



HAL
open science

Hémisynthèse stéréosélective d'acides aminés hétérosubstitués sur la chaîne latérale : application au radiofluoromarquage pour l'imagerie de peptides

Baptiste Rugeri

► **To cite this version:**

Baptiste Rugeri. Hémisynthèse stéréosélective d'acides aminés hétérosubstitués sur la chaîne latérale : application au radiofluoromarquage pour l'imagerie de peptides. Chimie organique. Université Bourgogne Franche-Comté, 2017. Français. NNT : 2017UBFCK060 . tel-02149578

HAL Id: tel-02149578

<https://theses.hal.science/tel-02149578>

Submitted on 6 Jun 2019

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.



UNIVERSITE DE BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE
U.F.R. SCIENCES ET TECHNIQUES

THESE

Pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Bourgogne-Franche-Comté
Discipline : Chimie organique

Par

Baptiste Rugeri

**Hémisynthèse stéréosélective d'acides aminés hétérosubstitués sur
la chaîne latérale
Application au radiofluoromarquage pour l'imagerie de peptides**

Soutenue le 18 décembre 2017 devant le jury composé de :

| | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Pr. Patrick Meffre | Université de Nîmes | Rapporteur |
| Dr. Emmanuel Magnier | Institut Lavoisier de Versailles | Rapporteur |
| Dr. Jean-Bernard Deloye | Cyclopharma Clermont-Ferrand | Examineur |
| Pr. Anthony Romieu | Université de Bourgogne-Franche-Comté | Examineur |
| Pr. Sylvain Jugé | Université de Bourgogne-Franche-Comté | Directeur de thèse |
| Dr. Raluca Malacea | Université de Bourgogne-Franche-Comté | Co-encadrante |

Remerciements

Tout d'abord j'exprime ma profonde gratitude au Professeur Sylvain Jugé pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir guidé tout au long de cette thèse, ainsi que pour l'aide précieuse qu'il m'a apporté pour la rédaction de la thèse.

J'adresse également mes sincères remerciements au Dr. Raluca Malacea qui m'a également encadré dans ce travail, pour ses conseils, son soutien et ses encouragements personnels, et aussi pour son aide à la préparation de la thèse.

J'adresse mes remerciements au Pr. Patrick Meffre et au Dr. Emmanuel Magnier qui ont accepté de juger ce travail et pour avoir fait leur rapport dans un délai réduit. Je remercie aussi le Pr. Anthony Romieu pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour le temps qu'il m'a consacré pour me former à l'utilisation d'équipements qui m'ont été d'une aide précieuse pour réaliser ce travail. Merci aussi à Mr Jean-Bernard Deloye d'avoir accepté de participer à ce jury et à la société Cyclopharma pour le parrainage de cette thèse « *Jeune Chercheur Entrepreneur* » sans lequel rien n'aurait pu se faire.

Je tiens aussi à adresser à la région Bourgogne Franche-Comté, à l'Institut d'Administration des Entreprises de Dijon, ainsi que à « *The Entrepreneurial Garden* », toute ma reconnaissance pour m'avoir permis de préparer un master d'administration des entreprises et d'avoir des connaissances sur l'entreprise, grâce au financement de thèse « *Jeune Chercheur Entrepreneur* »

Mes remerciements vont aussi au Dr. Jérôme Bayardon, qui a toujours trouvé le temps de m'aider et de m'encourager, ainsi que pour son aide à la rédaction de cette thèse, et au Dr. Adrien Normand pour ses discussions et sa bonne biblio qui m'ont bien aidées pour mieux comprendre certains aspects de ma chimie.

Je remercie également l'équipe de l'INICIA de Bordeaux, et tout particulièrement Jürgen Schultz et Delphine Vimont pour m'avoir encadré pour les tests de radiomarquage et pour m'avoir initié à ce domaine.

Pour leur compétence et leur disponibilité, je remercie également Marie-Jo Penouih et toute l'équipe du PACSMUB sans lesquels nous ne pourrions pas caractériser tout ce que l'on fait quotidiennement.

Un grand merci également à mes camarades doctorants pour la bonne ambiance au laboratoire, en particulier aux clients réguliers du Smart/Blue Dog/Berthom/Barbarians/L'Annexe/Alephant/Pointd'eau/Cosmos/Craft et pour les soirées barbecue, et aussi à Cédric Balan et Marie-Jo Eymin pour leur aide technique si utile au laboratoire.

De même, à mes amis d'écoles, qu'ils soient de Gif, de Rennes ou de Strasbourg, merci pour votre soutien et vos encouragements.

