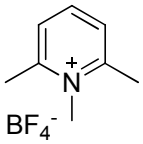


Mol. Formula: $C_8H_{12}N.BF_4$
Mol. Weight: 208.99

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 4.17 (d, 2H, *J*=7.7Hz), 6.25 (t, 1H, *J*=7.7Hz), 8.11 (t, 2H, *J*=6.8Hz), 8.59 (t, 1H, *J*=6.7Hz), 9.04 (d, 2H, *J*=6.0Hz)

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 49.8, 63.5, 128.1, 129.7, 130.5, 130.9, 134.5, 144.8, 147.6.

N-Methyl-2,6-lutidinium tetrafluoroborate **17.**

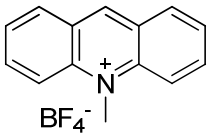


Mol. Formula: $C_8H_{12}N.BF_4$
Mol. Weight: 208.99

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 2.77 (s, 6H), 4.05 (s, 3H), 7.69 (d, 2H, *J*=7.9Hz), 8.15 (t, 1H, *J*=7.9Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 21.0, 39.7, 127.0, 143.9, 155.8.

N-methylacridinium tetrafluoroborate **18.**

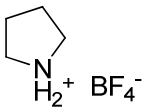


Mol. Formula: $C_6H_{11}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 197.97

^1H NMR (D_2O, 300MHz): 4.52 (s, 3H), 7.79 (m, 2H), 8.07-8.18 (m, 4H), 8.26 (d, 2H, *J*=8.5Hz), 9.59 (s, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 45.1, 120.2, 127.6, 129.4, 131.7, 136.9, 140.3, 150.2.

Pyrrolidinium tetrafluoroborate **19.**

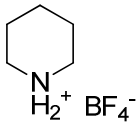


Mol. Formula: $C_4H_{10}N.BF_4$
Mol. Weight: 158.93

^1H NMR (D_2O, 300MHz): 1.84 (t,4H, *J*=6.2Hz), 3.13 (t, 4H, *J*=6.3Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 21.8, 43.9.

Piperidinium tetrafluoroborate **20.**

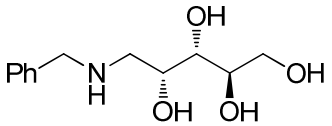


Mol. Formula: $C_5H_{12}N.BF_4$
Mol. Weight: 172.96

^1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.63 (q, 2H, *J*=5.5Hz), 1.73(m, 4H), 3.11 (t, 4H, *J*=5.3Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 21.4, 22.1, 44.4.

(2R,3S,4R)-5-(benzylamino)pentane-1,2,3,4-tetraol **21.**



Mol. Formula: $C_{12}H_{16}N_2O_4$
Mol. Weight: 241.28

To a mixture of D-arabinose (2.5g, 17.6mmol) in absolute EtOH (20mL) was added benzylamine (1.96h, 1.1eq.) and $HBF_4.Et_2O$ (230µL, 5%mol). The solution was pressured with hydrogen (15bars) and heated at 40°C for 20h. The mixture was diluted with EtOH, filtered and concentrated in vacuum, affording **21.** as a white solid (3.47g, 82%).

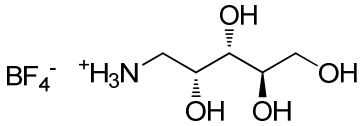
^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 2.64 (dd, 1H, *J*=12.6, 4.3Hz), 2.75 (dd, 1H, *J*=13.2, 8.7Hz), 3.41 (dd, 1H, *J*=8.1, 2.1Hz), 3.56-3.70 (m, 2H), 3.74-3.79 (m, 3H), 3.93-3.98 (m, 1H), 7.29-7.41 (m, 5H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 16.7, 50.6, 52.3, 57.3, 68.7, 70.9, 71.9, 127.3, 128.5, 128.6, 138.9.

Anal. Calcd for $C_{12}H_{16}N_2O_4$: C, 59.73; H, 7.94; N, 5.81; O, 26.52. Found C, 60.01; H, 8.21; N, 5.69.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{13}H_{14}N_2O$ [MH+]*: 241.14, found 241.29.

(2R,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentan-1-aminium tetrafluoroborate **22.**



Mol. Formula: $C_5H_{14}NO_4.BF_4^-$
Mol. Weight: 238.97

To a mixture of **21.** (2.4g, 9.95mmol) and $HF_4.Et_2O$ (1eq.) in absolute EtOH (20mL) was added Pd/C (200mg, 5%mol). The solution was pressured with hydrogen (1bars) and heated at 70°C for 8h. The mixture was diluted with EtOH, filtered and contrated in vacuum, affording **22.** as a white solid (2.32g, 98%).

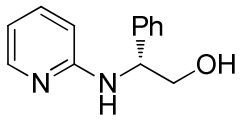
^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 3.14-3.24 (m, 2H), 3.43-3.53 (m, 1H), 3.59-3.73 (m, 2H), 3.75-3.84 (m, 1H), 4.12-4.22 (m, 1H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 43.5, 65.2, 71.9, 73.4, 75.9.

Anal. Calcd for $C_5H_{14}NO_4.BF_4^-$: C, 25.13; H, 5.90; N, 5.86; O, 26.78; B, 4.52; F, 31.80. Found C, 25.01; H, 6.21; N, 5.69.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_5H_{14}NO_4$ [MH+]*: 153.10, found 153.22.

(R)-2-phenyl-2-(pyridin-2-ylamino)ethanol 23.



Mol. Formula: $C_{13}H_{14}N_2O$
Mol. Weight: 214.26

2-bromopyridine (3.25g, 20.6mmol), phenylglycinol (2.83g, 1eq.) and DIEA (3.91mL, 1.15eq.) were charged in medium-pressure tube. The mixture was heated at 160°C for 3days before been cooled. The resulting oil was dissolved in a little amount of CH_2Cl_2 and purified by flash chromatography leading to compound **23.** as a yellow solid (2.69g, 61%).

Rf=0.15 (PE/EA 1.1)

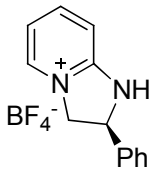
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 3.95 (dd, 1H, *J*=11.1, 3.9, Hz), 4.06 (dd, 1H, *J*=11.1, 4.2Hz), 4.84-4.89 (m, 1H), 6.04 (d, 1H, *J*=5.1Hz), 6.37 (d, 1H, *J*=8.5Hz), 6.60 (t, 1H, *J*=5.9Hz), 7.37-7.54 (m, 6H), 8.06 (d, 1H, *J*=6.3Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):59.1, 67.1, 107.8, 113.2, 126.7, 127.5, 128.7, 137.9, 140.3, 147.3, 158.5.

Anal. Calcd for $C_{17}H_{21}N_3O_5$: C, 72.87; H, 6.59; N, 13.07; O, 7.47. Found C, 72.51; H, 6.21; N, 12.69.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{13}H_{14}N_2O$ [MH+]*: 215.26, found 215.33.

(S)-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-imidazo[1,2-a]pyridin-4-ium tetrafluoroborate 24.



Mol. Formula: $C_{13}H_{13}N_2.HBF_4$
Mol. Weight: 284.06

To a solution of **23.** (50mg, 0.23mmol), PPh_3 (92mg, 1.5eq.) and $HBF_4.Et_2O$ in dry acetonitrile was added dropwise at 0°C 69µL of DIAD. The solution was stirred at room temperature for 16h. Volatiles were removed in vacuo and 20mL of water and 20mL Et_2O were added to the residue. The aqueous layer was washed with Et_2O (2x20mL) and freeze-dried, affording compound **24.** as a colorless powder (60mg, 92%).

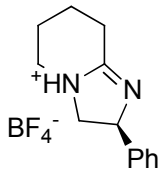
^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 4.21 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.70 (m, 1H), 7.03 (d, 1H, *J*=9.4Hz), 7.18-7.32 (m, 6H), 8.02 (t, 1H, *J*=9.4Hz), 8.42 (d, 1H, *J*=7.9Hz).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 58.2, 63.1, 109.4, 116.8, 124.3, 126.9, 141.6, 144.3, 149.6, 154.3.

Anal. Calcd for $C_{13}H_{13}N_2.BF_4$: C, 54.97; H, 4.61; B, 3.81; F, 26.75; N, 9.86. Found C, 54.46; H, 4.32; N, 9.51.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{13}H_{14}N_2$ [MH+]*: 198.26, found 198.65.

(2S)-2-phenyl-3,4,5,6,7,8-hexahydro-2H-imidazo[1,2-a]pyridin-4-ium tetrafluoroborate 25.



Mol. Formula: $C_{13}H_{17}N_2.BF_4$
Mol. Weight: 288.09

A solution of **<u>24.</u>** (100mg, 0.43mmol) and $Pt0_2$ (14mg, 10%mol) in EtOH under hydrogen atmosphere was stirred for 12h at room temperature. The mixture was filtered and concentrated in vacuo, leading to compound **<u>25.</u>** as an incolor oil (123mg, 100%).

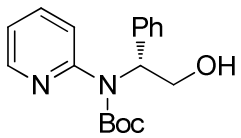
^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 1.42-1.47(m, 2H), 1.54-1.61 (m, 4H), 2.64-2.73 (m, 4H), 2.82 (d, 2H, *J*=6.9Hz), 4.20 (t, 1H, *J*=7.2Hz), 7.32-7.39 (m, 5H).

^{13}C NMR (D_2O, 75MHz): 22.5, 23.4, 30.1, 51.2, 54.0, 64.7, 126.6, 127.9, 128.9, 142.3.

Anal. Calcd for $C_{13}H_{17}N_2BF_4$: C, 54.20; H, 5.95; N, 9.72; B, 3.75; F, 26.38. Found C, 53.89; H, 5.87; N, 9.52.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{13}H_{17}N_2$ [MH+]*: 201.14, found 201.09.

(R)-tert-butyl (2-hydroxy-1-phenylethyl)(pyridin-2-yl)carbamate <u>26.</u>



Mol. Formula: $C_{18}H_{22}N_2O_3$
Mol. Weight: 314.38

Compound **23.** (39mg, 0.18mmol) and DMAP (5mg, 0.2eq.) were dissolved in dry dichloromethane (1mL) under argon atmosphere. Then, Boc_2O (60mg, 1.5eq.) in dry dichloromethane was added at 0°C and the reaction was stirred at romm temperature for 1h. The reaction was quenched with H_2O (10mL). The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x10mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated in vacuo. Filtration of crude compound through a silica plug (PE/EA 1/1) lead to compound **26.** as a colorless oil (m=61mg, 100%).

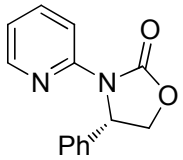
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.37 (s, 9H), 4.26 (d, 2H, *J*=5.8Hz), 4.95 (q, 1H, *J*=6Hz), 5.26 (d, 1H, *J*=6.2Hz), 6.17 (d, 1H, *J*=8.5Hz), 6.47 (dd, 1H, *J*=7, 5.7Hz), 7.18-7.34 (m, 6H), 7.99 (d, 1H, *J*=4.8Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):27.8, 55.6, 69.7, 82.6, 107.3, 113.6, 126.9, 127.9, 128.8, 137.5, 139.2, 148.3, 153.6, 157.9.

Anal. Calcd for $C_{18}H_{22}N_2O_3$: C, 68.77; H, 7.05; N, 8.91; O, 15.27. Found C, 68.89; H, 6.87; N, 9.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{18}H_{23}N_2O_3$ [MH+]*: 315.38, found 315.49.

(S)-4-phenyl-3-(pyridin-2-yl)oxazolidin-2-one **27.**



Mol. Formula: $C_{14}H_{12}N_2O_3$
Mol. Weight: 240.26

Compound **23.** (32mg, 0.15mmol) and Et_3N (41µL, 2eq.) were dissolved in dry dichloromethane (1mL) under argon atmosphere. Then, Troc-Cl (31µL, 1.5eq.) was added at 0°C and the reaction was stirred at room temperature for 1h30. The reaction was quenched with H_2O (10mL). The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x10mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated in vacuo. Filtration of crude compound through a silica plug (PE/EA 1/1) lead to compound **27.** as a colorless oil (18mg, 50%)

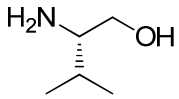
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 4.23 (dd, 1H, *J*=8.5, 4.5Hz), 4.72 (t, 1H, *J*=9.5Hz), 5.85 (dd, 1H, *J*=8.8, 4.5Hz), 6.87 (m, 1H), 7.14-7.32 (m, 5H), 7.57-7.63 (m, 1H), 8.10(m, 2H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):58.5, 70.2, 114.4, 119.5, 126.3, 128.3, 129.0, 137.9, 140.1, 147.7, 150.1, 155.5.

Anal. Calcd for $C_{14}H_{12}N_2O_2$: C, 69.99; H, 5.03; N, 11.66; O, 13.32. Found C, 69.89; H, 4.87; N, 11.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{14}H_{13}N_2O_2$ [MH+]*: 241.26, found 241.57.

(S)-2-amino-3-methylbutan-1-ol **28.**



Mol. Formula: $C_5H_{13}NO$
Mol. Weight: 103.16

A 1L round bottom flask fitted with a reflux condenser and magnetic stirring was charged with $NaBH_4$ (7.78g, 2.4eq.) in 200mL dry THF. Then 10g valine(10g, 85.4mmol) was added to the mixture in one portion. The solution was cooled to 0°C and a solution of I_2 (21.7g, 1eq.) in 50mL dry THF was added dropwise through a dropping funnel in 30min. Then , the reaction was heated to reflux for 18h before being cooled to room temperature. MeOH(150mL) was carrefully added to quenched the reaction and stirred for 30min. Volatiles were removed in vacuo and a solution of 20% KOH (200mL) was added and stirred for 4h. The solution was extracted with 4x150mL CH_2Cl_2. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated to afford crude compound. Bulb-to-bulb distillation lead to compound **28.** as a colorless oil (5.99g, 68%).

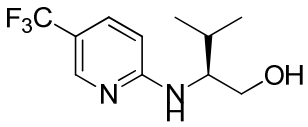
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.85 (dt, 6H, *J*=7.5, 1.4Hz), 1.63 (hept, 1H, *J*=7Hz), 2.56 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.60 (m, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 20.5, 33.3, 58.7, 66.2.

Anal. Calcd for $C_5H_{13}NO$: C, 58.21; H, 12.70; N, 13.58; O, 15.51. Found C, 57.99; H, 12.99; N, 13.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_5H_{14}NO$ [MH+]*: 104.16, found 104.36.

(S)-3-methyl-2-((5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)amino)butan-1-ol **29.**



Mol. Formula: $C_5H_{13}NO$
Mol. Weight: 103.16

Following procedure used for the preparation of compound **23.** using 2-chloro-5-trifluoropyridine (1.76g, 9.7mmol) and compound **28.** (1g, 1eq.), product **29.** was obtained as a colorless oil (1.44g, 60%).

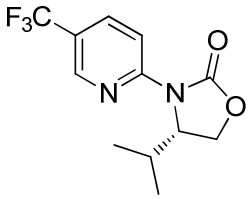
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.87 (dd, *J*=6.8, 3.4Hz), 1.86 (hept, 1H, *J*=6.6Hz), 3.54-3.68 (m, 3H), 4.90 (br s, 1H), 5.71 (d, 1H, *J*=7.6Hz), 6.38 (d, 1H, *J*=8.8Hz), 7.40 (d, 1H, *J*=8.8Hz), 8.11(s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.7, 19.1, 29.6, 59.1, 63.1, 107.2, 115.0 (q, J_{C-F}=32Hz), 124 (q, J_{C-F}=268Hz), 134.3, 145.3, 160.8.

Anal. Calcd for $C_{14}H_{12}N_2O_2$: C, 69.99; H, 5.03; N, 11.66; O, 13.32. Found C, 69.89; H, 4.87; N, 11.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{14}H_{13}N_2O_2$ [MH+]*: 241.26, found 241.57.

(S)-4-isopropyl-3-(5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxazolidin-2-one **30.**



Mol. Formula: $C_{12}H_{13}F_3N_2O_2$
Mol. Weight: 274.24

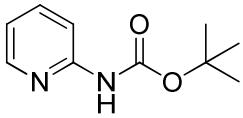
Following procedure used for the preparation of compound **27.**, product **30.** was obtained as a colorless oil (41%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.84 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 0.95 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 2.55 (m, 1H), 4.30-4.42 (m, 2H), 4.86 (m, 1H), 7.90 (d, 1H, *J*=8.8Hz), 8.37 (d, 1H, *J*=8.8Hz), 8.57 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.3, 18.1, 27.6, 59.2, 63.2, 113.3, 122.0 (q, J_{C-F}=33Hz), 122.3 (q, J_{C-F}=270Hz), 135.3, 145.1, 153.2, 155.2.

Anal. Calcd for $C_{14}H_{12}N_2O_2$: C, 52.56; H, 4.78; F, 20.78; N, 10.21; O, 11.67. Found C, 52.14; H, 4.87; N, 10.22.

tert-butyl pyridin-2-ylcarbamate **31.**



Mol. Formula: $C_{10}H_{14}N_2O_2$
Mol. Weight: 194.23

To a solution of Boc_2O (2.65g, 1.1eq.) in dry *t*-BuOH (50mL) was added in one portion 2-aminopyridine (1g, 10.6mmol) and the reaction was stirred at room temperature overnight. Volatiles were removed in vacuum and the crude product was recrystallized in *i*-PrOH leading to compound **31.** as colorless crystals (1.81g, 88%).

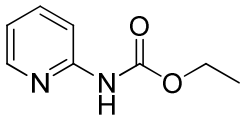
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.53 (s, 9H), 6.94 (td, 1H, *J*=5.7, 0.6Hz), 6.66 (td, 1H, *J*=8.7, 1.8Hz), 7.96 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 8.29 (dd, 1H, *J*=4.8, 0.9Hz), 8.66 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 29.2, 81.2, 118.4, 136.7, 137.5, 147.1, 148.2, 156.9.

Anal. Calcd for $C_{10}H_{14}N_2O_2$: C, 61.84; H, 7.27; N, 14.42; O, 16.47. Found C, 61.89; H, 7.27; N, 14.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{10}H_{15}N_2O_2$ *[MH+]*: 195.23, found 195.57.

ethyl pyridin-2-ylcarbamate **32.**



Mol. Formula: $C_8H_{10}N_2O_2$
Mol. Weight: 166.18

To a solution of 2-aminopyridine (2g, 21.2mmol) and pyridine (5mL) in dry dichloromethane (20mL)was added dropwise at 0°C ethylchloroformate (2.23mL, 1.1eq.). The solution was stirred at room temperature for 4h. The solution was quenched with saturated sodium carbonate solution (40mL) and the aqueous was extracted with CH_2Cl_2 (3x40mL). Combined organic layers was washed with water, dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated in vacuo. Filtration through a silica plug afford compound **32.** as a colorless solid (3.20g, 91%).

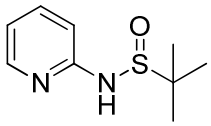
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.35 (t, 3H, *J*=7.2Hz), 4.27 (q, 2H, *J*=7.2Hz), 6.97 (ddd, 1H, *J*=7.2, 4.9, 0.7Hz), 7.70 (td, 1H, *J*=8.8, 1.7Hz), 8.03 (d, 1H, *J*=8.5Hz), 8.35 (dd, 1H, *J*=7.9, 1.8Hz), 9.72 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.7, 61.4, 112.5, 118.6, 138.5, 147.8, 152.3, 153.7.

Anal. Calcd for $C_8H_{10}N_2O_2$: C, 57.82; H, 6.07; N, 18.86; O, 19.26. Found C, 57.89; H, 5.87; N, 19.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_8H_{13}N_2O_2$ *[MH+]*: 167.18, found 167.45.

2-methyl-N-(pyridin-2-yl)propane-2-sulfinamide **34.**



Mol. Formula: $C_9H_{14}N_2OS$
Mol. Weight: 198.29

Following procedure for preparation of compound **32.** using 2aminopyridine (100mg, 1.06mmol) and *t*-butylsulfinylchloride (135µL, 1.2eq.), compound **34.** was obtained as a colorless oil (118mg, 56%)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.26 (s, 9H), 6.55 (br s, 1H), 6.85 (td, 1H, *J*=5.1, 0.6Hz), 7.25 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 7.50 (td, 1H, *J*=8.7, 1.8Hz), 8.08 (dd, 1H, *J*=4.8, 0.9Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):28.5, 48.9, 107.6, 115.2, 138.0, 147.8, 161.24.

Anal. Calcd for $C_9H_{14}N_2OS$: C, 54.52; H, 7.12; N, 14.13; O, 8.07; S, 16.17. Found C, 54.89; H, 6.87; N, 14.22; S, 16.01.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_9H_{15}N_2OS$ [MH+]*: 199.29, found 199.15.

(9H-fluoren-9-yl)methyl pyridin-2-ylcarbamate **35.**

Mol. Formula: $C_{20}H_{16}N_2O_2$
Mol. Weight: 315.35

Following procedure for preparation of compound **32.** using 2aminopyridine and *t*-butylsulfinylchloride, compound **35.** was obtained as a colorless oil (61%)

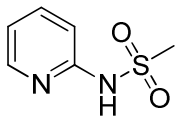
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 4.12 (m, 1H), 5.02 (d, 2H, *J*=6.8Hz), 6.55 (br s, 1H), 6.95 (td, 1H, *J*=5.1, 0.6Hz), 7.27-7.32 (m, 2H), 7.35 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 7.38-7.41 (m, 2H), 7.55 (d, 2H, *J*=7.5Hz), 7.54 (td, 1H, *J*=8.7, 1.8Hz), 7.75 (d, 2H, *J*=7.2Hz), 8.17 (dd, 1H, *J*=4.8, 0.9Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 47.2, 67.5, 113.4, 115.9, 122.2, 126.9, 131.4, 139.1, 141.2, 144.5, 153.3, 154.6, 156.9.

Anal. Calcd for $C_{20}H_{16}N_2O_2$: C, 75.93; H, 5.10; N, 8.86; O, 10.11. Found C, 76.01; H, 5.01; N, 9.24.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{20}H_{16}N_2O_2$ [MH+]*: 317.12, found 317.38.

N-(pyridin-2-yl)methanesulfonamide **36.**



Mol. Formula: $C_6H_8N_2O_2S$
Mol. Weight: 172.20

Following procedure for preparation of compound **32.** using 2aminopyridine (500mg, 5.31mmol) and methylsulfonylchloride (452µL, 1.1eq.), compound **36.** was obtained as a colorless oil (549mg, 60%)

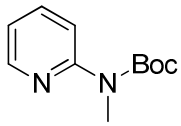
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 3.05 (s, 3H), 6.55 (br s, 1H), 6.95 (td, 1H, *J*=5.1, 0.6Hz), 7.35 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 7.54 (td, 1H, *J*=8.7, 1.8Hz), 8.17 (dd, 1H, *J*=4.8, 0.9Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 45.8, 109.6, 119.2, 137.2, 149.8, 154.2.

Anal. Calcd for $C_6H_8N_2O_2S$: C, 41.85; H, 4.68; N, 16.27; O, 18.58; S, 18.62. Found C, 41.66; H, 4.87; N, 16.22; S, 18.99.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_6H_9N_2O_2S$ [MH+]*: 173.20, found 173.64.

tert-butyl methyl(pyridin-2-yl)carbamate **37.**



Mol. Formula: $C_{11}H_{16}N_2O_2$
Mol. Weight: 208.26

Following procedure for preparation of compound **32.** using *N*-methyl-2aminopyridine (212mg, 1.96mmol) and Boc_2O(513mg, 1.2eq.), compound **37.** was obtained as a colorless oil (208mg, 51%)

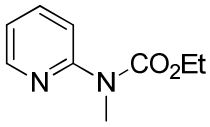
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.38 (s, 9H), 3.40 (s, 3H), 6.94 (td, 1H, *J*=5.7, 0.6Hz), 6.66 (td, 1H, *J*=8.7, 1.8Hz), 7.96 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 8.29 (dd, 1H, *J*=4.8, 0.9Hz)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):28.0, 33.9, 82.3, 118.2, 121.8, 140.1, 150.2, 152.8, 156.4.

Anal. Calcd for $C_{11}H_{16}N_2O_2$: C, 63.44; H, 7.74; N, 13.45; O, 15.37. Found C, 63.17; H, 7.87; N, 13.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{11}H_{17}N_2O_2$ [MH+]*: 209.26, found 209.44.

ethylmethyl(pyridin-2-yl)carbamate **38.**



Mol. Formula: $C_9H_{12}N_2O_2$
Mol. Weight: 180.20

Following procedure for preparation of compound **32.** using *N*-methyl-2aminopyridine (212mg, 1.96mmol) and ethylchloroformate (206µL, 1.1eq.), compound **38.** was obtained as a colorless oil (190mg, 54%)

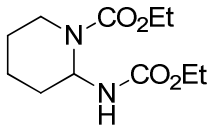
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.21 (t, 3H, *J*=7.1Hz), 3.34 (s, 3H), 4.14 (q, 2H, *J*=7.1Hz), 6.90 (ddd, 1H, *J*=7.2, 4.9, 0.9Hz), 7.51 (td, 1H, *J*=8.7, 2.1Hz), 7.62 (d, 1H, *J*=8.5Hz), 8.27 (dd, 1H, *J*=4.9, 3.6Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz):14.4, 33.9, 61.8, 118.7, 118.9, 119.3, 136.9, 147.3, 155.2.

Anal. Calcd for $C_9H_{13}N_2O_2$: C, 59.99; H, 6.71; N, 15.55; O, 17.76. Found C, 60.25; H, 6.87; N, 15.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_9H_{13}N_2O_2$ *[MH+]*: 181.09, found 181.36.

***ethyl 2-((ethoxycarbonyl)amino)piperidine-1-carboxylate* 39.**



Mol. Formula: $C_{11}H_{16}N_2O_2$
Mol. Weight: 208.26

To a solution of **32.** (500mg, 3.01mmol) and PtO_2 (36mg, 5%mol) in dry EtOAc (6mL) under hydrogen atmosphere was added dropwise ethylchloroformate and the solution was stirred at romm temperature for 12h. The solution was filtered and concentrated in vacuum. Purification by flash chromatography lead to compound **39.** as a colorless oil (288mg, 46%).

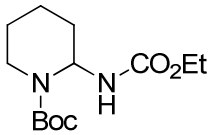
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.21-1.29 (m, 6H), 1.46-1.81 (m, 6H), 2.83-2.94 (m, 1H), 3.99 (d, 1H, *J*=13.4Hz), 4.08-4.19 (m, 4H), 5.15-5.19 (m, 1H), 5.95 (m, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 13.7, 14.1, 21.2, 24.8, 29.9, 44.4, 62.8, 62.9, 77.8, 156.2, 156.7.

Anal. Calcd for $C_{11}H_{16}N_2O_2$: C, 63.44; H, 7.74; N, 13.45; O, 15.37. Found C, 63.17; H, 7.87; N, 13.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{11}H_{17}N_2O_2$ *[MH+]*: 209.26, found 209.44.

***tert-butyl 2-((ethoxycarbonyl)amino)piperidine-1-carboxylate* 40.**



Mol. Formula: $C_{11}H_{16}N_2O_2$
Mol. Weight: 272.34

To a solution of **32.** (200mg, 1.20mmol) and PtO_2 (15mg, 5%mol) under hydrogen atmosphere in dry *t*-BuOH (5mL) was added dropwise a solution of Boc2O (5eq.) in dry EtOAc. The solution was stirred at 40°C for 16h. The mixture was filtered, concentrated in vacuum and purified by flash chromatography, leading to compound **40.** as a colorless solid (309mg, 94%).

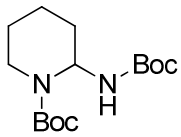
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.22 (t, 3H, *J*=7.2Hz), 1.48 (s, 9H), 1.62-1.88 (m, 6H), 2.76-2.86 (m, 1H), 3.91-3.98 (m, 1H), 4.10 (q, 2H, *J*=6.9Hz), 5.20 (m, 1H), 5.88-5.93 (m, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.4, 19.8, 24.1, 28.7, 31.2, 44.6, 59.8, 74.2, 78.6, 155.8, 156.9.

Anal. Calcd for $C_{11}H_{16}N_2O_2$: C, 57.33; H, 8.88; N, 10.29; O, 23.50. Found C, 57.47; H, 8.84; N, 9.96.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{11}H_{17}N_2O_2$ [MH+]*: 274.17, found 274.44.

tert-butyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)piperidine-1-carboxylate **41.**



Mol. Formula: $C_{15}H_{28}N_2O_4$
Mol. Weight: 300.39

Following procedure for preparation of compound **40.** using compound **31.** (500mg, 2.57mmol) and Boc_2O(2.80g, 5eq.), compound **41.** was obtained as a colorless oil (766mg, 91%).

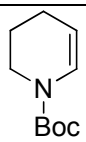
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.37 (s, 9H), 1.40 (s, 9H), 1.50-1.71 (m, 6H), 2.75 (t, 1H, *J*=12.3Hz), 3.85 (d, 1H, *J*=13.5Hz), 5.14 (br s, 1H), 5.79 (d, 1H, *J*=6.9Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.7, 24.8, 28.3, 28.4, 30.0, 39.2, 58.7, 79.8, 79.9, 154.2, 155.6.

Anal. Calcd for $C_{15}H_{28}N_2O_4$: C, 59.97; H, 9.40; N, 9.33; O, 21.30. Found C, 60.05; H, 9.87; N, 9.22.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{15}H_{29}N_2O_4$ [MH+]*: 301.12, found 301.55.

tert-butyl 3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate **43.**



Mol. Formula: $C_{10}H_{17}NO_2$
Mol. Weight: 183.25

To a solution of **41.** (41mg, 136µmol) in dichloromethane (1mL) was added AcOH (1mL) and the mixture was heated at 60°C for 16h. The mixture was concentrated in vacuum and purified by flash chromatography, leading to compound **43.** as an incolor oil (25mg, 28%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.48 (s, 9H), 1.79-1.83 (m, 2H), 1.99-2.05 (m, 2H), 3.53-3.58 (m, 2H), 4.79 (m, 1H), 6.71 (d, 1H, J=8.1Hz).

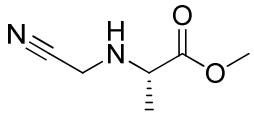
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 21.6, 21.9, 28.5, 29.8, 41.6, 80.6, 105.3, 125.7, 152.5.

Anal. Calcd for $C_{10}H_{17}NO_2$: C, 65.54; H, 9.35; N, 7.64; O, 17.46. Found C, 65.15; H, 9.67; N, 7.29.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{10}H_{18}NO_2$ [MH+]*: 184.14, found 184.22.

Imidazoles based peptidomimetics

***(S)-methyl 2-((cyanomethyl)amino)propanoate* 45.**



Mol. Formula: $C_6H_{10}N_2O_2$
Mol. Weight: 142.16

CAUTION ! *N*-cyanomethyl amines are toxic compounds which need to be distilled under a high vacuum, in order to avoid thermal release of HCN. Oil-pump traps must be quenched with bleach for this reason.

To a solution of *L*-alanine methyl ester hydrochloride (5g, 35.8mmol) and *1H*-benzotriazole (4.69g, 1.1eq.) in MeOH (30mL) was slowly added a solution of NaOH (1.43g, 1eq.) in 20mL water. Then, 37% aqueous formaldehyde (2.93mL, 1.1eq.) was added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 4 hr. EtOAc (30mL) was added and the aqueous layer extracted with 3x30mL EtOAc. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. The yellow oil obtained was dissolved into 50mL of DMSO, NaCN (2.37g, 1.35eq.) was added and the reaction medium stirred for 40 hr at room temperature. The reaction was quenched with 50mL of EtOAc and 50mL of a saturated Na_2CO_3. After extractive work-up with 3x30mL EtOAc, the organic layers were washed twice with brine (50mL), dried over Na_2SO_4 and concentrated to provide a yellow oil. Bulb-to-bulb distillation (142°C, 0.1mmHg) of this residue gave compound **45.** as a colorless oil (3.10g, 61%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.29 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.99 (br s, 1H), 3.44 (q, 1H, *J*=7.1Hz), 3.58 (s, 2H), 3.70 (s, 3H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.3, 35.4, 52.2, 55.1, 117.5, 174.4.

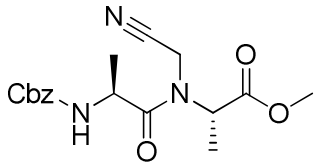
IR (cm^{-1}): 3336, 2884, 2954, 1734, 1683, 1437, 1210, 1157, 1073, 975, 872, 752.

Anal. calcd for $C_6H_{10}N_2O_2$: C,50.69; H,7.09; N,19.71. Found C,50.34; H,7.37; N,19.54.

MS(CI+) : calculated for m/z $C_6H_{11}N_2O_2$ [MH+] 143.16, found 143.48.

$[\alpha]_D^{20}$=-41.8 (c=0.96, MeOH)

***(S)-methyl 2-((S)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-N-(cyanomethyl)propanamido)propanoate* 46.**



Mol. Formula: $C_{17}H_{21}N_3O_5$
Mol. Weight: 347.37

To a solution of **43.** (218mg, 1.53mmol), Z-Ala-OH (393mg, 1.1eq.) and DIEA (814µL, 3eq.) in DMF (2mL) was added at 0°C 1.82mL (2eq.) of T3P/DMF (50%wt). The reaction medium was stirred at rt for 16h. It was quenched with water (20mL) and extracted with 4x20mL EtOAc. The combined organic layers were washed twice with brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated. Flash chromatography purification (SiO_2, petroleum ether/EtOAc 8/2 to 2/8 lead to compound **46.** as a colorless oil (160mg, 30%).

R_f=0.22 (PE/EtOAc 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (mixture of 2 rotamers, ratio 3:1, major rotamer described) 1.36 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.63 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.72 (s, 3H), 4.01 (d, 2H, *J*=17;4Hz), 4.60-4.70 (m, 2H), 5.04-5.15 (m, 2H), 5.68 (d, 1H), 7.30-7.36 (m, 5H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 16.2, 19.3, 31.0, 47.2, 53.1, 54.6, 67.1, 115.7, 128.1, 128.3, 128.7, 136.1, 155.5, 170.7, 172.8.

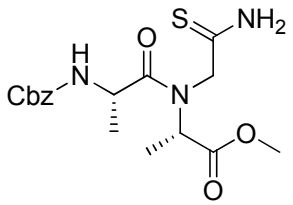
IR (cm^{-1}): 3417, 1694, 1681, 1434, 1323, 1263, 1148.

Anal. Calcd for $C_{17}H_{21}N_3O_5$: C, 55.88; H, 6.34; N, 11.50; O, 26.27. Found C, 55.49; H, 6.11; N, 11.29.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{17}H_{22}N_3O_5$ *[MH+]* : 348.1559, found 348.1549 (-1.0ppm)

$[\alpha]_D^{20}$= -60.4 (c=0.71, MeOH)

(S)-methyl-2-((S)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)propanamido)propanoate 47.



Mol. Formula: $C_{17}H_{23}N_3O_5S$
Mol. Weight: 381.45

To a solution of **46.** (160mg, 0.461mmol) and dry pyridine (740µL) in dry dichloromethane (2mL) was added at 0°C 261µL of thioacetic acid. The reaction was allowed to warm at room temperature and stirred for 16h before been concentrated. Flash chromatography purification (SiO2, petroleum ether/EtOAc 8/2 to 2/8 lead to compound **47.** (101mg, 61%).

R_f= 0.38 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): two rotamers, ratio 9/1, major rotamer = 1.28 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.40 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.69 (s, 3H), 4.31-4.44 (m, 2H), 4.48 (s, 2H), 5.04 (q, 2H, *J*=11.7Hz), 5.82 (d, 1H, 6.9Hz), 7.26-7.33 (m, 5H), 8.36 (br s, 1H), 9.40 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 13.93, 17.22, 47.67, 52.83, 55.74, 56.87, 67.12, 127.91, 128.19, 128.52, 135.95, 156.36, 172.62, 174.02, 202.10.

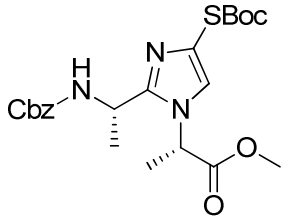
IR (cm^{-1}): 3310, 3209, 1714, 1660, 1525, 1455, 1379, 1224, 1068.

Anal. Calcd for $C_{17}H_{23}N_3O_5S$: C, 53.53; H, 6.08; N, 11.02; O, 20.97; S, 8.41. Found C, 53.17; H, 6.31; N, 11.32; S, 21.12.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{17}H_{24}N_3O_5S$ *[MH+]* : 382.1437, found 382.1434 (-0.8ppm).

$[\alpha]_D^{20}$= -40.9 (c=0.53, MeOH).

(S)-methyl 2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)ethyl)-4-((tert-butoxycarbonyl)thio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate 48.



Mol. Formula: $C_{22}H_{29}N_3O_6S$
Mol. Weight: 463.55

Typical procedure fo cyclisation into mercaptoimidazole 48. to 50. and 68. to 75.:
A solution of coupound **47** (211mg, 0.554mmol) in dry toluene (2mL) and dry dichloromethane (0.2mL) under argon atmosphere is cooled to -78°C. Et_3N (0.623 mL, 8eq.) was added to the mixture, then TMSOTf (0.502mL, 5eq.) was added dropwise and the mixture was allowed to warm at room temperature and stirred for 6h. Then, MeOH was added with a time of contact of 15min. Then, volatiles were removed in vacuo. The residue was dissolved in dry toluene and heated to reflux for 2h. Volatiles were removed in vacuo, dichloromethane (4mL) was added and DTT (341mg, 4eq.) was added to the mixture. The reaction was allowed to react overnight. Then Et_3N (0.194mL, 2.5eq.) and Boc2O (506mg, 5eq.; solution in 1mL dichloromethane) were successfully added and stirred at room temperature for 30min. After extractive procedure (quenching with saturated Na_2CO_3, extract with EtOAc), the crude product was purified by flash chromatography (AcOEt gradient in petroleum ether) to afford product **48** as a colorless oil (192mg, 75 %).

R_f =0.44 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.46 (s, 9H), 1.60 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.72Hz (d;3H, *J*=7.2Hz), 3.58 (s, 3H), 4.96-5.12 (m, 4H), 5.42 (d, 1H, *J*=9Hz), 7.28 (s, 1H), 7.32 (m, 5H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.7, 20.4, 43.1, 53.0, 53.5, 66.9, 85.5, 124.8, 125.9, 128.0, 128.2, 128.6, 136.3, 149.0, 155.6, 167.5, 170.6.

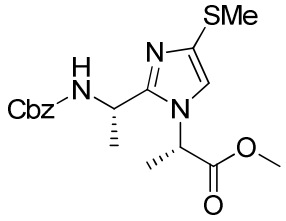
IR (cm^{-1}): 3294, 2979, 2935, 1751, 1727, 1680, 1526, 1329, 1246, 1122, 1059, 970, 839.

Anal. Calcd for $C_{22}H_{29}N_3O_6S$: C, 57.00; H, 6.31; N, 9.06; O, 20.71; S, 6.92. Found C, 57.29; H, 6.03; N, 9.39; S, 6.71.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{22}H_{30}N_3O_6S[MH+]$: 464.1855, *found* 464.1858 (+0.6ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-54.8 (c=0.54, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)ethyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 49.**



Mol. Formula: $C_{18}H_{23}N_3O_4S$
Mol. Weight: 377.46

Using typical procedure for cyclisation, replacing Boc_2O by MeI (1.2eq.), mercaptoimidazole **49** was obtained as a yellow oil (161 mg, 62%).

R_f =0.47 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.58 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.69 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.40 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 4.93-5.02 (m, 2H), 5.08 (s, 2H), 6.96 (s, 1H), 7.33 (m, 5H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.4, 18.7, 20.8, 52.9, 53.2, 67.0, 118.2, 128.1, 128.2, 128.6, 134.5, 136.3, 148.5, 155.5, 170.6.

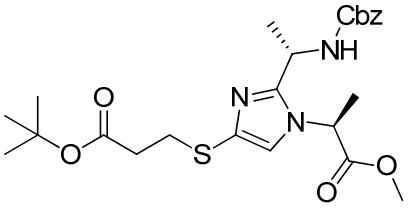
IR (cm^{-1}): 3300, 1744, 1686, 1529, 1311, 1249, 1209, 1061, 757, 698.

Anal. Calcd for $C_{18}H_{22}N_3O_4S$: C, 57.28; H, 6.14; N, 11.13; O, 16.95; S, 8.49. Found C, 57.29; H, 6.03; N, 11.18; S, 8.71.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{18}H_{23}N_3O_4S$ *[MH+]* 378.1488, *found* 378.1470 (-4.8ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-30.8 (c=1.00, MeOH)

***tert-butyl 3-((2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)ethyl)-1-((S)-1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)thio)propanoate* 50.**



Mol. Formula: $C_{24}H_{33}N_3O_6S$
Mol. Weight: 491.60

Using typical procedure for cyclisation, replacing MeI by *tert*-butyl acrylate (1.2eq.), mercaptoimidazole **50.** was obtained as a yellow oil (184 mg, 68%).

R_f =0.45 (PE/EA 6/4).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.44 (s, 9H), 1.58 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.69 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.51 (t, 2H, *J*=7.5Hz), 2.97 (t, 2H, *J*=7.2Hz), 3.61 (s, 3H), 4.93-5.04 (m, 2H), 5.09 (m, 2H), 5.38 (d, 1H, *J*=9Hz), 7.06 (s, 1H), 7.26-7.34 (m, 5H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 20.7, 28.2, 30.4, 36.1, 43.1, 53.0, 53.2, 67.0, 80.8, 121.3, 128.1, 128.2, 128.6, 131.4, 136.3, 148.8, 155.8, 170.6, 171.3.

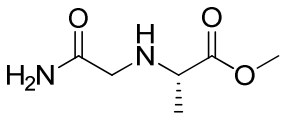
IR (cm^{-1}): 3332, 2979, 1720, 1522, 1457, 1413, 1368, 1247, 1155, 1063.

Anal. Calcd for $C_{24}H_{33}N_3O_6S$: C, 58.64; H, 6.77; N, 8.55; O, 19.53; S, 6.52. *Found* C, 58.41; H, 6.55; N, 8.87; S, 6.47.

M.S (CI+): calcd for m/z $C_{24}H_{34}N_3O_6S$ [MH+] 492.22, found 492.35.

$[\alpha]_D^{20}$=-17.8 (c=0.55, MeOH)

***(S)-methyl 2-((2-amino-2-oxoethyl)amino)propanoate* 54.**



Mol. Formula: $C_6H_{12}N_2O_3$
Mol. Weight: 160.17

To a well-stirred solution of 12,15g (87mmol) of alanine methyl ester hydrochloride and 19,25g (1,2eq.) of iodoacetamide in 60mL distilled acetonitrile under argon atmosphere at 0°C was added through an addition funnel 40mL (2,5eq.) of DIEA. The resulting mixture was stirred for

16h reaching room temperature. After evaporation of volatiles, AcOEt (50mL) and saturated Na_2CO_3 (50mL) were added, then aqueous layer was extracted with 3x50mL of AcOEt. The combined organic layer was washed with brine (50mL), dried over Na_2SO_4 and concentrated to obtain a yellow oil. The crude product **54.** is used for next step without purification.

^{1}H NMR (CDCl$_3$, 300MHz) : 1.29 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 2.84 (br s, 1H), 3.08 (d, 1H, *J*=17.4Hz), 3.35 (m, 1H), 3.35 (d, 1H, *J*=17.1Hz), 3.69 (s, 3H), 6.36 (br s, 1H), 7.09 (br s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl$_3$, 75MHz) : 19.1, 50.6, 52.2, 56.8, 174.9, 175.5.

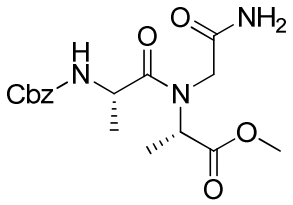
IR (cm^{-1}): 3310, 3213, 1714, 1663, 1528, 1455, 1379, 1220, 1065.

Anal. Calcd for $C_6H_{12}N_2O_3$: C, 44.99; H, 7.55; N, 17.49; O, 29.97. Found C, 44.64; H, 7.41; N, 17.28.

MS (CI+): *calcd for $C_6H_{13}N_2O_3$ [MH+]*: 161.17, found 161.25.

$[\alpha]_D^{20}$=-41.8 (c=0.96, MeOH).

***(S)-methyl-2-((S)-N-(2-amino-2-oxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)propanamido)propanoate* 55.**



Mol. Formula: $C_{17}H_{23}N_3O_6$
Mol. Weight: 365.38

To a solution of **54.** (830mg, 5.18mmol) and Z-Ala-OH (1.73g, 1.5eq.) in dry CH_3CN at 0°C were added 4.18mL of distilled DIEA. Then, 4.63ml of T3P (50%w in AcOEt, 1,5eq.) was added dropwise and the mixture was allowed to react overnight at room temperature. 25mL distilled water was added, and the aqueous layer was extract with 4x25mL of AcOEt. The combined organic layer was washed with 50mL of saturated $NaHCO_3$, then with 50mL of brine, dried over Na2SO4, filtered and concentrated under reduce pressure to obtain a yellow oil. The crude product is purified by flash chromatography (SiO_2, AcOEt gradient in petroleum ether) leading to product **55.** as an incolor oil (m=1.00g, R= 53%)

Rf= 0.11 (PE/EA 5/5)

^{1}H NMR (CDCl3, 300MHz): 1.25 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.36 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.64 (s, 3H), 3.92-4.12 (q, 2H, *J*=18.3Hz), 4.35-4.64 (m, 2H), 4.93-5.04 (q, 2H, *J*=12.3Hz), 6.07 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 6.56 (br s, 1H), 7.20-7.26 (m, 5H), 7.76 (br s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl3, 75MHz): 13.8, 17.4, 47.4, 49.2, 52.5, 66.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.4, 136.1, 171.5, 172.4, 173.8.

IR (cm^{-1}): 3308, 3209, 1711, 1660, 1523, 1455, 1376, 1217, 1068.

Anal. Calcd for C17H23N3O6: C, 55.88; H, 6.34; N, 11.50; O, 26.27. Found C, 55.62; H, 6.17; N, 11.26.

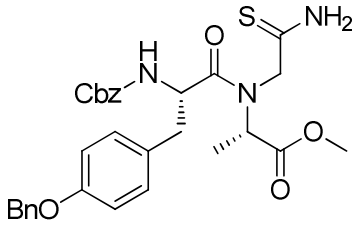
HRMS (DCI+): calcd for m/z C17H24N3O6 [MH+]: 366.1665, found 366.1667 (+0.5ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-62.0 (c=0.51, MeOH).

<u>Typical "one-pot" procedure for preparation of thioamides 47. and 57. to 65., here described for product 47.</u>

To a well-stirred solution of 12,15g (87mmol) of *L*-alanine methyl ester hydrochloride and 19,25g (1,2eq.) of iodoacetamide in 60mL distilled acetonitrile under argon atmosphere at 0°C was added through an addition funnel 40mL (2,5eq.) of DIEA. The resulting mixture was stirred for 16h reaching room temperature. The mixture was cooled to 0°C, then 29,2g (1,5eq.) of Z-Ala-OH and 70,2mL of DIEA (4,5eq.) were added to the solution. 77,7ml of T3P (50%w in AcOEt, 1,5eq.) was added dropwise and the mixture was allowed to react overnight at room temperature. 100mL distilled water was added, and the aqueous layer was extract with 4x150mL of AcOEt. The combined organic layer were washed with 100mL of saturated $NaHCO_3$, then with 100mL of brine, dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated under reduce pressure to obtain a yellow oil. It was diluted in dry DME (60mL) under argon atmosphere, cooled to 0°C and 21g (0,6eq./starting H-Ala-OMe.HCl) of Lawesson's reagent were added in one portion. The mixture was allowed to warm at room temperature and stirred for 6h (complete disparation of acetamide). It was concentrated in vacuo, diluted with 150mL AcOEt and 100mL of saturated $NaHCO_3$. The aqueous layer was extract 3x100mL of AcOEt. Combined organic was washed succesfully with 150mL saturated Na_2CO_3 and 150mL brine. Purification of crude mixture by flash chromotography lead to compound **<u>47.</u>** (14.9g, 45% over 3 steps).

***(S)-methyl-2-((S)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(4-(benzyloxy)phenyl)propanamido)propanoate* 57.**



Mol. Formula: $C_{30}H_{33}N_3O_6S$
Mol. Weight: 563.66

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Ala-OMe.HCl (723mg, 5.18mmol) and Z-Tyr(OBzl)-OH, thioamide **57.** was obtained as a white foam (2.16g, 77%).

R_f=0.44 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.35 (d, 2H, *J*=6.9Hz), 2.84-2.98 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 4.07-4.16 (m, 3H), 4.48 (q, 1H, *J*=7.2Hz), 5.04 (m, 4H), 5.47 (d, 1H), 6.91 (d, 2H, *J*=8.4Hz), 7.10 (d, 2H, *J*=8.4Hz), 7.26-7.44 (m, 10H), 7.78 (br s, 1H), 9.35 (br s, 1H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 13.9, 37.8, 52.9, 56.7, 57.0, 77.4, 115.4, 127.6, 128.1, 128.6, 128.7, 130.7, 136.0, 136.9, 156.2, 158.2, 172.5, 172.8, 201.9.

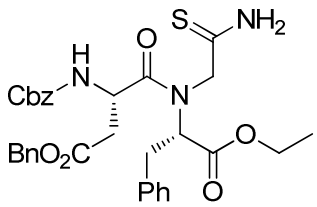
IR (cm^{-1}): 3322, 3033, 2958, 2360, 1735, 1498, 1455, 1388, 1277, 1082, 1028, 749, 698.

Anal. Calcd for $C_{30}H_{32}N_3O_6S$: C, 63.92; H, 5.90; N, 7.45; O, 17.03; S, 5.69. Found C, 63.78; H, 6.12; N, 7.13; S, 5.33.

MS (CI+): calcd for [$C_{30}H_{33}N_3O_6S$-Na^+] 586.20, found 586.24.

$[\alpha]_D^{20}$= -50.5 (c=0.52, MeOH).

***(S)-benzyl 4-((2-amino-2-thioxoethyl)((S)-1-ethoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxobutanoate* 58.**



Mol. Formula: $C_{32}H_{35}N_3O_7S$
Mol. Weight: 605.70

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Phe-OEt.HCl (721mg, 3.14mmol) and Z-Asp(OBzl)-OH, thioamide **58.** was obtained as a yellow foam (798mg, 42%).

R_f=0.41 (PE/EA 65/35)

^{1}H NMR (C_6D_6, 300MHz): (mixture of 3 rotamers, ratio 7/1.5/1.5) 0.93 (t, 3H, *J*=6.9Hz), 2.35 (dd, 1H, *J*=16.2Hz, 4.8Hz), 2.75 (dd, 1H, *J*=16.2Hz, 7.2Hz), 3.15-3.62 (m, 4H), 3.85-4.03 (m, 2H), 4.59 (m, 1H), 4.83-5.14 (m, 5H), 5.80 (d, 1H, *J*=9Hz), 7.00-7.30 (m, 15H), 7.94 (br s, 1H), 9.36 (br s, 1H).

^{13}C NMR (C_6D_6, 75MHz): 13.9, 34.5, 36.5, 49.3, 53.4, 60.6, 62.2, 64.9, 66.8, 67.7, 127.3, 127.4, 128.0, 128.6, 128.7, 128.7, 129.0, 129.6, 136.2, 136.7, 136.9, 137.4, 155.9, 170.6, 171.0, 171.3, 202.0.

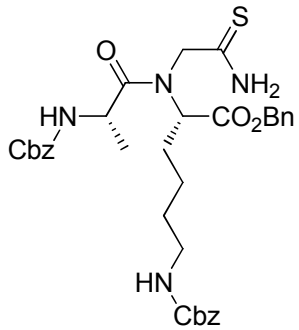
IR (cm^{-1}): 3322, 3033, 1735, 1498, 1455, 1277, 1028, 749, 698.

Anal. Calcd for $C_{32}H_{35}N_3O_7S$: C, 63.45; H, 5.82; N, 6.94; O, 18.49; S, 5.29. Found C, 63.17; H, 5.52; N, 7.14; S, 4.98.

MS (CI+): calcd for [$C_{32}H_{36}N_3O_7S$-Na$^+$] 606.22, found 606.13.

$[\alpha]_D^{20}$=-114.9 (c=0.98, MeOH).

***(S)-benzyl 2-((S)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)propanamido)-6-(((benzyloxy)carbonyl)amino)hexanoate* 59.**



Mol. Formula: $C_{34}H_{40}N_4O_7S$
Mol. Weight: 648.77

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Phe-OMe.HCl (241mg, 1.05mmol) and Z-Asp(OBzl)-OH, thioamide **59.** was obtained as a yellow foam (216mg, 36%).

R_f=0.48 (PE/EA 65/35)

^{1}H NMR (C_6D_6, 300MHz): 1.04 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.07-1.33 (m, 4H), 1.83 (m, 2H), 2.89-3.01 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 4.35 (q, 1H, *J*=6.9Hz), 4.56 (m, 2H), 4.92-5.14 (m, 6H), 6.15 (d, 1H, *J*=6.6Hz), 7.05-7.31 (m, 15H), 8.87 (br s, 1H), 9.62 (br s).

^{13}C NMR (C_6D_6, 75MHz): 17.1, 23.8, 27.9, 28.7, 30.2, 40.9, 48.2, 59.1, 60.2, 61.1, 66.7, 67.2, 67.8, 127.7, 127.9, 128.1, 128.2, 128.4, 128.6, 128.7, 128.7, 128.8, 128.9, 135.9, 137.0, 137.6, 156.7, 156.9, 171.7, 174.9, 202.3.

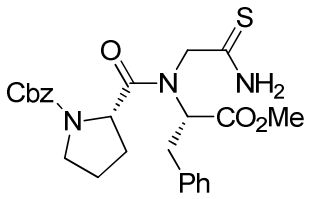
IR (cm^{-1}): 3313, 2934, 1781, 1654, 1522, 1457, 1250, 1118, 1066, 1026, 737, 696.

Anal. Calcd for $C_{34}H_{40}N_4O_7S$: C, 58.72; H, 6.34; N, 9.78; O, 19.56; S, 5.60. Found C, 58.95; H, 6.19; N, 9.88; S, 5.99.

HRMS (ESI+) : *calcd for m/z $C_{34}H_{41}N_4O_7$ [MH+]* : 649.2696, found 649.2724 (+4.3ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-21.0 (c=1.00, MeOH)

***(S)-benzyl 2-((2-amino-2-thioxoethyl)((S)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate* 61.**



Mol. Formula: $C_{25}H_{29}N_3O_5S$
Mol. Weight: 483.58

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Phe-OMe.HCl (264mg, 1.12mmol) and Z-Pro-OH, thioamide **61.** was obtained as a yellow oil (253mg, 47%).

R_f=0.39 (PE/EA 65/35)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (mixture of 2 rotamers, ratio 2.8/1, major rotamer described) 1.18-1.28 (m, 4H), 2.98-3.55 (complex system, 11H), 3.91-4.09 (m, 2H), 4.92(d, 1H, *J*=12.6Hz), 5.08 (d, 1H, *J*=12.6Hz), 6.80-7.30 (m, 10H), 8.48 (br s, 1H), 9.47 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): (mixture of 2 rotamers, ratio 2.8/1, major rotamer described) 24.3, 29.8, 46.8, 52.3, 60.7, 63.7, 67.2, 128.7, 129.0, 129.5, 137.4, 137.6, 155.1, 170.8, 172.8, 200.9.