Enfin, mes pensées vont à ma famille pour leur soutien constant, en particulier à mes parents, qui m'ont donné cette envie de comprendre, de chercher par moi-même, ce qui m'a amené là où je suis aujourd'hui.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
| 1) Les acides α -aminés dans la nature | 1 |
| 2) Les acides aminés comme source de chiralité. | 3 |
| 3) Utilisation pharmacologique d'acides aminés non-naturels..... | 4 |
| 4) Stratégie de synthèse des acides α -aminés | 5 |
| a) Par résolution enzymatique | 5 |
| b) Par catalyse d'hydrogénation asymétrique. | 6 |
| c) Méthode de synthèse de Schöllkopf..... | 7 |
| d) Méthode de synthèse de Belokon | 7 |
| e) Hémissynthèse d'acides aminés | 9 |
| 5) Synthèse d'acides aminés silylés..... | 12 |
| 6) Tomographie par émission de positons..... | 15 |
| 7) Application de ^{18}F pour la radiosynthèse d'agents d'imagerie. | 18 |
| 8) Utilisation du silicium pour le radiomarquage par ^{18}F | 21 |
| OBJECTIF | 25 |
| CHAPITRE 1 : SYNTHESE D'ACIDES AMINES ET DE PEPTIDES SILYLES POUR LE RADIOMARQUAGE PAR ^{18}F | 27 |
| I] SYNTHESE DES REACTIFS DE WITTIG ET HORNER-WADSWORTH-EMMONS DERIVES D'ACIDES AMINES | 29 |
| 1) Préparation des précurseurs γ -iodo acides aminés | 29 |
| 2) Préparation du sel de phosphonium dérivé d' α -amido acide 108 | 30 |
| 3) Préparation d'un dérivé γ -phosphonato acide aminé 190 | 30 |
| 4) Préparation des dérivés silylés de benzaldéhyde | 31 |
| II] SYNTHESE DES ACIDES AMINES SILYLES | 31 |
| 1) Etude de la réactivité du sel de phosphonium 108 | 31 |
| a) Influence de la quantité d'eau sur la réaction de Wittig..... | 31 |
| b) Etude de la stéréosélectivité (Z/E) de la réaction de Wittig..... | 33 |
| 2) Etude de la réaction du phosphonate dérivé d'acide aminé 190 | 34 |
| 3) Synthèse d'acides aminés silylés par réaction de Wittig | 35 |
| a) Synthèse du dérivé di- <i>t</i> -butylsilane 196a | 35 |
| b) Synthèse du dérivé di- <i>i</i> -propylsilane 196b | 36 |
| c) Synthèse du dérivé di- <i>i</i> -propylsilanol 196c | 37 |
| III] SYNTHESE DE PEPTIDES SILYLES | 38 |
| 1) Etude la réaction de couplage des acides aminés silylés. | 38 |
| 2) Synthèse d'un tripeptide silylé..... | 39 |
| 3) Hydrogénation des acides aminés et dipeptides silylés insaturés | 39 |
| IV] ETUDE DE LA FLUORATION DES ACIDES AMINES ET PEPTIDES SILYLES ET DE LA STABILITE DES DERIVES FLUOROSILYLES | 40 |
| 1) Etude de la réaction de fluoration | 41 |
| 2) Etude d'hydrolyse des dérivés fluorosilylés d'acides aminés ou de peptides..... | 42 |
| V] RADIOMARQUAGE PAR ^{18}F DES DIPEPTIDES SILYLES..... | 45 |
| 1) Etude du radiomarquage du dipeptide silylé insaturé 207a | 46 |
| 2) Etude du radiomarquage du dipeptide silylé saturé 211a | 51 |
| 3) Etude du radiomarquage du dipeptide fluorosilylé 212e par échange isotopique..... | 52 |
| VI] CONCLUSION DU CHAPITRE 1 | 53 |
| CHAPITRE 2 : SYNTHESE D'ACIDES AMINES ET PEPTIDES PORTEURS DE TRIAZOLES TRISUBSTITUES | 55 |
| I] RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA CYCLOADDITION [3+2]..... | 57 |
| 1) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués | 57 |
| 2) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués | 59 |

| | |
|--|------------|
| 3) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués | 61 |
| 4) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués par libération de tension de cycle | 64 |
| 5) Exemples d'utilisation des 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués..... | 65 |
| OBJECTIF DE CE CHAPITRE | 68 |
| II] SYNTHÈSE D'AZOTURES ACIDES AMINÉS ET PEPTIDES | 69 |
| 1) Dérivés γ -azido acides aminés..... | 69 |
| 2) Dérivés δ -azido acides aminés | 69 |
| 3) Synthèse d'un dérivé azido dipeptide..... | 70 |
| III] CYCLOADDITION [3+2] D'AZOTURES D'AMINOESTERS AVEC DES ALCYNES INTERNES | 70 |
| 1) Introduction | 70 |
| 2) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acides aminés par RuAAC | 70 |
| a) Etude méthodologique de la RuAAC..... | 71 |
| b) Etude de la désactivation du catalyseur de ruthénium dans les conditions de cycloaddition[3+2] | 73 |
| c) Calculs DFT de la cycloaddition [3+2] en présence de complexes de ruthénium | 76 |
| IV] CYCLOADDITION[3+2] AZOTURE/ALCYNE DANS LE GLYCEROL | 77 |
| 1) Etude méthodologique de la cycloaddition dans le glycérol | 78 |
| 2) Préparation des alcynes internes..... | 79 |
| a) Synthèse d'alcynes vrais à partir d'aldéhydes | 79 |
| b) Dérivation d'alcynes commerciaux..... | 81 |
| c) Préparation d'alcynes internes | 82 |
| 3) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acides aminés avec des alcynes internes..... | 82 |
| a) Cycloaddition [3+2] d'alcynes internes non fonctionnalisés..... | 83 |
| b) Cycloaddition [3+2] d'alcynes internes porteurs de groupes hétérofonctionnalisés | 84 |
| c) Cycloaddition [3+2] d'alcynes internes porteurs de groupes électroattracteurs | 85 |
| d) Cycloaddition [3+2] avec des alcynes internes porteurs de groupements silylés..... | 86 |
| 4) Etude de la cycloaddition [3+2] d'azoture d'acide aminé avec des alcynes silanes Si-H | 88 |
| a) Etude de la cycloaddition [3+2] entre l'azoture 290b et les alcynes dialkylsilylés..... | 90 |
| b) Etude de la fluoration du dérivé di- <i>i</i> -propyltriazole d'aminooester | 91 |
| c) Etude de la cycloaddition de l'azoture d'aminooester 290b avec des alcynes internes porteurs de groupements ammonium et di- <i>i</i> -propylsilane | 91 |
| 5) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acide aminé avec des alcynes porteurs de phosphines..... | 93 |
| a) Rappel bibliographique | 93 |
| b) Synthèse de diphosphines supportées sur un acide aminé par cycloaddition [3+2] | 95 |
| c) Etude de la synthèse de diphosphines par cycloaddition [3+2]..... | 96 |
| V] CONCLUSION DU CHAPITRE 2..... | 97 |
| CONCLUSION GENERALE..... | 99 |
| EXPERIMENTAL PART | 103 |
| MATERIAL AND ANALYTICAL PROCEDURES..... | 105 |
| SYNTHESIS OF IODO AMINOACID DERIVATIVES | 106 |
| SYNTHESIS OF AMINO ACID WITTIG AND WITTIG-HORNER-EMMONS REAGENTS | 118 |
| SYNTHESIS OF AZIDO AMINOACIDS | 120 |
| SYNTHESIS OF UNSATURATED SILYLATED AMINOACIDS | 122 |
| SYNTHESIS OF TERMINAL ALKYNES WITH OHIRA-BESTMANN REAGENT | 132 |
| SYNTHESIS OF PROPARGYLAMINES | 136 |
| OTHER TERMINAL ALKYNES..... | 137 |
| SYNTHESIS OF INTERNAL ALKYNES VIA DEPROTONATION..... | 139 |
| SYNTHESIS OF TRIAZOLES | 145 |

Abréviations

| | |
|----------------------------------|--|
| AA | Acide ascorbique |
| AcOEt | Acétate d'éthyle |
| Ala | Alanine |
| All | Allyl |
| Ar | Aryl |
| Boc ₂ O | Bicarbonate de di- <i>t</i> -butyle |
| Bq | Becquerel |
| CuAAC | Copper-catalyzed alkyne azide cycloaddition |
| DFT | Théorie de la fonctionnelle de la densité |
| DIBAL | Hydruure de (di- <i>i</i> -butyl)aluminium |
| DIPEA | Di- <i>i</i> -propyléthylamine |
| DMF | Diméthylformamide |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| dppf | 1,2-Bis(diphénylphosphino)éthane |
| ee | Excès énantiomérique |
| EP | Ether de pétrole |
| FDG | Fluorodéoxyglucose |
| K _i | Constante d'inhibition |
| HATU | Hexafluorophosphate de 1-[Bis(diméthylamino)méthylène]-1H-1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridinium 3-oxide |
| HBTU | Hexafluorophosphate de 3-[Bis(diméthylamino)méthyliumyl]-3H-benzotriazol-1-oxide |
| HMPT | Hexaméthylphosphotriamide |
| HMTETA | Hexaméthyltriéthyltetramine |
| HPLC | Chromatographie liquide haute performance |
| K222 | Kryptofix [®] |
| LDA | Di- <i>i</i> -propylamidure de lithium |
| Me | Méthyl |
| MEM | Méthoxyéthoxyméthyl |
| NOESY | Nuclear Overhauser effect spectroscopy |
| Pd ₂ dba ₃ | Tris(dibenzylidèneacétone) de dipalladium |
| Ph | Phényl |
| Phe | Phénylalanine |
| PMDETA | Pentaméthyl-diéthyl-triamine |
| Ppm | Partie par million |
| PTFE | Polytétrafluoroéthylène |
| QMA | Quaternary methyl ammonium |
| R _f | Rapport frontal |
| RMN | Résonance magnétique nucléaire |
| RRC | Rendement radiochimique |
| RuAAC | Ruthenium-catalyzed alkyne azide cycloaddition |
| SiFA | Silicon Fluoride Acceptor |
| SPAAC | Strain-promoted alkyne azide cycloaddition |
| TBAF | Fluorure de tétrabutylammonium |
| TEP | Tomographie par émission de positons |
| TFA | Acide trifluoroacétique |
| THF | Tétrahydrofurane |
| TMS | Triméthylsilyl |
| TTTA | Tris(1- <i>t</i> -butyle-1,2,3-triazolylméthyl)amine |

Introduction générale

Les acides aminés sont une famille de composés possédant une fonction acide carboxylique ainsi qu'une fonction amine primaire ou secondaire. Du fait de la présence de ces deux groupes fonctionnels, ces composés se trouvent majoritairement sous leurs formes zwitterioniques à pH physiologique. Ces molécules constituant les peptides et les protéines sont omniprésentes dans la nature et indispensables à la vie telle qu'elle est connue.