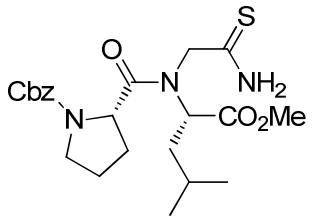
IR (cm^{-1}): 3379, 3304, 3231, 2933, 1741, 1702, 1672, 1642, 1445, 1309, 1235, 1078, 1001, 910, 759, 707, 633, 541.

Anal. Calcd for $C_{25}H_{29}N_3O_5S$: C, 63.38; H, 6.50; N, 8.21; O, 15.64; S, 6.27. Found C, 63.11; H, 6.24; N, 7.98; S, 6.58.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{25}H_{30}N_3O_5S[MH+]$: 484.1906, *found* 484.1921 (+3.1ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-76.8 (c=0.62, MeOH)

(S)-benzyl 2-((2-amino-2-thioxoethyl)((S)-1-methoxy-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate 62.



Mol. Formula: $C_{22}H_{31}N_3O_5S$
Mol. Weight: 449.56

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Leu-OMe.HCl (272mg, 1.50mmol) and Z-Pro-OH, thioamide **62.** was obtained as a yellow oil (276mg, 41%).

R_f=0.43 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR (C_6D_6, 300MHz): (mixture of 2 rotamers, ratio 5/1, major rotamer described) 0.74-0.80 (m, 6H), 1.19-1.27 (m, 3H), 1.56-1.70 (m, 5H), 3.00-3.11 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.41-3.50 (m, 1H), 4.24-4.35 (m, 1H), 4.48-4.62 (q, 2H, *J*=12.9Hz), 4.80 (m, 1H), 5.00 (q, 2H, *J*=12.3Hz), 7.03-7.19 (m, 5H), 8.89 (br s, 1H), 9.69 (br s, 1H).

^{13}C NMR (C_6D_6, 75MHz): 22.5, 23.1, 24.5, 25.5, 29.3, 38.1, 47.0, 52.6, 57.7, 58.2, 67.4, 128.1, 128.7, 128.8, 155.5, 172.6, 174.0, 202.9.

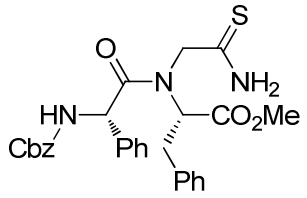
IR (cm^{-1}): 3363, 3188, 2955, 1739, 1685, 1663, 1617, 1413, 1201, 1180, 1129, 1022, 733.

Anal. Calcd for $C_{22}H_{31}N_3O_5S$: C, 58.78; H, 6.95; N, 9.35; O, 17.79; S, 7.13. Found C, 58.51; H, 6.92; N, 9.71; S, 7.35.

HRMS (ESI+) *calcd for m/z* $C_{22}H_{32}N_3O_5S[MH+]$: 450.2063, *found* 450.2050 (-2.9ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-45.4 (c=0.53, MeOH)

***(S)-methyl 2-((S)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-phenylacetamido)-3-phenylpropanoate* 63.**



Mol. Formula: $C_{28}H_{29}N_3O_5$
Mol. Weight: 519.61

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Phe-OMe.HCl (400mg, 1.98mmol) and Z-Phg-OH, thioamide **3f** was obtained as a yellow foam (680mg, 66%).

R_f=0.38 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 2.84-2.91 (dd, 1H, *J*= 13.5Hz, 7.8Hz), 3.09-3.16 (dd, 1H, *J*=6.9Hz), 3.79 (s, 3H), 3.84 (d, 1H, *J*=19.5Hz), 4.59 (q, 1H, *J*=7.5Hz), 4.71 (d, 1H, *J*=19.5Hz), 5.54 (d, 1H), 5.72 (s, 1H), 7.04-7.45 (m, 15H), 7.59 (br s, 1H), 9.42 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 38.4, 53.2, 55.7, 60.5, 63.7, 67.2, 127.3, 128.0, 128.1, 128.3, 128.6, 128.8, 129.3, 129.5, 129.6, 129.7, 129.9, 131.6, 135.4, 136.0, 156.1, 172.7, 174.1, 202.8.

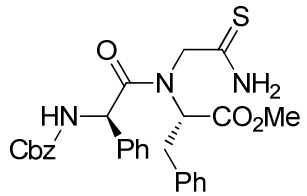
IR (cm^{-1}): 3302, 3199, 1730, 1656, 1455, 1227, 1174, 1026, 745, 699.

Anal. Calcd for $C_{28}H_{29}N_3O_5S$: C, 64.72; H, 5.63; N, 8.09; O, 15.40; S, 6.17. Found C, 64.51; H, 5.45; N, 7.84; S, 6.51.

MS (CI+): *calcd for m/z* $C_{28}H_{30}N_3O_5S$ *[MH+]* 519.18, found 519.47.

$[\alpha]_D^{20}$=-32.5 (c=0.56, MeOH)

***(S)-methyl 2-((R)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-phenylacetamido)-3-phenylpropanoate* 64.**



Mol. Formula: $C_{28}H_{29}N_3O_5$
Mol. Weight: 519.61

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Phe-OMe.HCl and Z-(L)-Phg-OH, thioamide **64.** was obtained as a pink foam (2.16g, 66%).

R_f=0.41 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR (C_6D_6, 300MHz): 2.82-3.00 (ddd, 2H, *J*=13.8Hz, 6.6Hz), 3.23 (s, 3H), 3.89-4.18 (dd, 2H, *J*=67.8Hz, 19.8Hz), 4.85-4.99 (m, 3H), 5.85 (s, 1H), 6.01 (d, 1H, *J*=8.1Hz), 6.92-7.16 (m, 15H), 8.35 (br s, 1H), 9.64 (br s, 1H).

^{13}C NMR (C_6D_6, 75MHz): 30.1, 39.2, 52.6, 54.3, 55.9, 64.5, 67.2, 127.3, 128.4, 128.6, 128.9, 129.5, 129.7, 130.0, 132.3, 136.4, 137.0, 156.3, 172.8, 174.7, 202.2.

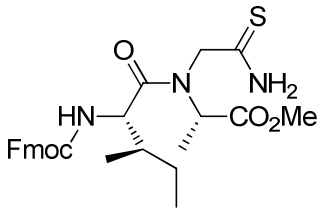
IR (cm^{-1}): 3299, 3194, 1723, 1658, 1454, 1227, 1173, 1027, 749, 699.

Anal. Calcd for $C_{28}H_{29}N_3O_5S$: C, 64.72; H, 5.63; N, 8.09; O, 15.40; S, 6.17. *Found* %C= 64.89, %H= 5.51, %N= 7.99, %S= 6.37.

MS (CI+) = *calcd for m/z* $C_{28}H_{30}N_3O_5S$ *[MH+]* 519.18, found 519.02.

$[\alpha]_D^{20}$=-28.6 (c=0.52, MeOH)

***(S)-methyl 2-((2S,3R)-2-((((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-N-(2-amino-2-thioxoethyl)-3-methylpentanamido)propanoate* 65.**



Mol. Formula: $C_{27}H_{33}N_3O_5S$
Mol. Weight: 511.63

Using standard procedure for preparation of thioamides from aminoacids, using in this case H-Ala-OMe.HCl (2.02g, 14.47mmol) and Fmoc-Ile-OH, thioamide **65.** was obtained as a yellow solid (2.44g, 33%).

R_f=0.40 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.92(m, 3H), 1.00 (m, 2H), 1.38 (d, 3H, *J*=7.5Hz), 1.45 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 1.62 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 4.19-4.68 (m, 7H), 5.90 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 7.27-7.41 (m, 4H), 7.59 (t, 2H, *J*=6.3Hz), 7.75 (d, 2H, *J*=7.5Hz), 8.53 (br s, 1H), 9.50 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 11.2, 14.1, 15.4, 20.9, 37.3, 17.0, 52.2, 55.8, 59.3, 67.1, 119.8, 125.0, 126.9, 127.6, 141.1, 143.8, 156.6, 171.1, 173.0, 202.1.

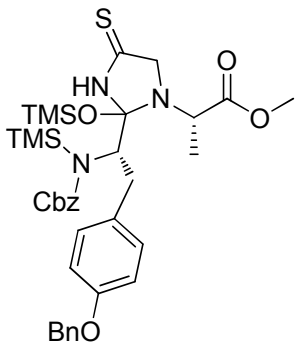
IR (cm^{-1}): 3295, 2962, 1692, 1650, 1534, 1450, 1244, 1033, 758, 741.

Anal. Calcd for $C_{27}H_{33}N_3O_5S$: C, 63.38; H, 6.50; N, 8.21; O, 15.64; S, 6.27. Found C, 63.12; H, 6.78; N, 8.00; S, 6.56.

MS (CI+) = calcd for m/z $C_{27}H_{34}N_3O_5S$ [MH+] 511.63, found 511.18.

$[\alpha]_D^{20}$=-44.3 (c=0.65, MeOH)

(2S)-methyl 2-(2-(4-(4-(benzyloxy)benzyl)-2,2-dimethyl-6-oxo-8-phenyl-5-(trimethylsilyl)-3,7-dioxa-5-aza-2-silaoctan-4-yl)-4-thioxoimidazolidin-1-yl)propanoate 66.



Mol. Formula: $C_{36}H_{49}N_3O_6SSi_2$
Mol. Weight: 708.03

To a solution of **57.** (252mg, 0.446mmol) in dry toluene (2mL) and dichloromethane (0.3mL) at -78°C was added Et_3N (500µL, 8eq.). Then, TMSOTf (405µL, 5eq.) was added dropwise and the solution was allowed to warm at room tempretaure and stirring was continued for 4h. The solution was diluted with dichloromethane and quenched with saturated Na2CO3. The aqueous layer was extracted twicxe with dichloromethane, washed with brine, dried with Na2SO4 and concentrated in vacuum. The crude product was purified by flash chromatography leading to compound **66.** as a colorless foam (148mg, 47%).

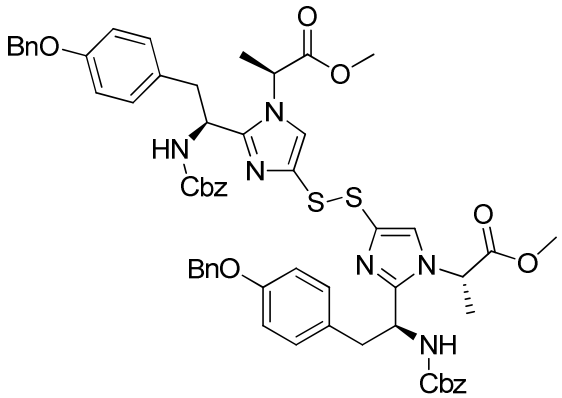
R_f=0.90 (EP/EA 8/2)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): -0.14 (s, 9H), 0.11 (s, 9H), 1.42 (d, 3H, *J*=7.5Hz), 2.75 (dd, 1H, *J*=13.8Hz, 3.3Hz), 3.15 (dd, 1H, *J*=13.5Hz, 11.4Hz), 3.15 (dd, 1H, *J*=11.4Hz, 3.3Hz), 3.57 (d, 1H, *J*=18Hz), 3.69 (s, 3H), 4.08 (d, 1H, *J*=17.4Hz), 4.78 (d, 1H, *J*=17.1Hz), 4.93 (d, 1H, *J*=12Hz), 4.98-5.03 (m, 2H), 5.28 (d, 1H, *J*=11.7Hz), 6.78 (s, 4H), 7.31-7.39 (m, 10H), 10.39 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 0.5, 0.8, 18.1, 31.4, 50.2, 51.6, 58.75, 63.1, 67.6, 69.9, 104.9, 115.1, 127.3, 127.4, 127.8, 127.9, 128.4, 128.5, 128.6, 129.0, 130.1, 136.3, 136.9, 157.4, 158.9, 174.8, 200.8.

M.S (CI+): No molecular pic observed, mass spectra of product **6** observed.

(2S,2'S)-dimethyl 2,2'-((S)-4,4'-disulfanediylbis(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-(4-(benzyloxy)phenyl)ethyl)-1H-imidazole-4,1-diyl))dipropanoate 67.



Mol. Formula: $C_{60}H_{60}N_6O_{10}S_2$
Mol. Weight: 1089.28

Coupound **66.** (135mg, 0.190mmol) in dry toluene (2mL) was heated to reflux for 2h. After evaporation of volatiles, the crude product was purified by flas chromatography to afford compound **67.** as a incolor oil (83mg, 81%).

R_f=0.42 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.16 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 3.17 (dd, 1H, *J*=12.9Hz, 9.3Hz), 3.27 (dd, 1H, *J*=12.9Hz, 5.7Hz), 3.54 (s, 3H), 4.50 (q, 1H, *J*=6.9Hz), 4.91 (q, 1H, *J*=6.3Hz), 4.96 (q, 2H, *J*=9Hz), 5.03 (q, 2H, *J*=7.2Hz), 5.86 (d, 1H, *J*=8.7Hz), 6.81 (d, 2H, *J*=8.4Hz), 6.96 (d, 2H, *J*=8.4Hz), 7.09 (s, 1H), 7.26-7.38 (m, 10H).

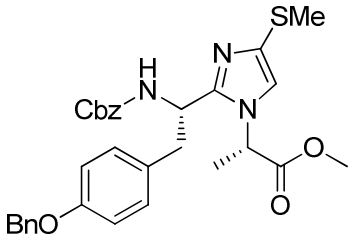
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz) : 17.4, 41.4, 49.1, 52.7, 53.1, 66.8, 69.9, 115.0, 123.2, 127.4, 127.9, 128.0, 128.1, 128.5, 128.6, 129.1, 130.6, 133.7, 136.4, 137.0, 148.6, 155.7, 157.7, 170.5.

IR (cm^{-1}): 3300, 2991, 2911, 1744, 1737, 1660, 1546, 1246, 1122, 1059, 970

Anal. Calcd for $C_{60}H_{60}N_6O_{10}S_2$: C, 66.16; H, 5.55; N, 7.72; O, 14.69; S, 5.89. Found C, 66.01; H, 5.52; N, 7.41; S, 6.08.

HRMS (ESI+) : *calcd for m/z* $C_{60}H_{61}N_6O_{10}S_2[MH+]$: 1089.3891, *found* 1089.3846 (-4.1ppm).

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-(4-(benzyloxy)phenyl)ethyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 68.**



Mol. Formula: $C_{31}H_{33}N_3O_5S$
Mol. Weight: 559.68

Starting from thioamide **57.** (503mg, 0.892mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **68.** was obtained as a incolor oil (304 mg, 61%).

R_f =0.45 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.12 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.42 (s, 3H), 3.09-3.27 (ddd, 2H, *J*=12.9Hz, 5.4Hz), 3.60 (s, 3H), 4.42 (q, 1H, *J*=7.2Hz), 4.91 (m, 1H), 5.01 (s, 2H), 5.07 (d, 2H, *J*=2.7Hz), 5.75 (d, 1H, *J*=8.7Hz), 6.80 (s, 1H), 6.81 (d, 2H, *J*=8.4Hz), 6.93 (d, 2H, *J*=8.7Hz), 7.26-7.34(m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 17.6, 18.6, 41.6, 52.9, 53.03, 66.9, 70.0, 77.3, 115.0, 117.4, 127.4, 127.9, 128.1, 128.2, 128.6, 128.6, 129.2, 130.6, 134.7, 136.5, 137.0, 148.1, 155.6, 157.7, 170.3;

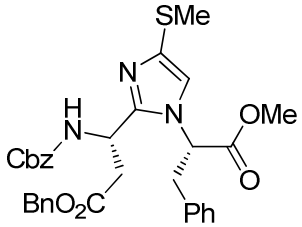
IR (cm^{-1}): 3300, 2991, 2911, 1744, 1737, 1660, 1546, 1246, 1122, 1059, 970.

Anal. Calcd for $C_{31}H_{32}N_3O_5S$: C, 66.53; H, 5.94; N, 7.51; O, 14.29; S, 5.73. Found C, 66.41; H, 6.11; N, 7.44; S, 5.34.

M.S (CI+): calcd for m/z $C_{31}H_{33}N_3O_5S$ [MH+] 560.21, found 560.44.

$[\alpha]_D^{20}$=-12.5 (c=0.66, MeOH)

***(S)-benzyl 3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(1-((S)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-2-yl)propanoate* 69.**



Mol. Formula: $C_{32}H_{33}N_3O_6S$
Mol. Weight: 587.69

Starting from thioamide **58.** (114mg, 0.193mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **69.** was obtained as a yellow oil (74mg, 65%).

R_f =0.38 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 2.35 (s, 3H), 2.70-2.84 (m, 2H), 3.03-3.11 (m, 1H), 3.37-3.44 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 4.82 (m, 1H), 5.07 (m, 4H), 5.40 (m, 1H), 5.62 (d, 1H, *J*=9.3Hz), 7.02-7.36 (m, 16H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 15.7, 18.0, 29.8, 38.2, 38.4, 39.5, 43.4, 52.9, 59.3, 66.5, 67.0, 70.1, 118.1, 127.4, 128.0, 128.2, 128.2, 128.3, 128.6, 128.6, 128.9, 129.0, 134.9, 135.5, 136.3, 147.6, 155.6, 169.7, 170.6.

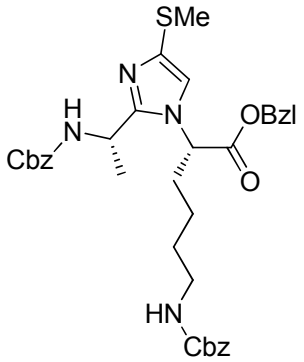
IR (cm^{-1}) : 3354, 3174, 3026, 2849, 1657, 1630, 1496, 1455, 1403, 1282, 1230, 1171, 1043, 750, 698.

Anal. Calcd for $C_{32}H_{33}N_3O_6S$: C, 65.40; H, 5.66; N, 7.15; O, 16.33; S, 5.46; Found C, 65.30; H, 5.99; N, 6.88; S, 5.08.

HRMS (ESI+) : *calcd for m/z* $C_{32}H_{34}N_3O_6S[MH+]$: 588.2168, *found* 588.2168 (+0.0ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-64.4 (c=0.65, MeOH)

***(S)-methyl 6-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)ethyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)hexanoate* 70.**



Mol. Formula: $C_{35}H_{40}N_4O_6S$
Mol. Weight: 644.78

Starting from thioamide **59.** (99mg, 0.153mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **70.** was obtained as a incolor oil (63mg, 72%).

R_f =0.41 (PE/EA 65/35)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) : 1.33-1.50 (m, 4H), 1.57 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.93-2.20 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 3.12 (m, 2H), 4.77 (m, 1H), 4.90-5.15 (m, 7H), 5.35 (d, 1H, *J*=7.8Hz), 6.94 (s, 1H), 7.20-7.35 (m, 15H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz) : 18.4, 20.7, 23.2, 29.4, 29.8, 32.2, 40.5, 43.1, 58.1, 66.8, 67.0, 67.6, 118.4, 128.1, 128.2, 128.3, 128.6, 128.6, 128.8, 134.7, 135.0, 136.4, 136.6, 149.2, 155.6, 156.5, 169.4.

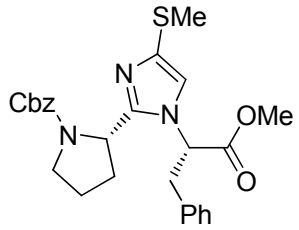
IR (cm^{-1}): 3367, 3051, 2987, 2685, 2521, 2410, 2155, 2053, 1652, 1549, 1422, 1336, 1268, 1032, 895, 737.

Anal. Calcd for $C_{32}H_{33}N_3O_6S$: C, 65.20; H, 6.25; N, 8.69; O, 14.89; S, 4.97; *found* C, 65.17; H, 6.22; N, 8.91; S, 5.11.

MS (CI+): calcd for $C_{35}H_{41}N_4O_6S$ [MH+] 645.27 ; found 645.33.

$[\alpha]_D^{20}$=-31.2 (c=1.00, MeOH)

***(S)-benzyl 2-(1-((S)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-2-yl)pyrrolidine-1-carboxylate* 72.**



Mol. Formula: $C_{26}H_{29}N_3O_4S$
Mol. Weight: 479.59

Starting from thioamide **61.** (189mg, 0.391mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **72.** was obtained as a incolor oil (88mg, 47%).

R_f=0.46 (PE/EA 6/4)

NMR ^{1}H (MeOD, 300MHz) : (mixture of two rotamers, ratio 6/4, major rotamer described as TFA salt, sample purified by reverse preparative HPLC, TFA 0.1%/MeOH 90/10 to 10/90 in 20min, 10mL/min, tr=18.29min, column Hypersil Gold 250x21.2mm, 5µm) 0.80-1.15 (m, 1H), 1.65-1.80 (m, 3H), 2.46 (s, 3H), 3.34-3.53 (m, 4H), 3.83 (s, 3H), 4.76 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.05 (m, 1H), 5.15 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.65 (dd, 1H, *J*=11.4Hz, 3.9Hz), 7.14-7.32 (m, 10H), 7.98 (s, 1H)

NMR ^{13}C ($CDCl_3$, 75MHz) : (describe as basic form, mixture of 2 rotamers ratio 6/4) 18.4, 22.8, 23.7, 40.3, 46.3, 51.8, 52.9, 66.8, 118.0, 127.4, 127.6, 127.8, 128.0, 128.5, 128.9,134.6, 136.1, 136.8, 149.3, 155.1, 170.2.

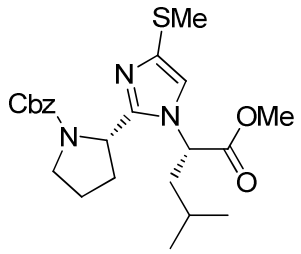
IR (cm^{-1}): 3054, 2986, 2684, 2520, 2409, 2305, 2125, 2054, 1699, 1603, 1550, 1421, 1255, 1156, 1048, 987, 895.

Anal. Calcd for $C_{31}H_{32}N_3O_5S$: C, 65.11; H, 6.09; N, 8.76; O, 13.34; S, 6.69; Found C, 65.03; H, 5.88; N, 9.01; S, 6.80.

MS (CI+): calcd for m/z $C_{31}H_{33}N_3O_5S$ [MH+] 480.60, found 480.93.

$[\alpha]_D^{20}$=-49.2 (c=1.00, MeOH)

***(S)-benzyl 2-(1-((S)-1-methoxy-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-2-yl)pyrrolidine-1-carboxylate* 73.**



Mol. Formula: $C_{23}H_{31}N_3O_4S$
Mol. Weight: 445.57

Starting from thioamide **62.** (173mg, 0.385mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **73.** was obtained as a incolor oil (70 mg, 41%).

R_f =0.47 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (describe as TFA salt, purified by reverse preparative HPLC, TFA 0.1%/MeOH 90/10 to 10/90 in 20min, 10mL/min, tr=18.69min, column Hypersil Gold 250x21.2mm, 5µm) 0.98 (t, 6H, *J*=6.3Hz), 1.50 (m, 1H), 2.04-2.17 (m, 4H), 2.50 (s, 3H), 3.67 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 4.79 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.10 (m, 1H), 5.20 (d, 1H, *J*=12.6Hz), 5.36 (t, 1H, *J*=7.2Hz), 7.12-7.34 (m, 5H), 7.81 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): (describe as basic form, mixture of 2 rotamers ratio 4/1) 18.3, 21.6, 22.9, 24.8, 29.8, 31.5, 42.0, 46.4, 52.7, 56.4, 66.9, 118.2, 127.5, 127.9, 128.0, 128.5, 128.7, 134.2, 136.8, 148.8, 155.2, 171.1.

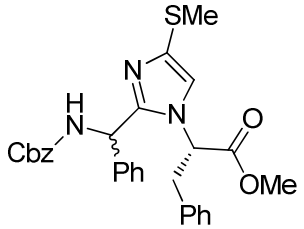
IR (cm^{-1}): 3033, 2970, 2830, 2684, 2520, 2410, 2125, 1603, 1555, 1273, 1018, 899.

Anal. Calcd for $C_{23}H_{31}N_3O_4S$: C, 62.00; H, 7.01; N, 9.43, O, 14.36; S, 7.20; Found C, 62.00; H, 7.01; N, 9.43; O, 14.36; S, 7.20.

MS (CI+): calcd for m/z $C_{23}H_{32}N_3O_4S$ [MH+] 446.58, found 446.27.

$[\alpha]_D^{20}$=-32.8 (c=1.00, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((((benzyloxy)carbonyl)amino)(phenyl)methyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)-3-phenylpropanoate* 74.**



Mol. Formula: $C_{29}H_{29}N_3O_4S$
Mol. Weight: 515.62

For this synthesis, we carried out reaction with the separated diastereoisomers After classic procedure and work-up, we observed that both reactions gave the same NMR spectra of crude products unseparable by flash chromotography. We mixed the reaction together and purified as a single reaction.

Starting from thioamide **63.** or **64.** and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **74.** was obtained as a incolor oil (56mg, 61%).

R_f =0.45(PE/EA 65/35)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (mixture of diastereoisomers ratio 1/1) 2.28 (s, 3H), 3.12-3.24 (m, 2H), 3.53 (s, 1.5H), 3.61 (s, 1.5H), 4.90-5.02 (m, 3H), 5.54 (m, 1.5H), 6.03 (s, 0.5H), 6.51 (s, 0.5H), 6.68 (m, 1.5H), 7.09-7.27 (m, 15H).

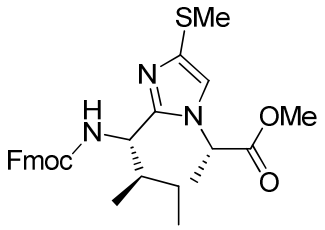
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 18.6, 41.2, 41.7, 48.7, 49.0, 52.9, 53.1, 60.9, 61.5, 66.9, 67.0, 119.7, 126.8, 126.9, 127.9, 128.1, 128.6, 128.7, 129.2, 129.3, 129.4, 129.5, 129.6, 133.4, 133.9, 134.0, 134.1, 136.4, 136.4, 136.8, 137.0, 148.0, 148.1, 155.8, 155.9, 168.7, 169.0.

IR (cm^{-1}): 3351, 3178, 3026, 2849, 1660, 1628, 1496, 1403, 1282, 1234, 1043, 750, 698.

Anal. Calcd for $C_{29}H_{29}N_3O_4S$: C, 67.55; H, 5.67; N, 8.15; O, 12.41; S, 6.22; Found C, 67.52; H, 5.41; N, 7.78; S, 6.58.

M.S (CI+): calcd for m/z $C_{29}H_{30}N_3O_4S$ [MH+] 515.19, found 515.28.

***(S)-methyl 2-(2-((1S,2R)-1-((((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-2-methylbutyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 75.**



Mol. Formula: $C_{28}H_{33}N_3O_4S$
Mol. Weight: 507.64

Starting from thioamide **65.** (222mg, 0.434mmol) and using typical procedure for cyclisation, mercaptoimidazole **75.** was obtained as an incolor oil (62mg, 28%)

R_f =0.45 (PE/EA 6/4)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): ($CDCl_3$, 300MHz) : 0.82 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 0.92 (m, 5H), 1.69 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.42 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 4.22 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 5.07 (q, 1H, *J*=7.2Hz), 5.50 (br d, 1H, *J*=12Hz), 6.93 (s, 1H), 7.27-7.32 (m, 2H), 7.36-7.41 (m, 2H), 7.55 (d, 2H, *J*=7.5Hz), 7.75 (d, 2H, *J*=7.2Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 11.3, 16.0, 18.4, 18.6, 25.0, 29.8, 47.2, 51.6, 53.0, 53.2, 67.1, 117.3, 120.1, 125.2, 125.3, 127.2, 127.8, 127.8, 135.0, 141.4, 143.9, 144.0, 148.8, 156.2, 170.4.