Bien que le groupe amine peut être en position β ou γ comme illustré par les exemples **1** à **5** (Figure 1) qui possèdent des rôles physiologiques ou des propriétés pharmacologiques importantes, le terme « acide aminés » est usuellement utilisé pour désigner les composés substitués en α .

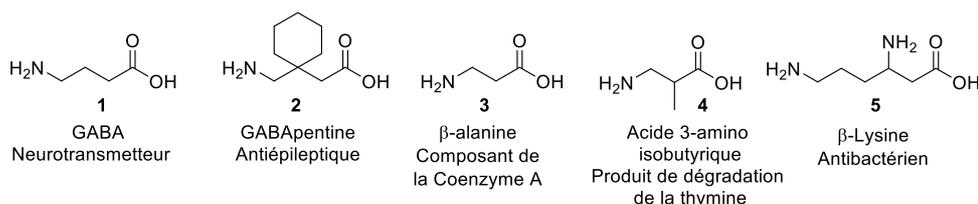


Figure 1 : Exemples d'acides β - ou γ -aminés ayant un rôle biologique

1) Les acides α -aminés dans la nature

Les acides α -aminés possèdent une fonction amine et une fonction acide carboxylique portées par le même carbone, et sont donc en grande majorité chiraux,¹ énantiomériquement purs et présents très majoritairement avec la configuration L. Si un millier d'acides aminés ont été identifiés dans la nature,² seuls 22 acides aminés (Figure 2) sont utilisés pour la biosynthèse de protéines par traduction de l'ARN messager par les ribosomes. Ceux-ci sont dits protéinogènes.

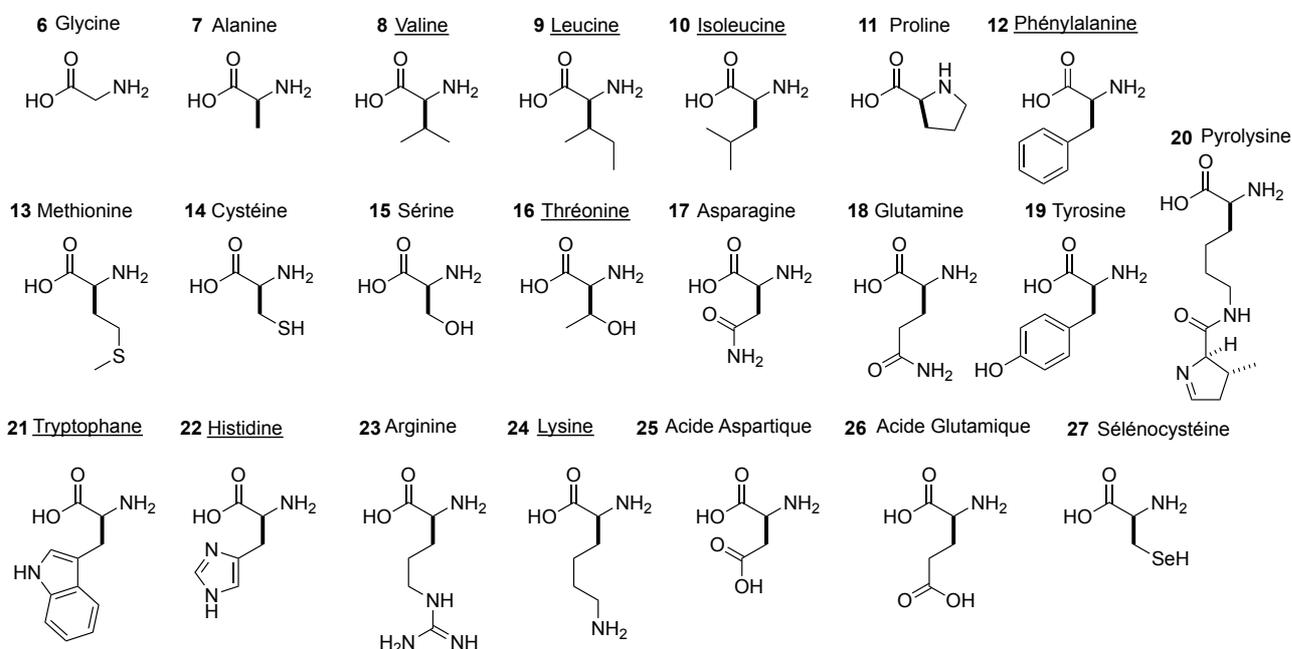


Figure 2 : Liste des acides aminés protéinogènes (acides aminés essentiels soulignés)

Parmi les acides aminés protéinogènes, huit d'entre eux ne peuvent pas être biosynthétisés chez l'humain et exigent donc un apport alimentaire (Figure 2, soulignés), ils sont dits « essentiels ». Les

1 Hughes, A. B. *Amino acids, peptides and proteins in organic chemistry*, Wiley-VCH: Weinheim 2009

2 Saghyan, A. S.; Langer, P. *Asymmetric synthesis of non-proteinogenic amino acids* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim 2016

protéines présentent des rôles divers³ concernant entre autres, le stockage d'acides aminés (albumine), la rigidité et la mobilité des tissus (collagène, actine), le métabolisme (enzymes), l'immunité (anticorps), la transmission de messages (hormones), ou l'identification cellulaire (marqueurs membranaires).

D'autres acides α -aminés, tels que **28-30** (Figure 3), peuvent également être trouvés dans les protéines, mais n'ayant pas de codon leur correspondant dans le code génétique, leur incorporation est impossible à réaliser par le ribosome. Toutefois, dans le cadre de modifications post-traductionnelles, par insertion ou par modification d'un acide aminé déjà présent, ces acides aminés non protéinogènes peuvent être rencontrés dans des protéines.

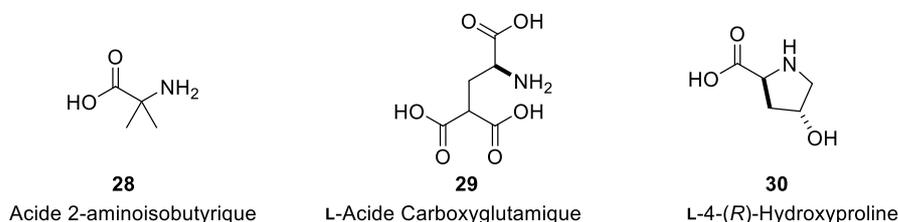


Figure 3 : Exemples d'acides aminés issus de modifications post-traductionnelles

En dehors de leur utilité dans la biosynthèse de peptides et de protéines, les acides α -aminés ont aussi de nombreux autres rôles propres. L'acide L-aspartique est impliqué avec la L-arginine, la L-ornithine **37** et la L-citrulline **31** dans le cycle de l'urée.⁴ L'acide L-glutamique,⁵ la glycine,⁶ et la D-sérine⁷ sont des neurotransmetteurs. La L-alliine **32** possède des propriétés antioxydantes,⁸ la L-DOPA **33** est utilisée comme traitement contre la maladie de Parkinson⁹ et de nombreux autres acides α -aminés ont des rôles dans divers processus biologiques.

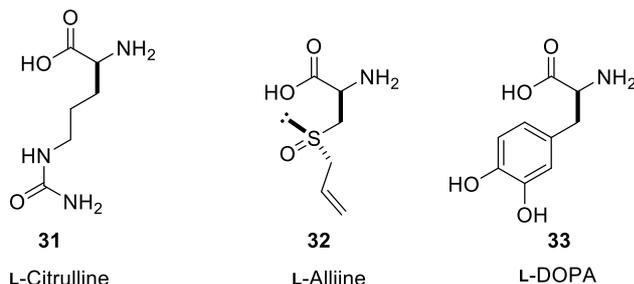


Figure 4 : Exemples d'acides aminés non-protéinogènes ayant un rôle biologique

Enfin, les acides α -aminés sont également utilisés pour la biosynthèse de nombreux produits naturels d'intérêt pharmacologique (Schéma 1).^{10,11,12}

3 Petsko, G. A.; Ringe, D. *Structure et fonction des protéines* De Boeck: Bruxelles **2009**.

4 Shambaugh, G. E. *Am. J. Clin. Nutr.* **1977**, 30, 2083.

5 Meldrum, B. S. *J. Nutr.* **2000**, 130, 1007S.

6 Jursky, F.; Nelson, N. *J. Neurochem.* **2002**, 64, 1026.

7 Schell, M. J.; Molliver, M. E.; Snyder, S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, 92, 3948.

8 Ankri, S.; Mirelman, D. *Microbes Infect.* **1999**, 1, 125.

9 Lloyd, K. G.; Davidson, L.; Hornykiewicz, O. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1975**, 195, 453.

10 Schofield, C. J.; Baldwin, J. E.; Byford, M. F.; Clifton, I.; Hajdu, J.; Hensgens, C.; Roach, P. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, 7, 857.

11 Lamberts, B. L.; Dewey, L. J.; Byerrum, R. U. *Biochim. Biophys. Acta.* **1959**, 33, 22.

12 Dawson, R. F.; Christman, D. R.; D'Adamo, A.; Solt, M. L.; Wolf, A. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 2628.