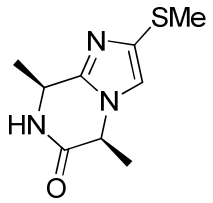
IR (cm^{-1}): 3051, 2986, 2830, 2684, 2520, 2410, 2125, 2054, 1732, 1603, 1550, 1421, 1256, 1156, 1047, 986, 895, 701.

Anal. Calcd for $C_{28}H_{33}N_3O_4S$: C, 66.25; H, 6.55; N, 8.28; O, 12.61; S, 6.32; *found* C, 66.01; H, 6.58; N, 8.07; S, 6.54.

MS (CI+): calcd for $C_{28}H_{34}N_3O_4S$ [MH+] 508.23 ; found 508.13.

$[\alpha]_D^{20}$=-12.7 (c=1.00, MeOH)

***(5S,8S)-5,8-dimethyl-2-(methylthio)-7,8-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-6(5H)-one* 77.**



Mol. Formula: $C_9H_{13}N_3OS$
Mol. Weight: 211.28

To a solution of compound **49.** (286mg, 0.759mmol) and anisole (0.5mL, excess) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere at 0°C was added hydrobromhydric acid in solution in acetic acid (2mL). The mixture was stirred at room temperature for 2h before being concentrated in vacuo. The resulting oil was dissolved in the minimum quantity of dichloromethane and Et_2O was added. The resulting solid was centrifugated and washed 3 times with Et_2O. The solid was dry under vacuo before being dissolved in water. Hydrogenocarbonate Amberlyte was added and the resulting suspension was stirred at room temperature for 15min. The resin was removed by filtration, thoroughly washed with MeOH and concentrated in vacuo to afford compound **77.** as a colorless oil (99mg, 62%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.59 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.68 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 2.37 (s, 3H), 4.58 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 8.00 (br s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.0, 20.4, 23.2, 47.1, 53.4, 116.2, 136.9, 143.2, 168.6.

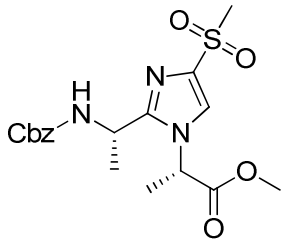
IR (cm^{-1}): 3299, 3099, 1662, 1550, 1300, 1122, 987, 771, 570

Anal. Calcd for $C_9H_{14}N_3OS$: C, 51.16; H, 6.20; N, 19.89; O, 7.57; S, 15.18. Found C, 51.01; H, 6.54; N, 19.81; S, 15.36.

MS (CI+): calcd for m/z $C_9H_{14}N_3OS$ [MH+] 212.08, found 212.18.

$[\alpha]_D^{20}$=-16.6 (c=0.67, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)ethyl)-4-(methylsulfonyl)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 78.**



Mol. Formula: $C_{18}H_{23}N_3O_6S$
Mol. Weight: 409.46

To a solution of **49.** (276mg, 0.732mmol) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere was added *m*CPBA (415mg, 2.3eq.) and stirred at room temperature overnight. 10mL saturated $NaHCO_3$ was added and the aqueous layer was extract 3 times with CH_2Cl_2. Organic layers were washed with brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated. The crude product was purified by flash chromatography (AcOEt gradient in petroleum ether) to afford product **78.** as a white solid (230 mg, 77 %).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.57 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.70 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.07 (s,3H), 3.59 (s, 3H), 4.95-5.16 (m, 4H), 5.54 (d, 1H, *J*=9.3Hz), 7.28 (m, 5H), 7.68 (s, 1H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.58, 20.05, 30.26, 42.73, 43.03, 67.0, 122.8, 127.99, 128.22, 135.98, 139.55, 150.14, 155.50, 169.99

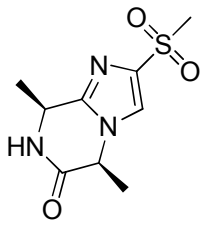
IR (cm^{-1}): 3340, 2854 1749, 1711, 1524, 1455, 1308, 1241, 1154, 1128, 1059, 765, 561.

Anal. Calcd for $C_{18}H_{23}N_3O_6$: C, 52.80; H, 5.66; N, 10.26; O, 23.44; S, 7.83; Found C, 52.57; H, 5.34; N, 10.01; S, 7.99.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{18}H_{24}N_3O_6S[MH+]$: 410.1386, *found* 410.1389 (+0.7ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-50.0 (c=0.59, MeOH)

***(5S,8S)-5,8-dimethyl-2-(methylsulfonyl)-7,8-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-6(5H)-one* 79.**



Mol. Formula: $C_{49}H_{13}N_3O_3S$
Mol. Weight: 243.28

To a solution of compound **78.** (300mg, 0.733mmol) and anisole (0.5mL, excess) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere at 0°C was added hydrobromhydric acid in solution in acetic acid (2mL). The mixture was stirred at room temperature for 2h before being concentrated in vacuo. The resulting oil was dissolved in the minimum quantity of dichloromethane and Et_2O was added. The resulting solid was centrifugated and washed 3 times with Et_2O. The solid was dry under vacuo before being dissolved in water. Hydrogenocarbonate Amberlyte was added and the resulting suspension was stirred at room temperature for 15min. The resin was removed by filtration, thoroughly washed with MeOH and concentrated in vacuo to afford compound **79.** as a colorless oil (102mg, 57%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.69 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.79 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.16 (s, 3H), 4.69-4.76 (m, 1H), 4.82 (q, 1H, *J*=6.6Hz), 6.52 (br s, 1H), 7.58 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 19.9, 22.6, 42.9, 47.1, 54.2, 120.8, 142.1, 145.1, 167.7.

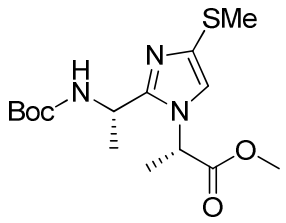
IR (cm^{-1}): 3283, 3108, 1672, 1300, 1122, 987, 771, 570.

Anal. Calcd for $C_9H_{14}N_3O_3S$: C, 44.43; H, 5.39; N, 17.27; O, 19.73; S, 13.18. Found C, 44.07; H, 5.77; N, 17.25; S, 13.24.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_9H_{14}N_3O_3S[MH+]$: 244.0756, *found* 244.0762 (+2.5ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-20.1 (c=0.57, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-((tert-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 80.**



Mol. Formula: $C_{15}H_{25}N_3O_4S$
Mol. Weight: 343.44

To a solution of **49.** (280mg, 0.0.743mmol) and anisole (500µL, excess) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere was added HBr (2mL, 33%wt in AcOH*)* and stirred at room temperature for 1h. Volatiles were removed in vacuo and Et_2O was added. The prepcipitate was centrifugated, washed 3 times with Et_2O and dried under vacuo. The solid was dissolved in dry dichloromethane (3mL), cooled to 0°C and Et_3N (124µL, 1.2eq.) was added. Then a solution of Boc_2O (810 mg, 5eq.) in dry dichloromethane (2mL) was added dropwise and the solution was allowed to react for 16h. 10mL saturated NaHCO3 was added and the aqueous layer was extract 3 times with CH_2Cl_2. Organic layers were washed with brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated. The crude product was purified by flash chromatography (AcOEt gradient in petroleum ether) to afford product **80.** as a white solid (230 mg, 77 %).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) : 1.39 (s, 9H), 1.53 (d, 3H, *J*=6,6Hz), 1.65 (d,3H, *J*=7.2Hz), 2.37 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 4.85 (m,1H), 5.03 (m, 2H), 6.93 (s, 1H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz) : 18.4, 18.9, 20.6, 28.4, 42.3, 79.8, 118.3, 134.2, 148.8, 154.9, 170.7.

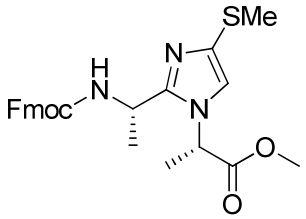
IR (cm^{-1}): 3348, 2979, 1748, 1701, 1509, 1453, 1367, 1244, 1164, 1056.

Anal. Calcd for $C_{15}H_{25}N_3O_4S$: C, 52.46; H, 7.34; N, 12.24; O, 18.63; S, 9.34; Found C, 52.04; H, 7.71; N, 12.01; S, 9.39.

MS (CI+) : calcd for m/z $C_{15}H_{26}N_3O_4S$ [MH+] 344.16, found 344.08.

$[\alpha]_D^{20}$=-46.0 (c=0.50, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-((((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)ethyl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* 81.**



Mol. Formula: $C_{25}H_{27}N_3O_4S$
Mol. Weight: 465.56

To a solution of **49.** (280mg, 0.743mmol) and anisole (500µL, excess) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere was added HBr (2mL, 33%wt in AcOH*)* and stirred at room temperature for 1h. Volatiles were removed in vacuo and Et_2O was added. The prepcipitate was centrifugated, washed 3 times with Et_2O and dried under vacuo. The solid was dissolved in dry dichloromethane (3mL), cooled to 0°C and Et_3N (124µL, 1.2eq.) was added. Then Fmoc-Cl (961 mg, 5eq.) was added and the solution was allowed to react for 16h. 10mL saturated $NaHCO_3$ was added and the aqueous layer was extract 3 times with CH_2Cl_2. Organic layers were washed with brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated. The crude product was purified by flash chromatography (AcOEt gradient in petroleum ether) to afford product **81.** as a white solid (214 mg, 62 %).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.59 (d, 3H, 6.6Hz), 1.68 (d, 3H, 7.2Hz), 2.42 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 4.16-4.30 (m, 2H), 4.43 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 5.52 (d, 1H, 8.7Hz), 6.97 (s, 1H), 7.26-7.41 (m, 4H), 7.57 (d, 2H, 7.2Hz), 7.75 (d, 2H, 7.5Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.40, 18.69, 20.86, 43.10, 47.16, 52.97, 53.20, 67.17, 118.27, 120.09, 125.16, 125.26, 127.16, 127.61, 127.83, 134.51, 141.34, 143.84, 148.60, 155.59, 170.57.

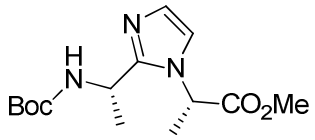
IR (cm^{-1}): 3320, 2952, 1748, 1710, 1520, 1449, 1314, 1240, 1076, 1057, 759, 740.

Anal. Calcd for $C_{25}H_{28}N_3O_4$: C, 64.50; H, 5.85; N, 9.03; O, 13.75; S, 6.89. Found C, 64.20; H, 5.99, N, 9.38; S, 6.59.

HRMS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{25}H_{28}N_3O_4S[MH+]$: 466.1801, *found* 466.1830 (+6.2ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-45.4 (c=0.52, MeOH)

***(S)-methyl 2-(2-((S)-1-((tert-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1H-imidazol-1-yl)propanoate* <u>82.</u>**



Mol. Formula: $C_{14}H_{23}N_3O_4$
Mol. Weight: 297.35

To a solution of compound **<u>80.</u>** (256mg, 0.746mmol) in MeOH (5mL) was added Raney Nickel and the resulting mixture was heated to reflux for 6h. The solution was filtered, volatiles were removed in vacuum and the crude mixture was passed through a silica plug to afford compound **<u>82.</u>** as an incolor oil (151mg, 69 %).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.40 (s, 9H), 1.57 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.68 (d, 3H, *J*=7.5Hz), 3.70 (s, 3H), 4.89-5.14 (m, 3H), 6.98 (s, 1H), 6.99 (s, 1H);

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.9, 20.5, 28.4, 42.3, 52.9, 53.0, 79.8, 117.9, 127.8, 148.1, 155.0, 171.1.

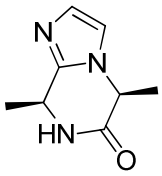
IR (cm^{-1}): 3334, 2992, 1748, 1687, 1513, 1275, 1246, 1209, 1168, 1048.

Anal. Calcd for $C_{14}H_{23}N_3O_4$: C, 56.55; H, 7.80; N, 14.13; O, 21.52; Found C, 56.32; H, 7.54; N, 13.87.

HRMS (ESI+) : *calcd for m/z* $C_{14}H_{24}N_3O_4S[MH+]$: 298.1767, *found* 298.1754 (-4.4ppm).

$[\alpha]_D^{20}$=-12.5 (c=0.66, MeOH)

***(5S,8S)-5,8-dimethyl-7,8-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-6(5H)-one* <u>83.</u>**



Mol. Formula: $C_8H_{11}N_3O$
Mol. Weight: 165.19

To a solution of compound **<u>82.</u>** (230mg, 0.776mmol) in dry dichloromethane (5mL) under argon atmosphere at 0°C was added trifluoroacetic acid (2mL). The mixture was stirred at room temperature for 8h before being concentrated in vacuo. The resulting oil was dissolved in the minimum quantity of dichloromethane and Et_2O was added. The resulting solid was centrifugated and washed 3 times with Et_2O. The solid was dry under vacuo before being

dissolved in water. Hydrogenocarbonate Amberlyte was added and the resulting suspension was stirred at room temperature for 15min. The resin was removed by filtration, thoroughly washed with MeOH and concentrated in vacuo to afford compound **83.** as a colorless oil (82mg, 64%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.65 (d, 3H, *J*=6.6Hz), 1.75 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 4.64-4.71 (ddd, 1H, J1=, *J*=7.2Hz, 1.5Hz), 4.78-4.85 (m, 1H), 6.89 (d, 1H, *J*=1.2Hz), 7.11 (br s, 1H), 7.11 (d, 1H, *J*=0.9Hz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 20.4, 23.3, 47.4, 53.6, 116.3, 130.1, 142.5, 168.6.

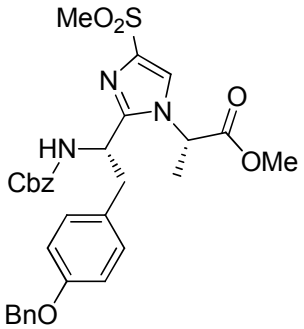
IR (cm^{-1}): 3434, 2685, 2521, 1606, 1558, 1336, 1155.

Anal. Calcd for $C_8H_{12}N_3O$: C, 58.17; H, 6.71; N, 25.44; O, 9.69. Found C, 58.01; H, 6.99; N, 25.72.

MS (CI+) : calcd for m/z $C_8H_{12}N_3O$ [MH+] 166.09, found 166.07.

$[\alpha]_D^{20}$=-11.3 (c=0.83, MeOH)

(S)-methyl 2-(2-((S)-1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-2-(4-(benzyloxy)phenyl)ethyl)-4-(methylsulfonyl)-1H-imidazol-1-yl)propanoate **84.**



Mol. Formula: $C_{31}H_{33}N_3O_7S$
Mol. Weight: 591.67

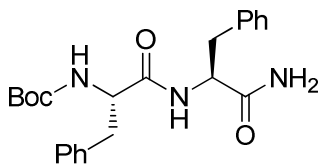
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.21 (d, 3H, J=7.2Hz), 3.12 (s, 3H), 3.07-3.28 (m, 2H), 3.63 (s, 3H), 4.57 (q, 1H,; J=7.2Hz), 4.93-5.11 (m, 5H), 5.73 (d, 1H, J=8.7Hz), 6.82 (d, 2H, J=8.4Hz), 6.94 (d, 2H, J=8.4Hz), 7.26-7.40 (m, 10H), 7.53 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 17.8, 40.9, 42.9, 53.2, 53.7, 67.1, 69.9, 115.1, 121.8, 127.4, 128.0, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 128.7, 130.5, 136.2, 136.9, 140.1, 149.8, 155.6, 157.8, 169.6.

Anal. Calcd for $C_{31}H_{33}N_3O_7S$: C, 62.93; H, 5.62; N, 7.10; O, 18.93; S, 5.42. Found C, 61.01; H, 5.99; N, 6.72; S, 5.18.

MS (CI+): calcd for m/z $C_{31}H_{34}N_3O7S$ [MH+] 592.20, found 592.13.

Boc-Phe-Phe-NH_2 85.



Mol. Formula: $C_{23}H_{29}N_3O_4$
Mol. Weight: 411.49

To a solution of H-Phe-NH_2 (205mg, 0.645mmol) and Boc-Phe-OH (205mg, 1.2eq.) in dry dichloromethane was added at 0°C 404µL of DIEA (3.6eq.) and T3P/EtOAc (461µL, 1.2eq.). The solution was stirred at room temperature for 4h.The solution was poured into a mixture of EtOAc (20mL) and saturated Na_2CO_3 (20mL) and the aqueous layer was extracted with EtOAc (2x25mL). The combined organic layers were washed with water (20mL) and brine (20mL), dried over Na_2SO_4 and concentrated in waccum, leading to compound **85.** as a colorless oil (222mg, 84%).

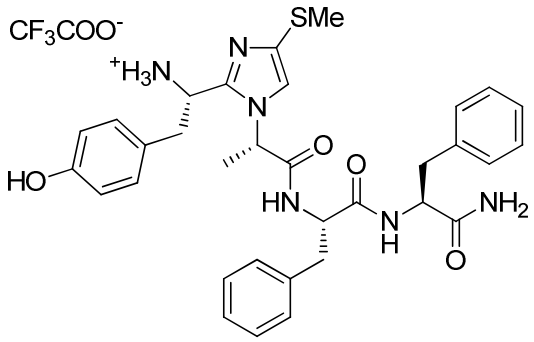
^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 1.35 (s, 9H), 2.72 (dd, 1H, J=13.5, 9Hz), 2.91-2.99 (m, 2H), 3.13 (dd, 1H, J=13.8, 6Hz), 4.21 (dd, 1H, J= 9.3, 5.7Hz), 4.59 (dd, 1H, J=7.8, 5.7Hz), 7.14-7.30 (m, 10H).

^{13}C NMR (D_2O, 300MHz): 28.6, 38.7, 38.9, 55.3, 57.2, 80.8, 127.7, 127.8, 129.4, 129.5, 130.3, 130.4, 138.3, 156.2, 174.0, 175.6.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{23}H_{30}N_3O_4$ [MH+]:* 412.23. Found 412.16.

Anal. Calcd for $C_{23}H_{29}N_3O_4$: C, 67.13; H, 7.10; N, 10.21; O, 15.55. Found C, 67.42; H, 6.99, N, 10.38.

***benzyl ((S)-1-(1-((S)-1-(((S)-1-(((S)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-2-yl)-2-(4-(benzyloxy)phenyl)ethyl)carbamate* 88.**



Mol. Formula: $C_{48}H_{50}N_6O_4S$
Mol. Weight: 839.01

To a solution of ammonium **86.** (52mg, 1.5eq.) and acid **87.** (46mg, 81.6µmol) in dry dichloromethane under argon atmosphere was added DIEA (65µL, 4.5eq.) and T3P/EtOAc

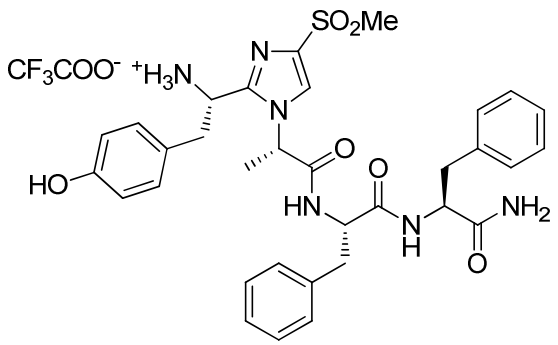
(59µL, 1.5eq.) and the soltuition was allowed to react for 16h. After extractive procedure and flash chromatography, compound **88.** was obtained as in incolor oil (32mg, 47%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (mixture of 2 diastereoisomers, major described) 0.63 (d, 3H, J=6.9Hz), 2.35 (s, 3H), 2.87-3.20 (m, 4H), 4.37-5.05 (m, 8H), 5.57 (br s, 1H), 5.85 (br s, 1H), 6.12 (d, 1H, J=8.7Hz), 6.31 (s, 1H), 6.73-7.43 (m, 24H).

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{48}H_{51}N_6O_6S$ [MH+]:* 839.36. Found 839.48.

Anal. Calcd for $C_{48}H_{50}N_6O_6S$: C, 68.71; H, 6.01; N, 10.02; O, 11.44; S, 3.82. Found C, 68.55; H, 5.99, N, 10.29; S, 4.01.

(S)-1-(1-((S)-1-(((S)-1-(((S)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-4-(methylthio)-1H-imidazol-2-yl)-2-(4-hydroxyphenyl)ethanaminium trifluoroacetate **89.**



Mol. Formula: $C_{35}H_{39}F_3N_6O_6S$
Mol. Weight: 728.78

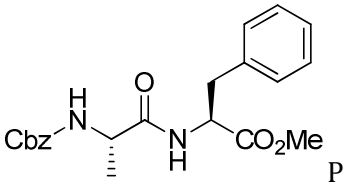
To a solution of **88.** (32mg, 38.1µmol) in dry dichloromethane (2mL) was added anisole (100µL). The solution was cooled to 0°C and HBr/AcOH 33%wt (1mL) was added dropwise. The solution was stirred at room temperature for 4h before been concentrated in vaccum. The residue was dissolved in the minimum amount of dichloromethane and Et_2O was added. The resulting precipitate was centrifugated, wasde with Et_2O (3x5mL) and dried under reduced pressure. The white solid (mixture of 2 diastereoisomers) was purified by preparative HPLC (Hypersil Gold 21.2x250mm, 10mL/min, TFA0.1%/MeOH 50/50) leading to **89.** as a colorless powder after freeze-drying (9mg, 33%).

^{1}H NMR (D_2O, 300MHz): 0.88 (d, 3H, J=6.9Hz), 2.38 (s, 3H), 2.67-3.30 (m, 6H), 4.10 (q, 1H, J=6.9Hz), 4.33 (q, 1H, J=5.1Hz), 4.48-4.54 (m, 2H), 6.75 (d, 2H, J=8.7Hz), 6.83 (d, 2H, J=8.7Hz), 6.87 (s, 1H), 7.08-7.34 (m, 10H).

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{33}H_{39}N_6O_4S$ [M+]:* 615.27. Found 615.44.

Anal. Calcd for $C_{35}H_{39}F_3N_6O_6S$: C, 57.68; H, 5.39;F, 7.82; N, 11.53; O, 13.17; S, 4.40.

Z-Ala-Phe-OMe **92.**



Mol. Formula: $C_{21}H_{24}N_2O_5$
Mol. Weight: 384.43

To a solution of Cbz-Ala-OMe (2.23g, 10mmol) and H-Phe-OMe.HCl (2.16g, 1eq.) in dry dichloromethane(25mL) was added at 0°C DIEA (3.4mL, 2.2eq.) then T3P/AcOEt (7mL, 1.2eq.). The mixture was stirred at romm temperature for 4h. Saturated Na_2CO_3 (25mL) was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x25mL). Combined organic layers were washed with water (50mL) and brine (2x50mL); dried over Na_2SO_4 and filtered. Compound **92.** was obtained as a white solid (3.62g, 95%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.34 (d, 3H, *J*=7Hz), 3.08 (dd, 1H, *J*=13.4, 6.2Hz), 3.15 (dd, 1H, *J*=13.8, 5.8Hz), 3.73 (s, 3H), 4.26 (m, 1H), 4.86 (m, 1H), 5.07 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.13 (d, 1H, *J*=12.1Hz), 5.36 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 6.56 (d, 1H, *J*=6.4Hz), 7.09 (d, 2H, *J*=6.2Hz), 7.23-7.36 (m, 8H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.5, 37.9, 50.5, 52.4, 53.3, 67.1, 127.3, 128.1, 128.3, 128.6, 129.3, 135.7, 136.2, 155.9, 171.8, 171.9.

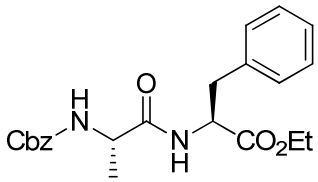
MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{21}H_{25}N_2O_5$ [MH+]:* 385.18. Found 385.13.

Anal. Calcd for $C_{21}H_{24}N_2O_5$: C, 65.61; H, 6.29; N, 7.29; O, 20.81. Found C, 65.42; H, 5.99, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -12.7 (c=0.88, MeOH)

Mp = 107°C

Z-Ala-Phe-OEt **92'.**



Mol. Formula: $C_{22}H_{26}N_2O_5$
Mol. Weight: 398.45

Following procedure used for synthesis of **92.**, compound **92'.** was obtained in 92% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.24 (t, 3H, *J*=7.2Hz), 1.33 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.09 (dd, 1H, *J*=13.8, 6Hz), 3.13 (dd, 1H, *J*=14.1, 6Hz), 4.16 (q, 2H, *J*=7.2Hz), 4.22 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 5.06 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.12 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.27 (d, 1H, *J*=6.6Hz), 6.45 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 7.08-7.36 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.2, 18.6, 50.5, 53.3, 61.7, 67.2, 127.2, 128.2, 128.3, 128.7, 128.7, 129.4, 135.8, 136.3, 155.9, 171.3, 171.8.

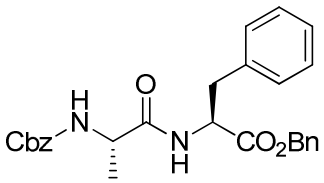
MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{22}H_{27}N_2O_5$ *[MH+]:* 399.18. Found 399.07.

Anal. Calcd for $C_{22}H_{26}N_2O_5$: C, 65.61; H, 6.29; N, 7.29; O, 20.81. Found C, 65.42; H, 5.99, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -17.0 (c=0.87, MeOH)

Mp = 100°C

Z-Ala-Phe-OBn **92''.**



Mol. Formula: $C_{27}H_{28}N_2O_5$
Mol. Weight: 460.52

Following procedure used for synthesis of **92.**, compound **92''** was obtained in 93% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.31 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 3.06 (dd, 1H, *J*=13.8, 6Hz), 3.13 (dd, 1H, *J*=13.8, 5.7Hz), 4.25 (m, 1H), 4.90 (q, 1H, *J*=6Hz), 5.02-5.19 (m, 4H), 5.39 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 6.62 (d, 1H, 7.2Hz), 6.99-7.37 (m, 15H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 37.8, 50.4, 53.3, 67.1, 67.4, 127.2, 128.1, 128.3, 128.6, 128.6, 128.7, 128.7, 129.4, 135.1, 135.6, 136.3, 155.9, 171.2, 171.9.

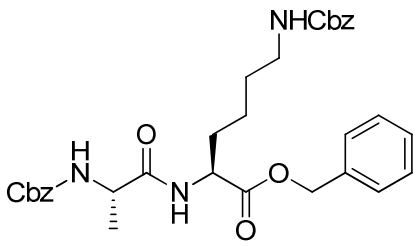
MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{27}H_{29}N_2O_5$ *[MH+]:* 461.21. Found 461.13.

Anal. Calcd for $C_{21}H_{24}N_2O_5$: C, 65.61; H, 6.29; N, 7.29; O, 20.81. Found C, 65.42; H, 5.99, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -26.3 (c=0.96, MeOH)

Mp = 122°C

Z-Ala-Lys(Z)-OBn **93.**



Mol. Formula: $C_{32}H_{37}N_3O_7$
Mol. Weight: 575.65

Following procedure used for synthesis of **92.**, compound **93.** was obtained in 91% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.24-1.42 (m, 4H), 1.32 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 3.03-3.10 (m, 2H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.57-4.59 (m, 1H), 5.01-5.22 (m, 6H), 5.51 (m, 1H), 5.80 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 7.13 (d, 1H, *J*=6.9Hz), 7.28-7.35 (m, 15H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 22.2, 29.1, 31.5, 50.3, 52.12, 66.6, 66.9, 67.1, 128.0, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 135.3, 136.2, 136.6, 156.1, 156.6, 171.9, 172.8.