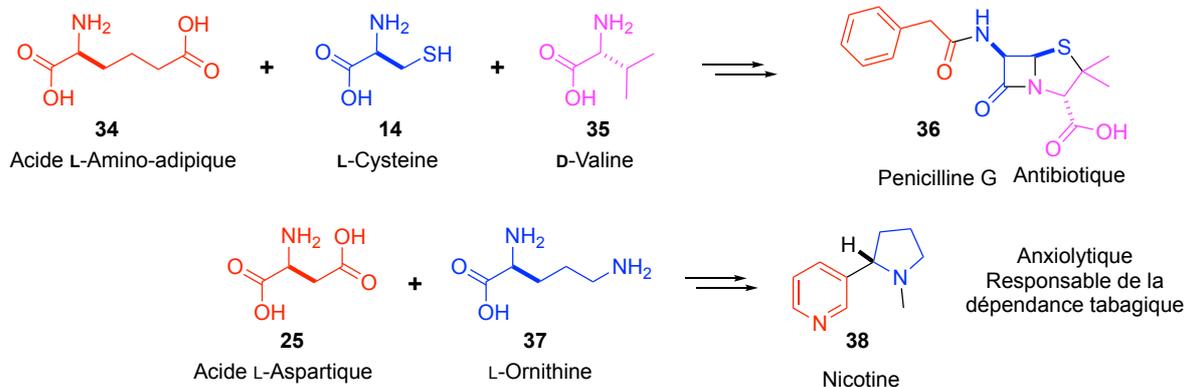


Schéma 1 : Exemples de synthèse de produits naturels à partir d'acide aminés

2) Les acides aminés comme source de chiralité

Du fait de leur disponibilité, leur chiralité, et la présence de différentes fonctionnalités, les acides aminés naturels sont des précurseurs de choix pour la synthèse et la catalyse asymétrique que ce soit en tant que ligands pour la synthèse asymétrique catalysée par des métaux de transition¹³ (Schéma 2a), comme copule chirale¹⁴ (Schéma 2b) ou comme organocatalyseur¹⁵ (Schéma 2c).

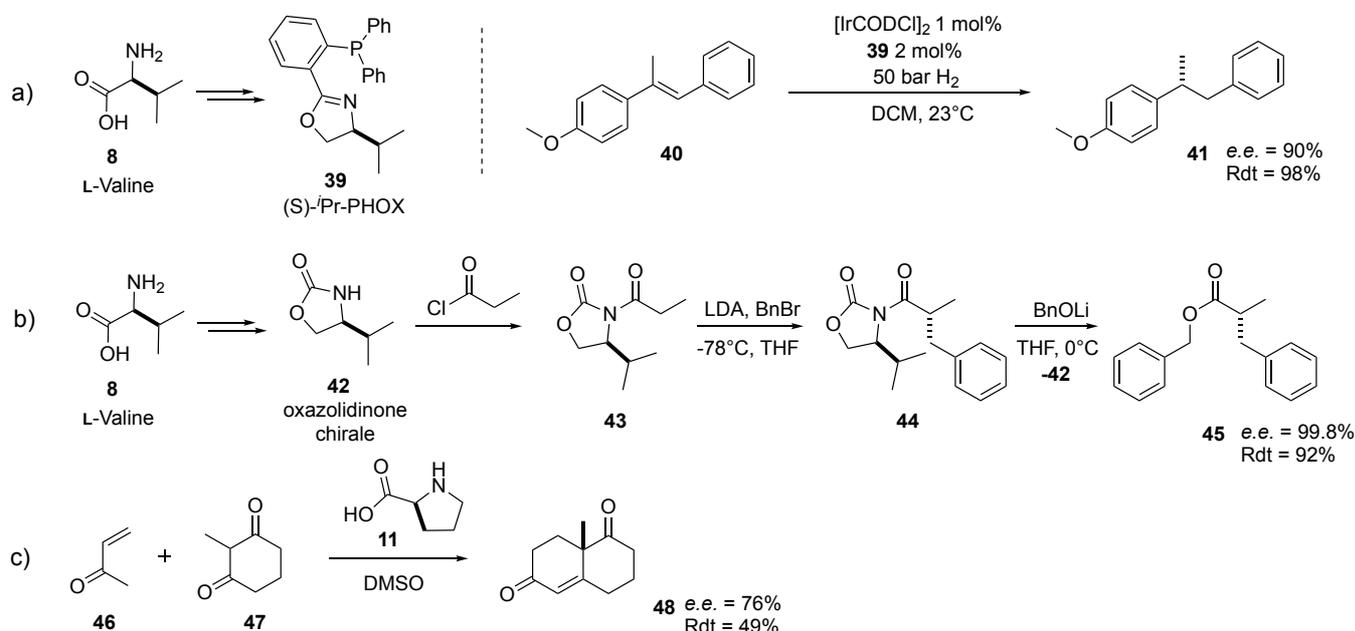


Schéma 2 : Exemples de synthèses et catalyses asymétriques reposant sur l'utilisation d'acides aminés comme source de chiralité: a) Catalyse d'hydrogénation par complexe d'iridium et de *i*Pr-PHOX dérivé de Valine. b) α -alkylation d'amide par utilisation d'une oxazolidinone chirale dérivée de Valine. c) Synthèse de la cétone de Wieland-Miescher par organocatalyse en présence de proline.

De même, les acides aminés sont très souvent utilisés comme source de chiralité^{16,17,18,19} en synthèse stéréosélective de composés d'intérêt thérapeutique comme A-315675²⁰ 49 ou de composés naturels comme l'acide acromélique²¹ 51 ou la lactacystine 52.²²

13 Lightfoot, A.; Schnider, P.; Pfaltz, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2897.

14 Evans, D. A.; Ennis, M. D.; Mathre, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737.

15 Bui, T.; Barbas, C. F. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 6951.

16 Mulzer, J. In *Comprehensive Chirality*, Elsevier **2012** 122–162.

17 Sardina, F. J.; Rapoport, H. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1825.

18 Coppola, G. M.; Schuster, H. F. *Asymmetric synthesis: construction of chiral molecules using amino acids* Wiley: New York **1987**.

19 Paek, S.-M.; Jeong, M.; Jo, J.; Heo, Y.; Han, Y.; Yun, H. *Molecules.* **2016**, 21, 951.

20 Hanessian, S.; Bayraktarian, M.; Luo, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 4716.

21 Baldwin, J. E.; Fryer, A. M.; Pritchard, G. J.; Spivey, M. R.; Whitehead, R. C.; Wood, M. E. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 707.

22 Corey, E. J.; Reichard, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10677.

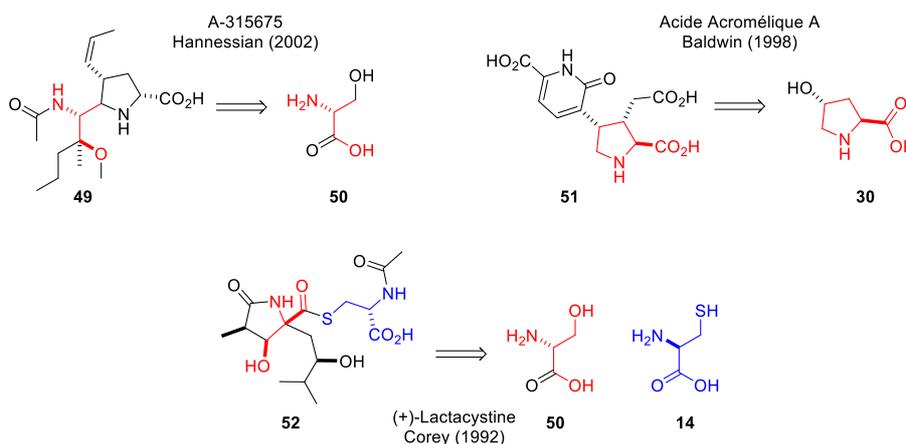


Schéma 3 : Exemples d'utilisations d'acides aminés naturels comme précurseurs chiraux

3) Utilisation pharmacologique d'acides aminés non-naturels

De nombreux dérivés synthétiques d'acides aminés ont des applications pharmacologiques comme les exemples 53-56 (Figure 5).²³

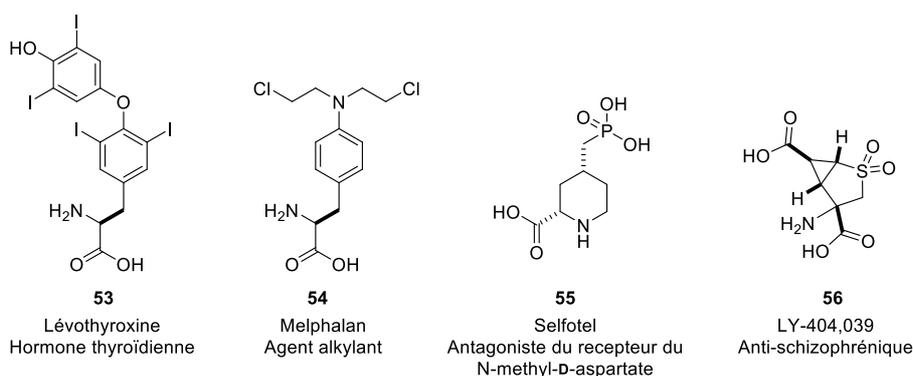


Figure 5 : Exemples d'acides aminés non naturels pour des applications thérapeutiques.

En chimie des peptides, l'incorporation d'acides aminés non-naturels comme des D-acides aminés²⁴ ou des acides aminés α,α -disubstitués²⁵ dans une séquence peptidique est utilisée afin de modifier certaines propriétés d'un peptide²⁶ comme sa résistance aux peptidases et ainsi augmenter sa stabilité *in vivo*.

L'utilisation d'acides aminés non naturels permet également de modifier ou de contraindre la structure secondaire des peptides vers des hélices α ou des feuilletts β .^{27,28}

Enfin, l'incorporation d'acides aminés non naturels présentant des fonctions bio-orthogonales dans une séquence peptidique est aussi une manière de réaliser des marquages de peptides ou de la vectorisation de principes actifs par bio-conjugaison.²⁹

Depuis longtemps, l'intérêt soulevé par les acides aminés non-naturels a conduit les chimistes à mettre au point des synthèses stéréosélectives pour leur préparation.