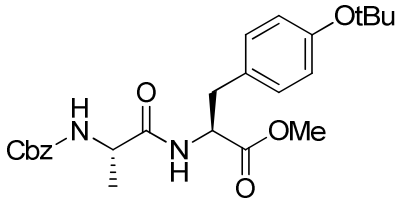
MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{32}H_{38}N_3O_7$ [MH+]:* 576.27. Found 576.13.

Anal. Calcd for $C_{32}H_{37}N_3O_7$: C, 66.77; H, 6.48; N, 7.30; O, 19.46. Found C, 66.42; H, 6.29, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -27.0(c=1.02, MeOH)

Mp = 118°C

Z-Ala-Tyr(OtBu)-OMe **94.**



Mol. Formula: $C_{25}H_{32}N_2O_6$
Mol. Weight: 456.53

Following procedure used for synthesis of **92.**, compound **94.** was obtained in 87% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz):1.31 (s, 9H), 3.01 (dd, 1H, *J*=13.8, 6Hz), 3.08 (dd, 1H, *J*=14.1, 6Hz), 3.68 (s, 3H), 4.22 (m, 1H), 4.80 (q, 1H, *J*=6.3Hz), 5.06 (d, 1H, *J*=12.3Hz), 5.12 (d, 1H, *J*=12Hz), 5.27 (d, 1H, *J*=6.9Hz), 6.47 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 6.88 (d, 1H, *J*=6.6Hz), 6.97 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 7.32-7.37 (m, 5H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.5, 28.8, 50.4, 52.3, 53.4, 78.4, 124.2, 128.1, 128.2, 128.5, 129.7, 130.6, 136.2, 154.4, 155.9, 171.9, 172.0.

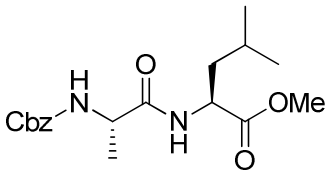
MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{25}H_{31}N_2O_6$ [MH+]:* 457.24. Found 479.27 *([M+Na+]).*

Anal. Calcd for $C_{25}H_{32}N_2O_6$: C, 65.77; H, 7.07; N, 6.14; O, 21.03. Found C, 65.42; H, 6.99, N, 6.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -3.7 (c=0.9, MeOH)

Mp = 100°C

Z-Ala-Leu-OMe **95.**



Mol. Formula: $C_{18}H_{26}N_2O_5$
Mol. Weight: 350.41

Following procedure used for synthesis of **92.**, compound **95.** was obtained in 89% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.90 (d, 6H, *J*=6Hz), 1.38 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.49-1.65 (m, 3H), 3.72 (s, 3H), 4.29 (m, 1H), 4.55-4.63 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.42 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 6.52 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 7.32-7.36 (m, 5H).

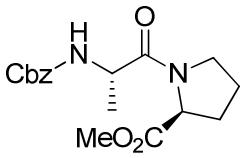
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.7, 21.8, 22.8, 24.8, 41.2, 50.3, 50.8, 52.3, 66.9, 128.0, 128.2, 128.6, 136.2, 156.0, 172.4, 173.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{18}H_{27}N_2O_5$ [MH+]:* 351.19; Found 351.07.

Anal. Calcd for $C_{18}H_{26}N_2O_5$: C, 61.70; H, 7.48; N, 7.99; O, 22.83. Found C, 61.42; H, 7.55, N, 7.88.

$[\alpha]_D^{20}$= -37.4 (c=1, MeOH)

Z-Ala-Pro-OMe **96.**



Mol. Formula: $C_{17}H_{22}N_2O_5$
Mol. Weight: 334.37

Following procedure used for synthesis of **92**, compound **96.** was obtained in 91% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.38 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.87-2.08 (m, 3H), 2.15-2.24 (m, 1H), 3.56-3.73 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 4.51 (m, 2H), 5.07 (s, 2H), 5.67 (d, 1H, *J*=7.8Hz), 7.31-7.35 (m, 5H).

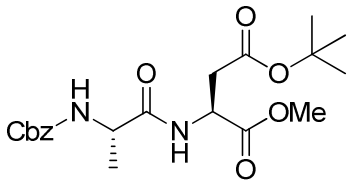
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 17.9, 24.7, 28.8, 46.6, 48.1, 52.1, 66.5, 127.8, 127.9, 128.3, 136.3, 155.6, 171.3, 172.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{17}H_{23}N_2O_5$ [MH+]:* 335.16. Found 335.07.

Anal. Calcd for $C_{17}H_{22}N_2O_5$: C, 61.07; H, 6.63; N, 8.38; O, 23.92. Found C, 61.42; H, 6.92, N, 8.68.

$[\alpha]_D^{20}$= -90.6 (c=0.94, MeOH)

Z-Ala-Asp(OtBu)-OMe **97.**



Mol. Formula: $C_{20}H_{28}N_2O_7$
Mol. Weight: 408.45

Following procedure used for synthesis of **92**, compound **97.** was obtained in 93% yield

^1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.35 (d, 3H, *J*=7.2Hz), 1.39 (s, 9H), 2.68 (dd, 1H, J=16.8, 4.5Hz), 2.87 (dd, 1H, J=17.1, 4.8Hz), 3.69 (s, 3H), 4.28 (m, 1H), 4.77 (m, 1H), 5.06 (m, 2H), 5.70 (d, 1H, J=7.5Hz), 7.12 (d, 1H, J=8.1Hz), 7.23-7.32 (m, 5H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.7, 27.9, 37.3, 48.7, 52.6, 66.9, 81.8, 126.9, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5, 136.3, 155.9, 170.0, 171.1, 172.3.

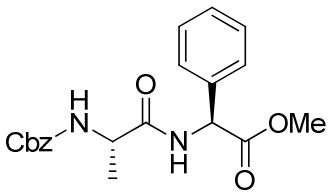
MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{20}H_{29}N_2O_7$ [MH+]:* 409.20. Found 409.03.

Anal. Calcd for $C_{20}H_{28}N_2O_7$: C, 58.81; H, 6.91; N, 6.86; O, 27.42. Found C, 58.42; H, 6.99, N, 6.68.

$[\alpha]_D^{20}$= -19.5 (c=0.84, MeOH).

Mp = 78°C

Z-Ala-(R)-Phg-OMe **98.**



Mol. Formula: $C_{20}H_{22}N_2O_5$
Mol. Weight: 370.40

Following procedure used for synthesis of **92**, compound **98.** was obtained in 92% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.39 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 3.72 (s, 3H), 4.34 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 5.36 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 5.53 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 7.16 (d, 1H, *J*=5.4Hz), 7.29-7.34 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 50.3, 52.8, 56.5, 67.0, 127.2, 128.0, 128.2, 128.6, 129.0, 136.2, 156.1, 171.2, 172.1.

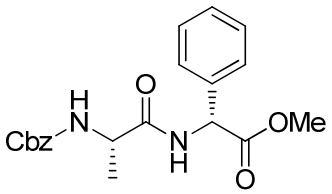
MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{20}H_{23}N_2O_5$ [MH+]:* 371.16. Found 371.26.

Anal. Calcd for $C_{20}H_{22}N_2O_5$: C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56; O, 21.60. Found C, 64.55; H, 6.29, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= -91.2 (c=0.91, MeOH)

Mp = 153°C

Z-Ala-(S)-Phg-OMe **99.**



Mol. Formula: $C_{20}H_{22}N_2O_5$
Mol. Weight: 370.40

Following procedure used for synthesis of **92**, compound **99.** was obtained in 91% yield

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.36 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 3.70 (s, 3H), 4.35 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.39 (d, 1H, *J*=6Hz), 5.53 (d, 1H, *J*=7.2Hz), 7.20 (d, 1H, *J*=5.4Hz), 7.27-7.34 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.8, 50.2, 52.7, 56.4, 66.8, 127.2, 127.9, 128.0, 128.4, 128.5, 128.9, 136.0, 136.2, 155.9, 171.1, 172.1.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{20}H_{23}N_2O_5$ [MH+]:* 371.16. Found 371.19.

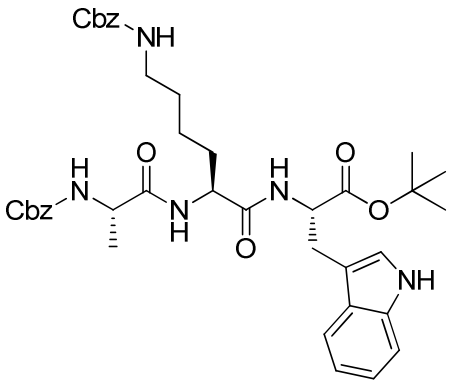
Anal. Calcd for $C_{21}H_{24}N_2O_5$: C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56; O, 21.60. Found C, 64.55; H, 6.29, N, 7.38.

$[\alpha]_D^{20}$= +73.5 (c=1.02, MeOH)

Standard procedure for saponification-peptidic coupling step:

To 0.5mmol of dipeptide in NMP (1mL) under argon atmosphere was added 23mg LiOH (0.55mmol, 1.1eq.) and 39.6µL water. The solution was stirred at room temperature until completion of the reaction (followed by reverse phase HPLC, Hypersil Gold 250x4.6mm, TFA0.1%/MeOH 90/10 to 0/100 in 20min). Then, 0.5mmol of H-AA_3-OR (1eq.), 0.55mmol of HBTU (1.1eq.) and 2.2mmol of DIEA were added to the solution. The mixture was stirred at room temperature for 1h before been poored into a mixture of EtOAc (20mL) and saturated Na_2CO_3 (20mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (2x20mL). Combined organic layers were washed with water (2x25mL) and brine (3x25ml), dried over Na_2SO_4 and concentrated in vacuum. Flash chromatography lead to tripeptide.

Z-Ala-Lys(Z)-Trp-OtBu **100.**



Mol. Formula: $C_{40}H_{49}N_5O_8$
Mol. Weight: 727.85

Using standard procedure for preparation of tripeptide, compound **100.** was obtained as a colorless solid in 81% yield.

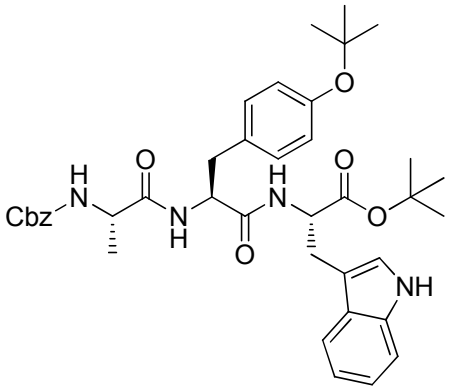
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.12 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.19-1.34 (m, 4H), 1.31 (s, 9H), 2.92-3.02 (m, 2H), 3.15-3.20 (m, 2H), 4.19 (m, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 4.90-5.05 (m, 4H), 5.36 (m, 1H), 5.96 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 6.91 (d, 1H, *J*=1.8Hz), 6.98-7.31 (m, 14H), 7.48 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 8.82 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.4, 22.2, 27.3, 27.9, 29.1, 31.9, 40.4, 50.6, 52.9, 53.5, 65.0, 66.5, 66.9, 82.2, 109.6, 111.4, 118.6, 119.2, 121.8, 123.3, 127.0, 127.5, 127.5, 128.0, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 136.1, 136.2, 136.6, 141.1, 156.2, 156.8, 170.9, 171.5, 173.0.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{40}H_{50}N_5O_8$ [MH+]:* 728.37. Found 728.22.

Anal. Calcd for $C_{40}H_{49}N_5O_8$: C, 66.01; H, 6.79; N, 9.62; O, 17.59. Found C, 66.22; H, 6.99, N, 9.38.

Z-Ala-Tyr(OtBu)-Trp-OtBu **101.**



Mol. Formula: $C_{39}H_{48}N_4O_7$
Mol. Weight: 684.82

Using standard procedure for preparation of tripeptide, compound **101.** was obtained as a colorless solid in 88% yield.

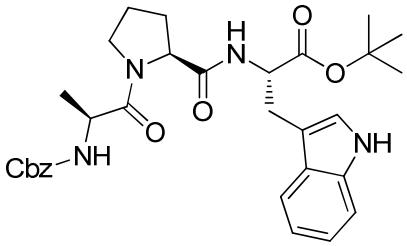
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.28 (s, 9H), 1.35 (s, 9H), 2.86-3.01 (m, 2H), 3.16-3.22 (m, 2H), 4.05-4.11 (m, 1H), 4.63-4.77 (m, 2H), 4.89-5.11 (m, 2H), 5.48 (d, 1H, J=7.2Hz), 6.76 (d, 2H, J=7.2Hz), 7.04 (d, 2H, J=8.4Hz), 6.75-7.31 (m, 9H), 7.43 (d, 1H, J=7.5Hz), 8.57 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.3, 21.1, 27.9, 28.0, 28.9, 37.3, 49.5, 53.5, 54.1, 60.5, 67.2, 82.2, 109.8, 111.4, 118.7, 119.3, 122.0, 123.2, 124.3, 124.4, 127.7, 128.1, 128.2, 128.3, 128.6, 128.6, 129.1, 129.9, 130.0, 131.4, 136.1, 136.2, 154.3, 156.1, 170.3, 170.5, 172.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z $C_{39}H_{49}N_4O_7$ [MH+]:* 685.36. Found 685.27.

Anal. Calcd for $C_{39}H_{48}N_4O_7$: C, 68.40; H, 7.06; N, 8.18; O, 16.35. Found C, 68.42; H, 6.99, N, 8.34.

Z-Ala-Pro-Trp-OtBu **103.**



Mol. Formula: $C_{31}H_{38}N_4O_6$
Mol. Weight: 562.66

Using standard procedure for preparation of tripeptide, compound **103.** was obtained as a colorless solid in 81% yield.

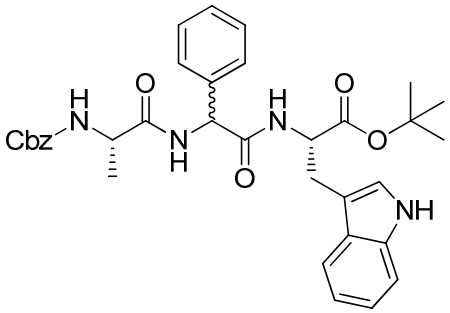
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.95 (d, 3H, J=6.9Hz), 1.38 (s, 9H), 1.85-1.99 (m, 4H), 3.22-3.34 (m, 4H), 4.35 (m, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 5.75 (d, 1H, J=7.2Hz), 6.93-7.32 (m, 9H), 7.56 (d, 1H, J=7.8Hz), 8.49 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 14.3, 17.7, 17.9, 21.1, 24.9, 27.1, 27.7, 28.0, 28.1, 30.8, 47.2, 48.3, 49.5, 53.5, 53.7, 60.0, 60.5, 66.8, 82.3, 109.9, 111.3, 118.7, 119.4, 122.0, 123.2, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.6, 136.1, 155.8, 170.9, 171.1, 172.7.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{31}H_{39}N_4O_6$ *[MH+]:* 563.29. Found 536.41.

Anal. Calcd for $C_{31}H_{38}N_4O_6$: C, 66.17; H, 6.81; N, 9.96; O, 17.06. Found C, 66.22; H, 6.89, N, 10.31.

Z-Ala-Phg-Trp-OtBu (mixture of unseparable diastereomers) **104.**



Mol. Formula: $C_{34}H_{38}N_4O_6$
Mol. Weight: 598.69

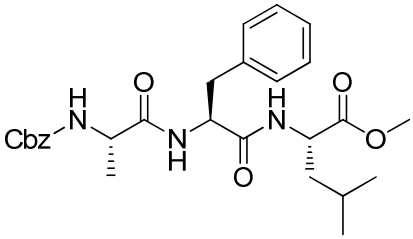
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.28 (s, 9H), 3.12-3.21 (m, 2H), 4.29-4.45 (m, 1H), 4.73-4.78 (m, 1H), 4.92-5.04 (m, 2H), 5.62 (d, 1H, J=6.9Hz), 5.74 (m, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.98-7.30 (m, 14H), 7.49 (d, 1H, J=7.56Hz), 8.14 (s, 1H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 15.3, 18.9, 27.9, 50.5, 53.9, 57.0, 67.0, 82.1, 109.5, 111.2, 118.7, 121.9, 123.1, 127.3, 127.5, 128.1, 128.3, 128.5, 129.0, 135.9, 136.4, 138.0, 156.1, 169.5, 170.5, 172.0.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{21}H_{24}N_2O_5$ *[MH+]:* 385.18. Found 385.11.

Anal. Calcd for $C_{34}H_{38}N_4O_6$: C, 68.21; H, 6.40; N, 9.36; O, 16.03. Found C, 68.00; H, 6.55, N, 9.47.

Z-Ala-Phe-Leu-OMe **105.**



Mol. Formula: $C_{27}H_{35}N_3O_6$
Mol. Weight: 497.58

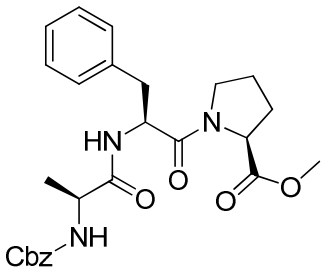
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 0.84 (d, 6H, *J*=6Hz), 1.29 (d, 3H, J=6.9Hz), 1.44-1.59 (m, 3H), 3.05 (d, 2H, J=6.6Hz), 3.66 (s, 3H), 4.27 (m, 1H), 4.49 (q, 1H, J=5.4Hz), 4.75 (q, 1H, J=7.8Hz), 5.01 (d, 1H, J=12.3Hz), 5.10 (d, 1H, J=12Hz), 5.55 (d, 1H, J=7.2Hz), 6.74 (d, 1H, J=7.5Hz), 6.97 (d, 1H, J=7.8Hz), 7.14-7.34 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.6, 22.0, 22.8, 24.8, 38.1, 41.3, 50.7, 51.0, 52.3, 54.2, 67.1, 127.0, 128.2, 128.3, 128.6, 128.7, 129.4, 136.2, 136.4, 156.1, 170.6, 172.3, 172.9.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{27}H_{36}N_3O_6$ *[MH+]:* 498.26. Found 498.22.

Anal. Calcd for $C_{27}H_{36}N_3O_6$: C, 65.17; H, 7.09; N, 8.44; O, 19.29. Found C, 65.22; H, 6.99, N, 8.38.

Z-Ala-Phe-Pro-OMe **106.**



Mol. Formula: $C_{26}H_{31}N_3O_6$
Mol. Weight: 481.54

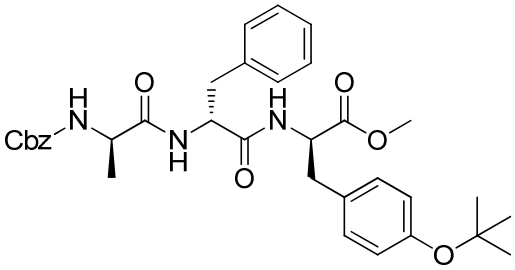
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): (complex mixture of rotamers, major rotamer described) 1.24-1.34 (m, 3H), 1.83-2.01 (m, 2H), 2.95-3.15 (m, 3H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 4.21-4.52 (m, 2H), 4.90-4.95 (m, 1H), 5.06-5.10 (m, 2H), 5.43 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 7.06-7.36 (m, 10H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.9, 24.9, 29.0, 38.6, 47.1, 52.1, 52.4, 58.9, 59.1, 67.0, 127.0, 128.2, 128.2, 128.4, 128.5, 128.6, 129.6, 129.9, 136.0, 136.3, 155.8, 170.1, 171.9, 172.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{26}H_{32}N_3O_6$ *[MH+]:* 482.23. Found 482.46.

Anal. Calcd for $C_{26}H_{31}N_3O_6$: C, 64.85; H, 6.49; N, 8.73; O, 19.94. Found C, 64.62; H, 6.39, N, 8.38.

Z-Ala-Phe-Tyr(OtBu)-OMe **107.**



Mol. Formula: $C_{34}H_{41}N_3O_7$

Mol. Weight: 603.71

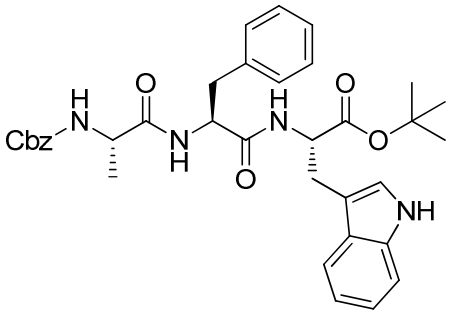
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.30 (s, 9H), 2.90-3.02 (m, 4H), 3.59 (s, 3H), 4.25 (m, 1H), 4.65-4.71 (m, 2H), 5.01-5.12 (m, 2H), 5.57 (d, 1H, *J*=7.5Hz), 6.67 (d, 1H, *J*=6.9Hz), 6.82-7.33 (m, 15H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.5, 28.9, 50.6, 52.3, 53.7, 54.3, 67.1, 78.5, 124.2, 127.0, 128.2, 128.3, 128.6, 129.4, 129.7, 130.5, 136.2, 136.4, 154.5, 156.0, 170.4, 171.5, 172.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{34}H_{42}N_3O_7$ *[MH+]:* 604.30. Found 604.21.

Anal. Calcd for $C_{34}H_{41}N_3O_7$: C, 67.64; H, 6.85; N, 6.96; O, 18.55. Found C, 67.52; H, 6.94, N, 7.31.

Z-Ala-Phe-Trp-OtBu **108.**



Mol. Formula: $C_{35}H_{40}N_4O_6$
Mol. Weight: 612.72

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): 1.16 (d, 3H, *J*=6.9Hz), 1.44 (s, 9H), 3.05 (dd, 1H, *J*=13.8, 6.9Hz), 3.13 (dd, 1H, *J*=13.8, 6.6Hz), 3.25 (dd, 1H, *J*=15, 6.3Hz), 3.31 (dd, 1H, *J*=13.8, 6.9Hz), 4.20 (m, 1H), 4.82-4.85 (m, 2H), 5.16 (d, 1H, *J*=12Hz), 5.20 (d, 1H, *J*=12Hz), 5.48 (d, 1H, *J*=7.2Hz),

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75MHz): 18.5, 28.0, 67.2, 82.3, 109.9, 11.4, 118.8, 119.5, 122.1, 123.2, 127.1, 127.8, 128.2, 128.4, 128.7, 129.5, 136.0, 136.2, 136.4, 156.1, 170.2, 170.5, 172.3.

MS (ESI+): *calcd for m/z* $C_{35}H_{41}N_4O_6$ *[MH+]:* 613.30. Found 613.22.

Anal. Calcd for $C_{21}H_{24}N_2O_5$: C, 68.61; H, 6.58; N, 9.14; O, 15.67. Found C, 68.42; H, 6.59, N, 9.38.

Annexes

Curriculum vitae

SYLVAIN PETIT

Laboratoire de Chimie
Organique Fine
Et Heterocyclique
IRCOF-INSA de Rouen
Place Emile Blondel BP 08
F-76131 Mont Saint Aignan cedex

Tel : 0682120101 (mobile)
e-mail : sylvainpetit83@hotmail.fr

DONNEES PERSONNELLES

Situation personnelle : Marié sans enfant
Nationalité : Francais
Date de naissance: 2 Juin 1983

EDUCATION

2007-2010 **Doctorat en Chimie Organique** sous la direction du Pr. Laurent BISCHOFF (INSA Rouen, France) : *Nouveaux peptidomimétiques basés sur le motif imidazolique.*

- *Synthèse multi-étapes*
- *Chimie hétérocyclique*
- *HPLC analytique et préparative*
- *Synthèse Phase Solide*
- *Chimie médicinale (Collaboration avec des équipes de biologistes et de RMN)*

2005-2007 **Master en Chimie Organique** mention Bien, Université de Rouen (France)
Stage (6mois) : *Nouveau procédé de vectorisation basé sur le système redox Sel de quinoleinium/dihydroquinoleine*
Encadrants de stage : Dr. Vincent LEVACHER et Dr. Sylvain OUDEYER

- *Chimie hétérocyclique*
- *Synthèse multi-étapes*
- *Chimie médicinale*
- *Synthèse Phase Solide (Argonaut Quest)*

2004-2005 **Licence Profesionnelle en Chimie Fine** mention Assez Bien, Université de Rouen
Stage effectué à l'IRCOF-UMR 6014, Mont Saint Aignan, France.
Quaternarisation de pyridiniums et d'imidazoliums par réaction de Mitsunobu
Encadrant de stage : Pr. Laurent BISCHOFF

- *Méthodologie de synthèse*

2002-2004 **DUT Chimie**, Institut de Technologie de Rouen (France)

Stage effectué à AVENTIS PHARMA, Vitry sur Seine, France (10semaines) : *Synthèse d'analogues fluorés d'un candidat medicament*

Job d'été (10semaines) : *Synthèse de dérivés à visée thérapeutique en série pyrazole*

- *Chimie sur large échelle*
- *Chimie assistée par micro-ondes (appareil Personal Chemistry)*
- *Chimie médicinale*

COMPETENCES SCIENTIFIQUES

- Synthèse Organique
  - Synthèse peptidique et chimie des aminoacides
  - Chimie hétérocyclique
  - Synthèse multi-étapes
  - Synthèse sur phase solide
- Analyses
  - ^{1}H, ^{13}C RMN 1D et 2D (Bruker 300MHz)
  - HPLC analytique et préparative
  - GC, GC/MS.
- Logiciels
  - SciFinder, Beilstein, ChemDraw, Microsoft Office, TopSpin NMR.
- Langues
  - Anglais (Lu, écrit, parlé)
  - Allemand (Notions)

ENSEIGNEMENTS

2007-2010 Vacataire (TP de chimie organique, 1ère et 2eme année de DUT Chimie), Institut Universitaire de Technologie, Rouen (96h par an)

2009-2010 Encadrements de 3 stagiaires (Licence professionnelle et 4eme année INSA)

PUBLICATIONS

« An efficient protocol for the preparation of pyridinium and imidazolium salts based on the Mitsunobu reaction »
Petit S., Azzouz R., Fruit C., Bischoff L., Marsais F. *Tetrahedron Letters*, **2008**, 3663-3665.

« Aminoacid-derived Mercaptoimidazole »
Crépin A., Wattier N., Petit S., Bischoff L., Fruit C., Marsais F. *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2009**, 128-134.

« New family of peptidomimetics based on imidazole motif »
Petit S., Fruit C., Bischoff L.,*Organic Letters,* **2010**, *12*, 4928.

COMMUNICATIONS

«New imidazoles-based peptidomimetics»
Petit, S. Fruit, C. Bischoff, L.; Poster,
Journées de Chimie Organique, Palaiseau, 21-23 Septembre 2010.

«Mercaptoimidazole as a new scaffold for peptidomimetic synthesis»
Petit, S. Crepin, A. Wattier, N. Fruit, C. Bischoff, L. Marsais, F ; Poster,
10th Tetrahedron Symposium, Paris, 23-26 Juin 2009.

«*Synthesis of new mercaptoimidazoles from aminoacids as peptidomimetics* »
Petit, S. Crepin, A. Wattier, N. Fruit, C. Bischoff, L. Marsais, F ; Poster et communication en anglais,
JNOEJC, Mont Saint Aignan, 18-20 Mai 2009.

Publications

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Tetrahedron Letters 49 (2008) 3663–3665

Tetrahedron Letters

An efficient protocol for the preparation of pyridinium and imidazolium salts based on the Mitsunobu reaction

Sylvain Petit, Rabah Azzouz, Corinne Fruit, Laurent Bischoff *, Francis Marsais

Laboratoire de Chimie Organique Fine et Hétérocyclique, UMR CNRS 6014, IRCOF-INSA Rouen, Université de Rouen, BP08 76131 Mont-Saint-Aignan Cedex, France

Received 8 February 2008; revised 21 March 2008; accepted 28 March 2008
Available online 8 April 2008

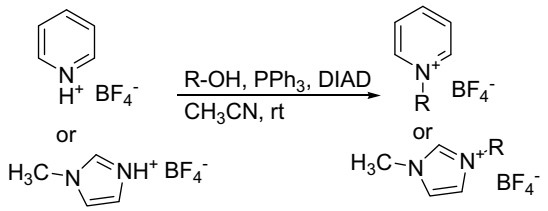
Abstract

We report herein that, in the absence of any nucleophilic counterions, tertiary nitrogen nucleophiles such as pyridines and imidazoles can be alkylated with alcohols, by simply using their ammonium form as the acidic component of the Mitsunobu reaction. This led to efficient preparation of ionic liquids under mild conditions, avoiding the usual anion exchange step.
© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Mitsunobu; Pyridinium; Imidazolium; Ionic liquid; Alkylation

Imidazolium and pyridinium-based ionic liquids have been thoroughly studied over the past two decades and still receive considerable attention.[1] For example, pyridinium ionic liquids were recently used as catalysts in Morita–Baylis–Hillman reactions[2] or for asymmetric reductions of ketones.[3] The role of the counterion may also be of crucial importance, especially when the imidazolium salts are used as precursors of nucleophilic carbenes.[4] However, the quaternarization of heterocycles such as pyridine or imidazole derivatives involving alkyl halides generally requires prolonged heating[5] often incompatible with sensitive substrates. The high energy required by this reaction can also be delivered by microwave irradiation.[6] We were first intrigued by the possible application of the Mitsunobu reaction to synthesize *N*-alkylpyridinium salts under mild conditions. Recently, we reported our findings regarding this application of the Mitsunobu reaction in a synthesis of indoliziniums.[7] Since this reaction requires an acidic nucleophile (NuH), we worked out the alkylation step using pyridinium and imidazolium salts as nucleophiles. To the best of our knowledge, the Mitsunobu reaction is not used with pyridinium nor imidazolium salts as the acidic nucleophile component. Only one similar example of intramolecular N-alkylation of a pyridine–propanol scaffold showed that this reaction was made possible by the presence of an acidic NHBoc group at C6, but no pyridinium salt was used for this reaction.[8]

Our first experiment was conducted with pyridinium chloride in anhydrous methanol with a twofold excess of triphenyl phosphine PPh_3 and diisopropyl azodicarboxylate DIAD overnight at room temperature. Interestingly, N-alkylation afforded *N*-methylpyridinium chloride but in modest yield (45%). Presumably, activated methanol ($MeOP^{+}Ph_3$) can undergo a nucleophilic attack either by pyridine or chloride ion, thus giving chloromethane. Under the same conditions, a non-nucleophilic counterion such as



Scheme 1. Alkylation of pyridinium and *N*-methylimidazolium salts.

* Corresponding author. Fax: +33 2 35522962.
E-mail address: laurent.bischoff@insa-rouen.fr (L. Bischoff).

0040-4039/$ - see front matter © 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.tetlet.2008.03.146

tetrafluoroborate afforded a quantitative yield of the pyridinium salt. In the following experiments (Scheme 1), we used pyridinium tetrafluoroborate and *N*-methylimidazolium tetrafluoroborate as model substrates. Using 5 M equiv of methanol in acetonitrile, we were pleased to find out that the methylation of pyridinium took place quantitatively within 2 h at room temperature. Even 1.1 or 1.5 M equiv of methanol gave a satisfactory yield (see Table 1, footnotes a and b), but completion of the reaction required longer reaction times. As described in Table 1, screening various alcohols gave access to the expected *N*-alkylpyridinium salts in good yields. In addition, those salts were extracted in water, allowing an easy separation of the by-products of the Mitsunobu reaction. The same reaction conditions applied to *N*-methylimidazolium also gave good yields of quaternary products. This can lead to ionic liquids, avoiding a subsequent halide/BF_4^- exchange step, usually required in the preparation of ILs.[1]

These results show that this method constitutes a very efficient alkylation protocol and does not require harsh conditions, such as heating pyridine or *N*-methylimidazole in the presence of a large excess of the alkyl halide. Even a secondary alcohol such as isopropanol reacted under those conditions, albeit with lower yields. As far as the aqueous work-up is concerned, *n*-octyl pyridinium tetrafluoroborate and *N*-octyl-*N*′-methyl imidazolium (OMIM-BF′-methylimidazolium (OMIM–BF_4) were poorly soluble in water and were extracted at higher aqueous dilutions.

Another major advantage in this method lies in the possibility of changing the counterion by simply using another strong acid in the previous protonation step. Hexafluorophosphate salts were prepared in water and freeze-dried before being redissolved in acetonitrile, whereas triflate and bis-trifluorosulfonimide salts could be directly generated in acetonitrile prior to the Mitsunobu alkylation. By using the standard conditions with *n*-butanol (Table 2), *N*-butylpyridinium and BMIM salts were obtained in good yields. As shown by these results, changing the counterions even increased the yields obtained in the quaternarization process. In particular, the bis-trifluoromethanesulfonimide is the most efficient counterion for this transformation. Nevertheless, we performed most of our study with tetrafluoroborate salts, since they are the cheapest and most used compounds in these series.

Table 1
Yields of alkylation, molar equiv alcohol/PPh_3/DIAD = 5/2/2

Alcohol R–OH	Pyridine·HBF_4	*N*-Methylimidazole·HBF_4
MeOH	100 (100)[a]	100
EtOH	100 (100)[a]	85
n-BuOH	89 (75)[b]	72
n-Octanol	86	83
$CH_2{=}CH{-}CH_2OH$	95 (82)[a]	100
$PhCH_2OH$	92 (85)[a]	84
i-PrOH	60	70

[a] Molar equiv alcohol/PPh_3/DIAD = 1.1/1.5/1.5.
[b] Molar equiv alcohol/PPh_3/DIAD = 1.5/2/2.

Table 2
Yields of alkylation with *n*-BuOH, different counterions

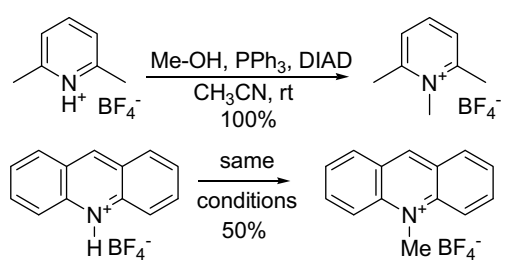
X	Pyridine·HX	MIM·HX
BF_4	89	72
PF_6	95	90
CF_3SO_2O	90	72
$(CF_3SO_2)_2N$	100	100

The choice of the counterion at the protonation stage makes this method a convenient preparation of various pyridinium and imidazolium salts in good yields.

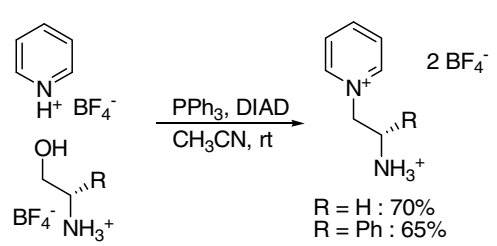
We further focused our attention towards two substrates having a very low nucleophilicity, that is, 2,6-lutidine and acridine. The latter was methylated using our standard conditions, but with longer reaction times (24 h). Acridinium gave a modest 50% yield, whereas 2,6-lutidinium was smoothly quaternarized at room temperature (Scheme 2).

An interesting feature of the Mitsunobu reaction could arise from the ammonium acidity. As depicted in Scheme 3, when both ammonium salts are present in the reaction medium, a selectivity can be obtained owing to the pK_a difference. Tuning the excess of Mitsunobu reagent afforded the selective alkylation of the most acidic ammonium salt, that is, pyridinium, while the amino group of ethanolamine was kept protected under its protonated form.

For instance, the alkylation of pyridinium tetrafluoroborate by ethanolamine tetrafluoroborate was conducted with a 1:1.5:1.5:1.2 M ratio of pyridinium: PPh_3:DIAD:alcohol and afforded a 70% yield. No alkylation occurred on the amino group of ethanolamine and no polymer nor aziridine formation was observed. A similar result was obtained with phenyl glycinol tetrafluoroborate, which was able to alkylate pyridine with a 65% yield under the same conditions. This could provide an efficient route towards various chiral ionic liquids.



Scheme 2. Alkylation of poorly nucleophilic substrates.



Scheme 3. pK_a-directed alkylation: protonation as a protection.

In summary, we have developed a very simple and efficient procedure[10] for the quaternarization of pyridiniums and *N*-methylimidazoliums. The ion-exchange step usually required in the synthesis of ionic liquids could be avoided. Other nitrogen nucleophiles are currently under investigation in our laboratory.

Acknowledgements

S.P. is grateful to the *Région Haute Normandie* for generous financial support. We gratefully acknowledge Charles Furet and Alexandre Gourlain for technical assistance.

References and notes

1. Welton, T. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2071; Wasserscheid, P.; Welton, T. *Ionic Liquids in Synthesis*; Wiley-VCH: Germany, 2003. Chapter 3; Binnemans, K. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 4148.
2. Zhao, S.-H.; Zhang, H.-R.; Feng, L.-H.; Chen, Z.-B. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, *258*, 251.
3. Xiao, Y.; Malhotra, S. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1062.
4. Magna, L.; Chauvin, Y.; Niccolai, G. P.; Basset, J.-M. *Organometallics* **2003**, *22*, 4418.
5. Tolstikova, L. L.; Shainyan, B. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2006**, *42*, 1068.
6. (a) Khadilkar, B. M.; Rebeiro, G. L. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 826; (b) Namboodiri, V. V.; Varma, R. S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5381.
7. Azzouz, R.; Fruit, C.; Bischoff, L.; Marsais, F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1154.
8. Lawton, G. R.; Ji, H.; Silverman, R. B. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6113.
9. (a) Egashira, M.; Yamamoto, Y.; Fukutake, T.; Yoshimoto, N.; Morita, M. *J. Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 1261; (b) Zhao, D.; Fei, Z.; Geldbach, T. J.; Scopelliti, R.; Laurenczy, G.; Dyson, P. J. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 665; (c) Rangits, G.; Kollár, L. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, *246*, 59; (d) Behar, D.; Neta, P.; Schultheisz, C. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 3139.
10. The following procedure for the synthesis of BMIM·BF_4 is illustrative: An ice-cold methanolic solution of *N*-methylimidazole was treated with an equimolar amount of aqueous HBF_4. After stirring 15 min at rt, the solvents were removed in vacuo. The salt obtained can be either taken-up in water and freeze-dried or dried under vacuum. 1 mmol of this salt was dissolved in anhydrous acetonitrile (10 mL). Triphenylphosphine (2 mmol) and *n*-butanol (5 mmol) were added, followed by a dropwise addition of diisopropyl azodicarboxylate (2 mmol). The resulting pale orange solution was stirred 15 h at rt and concentrated in vacuo. The residue was extracted with water (10 mL), the aqueous layer washed with ether (4 × 10 mL). Evaporation to dryness or freeze-drying afforded BMIM·BF_4 as a colourless oil. In case of residual starting *N*-methylimidazolium salt, the ionic liquid can be dissolved in dichloromethane and filtered through a pad of potassium carbonate. Although most of these compounds were already described in the literature, we have listed below their NMR data in D_2O, as their spectra are often given in different solvents such as acetone-d_6, CD_2Cl_2 or $CDCl_3$/DMSO-d_6. Purities were checked with BMIM, BF_4 and *N*-butylpyridinium, BF_4, as satisfactory elemental analyses were obtained for these compounds.
N,N′-Dimethylimidazolium tetrafluoroborate:[9a] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 3.76 (s, 6H), 7.28 (s, 2H), 8.50 (s, 1H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 35.5, 123.3, 136.5.
N-Ethyl, N′-ethylimidazolium tetrafluoroborate (EMIM, BF_4):[9a] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 1.45 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.18 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 8.65 (s, 1H).
N-Butyl, N′-methylimidazolium tetrafluoroborate (BMIM, BF_4):[6b] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 0.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.26 (hex, $J = 7.7$ Hz, 2H), 1.79 (quint, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 4.14 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), *H-2 exchanged in D_2O*; ^{1}H NMR (acetone-d_6, 300 MHz): 0.92 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.36 (hex, $J = 7.7$ Hz, 2H), 1.90 (quint, $J = 7.4$ Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 4.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 9.09 (s, 1H); ^{13}C NMR (acetone-d_6, 75 MHz): 13.2, 19.4,32.2, 36.0, 49.6, 122.8, 124.2, 137.1.
N-Methyl, N′-octylimidazolium tetrafluoroborate (OMIM, BF_4): ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 0.81 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.15–1.3 (m, 10H), 1.81 (quint, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.13 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 8.65 (s, 1H).
N-Allyl, N′-methylimidazolium tetrafluoroborate:[9b] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 3.83 (s, 3H), 4.74 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 5.30 (d, $J = 18.6$ Hz, 1H), 5.38 (d, $J = 10.4$ Hz, 3H), 5.90–6.05 (m, 1H), 7.38–7.40 (m, 2H), 8.66 (s, 1H).
N-Benzyl, N′-methylimidazolium tetrafluoroborate:[9c] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 3.82 (s, 3H), 5.32 (s, 2H), 7.25–7.40 (m, 7H), 8.69 (s, 1H).
N-Isopropyl, N′-methylimidazolium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 1.48 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H), 3.82 (s, 3H), 4.56 (hept, $J = 6.6$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.70 (s, 1H).
N-Methylpyridinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 4.38 (s, 3H), 8.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 8.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.76 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 48.4, 128.2, 145.3, 145.6.
N-Ethylpyridinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 1.60 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 4.61 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 8.02 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 8.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.82 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 15.5, 57.2, 128.1, 143.8, 145.3.
N-Butylpyridinium tetrafluoroborate:[9d] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.32 (hex, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.96 (quint, $J = 7.5$ Hz, 2H), 4.58 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 8.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 8.51 (td, $J = 7.8$, 1.1 Hz, 1H), 8.80 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 12.5, 18.6, 32.5, 61.6, 128.1, 144.1, 145.3.
N-Octylpyridinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 0.82 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.5–1.7 (m,10H), 1.99 (quint, $J = 7.5$ Hz, 2H), 4.58 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 8.03 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 8.51 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.80 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H).
N-Allylpyridinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 5.21 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 5.46 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H), 5.53 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 6.15 (m, 1H), 8.07 (t, $J = 7$ Hz, 2H), 8.55 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.82 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 63.4, 122.9, 128.2, 129.9, 144.2, 145.8.
N-Benzylpyridinium tetrafluoroborate:[2] ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 5.74 (s, 2H), 7.42 (m, 5H), 7.99 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 8.48 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.83 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 64.5, 128.2, 129.0, 129.4, 129.8, 132.6, 144.2, 145.8.
N-Isopropylpyridinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 1.63 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H), 4.90 (hept, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 8.59 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.87 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H).
N-Methyl-2,6-lutidinium tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 2.77 (s, 6H), 4.05 (s, 3H), 7.69 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 8.15 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (D_2O, 75 MHz): 21.0, 39.7, 127.0, 143.9, 155.8.
N-(2-Aminoethyl)pyridinium bis-tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 3.70 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.90 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 8.15 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 8.64 (t, $J = 6.6$, 1H), 8.93 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H).
N-[(2S)-2-Amino-2-phenylethyl]pyridinium bis-tetrafluoroborate: ^{1}H NMR (D_2O, 300 MHz): 4.17 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.25 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.11 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 8.59 (t, $J = 6.7$, 1H), 9.04 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H).

Aminoacid-derived mercaptoimidazoles†

Alain Crépin,[a] Nicolas Wattier,[b] Sylvain Petit,[b] Laurent Bischoff,*[c] Corinne Fruit[c] and Francis Marsais[d]

Received 23rd June 2008, Accepted 22nd September 2008
First published as an Advance Article on the web 31st October 2008
DOI: 10.1039/b810678a

Starting from suitably protected aminoacids, mercaptoimidazoles were synthesized either from the acid or including the amine nitrogen itself. A preliminary optimisation study led to efficient conditions for the obtention of the imidazole ring. These conditions are compatible with the presence of aminoacid or dipeptide scaffolds.

Introduction

Peptidomimetics[1] have been thoroughly studied for decades as aminoacid or peptide surrogates. Their main requirements in terms of chemical properties consist of a structural mimicry of natural peptides, though avoiding their shortcomings. Thus, the amide bond surrogate should be stable towards enzymatic hydrolysis, display a low toxicity and/or good bioavailability. Most peptidomimetics either feature a replacement of the scissile amide bond itself for instance with azapeptides[2] or fluoroolefins,[3] or incorporate aminoacid side-chains into constrained structures such as azabicycloalkanes of various sizes.[4] In this work, we focused our attention towards the incorporation of the *N*-terminus amine or *C*-terminus acid of aminoacids into a rigid, aromatic heterocyclic scaffold (Fig. 1). In view to explore new series of potential zinc exopeptidases inhibitors, the 4-mercaptoimidazole scaffold was chosen as a binding motif for the metal.

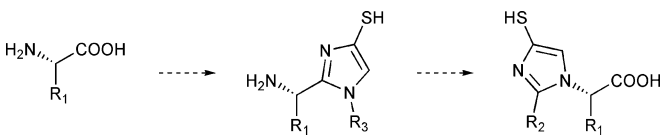


Fig. 1 *N*- or *C*-terminus aminoacid-derived mercaptoimidazoles.

In the past thirty years,[5] thiol inhibitors have been widely developed. The imidazole ring which is found in histidine often accounts for the chelation of the zinc cation in the binding site of the enzyme.[6] In addition, mercaptoimidazoles are appealing targets for their antioxidant properties. This moiety is present in natural compounds such as ergothioneine or ovothiol.[7] In this paper, we wish to report a validation of a general method for the conversion of aminoacids into their mercaptoimidazole analogs.

[a]*Current adress: Val-de-Pharm, Parc industriel d'Incarville, BP 606, 27106, Val-de-Reuil Cedex, France; Fax: +33 02 32 25 79 15*
[b]*CNRS UMR 6014 COBRA B.P., 08 76131, Mont-Saint-Aignan Cedex, France; Fax: +33 02 35 52 29 62*
[c]*Université de Rouen, place Emile Blondel, 76130, Mont-Saint-Aignan, France. E-mail: laurent.bischoff@univ-rouen.fr*
[d]*LCOFH, IRCOF-INSA Rouen, B.P., 08 76131, Mont-Saint-Aignan Cedex, France*

† Electronic supplementary information (ESI) available: ^{1}H and ^{13}C NMR spectra. See DOI: 10.1039/b810678a

Results and discussion

As far as the synthesis of 4-mercaptoimidazoles is concerned, few procedures exist. Condensation can be achieved either from an alkylsulfanyl enamine using propane phosphonic anhydride[8] or from *N*-acyl, *N*-alkylaminothioacetamide, readily available from aminoacetonitrile precursors (Fig. 2). The cyclization step requires a selective electrophilic activation of the carboxamide, over the thioamide. This can be achieved if the dehydrating reagent has a better affinity for oxygen than nitrogen or sulfur. Previously, Hopkins *et al.*[9] used trimethylsilyl triflate. This procedure, which was successfully employed later,[10] and is amenable to selenoimidazoles,[11] is very efficient and allows smooth formation of 4-mercaptoimidazoles. Further workup of the reaction requires the use of $NaBH_4$ to avoid obtaining disulfides.

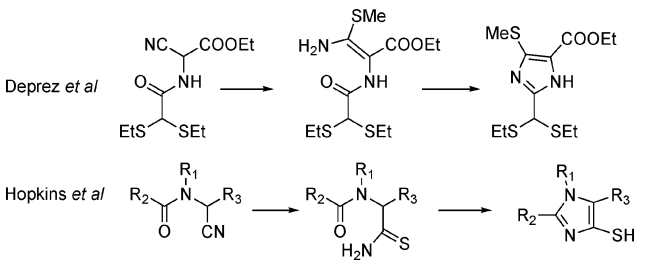


Fig. 2 Strategies described in the literature.

In the case of aminoacids and peptides, we chose (Fig. 3) the method described in ref. 9, believing that those mild conditions would be suitable with highly-functionalized aminoacid derivatives. Preliminary results, however, called for further optimisation of the cyclisation step and the introduction of a subsequent protection step.

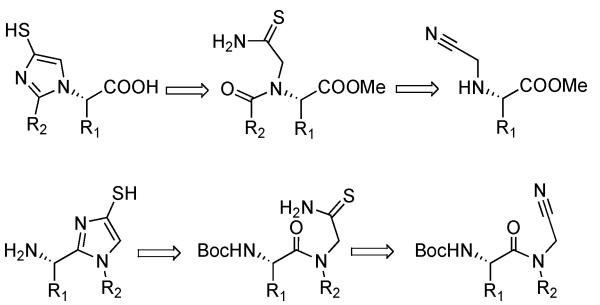
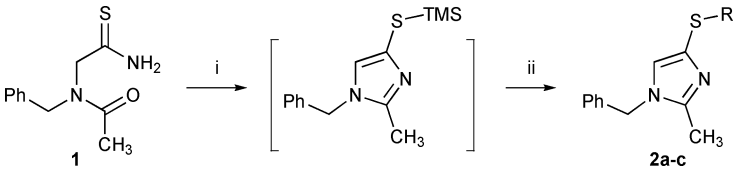


Fig. 3 Retrosynthetic analysis.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2009



Scheme 1 *Reagents and conditions:* i, TMSOTf, Et_3N, CH_2Cl_2, –78 °C to RT, 6.5 h; ii, see conditions in Table 1.

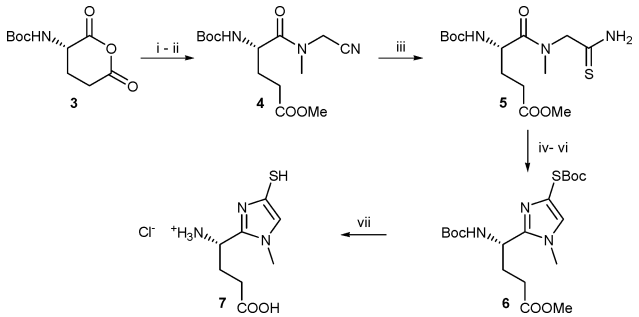
Unraveling the reactivity of this system was initially conducted with *N*-acetyl-*N*-benzylaminothioacetamide **1** as a model substrate before being applied to aminoacids. As shown in Scheme 1, several parameters were examined to reach an efficient one-pot process. Preparation of the reagent was accomplished by treating *N*-benzyl aminoacetonitrile with excess thioacetic acid in pyridine[12] followed by acetylation. Dehydration of this compound with TMSOTf/Et_3N following the literature conditions led to a modest yield of 4-mercaptoimidazole.

In addition, the imidazole thiol may be isolated as a thiol or disulfide but characterisation of this compound is facilitated by protecting the thiol moiety. On the one hand, pK_a values[13] indicate that 4-mercaptoimidazoles predominantly exist under a zwitterionic form, since 1,5-dimethyl-4-mercaptoimidazole exhibited a pK_a of 2.3 for the thiol and 10.3 for the imidazole itself. On the other hand, as free thiols, mercaptoimidazoles in particular are very potent anti-oxidants, and they have a high propensity to undergo oxidative dimerisation. Their corresponding disulfides were more commonly isolated. Thus, *in situ* electrophilic trapping was used as a mean to facilitate the isolation of the products. As listed in Table 1, *in situ* protection of the thiol was performed with benzylic halides or di-*tert*-butyl dicarbonate Boc_2O, though the reaction seemed rather slow in this case. We also noticed that treatment with $NaBH_4$ prior to *S*-protection was unnecessary if the reaction is conducted under inert atmosphere (entries 3 and 4). The optimal conditions consisted in treating the crude reaction medium with methanol before protection of the thiol moiety with Boc_2O (Table 1, entry 6). We suggest that *S*-desilylation occurs with methanol, the free thiol being further protected. Having this result in hand, we examined whether the method was applicable to aminoacid substrates. Aminoacids in which the carboxyl group was replaced with the heterocycle were obtained according to Scheme 2.

For instance, with glutamic acid, opening of the anhydride with a *N*-cyanomethyl amine such as sarcosine nitrile afforded the amide **4** with a good regioselectivity in favour of the α-carbonyl.[14] To facilitate the purification step, the crude reaction mixture was treated with EDCI/DMAP in anhydrous methanol, leading to the amidoester **4**. Thioacetic acid-mediated addition of H_2S on the nitrile afforded thioamide **5** in a 65% yield. NMR spectra

Table 1 Optimisation study

Entry	Conditions	Yield (%)
1	$NaBH_4$ then $PhCH_2Cl$	R = Bn (**2a**), 24%
2	$NaBH_4$ then PMBCl	R = PMB (**2b**), 32%
3	$NaBH_4$ then Boc_2O, 3 h	R = Boc (**2c**), 31%
4	Boc_2O, 3 h	**2c**, 30%
5	Boc_2O, DMAP, 12 h	**2c**, 50%
6	**MeOH, then Boc_2O, DMAP, 16 h**	**2c, 60%**



Scheme 2 *Reagents and conditions:* i, CH_3–NH–CH_2CN, dioxane; ii, EDCI, DMAP in dry MeOH, 56% overall; iii, 8 equiv CH_3COSH, pyridine, 65%; iv, TMSOTf, Et_3N, CH_2Cl_2, –78 °C to RT; v, MeOH, 15 min; vi, Boc_2O, Et_3N, DMAP, CH_2Cl_2, 53%; vii, 1.5 M HCl, 50% aq dioxane, 40 °C, 100%

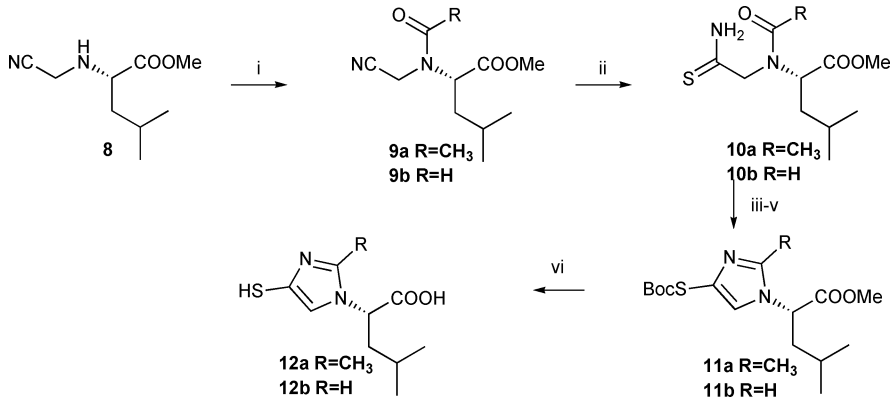
of most cyanomethyl amides and aminothiocarbonyl amides in $CDCl_3$ revealed two rotamers (see experimental section).

It is worth noticing that the use of TMSOTf under our optimized conditions successfully led to compound **6** (53% yield) from a more sensitive functionalized substrate such as **5**. Final deprotection under standard acidic hydrolysis conditions of the thiol, side-chain acid and amine afforded the pure compound **7** as its hydrochloride salt. ^{1}H NMR in D_2O exhibited a rapid exchange of the proton at C5 of the imidazole ring, due to an easy thiol/thione tautomerism.

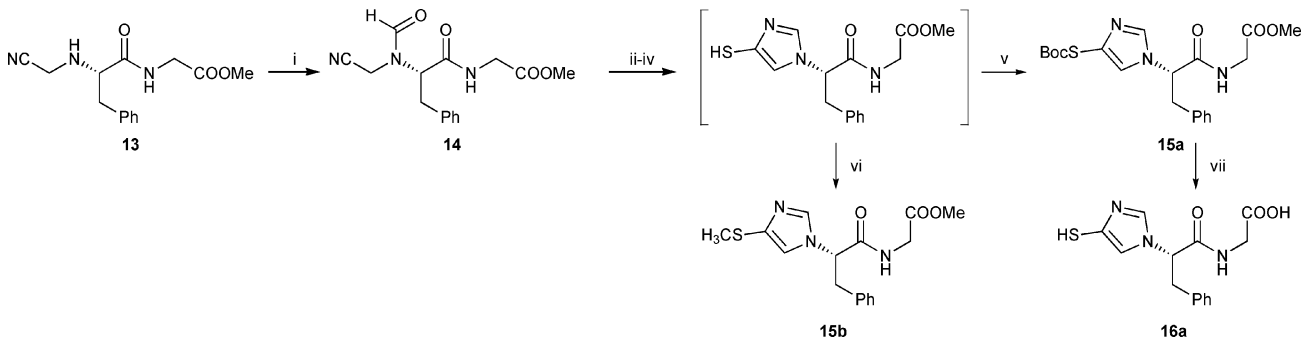
As far as the "*N*-terminus" mimetic was concerned, the cyanomethylamine was prepared directly from the amino group of the aminoacid, as depicted in Scheme 3.

Cyanomethylation of aminoacid methyl esters is a known reaction that can be performed smoothly either by direct alkylation with chloroacetonitrile,[15] or *via* aminomethylation in presence of benzotriazole derivatives.[16] The free cyanomethylamine **8** can be readily purified by flash chromatography on silica gel without noticeable degradation. Subsequent acetylation or formylation was carried out with acetic anhydride or mixed formic acetic anhydride. Compounds **10** were cyclized in good yields with TMSOTf and *S*-Boc protected as described above, to produce the 4-mercaptoimidazole **12** after final acidic hydrolysis. This new isoleucine derivative **12** bears a potential zinc ligand as a surrogate of the amine moiety.

Further applications of this work were devoted to the evaluation of a dipeptidic substrate. We were interested in knowing whether the formation of the imidazole ring was compatible with the presence of the secondary amide bond. Examination of the reactivity of the dipeptide-derived compound **13** proved that our conditions are amenable to starting materials which contain peptidic linkages. In addition, quenching with methyl iodide instead of Boc_2O at the end of the cyclisation process afforded the *S*-methyl derivative **15b**. This allowed an efficient synthesis of both dipeptides **15b** and **16a** (Scheme 4).

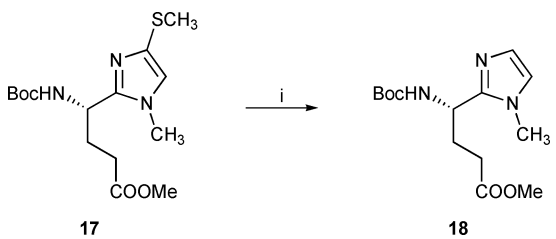


Scheme 3 *Reagents and conditions:* i, RCOOAc, 50% (**9a**), 95% (**9b**); ii, 8 equiv CH_3COSH, pyridine, 78% (**10a**), 71% (**10b**); iii, TMSOTf, Et_3N, CH_2Cl_2, –78 °C to RT; iv, MeOH, 15 min; v, Boc_2O, Et_3N, DMAP, CH_2Cl_2, 60% (**11a**), 66% (**11b**); vi, 1.5 M HCl, 50% aq dioxane, 40 °C, 100%.



Scheme 4 *Reagents and conditions:* i, HCOOH, Ac_2O, 57%; ii, 8 equiv CH_3COSH, pyridine; iii, TMSOTf, Et_3N, CH_2Cl_2, –78 °C to RT; iv, MeOH, 15 min; v, Boc_2O, Et_3N, DMAP, CH_2Cl_2, 42%; vi, CH_3I, Et_3N, 26%; vii, 1.5 M HCl, 50% aq dioxane, 40 °C, 100%.

Recently, 2-substituted 1-benzyl-4-methyl imidazoles were described as acid mimics in aminoacid series. Their preparations used palladium-catalyzed cyclisation of *N*-allyl oxime aminoacid derivatives[17] or electrocyclization of azomethine ylides.[18] We were interested in examining whether our mercaptoimidazoles could serve as precursors of similar, unsubstituted imidazoles. Initial attempts at desulfurisation of *S*-Boc derivatives with Raney nickel were unsuccessful. We could, however, overcome this poor reactivity by using the methylsulfanyl imidazole **17**. The latter was readily converted to the unsubstituted imidazole by treatment with Raney nickel[19] in refluxing ethanol overnight as shown in Scheme 5.



Scheme 5 *Reagents and conditions:* i, Raney nickel, EtOH, reflux, 95%.

Summary and conclusion

This work allowed an efficient and concise synthesis of optically active aminoacid-derived mercaptoimidazoles and imidazoles. These compounds constitute a new series of heterocyclic mimics of aminoacid and peptides, which opens the way towards new enzyme inhibitors or antioxidants. In addition, as the conditions used for the formation of the heterocycle are compatible with peptides, wide screening of compounds with different aminoacid scaffolds is now envisageable.

Experimental

Unless otherwise stated, reactions were performed under a nitrogen atmosphere using freshly distilled solvents. All reactions were monitored by thin-layer chromatography with Merck silica gel 60 F254 pre-coated aluminum plates (0.25 mm). Flash chromatography was performed with indicated solvents using silica gel (particle size 30–63 μm) purchased from Merck. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker Avance at 300 MHz for ^{1}H and 75 MHz for ^{13}C. Chemical shifts are reported relative to TMS, calibrated with chloroform or deuterium oxide. Coupling constants *J* are given in Hz.

N-(2-Amino-2-thioxoethyl)-*N*-benzylacetamide 1

To a solution of *N*-benzyl-*N*-cyanomethyl acetamide (2.34 g, 12.4 mmol) in CH_2Cl_2 (23 cm^3) was added pyridine (23 cm^3), followed by thioacetic acid (7.57 g, 99.6 mmol). Stirring was kept 16 hr at RT. After concentration *in vacuo*, the residue was purified by flash chromatography through silica gel, using [EtOAc:cyclohexane = 3:2], (R*f* 0.28) as an eluent.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2009

Compound **1** (2.14 g, 77%) was obtained as a stench, pale yellow oil. (Found: C, 57.29; H 8.02; N 12.38. $C_{11}H_{14}N_2OS$ requires C, 57.39; H, 8.21; N, 12.41); ^{1}H NMR ratio of rotamers 4:1, *major compound* : δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 2.15 (3H, s), 4.29 (2H, s), 4.64 (2H, s), 7.11–7.33 (5H, m), 7.77 (1H, br s), 8.27 (1H, br s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 21.9, 53.4, 57.4, 127.0, 128.4, 129.5, 135.8, 173.2, 204.2.

1-Benzyl-2-methyl-4-(Bocsulfanyl)-1*H*-imidazole 2c

General procedure for the preparation of protected mercaptoimidazoles, *e.g.* **2c**:

A solution of *N*-(2-amino-2-thioxoethyl)-*N*-benzylacetamide **1** (489 mg, 2.2 mmol) and Et_3N (1.26 cm^3, 9.0 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (15 cm^3) was cooled to −78 °C and trimethylsilyl triflate (1.27 cm^3, 6.6 mmol) was added dropwise. After stirring 15 min at −78 °C and 6.5 h at RT, methanol was added and stirring continued during 15 min. The solvents were evaporated and a solution of DMAP (27 mg, 0.22 mmol) and anhydrous Et_3N (2 cm^3, 14.4 mmol) in CH_2Cl_2 (15 cm^3) was added to the residue. To this solution was added dropwise a solution of Boc_2O (1.9 g, 8.8 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (5 cm^3). After stirring overnight and concentration *in vacuo*, the residue was purified by flash chromatography through silica gel, eluent [EtOAc:cyclohexane:Et_3N= 6:4:0.01], R*f* 0.35, yielding **2c** (400 mg, 60%) as a colourless oil.

(Found: C, 62.93; H, 6.61; N, 9.19; S, 10.69. $C_{16}H_{20}N_2O_2S$ requires C, 63.13; H, 6.62; N, 9.20; S, 10.53); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 1.40 (9H, s), 2.26 (3H, s), 4.95 (2H, s), 6.99–7.02 (2H, m), 7.22–7.29 (3H, m); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 13.7, 28.6, 50.5, 85.6, 125.1, 127.1, 127.2, 128.6, 129.5, 135.8, 146.9, 168.3.

1-Benzyl-4-(benzylsulfanyl)-2-methyl-1*H*-imidazole 2a

Compounds **2a** and **2b** were obtained by the same procedure than for **2c**, except that 1.3 molar equiv of the alkylating agent ($PhCH_2Cl$ or 4-methoxybenzyl chloride) was used instead of Boc_2O.

(Found: C, 73.28, H, 6.14, N, 9.25, S, 10.7. $C_{18}H_{18}N_2S$ requires C, 73.43; H, 6.16; N, 9.51; S, 10.89); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 2.22 (3H, s), 3.90 (2H, s), 4.83 (2H, s), 6.53 (1H, s), 6.86–6.88 (2H, m), 7.08–7.25 (8H, m); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 13.6, 40.3, 50.1, 124.3, 127.0, 127.1, 128.4, 128.6, 129.36, 129.39, 130.3, 136.2, 138.9, 146.3; [EtOAc:cyclohexane= 3:2, 1% Et_3N]: R*f* 0.38; *m*/*z* (DCI) 295 (100%), 189 (90%).

1-Benzyl-4-(4-methoxybenzylsulfanyl)-2-methyl-1*H*-imidazole 2b

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 2.32 (3H, s), 3.76 (3H, s), 3.95 (2H, s), 4.94 (2H, s), 6.64 (1H, s), 6.76 (2H, d, *J* 8.7), 6.96–6.99 (2H, m), 7.11 (2H, d, *J* 8.7), 7.29–7.34 (3H, m); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 13.6, 39.8, 50.1, 55.6, 114.0, 124.2, 127.0, 128.4, 129.4, 130.5, 130.6, 131.0, 136.3, 146.3, 158.8; *m*/*z* (DCI) 325 (100%), 121 (30%).

N-Boc-Glutamic anhydride 3

Commercially available *N*-Boc glutamic acid (8 g, 32 mmol) was stirred for 15 min with 80 cm^3 acetic anhydride at 55 °C. Toluene (100 cm^3) was added and the solution was concentrated to dryness. Traces of acetic acid were removed by drying under vacuum over KOH to afford 7.41 g (100%) of anhydride **3**.

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 1.45 (9H, s), 1.85–2.0 (1H, m), 2.42–2.46 (1H, dd, *J* 12.8, 6.2), 3.01 (1H, dd, *J* 5.5, 2.4), 4.39–4.43 (1H, m), 5.34 (1H, br s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 23.6, 28.3, 29.8, 50.9, 81.1, 155.4, 165.3, 167.2; $[\alpha]_D^{20}$ −21 (*c* 1 in CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl-4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-5-(*N*-cyanomethyl, *N*-methyl)amino)-5-oxopentanoate 4

A solution of sarcosine nitrile (1.36 g, 19 mmol, obtained from its hydrochloride, by ether extraction from an ice-cold basic solution) in dioxane (5 cm^3) was added dropwise at 10 °C to the anhydride **3** (2.98 g, 13 mmol) in 25 cm^3 dioxane. After 14 h stirring at RT, water (50 cm^3) and ethyl acetate (30 cm^3) were added. The aqueous layer was treated with ice-cold 1M HCl to reach pH 3. The acid was extracted with ethyl acetate and the organic layer dried over $MgSO_4$. After solvent evaporation and drying under vacuum, the residue (2.74 g, 9.1 mmol) was dissolved in absolute methanol (70 cm^3). To this solution were added EDCI (1.92 g, 10.0 mmol) and DMAP (110 mg, 0.91 mmol). Stirring was kept during 5 h at RT. After solvent evaporation, extractive workup with ethyl acetate/satd NH_4Cl, and drying over $MgSO_4$, the ester **4** (2.3 g, 56%) was obtained as a pale brown oil.

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$), major rotamer: 1.39 (9H, s), 2.31–2.50 (4H, m), 3.30 (3H, s), 3.71 (3H, s), 4.20–4.41 (3H, m), 5.26–5.34 (1H, m); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 27.7, 27.9, 28.3, 35.2, 35.3, 35.7, 52.5, 80.1, 115.4, 155.6, 172.3, 172.8.

(*S*)-Methyl 5-(*N*-(2-amino-2-thioxoethyl), *N*-(methyl)amino)-4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-5-oxopentanoate 5

Starting from compound **4** (2.0 g, 6.38 mmol), the thioamide **5** (1.44 g, 65%) was obtained following the procedure described for **1**.

(Found: C, 48.32, H, 7.39, N, 12.35, S, 9.16. $C_{14}H_{25}N_3O_5S$ requires C, 48.40; H, 7.25; N, 12.09; S, 9.23); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 1.38 (9H, s), 1.57–1.65 (1H, m), 2.26–2.61 (3H, m), 2.98 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.96 (1H, d, *J* 17.1), 4.38–4.45 (1H, m), 5.03 (1H, d, J 17.0), 5.43 (1H, d, *J* 8.1), 7.98 (1H, br s), 8.63 (1H, br s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 28.2, 28.3, 29.0, 36.0, 52.1, 52.7, 59.0, 80.4, 156.1, 172.4, 173.1, 203.5; $[\alpha]_D^{20}$ +20.61 (*c* 0.97 in CH_2Cl_2); *m*/*z* (DCI) 348 (100%).

(*S*)-Methyl 4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(4-(*tert*-butoxy carbonylthio)-1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)butanoate 6

Following the procedure given for **2c** and starting from **5** (1.21 g, 3.48 mmol), **6** (790 mg, 53%) was obtained as a pale yellow oil. (Found: C, 53.08; H, 7.39; N, 9.86; S, 7.89. $C_{19}H_{31}N_3O_6S$ requires C, 53.13; H, 7.27; N, 9.78; S, 7.47); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 1.27 (9H, s), 1.42 (9H, s), 2.11–2.21 (1H, m), 2.30–2.42 (1H, m), 2.72 (2H, d, *J* 8.0), 3.55 (3H, s), 3.69 (3H, s), 4.30–4.37 (1H, m), 5.34 (1H, d, *J* 7.6), 7.06 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 28.3, 28.4, 29.8, 30.2, 32.9, 52.6, 53.2, 80.0, 85.4, 124.6, 127.6, 148.6, 155.6, 168.2, 172.7; $[\alpha]_D^{20}$ +9.41 (*c* 1.2 in CH_2Cl_2).

(*S*)-4-Amino-4-(4-mercapto-1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)butanoic acid hydrochloride 7

Protected compound **6** (95 mg, 0.22 mmol) was dissolved in dioxane under argon. A degased solution of 3M hydrochloric

acid was added and the reaction mixture stirred 13 h at 40 °C. Evaporation to dryness followed by freeze-drying from water afforded 56 mg (100%) of the free thiol **7**.

δ_H(300 MHz; D_2O) 2.32–2.39 (2H, m), 3.06–3.24 (2H, m), 3.75 (3H, s), 4.11 (1H, t, *J* 6.0), 7.51 (1H, br s); δ_C(75 MHz; D_2O) 21.4, 26.8, 34.8, 52.8, 123.3, 149.1, 172.1; $[\alpha]_D^{20}$ +24.3 (*c* 1 in abs EtOH).

(*S*)-Methyl 2-(cyanomethylamino)-4-methylpentanoate 8

A 1 M aqueous solution of NaOH (27.6 cm^3) was added dropwise to a suspension of valine methyl ester (5 g, 27.6 mmol) and benzotriazol (3.61 g, 30.3 mmol) in methanol (50 cm^3). Formaline (2.1 cm3, 5.5 mmol) was added and the reaction medium was stirred 4 hr at RT. Extraction with petroleum ether followed by drying over $MgSO_4$, filtration and evaporation gave an oil (6.87 g) which was redissolved in DMSO (50 cm^3). Sodium cyanide (1.64 g, 33.6 mmol) was added. After stirring 40 hr at RT, ethyl acetate was added, the organic layer was decanted off and washed with Na_2CO_3, brine and dried over $MgSO_4$. The aqueous residues were treated with bleach before discarding.

(Found: C, 58.36; H 8.81; N 15.94. $C_9H_{16}N_2O_2$ requires C, 58.67; H, 8.75; N, 15.31); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) 0.92 (6H, d, *J* 6.6), 1.41–1.58 (2H, m), 1.67–1.82 (2H, m), 3.39 (1H, dd, *J* 8.1, 6.2), 3.54 (1H, d, *J* 17.4), 3.64 (1H, d, *J* 17.4), 3.75 (3H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 21.8, 22.7, 24.6, 35.9, 42.1, 52.0, 58.7, 117.5, 174.8; $[\alpha]_D$= −32.0 (*c* 1, CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl 2-(*N*-(cyanomethyl)acetamido)-4-methyl pentanoate 9a

Aminonitrile **8** (700 mg, 3.78 mmol) in CH_2Cl_2 (5 cm^3) was treated with 640 mg (6.22 mmol) of acetic anhydride. After 2 h stirring at RT, evaporation and flash chromatography through silica gel, eluent [EtOAc:cyclohexane = 6:4], R*f* 0.55 gave compound **9a** (425 mg, 50%).

(Found: C, 58.43; H 8.29; N 12.55. $C_{11}H_{18}N_2O_3$ requires C, 58.39; H, 8.02; N, 12.38); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): two rotamers, ratio 3:2 in this solvent: *major:* 0.95–1.02 (6H, m), 1.64–1.89 (3H, m), 2.30 (3H, s), 3.72 (3H, s), 4.09 (1H, d, *J* 15.0), 4.36 (1H, d, *J* 15.0), 4.45 (1H, dd, *J* 9.1, 6.0); *minor:* 0.95–1.02 (6H, m), 1.64–1.89 (3H, m), 2.20 (3H, s), 3.77 (3H, s), 4.28 (2H, s), 5.41 (1H, dd, *J* 9.9, 5.4); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 24.7, 30.4, 38.2, 52.6, 54.0, 115.7, 171.0, 171.1; $[\alpha]_D^{20}$ −28.4 (*c* 1.09 in CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl 2-(*N*-(cyanomethyl)formamido)-4-methyl pentanoate 9b

An equimolar mixture of formic acid (9.7 g, 212 mmol) and acetic anhydride was heated at 65 °C during 10 minutes. After cooling to 0 °C, this solution was added to aminonitrile **8** (1.5 g, 8.14 mmol) in CH_2Cl_2 (5 cm^3). After 10 min stirring at RT, treatment with ice-cold water (240 cm^3) and extractive work up with CH_2Cl_2 followed by washing with satd $NaHCO_3$ gave compound **9b** (1.6 g, 95%).

(Found: C, 56.51; H, 7.55; N, 13.69. $C_{10}H_{16}N_2O_3$ requires C, 56.59; H, 7.60; N, 13.20); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$) two rotamers, ratio 4:1 in this solvent: *major:* 0.95–1.02 (6H, m), 1.59–1.69 (1H, m), 1.76–1.87 (2H, s), 3.78 (3H, s), 4.19–4.39 (3H, m), 8.15 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 21.0, 22.7, 29.2, 37.9, 52.8, 58.2, 114.9, 162.8, 170.9; $[\alpha]_D^{20}$ −24.4 (*c* 0.53 in CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl 2-(*N*-(2-amino-2-thioxoethyl)acetamido)-4-methylpentanoate 10a

Following the procedure described for the formation of **1**, compound **9a** (250 mg, 1.10 mmol) was treated with thioacetic acid, leading to **10a** (223 mg, 78%).

(Found: C, 45.66; H, 7.21; N, 8.71; S, 8.20. $C_{11}H_{20}N_2O_3S$ requires C, 50.75; H, 7.74; N, 10.76; S, 12.32); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): two rotamers, ratio 6.7:1 in this solvent: *major:* 0.93–0.99 (6H, m), 1.41–1.58 (1H, m), 1.80 (2H, t, *J* 7.4), 2.08 (3H, s), 3.8 (3H, s), 4.27 (1H, t, *J* 7.0), 4.36 (1H, d, *J* 19.4), 4.52 (1H, d, *J* 19.4), 7.83 (1H, br s), 10.1 (1H, br s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 22.0, 22.1, 23.2, 25.2, 38.0, 53.3, 59.4, 172.2, 175.0, 203.5; $[\alpha]_D^{20}$ −63.8 (*c* 0.8 in CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl 2-(*N*-(2-amino-2-thioxoethyl)formamido)-4-methylpentanoate 10b

Following the procedure described for the formation of **1**, compound **9b** (1.6 g, 7.54 mmol) was treated with thioacetic acid, leading to **10b** (1.31 g, 71%).

(Found: C, 48.68; H, 7.39; N, 11.33; S, 12.67. $C_{11}H_{14}N_2OS$ requires C, 48.76; H, 7.37; N, 11.37; S, 13.02; δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): two rotamers, ratio 1.25:1 in this solvent: *major:* 0.82–0.92 (6H, m), 1.55–1.65 (3H, m), 3.60 (3H, s), 3.98–4.34 (2H, m), 4.78 (1H, m), 8.14 (1H, s), 9.37 (1H, br s), 9.80 (1H, br s); *minor:* 0.82–0.92 (6H, m), 1.55–1.65 (3H, m), 3.65 (3H, s), 3.98–4.34 (2H, m), 4.43 (1H, m), 8.24 (1H, s), 8.91 (1H, br s), 9.70 (1H, br s).

(*S*)-Methyl 2-(4-(*tert*-butoxycarbonylthio)-2-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)-4-methylpentanoate 11a

Following the procedure described for the formation of **2**, compound **10a** (160 mg, 0.62 mmol) led to protected mercaptoimidazole **11a** (127 mg, 60%).

(Found: C, 55.49; H, 7.78; N, 7.76; S, 9.25. $C_{16}H_{26}N_2O_4S$ requires C, 56.12; H, 7.65; N, 8.18; S, 9.36); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 0.92 (6H, m), 1.47 (9H, s), 1.47 (1H, m), 1.84–2.03 (2H, m), 2.39 (3H, s), 3.73 (3H, m), 4.67 (1H, dd, *J* 9.0, 6.6), 7.23 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 13.6, 21.8, 22.7, 24.6, 28.3, 41.2, 53.1, 56.9, 85.3, 123.7, 125.6, 146.3, 167.6, 170.2; $[\alpha]_D^{20}$ −3.27 (*c* 0.61 in CH_2Cl_2); *m/z* (DCI) 343 (100%), 299 (10%), 287 (25%).

(*S*)-Methyl 2-(4-(*tert*-butoxycarbonylthio)-1*H*-imidazol-1-yl)-4-methylpentanoate 11b

Following the procedure described for the formation of **2**, compound **10b** (299 mg, 1.21 mmol) led to protected mercaptoimidazole **11b** (262 mg, 66%).

(Found: C, 55.04; H, 7.51; N, 8.57; S, 9.56. $C_{15}H_{24}N_2O_4S$ requires C, 54.86; H, 7.37; N, 8.53; S, 9.76); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 0.90–0.94 (6H, m), 1.38–1.47 (1H, m), 1.47 (9H, s), 1.91–1.97 (2H, m), 3.74 (3H, m), 4.74 (1H, dd, *J* 8.7, 7.2), 7.29 (1H, d, *J* 1.3), 7.62 (1H, d, *J* 1.3); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 21.6, 22.6, 24.6, 28.2, 41.7, 53.1, 60.5, 85.4, 124.6, 127.6, 137.8, 167.3, 170.1; *m/z* (DCI) 329 (100%), 273 (90%), 229 (20%).

This journal is © The Royal Society of Chemistry 2009

(*S*)-2-(4-Mercapto-2-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)-4-methyl pentanoic acid 12a

Hydrolysis was carried out by stirring a solution of compound **11b** (86 mg, 0.26 mmol) in 1.5 M HCl in H_2O:dioxane 1:1 at 40 °C overnight. After concentration *in vacuo*, the residue was taken up in water and freeze-dried. 56 mg (100%) of compound **12b** were obtained as a pale yellow foam.

δ_H(300 MHz; DMSO) 0.85 (3H, d, *J* 6.6), 0.88 (3H, d, *J* 6.6), 1.17–1.20 (1H, m), 1.81–2.02 (2H, m), 2.40 (3H, s), 4.62 (1H, dd, *J* 9.8, 6.0), 7.20 (1H, s); δ_C(75 MHz; DMSO) 11.6, 21.3, 22.6, 24.3, 58.0, 126.2, 148.3, 170.0.

(*S*)-2-(4-Mercapto-1*H*-imidazol-1-yl)-4-methyl pentanoic acid 12b

Hydrolysis was carried out by stirring a solution of compound **11b** (86 mg, 0.26 mmol) in 1.5 M HCl in H_2O:dioxane 1:1 at 40 °C overnight. After concentration *in vacuo*, the residue was taken up in water and freeze-dried. 56 mg (100%) of compound **12b** were obtained as a pale yellow foam.

δ_H(300 MHz; D_2O) 0.76 (3H, d, *J* 6.6), 0.78 (3H, d, *J* 6.6), 1.38–1.47 (1H, m), 1.88–2.05 (2H, m), 5.15 (1H, dd, *J* 10.4, 5.5), 7.51 (1H, d, *J* 1.3), 8.79 (1H, s); δ_C(75 MHz; D_2O) 20.5, 22.2, 24.7, 39.0, 62.1, 125.5, 127.7, 138.8, 141.4, 147.5, 172.9. $[\alpha]_D^{20}$ +72.6 (*c* 1.22 in EtOH).

(*S*)-Methyl 2-(2-(cyanomethylamino)-3-phenyl propanamido) acetate 13

The dipeptide Phe-Gly-OMe was treated as described for **8**.

(Found: C, 60.57; H, 6.17; N, 15.86. $C_{14}H_{17}N_3O_3$ requires C, 61.08; H, 6.22; N, 15.26); δ_H(300 MHz; DMSO + TFA) 3.11 (2H, d, *J* 6.6), 3.63 (3H, s), 3.92 (2H, d, *J* 5.6), 4.17 (2H, s), 7.24–7.31 (5H, m), 7.40 (1H, dd, *J* 6.4, 3.0), 7.87 (1H, dd, *J* 6.2, 3.0), 9.11 (1H, t, *J* 5.6); δ_C(75 MHz; DMSO + TFA) 36.2, 41.0, 52.1, 60.7, 125.6, 128.8, 129.8, 134.3, 167.4, 169.9; $[\alpha]_D^{20}$ −28.9 (*c* 0.94 in EtOH).

(*S*)-Methyl 2-(2-(*N*-(cyanomethyl)formamido)-3-phenyl propanamido)acetate 14

Aminonitrile **13** was treated with HCOOH/Ac_2O, using the same protocol than for **9b**.

(Found: C, 59.62; H 5.14; N 13.68. $C_{15}H_{17}N_3O_4$ requires C, 59.40; H, 5.65; N, 13.85); δ_H(300 MHz; DMSO + TFA) 3.01 (1H, dd, *J* 14.3, 10.1), 3.21 (1H, dd, *J* 14.3, 5.5), 3.61 (3H, s), 3.89 (1H, d, *J* 5.9), 4.19 (1H, d, *J* 17.5), 4.34 (1H, d, *J* 17.5), 4.64–4.69 (1H, m), 7.18–7.27 (5H, m), 7.92 (1H, s), 8.79 (1H, t, *J* 5.7); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) 29.8, 36.2, 41.4, 52.7, 62.6, 115.3, 127.7, 129.1, 129.3, 135.5, 168.6, 168.9, 170.0; $[\alpha]_D^{20}$ −62.6 (*c* 1 in CH_2Cl_2).

(*S*)-Methyl 2-(2-(*N*-(2-amino-2-thioxoethyl)formamido)-3-phenylpropanamido)acetate

Obtained by treatment of the aminonitrile **14** with thioacetic acid (see procedure for **1**).

(Found: C, 53.42; H 5.82; N 12.32, S 9.43. $C_{15}H_{19}N_3O_4S$ requires C, 53.40; H, 5.68; N, 12.45; S, 9.50); δ_H(300 MHz; DMSO + TFA) two rotamers, ratio 3:1, *major:* 3.05–3.26 (2H, m), 3.60 (3H, s), 3.84 (2H, d, *J* 5.7), 4.00 (1H, d, *J* 17.5), 4.09 (1H, d, *J* 17.5), 4.54 (1H, t, *J* 7.7), 7.19–7.30 (5H, m), 8.07 (1H, s), 8.77 (1H, t, *J* 5.6), 8.87 (1H, br s), 9.70 (1H, br s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 37.3, 41.9, 52.7, 54.7; 63.6, 127.9, 129.6, 130.1, 137.7, 164.8, 170.8, 171.3, 204.2; $[\alpha]_D^{20}$ −95.1 (*c* 1 in CH_2Cl_2); *m/z* (DCI) 338 (100%), 304, 265, 90, 76.

(*S*)-Methyl 2-(2-(4-(*tert*-butoxycarbonylthio)-1*H*-imidazol-1-yl)-3-phenylpropanamido)acetate 15a

Thioamide resulting from treatment of **14** (250 mg, 0.74 mmol) was dehydrated to give the *S*-Boc mercaptoimidazole **15a** (131mg, 42%), using the procedure described for **2c**.

(Found: C, 57.69; H, 5.76; N, 9.89; S, 7.75. $C_{20}H_{25}N_3O_5S$ requires C, 57.26; H, 6.01; N, 10.02; S, 7.64); δ_H(300 MHz; $CDCl_3$), two rotamers, ratio 9:1, *major:* 1.48 (9H,s), 3.17 (1H, dd, *J* 14.0, 9.4), 3.50 (1H, dd, *J* 14.0, 5.7), 3.71 (3H, s), 3.99 (2H, t, *J* 5.5), 4.81 (1H, dd, *J* 9.2, 5.8), 6.99–7.02 (2H, m), 7.16–7.22 (3H, m), 7.29 (1H, s), 7.32 (1H, d, *J* 1.1); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 28.3, 39.3, 41.5, 52.5, 62.9, 85.8, 124.7, 127.4, 127.7, 128.9, 129.0, 135.8, 138.5, 154.8, 168.4, 169.7; $[\alpha]_D^{20}$ −55.3 (*c* 0.85 in CH_2Cl_2); *m/z* (DCI) 420, 376, 320, 222, 79.

(*S*)-Methyl 2-(2-(4-(methylthio)-1*H*-imidazol-1-yl)-3-phenyl propanamido)acetate 15b

The procedure for the formation of **2c** was used, except that methyl iodide (2 molar equiv) was used instead of Boc_2O.

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 2.35 (3H, s), 3.17 (1H, dd, *J* 14.1, 9.6), 3.51 (1H, dd, *J* 14.1, 5.7), 3.70 (3H, s), 4.00 (2H, d, *J* 5.4), 4.90 (1H, dd, *J* 9.4, 5.5), 6.97–7.00 (2H, m), 7.06 (1H, s), 7.19–7.21 (3H, m), 7.26 (1H, s), 7.88 (1H, t, *J* 5.4); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 18.1, 39.1, 41.3, 52.4, 62.5, 118.3, 127.3, 128.7, 128.8, 135.9, 136.1, 137.6, 168.9, 169.9; *m/z* (ESI) 334; $[\alpha]_D^{20}$ −54.5 (*c* 0.22 in CH_2Cl_2).

(*S*)-2-(2-(4-Mercapto-1*H*-imidazol-1-yl)-3-phenyl propanamido)acetic acid 16a

The procedure used for compound **7** was applied.

δ_H(300 MHz; D_2O) 3.32 (1H, dd, *J* 13.9, 10.0), 3.54 (1H, dd, *J* 13.9, 5.9), 3.93 (1H, d, *J* 17.9), 4.02 (1H, d, *J* 17.9), 5.38 (1H, dd, *J* 9.0, 6.0), 7.14–7.17 (2H, m), 7.29–7.31 (3H, m), 7.44 (1H, s), 8.65 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 38.4, 41.5, 63.7, 127.9, 128.0, 129.0, 129.2, 129.3, 134.9, 138.5, 169.6, 173.0; $[\alpha]_D^{20}$ −96.9 (*c* 0.8 in CH_2Cl_2); *m/z* (ESI) 304.

(*S*)-Methyl 4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(1-methyl-4-(methylthio)-1*H*-imidazol-2-yl)butanoate 17

Following the procedure described for the formation of **15b**, thioamide **5** (444 mg, 1.28 mmol) led to protected mercaptoimidazole **17** (198 mg, 45%).

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 1.43 (9H, s), 2.16–2.38 (2H, m), 2.39 (3H, s), 2.71 (2H, t, *J* 7.4), 3.51 (3H, s), 3.72 (3H, s), 4.35 (1H, m), 5.77 (1H, br d, *J* 7.0), 6.77 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 19.0, 23.3, 28.7, 29.9, 32.9, 52.7, 53.9, 80.1, 121.9, 133.2, 148.3, 156.0, 173.1.

(*S*)-Methyl 4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)butanoate 18

Refluxing sulfide **17** (99 mg, 0.29 mmol) in ethanol (15 cm^3), in the presence of 50 mg of Raney nickel (50% in water) during

14 h, followed by filtration through celite, gave 82 mg (95%) of compound **18**.

δ_H(300 MHz; $CDCl_3$): 1.43 (9H, s), 2.11–2.37 (2H, m), 2.72 (2H, t, *J* 7.7), 3.54 (3H, s), 3.70 (3H, s), 4.35 (1H, m), 5.60 (1H, br d, *J* 7.7), 6.77 (1H, s), 6.89 (1H, s); δ_C(75 MHz; $CDCl_3$) 22.8, 28.4, 30.1, 32.6, 52.5, 53.3, 80.2, 120.8, 127.1, 147.0, 155.7, 172.9.

Acknowledgements

We are grateful to the FONGECIF, CNAM and the Région Haute Normandie for generous financial support to Alain Crépin and Sylvain Petit, respectively. The Centre Universitaire Normand de Chimie Organique (CRUNCh) is also gratefully acknowledged. Dr Christian A. G. N. Montalbetti (Evotec, U.K.), is gratefully acknowledged for helpful discussions.

References

1 S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H.-G. Lombart and W. D. Lubell, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 12789; J. Gante, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, **33**, 1699.
2 R. E. Melendez and W. D. Lubell, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 6759.
3 S. Couve-Bonnaire, D. Cahard and X. Pannecoucke, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 1151.
4 M. H. V. Ramana Rao, E. Pinyol and W. D. Lubell, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 736 and references cited therein.
5 B. P. Roques, M.-C. Fournie-Zaluski, E. Soroca, J.-M. Lecomte, B. Malfroy, C. Llorens and J.-C. Schwartz, *Nature*, 1980, **288**, 286; B. P. Roques, F. Noble, V. Dauge, M.-C. Fournie-Zaluski and A. Beaumont, *Pharmacol. Rev.*, 1993, **45**, 87; C. David, L. Bischoff, H. Meudal, A. Mothe, N. De Mota, S. DaNascimento, C. Llorens-Cortes, M.-C. Fournie-Zaluski and B. P. Roques, *J. Med. Chem.*, 1999, **42**, 5197.
6 B. W. Matthews, *Acc. Chem. Res.*, 1988, **21**, 333.
7 T. P. Holler, F. Ruan, A. Spaltenstein and P. B. Hopkins, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 4570; C. E. Hand and J. F. Honek, *J. Nat. Prod.*, 2005, **68**, 293.
8 P. Deprez, E. Mandine, A. Vermond and D. Lesuisse, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, **12**, 1287.
9 A. Spaltenstein, T. P. Holler and P. B. Hopkins, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 2977.
10 V. Zoete, F. Bailly, J.-P. Catteau and J.-L. Bernier, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1997, **1**, 2983.
11 F. Bailly, N. Azaroual and J.-L. Bernier, *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, **11**, 4623.
12 K. Ikeda, S. Kitani, K. Sato, T. Suzuki, C. Hosokawa, Y. Suzuki, K. Tanaka and M. Sato, The protocol described in the following article, *Carbohydrate Res.*, 2004, **339**, 1367 claims 1 molar equiv of AcSH, whereas the amount used therein corresponds to 8 molar equiv.
13 T. P. Holler and P. B. Hopkins, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 4837.
14 X. Huang, X. Luo, Y. Roupioz and J. Keillor, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 8821.
15 H. Tokuyama, T. Kuboyama, A. Amano, T. Yamashita and T. Fukuyama, *Synthesis*, 2000, **9**, 1299.
16 A. R. Katritzky, N. Kirichenko, B. V. Rogovoy and H.-Y. He, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 9088.
17 S. Zaman, K. Mitsuru and A. D. Abell, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 609.
18 O. A. Attanasi, P. Davoli, G. Favi, P. Filippone, A. Forni, G. Moscatelli and F. Prati, *Org. Lett.*, 2007, **9**, 3461.
19 Y. Tominaga, Y. Shiroshita, M. Kawabe, H. Goto, Y. Oniyama and Y. Matsuda, *Heterocycles*, 1985, **23**, 2531.

This journal is © The Royal Society of Chemistry 2009

ORGANIC LETTERS

2010
Vol. 12, No. 21
4928−4931

New Family of Peptidomimetics Based on the Imidazole Motif

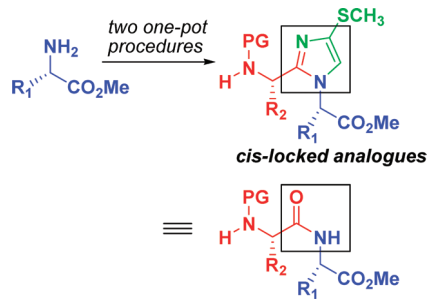
Sylvain Petit, Corinne Fruit, and Laurent Bischoff*

IRCOF-INSA Rouen - CNRS UMR 6014 COBRA, Université de Rouen, place Emile Blondel 76130 Mont-Saint-Aignan, France

laurent.bischoff@insa-rouen.fr

Received September 6, 2010

ABSTRACT



Starting from amino acid esters, new peptidomimetics based on the imidazole scaffold were prepared. An efficient and rapid sequence consisting of two subsequent one-pot procedures was developed and applied to various aminoacids. As they provide more substitution patterns, these heterocyclic mimics are promising tools for structural and biological studies.

Peptide−protein or protein−protein interactions play a vital role in biochemistry, and their understanding is often the key to the design of new bioactive compounds. Owing to great advances in molecular modeling, X-ray structural analysis, and NMR techniques, the secondary and/or tertiary structures of peptidic scaffolds increasingly have been elucidated. However, due to the ubiquitous presence of peptidases, most bioactive peptides cannot be administered as drugs, since their rapid degradation or low biodisponibility prevent them from reaching their targets. Over the years, many groups have focused on the synthesis of constrained peptidomimetics for the better understanding of bioactive conformations or enhanced metabolic stabilities. More recently, the efforts have focused on the cis and trans conformations in natural peptides, especially those bearing proline, pipecolic acid, or *N*-methylated amino acids. It is now well established that a wide panel of heterocyclic synthons, such as bicyclic analogues,[1] or the simple replacement of the scissile peptide bond by a five-membered ring heterocycle could lead to interesting mimics.

In particular, aza heterocycles such as tetrazoles,[2] 1,2,4-triazole,s[3] and more often 1,2,3-triazoles were synthesized. Early work in this area had focused on the use of 1,4-substituted triazoles,[4] which were obtained by Cu^{I}-mediated Huisgen reaction,[5] but recent developments of this reaction allowed a reversed regioselectivity owing to the use of ruthenium catalysts.[6] Recently, elegant ligation strategies, in which a cis-peptide bond analogue is replaced by a 1,5-disubstituted triazole, were described.[7]

(1) Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W. D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789.

(2) Yu, K. L.; Johnson, R. L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2051.

(3) (a) Hitotsuyanagi, Y.; Motegi, S.; Fukaya, H.; Takeya, K. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3266. (b) Boeglin, D.; Cantel, S.; Heitz, A.; Martinez, J.; Fehrentz, J.-A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4465. (c) Hitotsuyanagi, Y.; Motegi, S.; Hasuda, T.; Takeya, K. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1111.

(4) Angell, Y. L.; Burgess, K. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1674.

(5) (a) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.

(6) Majireck, M. M.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8680.

(7) (a) Tam, A.; Arnold, U.; Soellner, M. B.; Raines, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12670. (b) Ahsanullah; Schmieder, P.; Kühne, R.; Rademann, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 5042. (c) Ahsanullah; Rademann, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 5378.

10.1021/ol102118u © 2010 American Chemical Society
Published on Web 10/12/2010

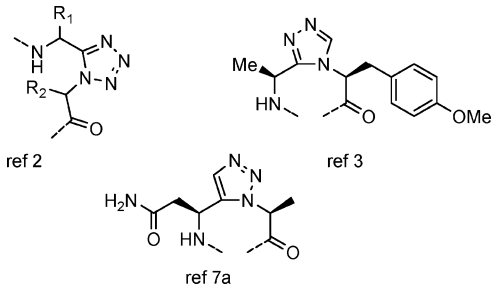


Figure 1. Examples of aza-heterocyclic mimics of the amide bond.

The global aim of this work was the synthesis of 1,5-disubstituted imidazole-based peptidomimetics. The choice of this heterocycle was suggested by a close resemblance with the amide bond, of greater diversity than afforded with triazoles. In addition, as our synthetic route uses mercaptoimidazole intermediates, the presence of the sulfur atom can lead to functionalized side-chains or modulate the basicity of the imidazole by oxidizing a thioether to a sulfone. Furthermore, imidazole being a naturally occurring 5-members heterocycle, its pharmacological implications may be better understood than those of other heterocycles.

In a previous work,[8] we had studied the replacement of the carboxyl group of amino acids by an imidazole, as well as the incorporation of the nitrogen atom of the amino group itself in the heterocycle. The C-terminus replacement by imidazoles[9] or imidazolines[10] has also been studied by other groups who proposed various efficient synthetic pathways, such as palladium cyclization of amidoximes,[9b] thio-Ugi reaction,[9c] or using azavinyl azomethine ylides as precursors.[9d]

Our retrosynthetic approach is summarized in Figure 2, the key intermediate being the dipeptide bearing a thiocarboxamide, which will be condensed with the peptidic bond itself. Contrary to our preliminary observations for synthons incorporating a single amino acid, the very strong deactivating effect of the *N*-cyanomethyl group made the initial coupling step almost impossible for dipeptidic synthons, with classical coupling reagents such as EDCI, HATU, HBTU, BOP.

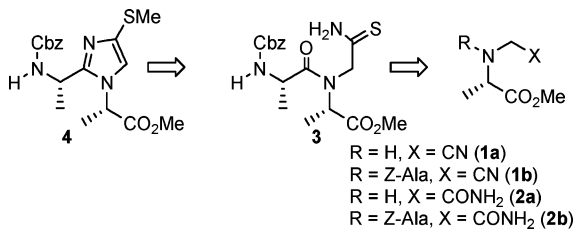
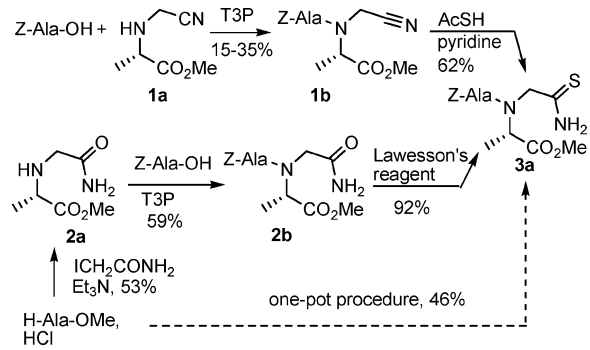


Figure 2. Retrosynthetic pathway.

As shown in Scheme 1, we could overcome this difficulty by using a carboxamide instead of a nitrile as the thioamide precursor. The best results for the coupling step were obtained with propanephosphonic anhydride T3P. Starting from H-Ala-OMe hydrochloride, the amino group was alkylated with iodoacetamide in 53% yield, followed by coupling with Cbz-Ala in 59% yield. Hydrophobic aminoacids such as phenylalanine gave better results, due to their easier extraction. Subsequent treatment of these compounds with Lawesson's reagent cleanly led to selective thionation of the primary amide[10] versus the peptidic bond, for instance a 92% yield was obtained on the Ala-Ala model substrate. To make this synthetic route shorter, we tested a one-pot procedure, in which iodoacetamide and DIEA were added to the aminoester, followed by *N*-protected aminoacid and T3P, and finally Lawesson's reagent. Better yields were obtained using this procedure, and only the final thioamides **3a**−**h** listed in Table 1 required purification to discard the Lawesson's reagent byproduct.

Scheme 1. Aminoacetonitrile/Aminoacetamide Pathways



We also observed that the carboxamide **2b** could also be readily dehydrated via treatment with trifluoroacetic anhydride,[11] affording the nitrile **1b** in 86% yield. Thioamides in this series can also lead to the corresponding nitriles upon treatment with DCC.

The formation of the imidazole ring being a crucial step of the synthesis, we thoroughly optimized it for these substrates. This reaction was first described by Hopkins[12] for the synthesis of mercaptoimidazoles bearing alkyl substituents. Our preliminary findings had shown that trapping the transient thiol with CH_3I or Boc_2O was required to both increase the yields and facilitate the isolation of the products.

(8) Crépin, A.; Wattier, N.; Petit, S.; Bischoff, L.; Fruit, C.; Marsais, F. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 128.

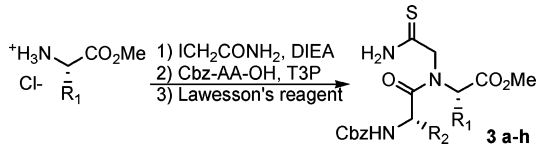
(9) (a) Haberhauer, G.; Rominger, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3209. (b) Zaman, S.; Mitsuru, K.; Abell, A. D. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 609. (c) Gulevich, A. V.; Balenkova, E. S.; Nenaijdenko, V. G. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7878. (d) Attanasi, O. A.; Davoli, P.; Favi, G.; Filippone, P.; Forni, A.; Moscatelli, G.; Prati, F. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3461. (e) Attanasi, O. A.; Caselli, E.; Davoli, P.; Favi, G.; Mantellini, F.; Ori, C.; Prati, F. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2840.

(10) (a) You, S.-L.; Kelly, J. W. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1681. (b) Loos, P.; Riedrich, M.; Arndt, H.-D. *Chem. Commun.* **2009**, 1900.

(11) Campagna, F.; Carotti, A.; Casini, G. *Tetrahedron: Lett.* **1977**, *18*, 1813.

(12) Spaltenstein, A.; Holler, T. P.; Hopkins, P. B. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2977.

Table 1. One-Pot Procedure for the Preparation of Thioamide-Bearing Dipeptides

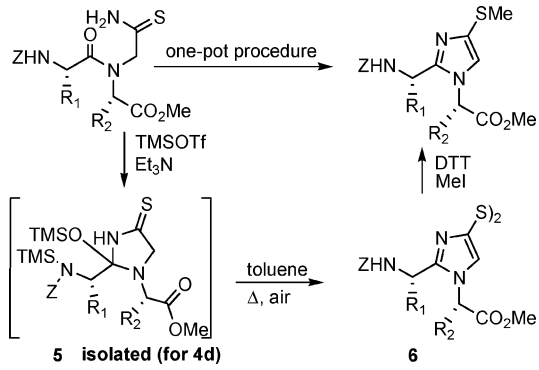


entry	dipeptide	compd nr	yield %
1	Z-Ala-Ala-OMe	**3a**	46
2	Z-Tyr(OBzl)-Ala-OMe	**3b**	77
3	Z-Asp(OBzl)-Phe-OEt	**3c**	42
4	Z-Ala-Lys(Z)-OBn	**3d**	36
5	Z-Pro-Phe-OMe	**3e**	47
6	Z-Phg-Phe-OMe	**3f**	63
7	Z-Pro-Leu-OMe	**3g**	41
8	Fmoc-Ile-Ala-OMe	**3h**	33

However, the presence of the second aminoacid significantly reduced the reactivity and therefore we had to modify the procedure. We used compound **3a** (Ala-Ala derivative) as a model for this study. First attempts with *N*-Boc and *t*-butyl ester protecting groups leading to TMSOTf-promoted deprotection, *N*-Cbz and *N*-Fmoc amino acid methyl esters, were employed. Mechanistic considerations initially suggested that a *S*-TMS intermediate could be first obtained once the cyclization achieved, requiring a *S*-desilylation step before trapping with the electrophile. Thus, following the reaction with TMSOTf, desilylation could be achieved by treatment with methanol; however, TBAF gave lower yields.

This reaction was even less efficient with more hindered dipeptides, leading to a product of very low polarity. Identification of this compound by means of various NMR experiments revealed a structure corresponding to the bis-TMS intermediate **5**, (Scheme 2) obtained in 47% yield after

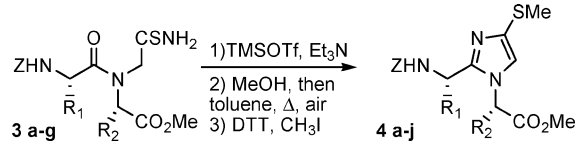
Scheme 2. One-Pot Procedure via a Silylated Intermediate



chromatography through silica gel. The latter could be expected according to the mechanism, that is, selective *O*-silylation with TMSOTf then addition of the nitrogen atom of the thioamide. Monitoring the reaction led us to observe that this first step occurs in a few minutes at −78 °C, with a nearly quantitative conversion. However, the subsequent elimination of TMSOH appears to be a very slow step, especially with aminoacids bearing bulky side-chains. This process does not necessarily require a base, since it can be accomplished either by heating in toluene for 1 h, or by simply keeping the neat compound at room temperature over a 24 h period of time. In both cases, the disulfide was recovered. This implies a final air-induced oxidation step which necessitates a stoichiometric amount of oxygen.

All of these observations led us to propose an experimental one-pot procedure that consisted of a rapid silylation by TMSOTf, followed by methanolysis of excess reagent, then heating in toluene under an air atmosphere, reduction of the disulfide **6** with DTT, and alkylation with CH_3I. Under those conditions, good yields were obtained, even for more hindered aminoacids. The results are listed in Table 2.

Table 2. Formation of the Imidazole Peptidomimetics



entry	compd nr	dipeptide analogue	yield %
1	**4a**	Z-Ala-Ala-OMe	62
2	**4b**	Z-Ala-Ala-OMe[a]	75
3	**4c**	Z-Ala-Ala-OMe[b]	68
4	**4d**	Z-Tyr(OBzl)-Ala-OMe	61
5	**4e**	Z-Asp(OBzl)-Phe-OMe	65
6	**4f**	Z-Ala-Lys(Z)-OMe	72
7	**4g**	Z-Pro-Phe-OMe	47
8	**4h**	Z-Phg-Phe-OMe	61
9	**4i**	Z-Pro-Leu-OMe	41
10	**4j**	Fmoc-Ile-Ala-OMe	28

[a] Trapping the thiol with Boc_2O. [b] Trapping the thiol with t-butyl acrylate.

Several dipeptides were tested for this reaction. Amino acids bearing unfunctionalized side-chains such as Ala, Phe, and Ile gave good yields of imidazoles. Other amino acids having functional groups on the side-chain, such as Asp or Lys, also gave good yields.

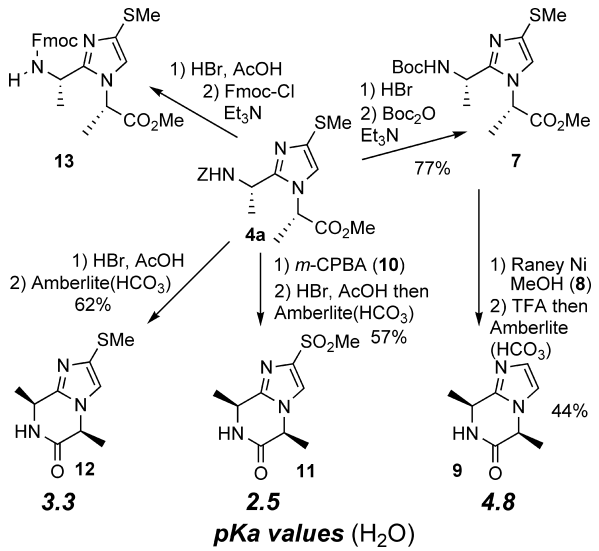
Interestingly, the aspartic derivative, rather prone to racemization, showed a good retention of the chiral center. However, the much more sensitive amino acid phenylglycine led to complete epimerization, and the same mixture of diastereomers was obtained, whatever the configuration of the starting phenylglycine. Therefore, our method appears suitable for classical amino acids but, not surprisingly, phenylglycine derivatives epimerized under heating in toluene.

As shown in entries 2 and 3, trapping the thiol with different electrophiles such as *t*-butyl acrylate or Boc_2O gave the resulting *S*-Boc and $S(CH_2)_2COOtBu$ imidazoles in good yields. This can be of particular interest, since compound **4c** could be further deprotected to afford the *S*-carboxyethyl

group that can be used either as an anchoring moiety, or as a water-soluble substituent.

Another significant feature concerning those peptidomimetics relies on their low basicity, compared to *N*-alkyl imidazoles. In fact, these new mimics of the amide bond should not be protonated at neutral pH. To confirm this hypothesis, we prepared water-soluble diketopiperazines[13] derived from Ala-Ala analogue, following the synthesis described in Scheme 3.

Scheme 3. Protective Group Modifications and Diketopiperazine Formation



As the *N*-Cbz group was likely to react with Raney nickel, we first replaced this protecting group before carrying out the desulfurization. We also oxidized the *S*-Me group to the corresponding sulfone. Upon *N*-deprotection and treatment with hydrogenocarbonate-loaded Amberlite resin, the cyclization was almost instantaneous and afforded clean diketopiperazines.

The pKas of the three diketopiperazines bearing the imidazole ring were measured by titration with NaOH from their hydrochloride salts. *N*-methyl imidazole was used as a reference, a pK_a of 6.90 was found (lit. 6.95).[14] As expected, the unsubstituted imidazole **9** was the most basic, exhibiting a 4.8 value. Interestingly, the electron-withdrawing effect of the amide group accounts for a loss of basicity by 2 orders of magnitude. The presence of the *S*-methyl group in **12** further lowered the pK_a to 3.3 and, as expected, the sulfone **11** gave the lowest basicity with a pK_a value of 2.5.

In conclusion, we developed an efficient protocol for the preparation of peptidomimetics mimicking the cis-locked rotamers of peptides in good and reproducible yields, in very few steps. Those analogues show promising further developments due to their possibility of bearing various substituents, especially the methylsulfonyl group which accounts for a dramatic decrease of the basicity. Further biological evaluations of these compounds are currently in progress.

Acknowledgment. S.P. is grateful to the Région Haute Normandie, pôle Chimie-Biologie-Santé, CRUNCH network, Interreg ISCE-CHEM funding for generous financial support. Dr Catherine Taillier (Université du Havre) and Dr. Bernhard Witulski (LCMT, Caen) are gratefully acknowledged for useful discussions concerning T3P.

Supporting Information Available: Analytical data, copies of NMR spectra, and experimental preparations of all compounds. This material is available free of charge via the Internet at http://pubs.acs.org.

OL102118U

(13) (a) Bajusz, S.; Szell, E.; Bagdy, D.; Barabas, E.; Horvath, G.; Dioszegi, M.; Fittler, Z.; Szabo, G.; Juhasz, A.; Tomori, E.; Szilagyi, G. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1729. (b) Yael Kogon, Y.; Goren, L.; Pappo, D.; Rudi, A.; Kashman, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1852.

(14) Wood, J. L. *Biochem. J.* **1974**, *143*, 775.