23 Blaskovich, M. A. T. J. *Med. Chem.* **2016**, 59, 10807.

24 Hong, S. Y.; Oh, J. E.; Lee, K.-H. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 58, 1775.

25 Grauer, A. A.; Cabrele, C.; Zabel, M.; König, B. J. *Org. Chem.* **2009**, 74, 3718.

26 Adessi, C.; Soto, C. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 963.

27 Kobayashi, H.; Misawa, T.; Matsuno, K.; Demizu, Y. J. *Org. Chem.* **2017**, 82, 10722.

28 Lyu, P. C.; Sherman, J. C.; Chen, A.; Kallenbach, N. R. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1991**, 88, 5317.

29 Young, T. S.; Schultz, P. G. J. *Biol. Chem.* **2010**, 285, 11039.

4) Stratégie de synthèse des acides α -aminés

Si les acides aminés naturels sont très importants dans les processus biologiques, ils sont également largement utilisés en synthèse asymétrique comme inducteurs de chiralité. En dépit de leur disponibilité comme produits naturels, les acides aminés ne présentent qu'un panel limité de fonctions sur la chaîne latérale et cela restreint leurs applications pour la synthèse stéréosélective.

La préparation d'acides α -aminés optiquement actifs peut se faire soit par dédoublement de leur mélange racémique, soit par synthèse asymétrique avec formation de liaison C-H, C-C ou C-N, au niveau du carbone prochiral comme illustré ci-dessous (Schéma 4).¹

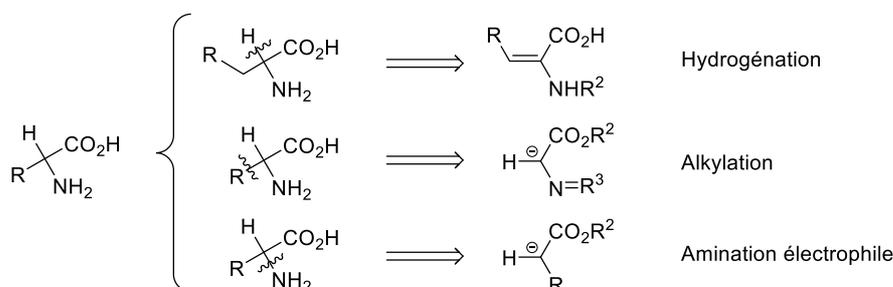


Schéma 4 : Principales stratégies de synthèse des acides α -aminés

Une sélection des grandes méthodes de synthèse est présentée ci-après.

a) Par résolution enzymatique

Historiquement, la première voie d'accès à des acides aminés énantiopurs a été la synthèse du racémique suivie d'un dédoublement. Parmi les méthodes d'accès à des acides aminés sous la forme racémique, l'hydrocyanation d'aldéhyde dite « méthode de Strecker » est certainement l'une des plus utilisées car elle fait appel à des réactifs largement disponibles à l'échelle industrielle.

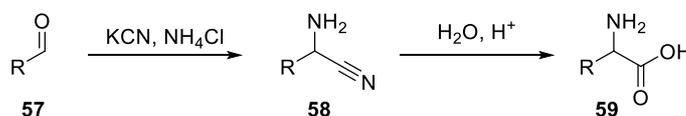


Schéma 5 : Synthèse d'acides aminés racémiques par la méthode de Strecker

Les méthodes de dédoublement par co-cristallisation avec un réactif chiral, tel que l'acide tartrique ou la brucine ont été utilisées initialement,³⁰ mais le dédoublement enzymatique est rapidement apparu comme une méthode plus facilement généralisable.

Pour le dédoublement enzymatique, de multiples stratégies sont envisageables et peuvent présenter des performances variables selon la réaction, le substrat et les enzymes utilisées. Ainsi une même enzyme peut conduire selon que le substituant R est un méthyl, un butyl ou un *i*-butyl, à l'acide aminé correspondant de configuration absolue et d'excès énantiomériques variables tels que : D- 57.3%, L- 100%, L- 89.7% (Schéma 6).³¹

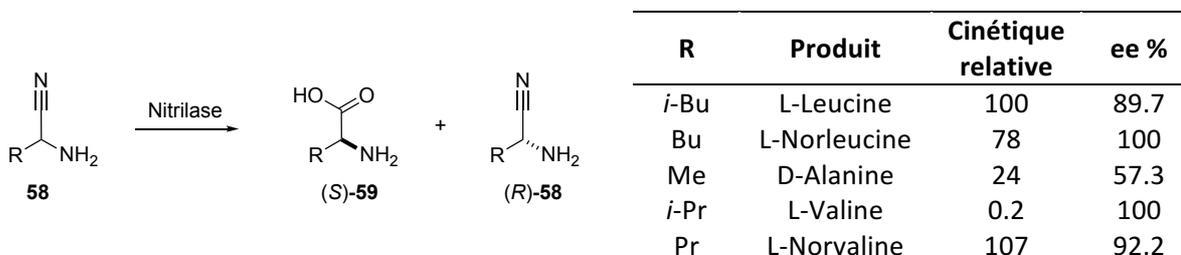


Schéma 6 : Dédoublement enzymatique d' α -aminonitriles en α -amino acides

30 Anderson, N. G.; Anderson, N. G. *Practical process research and development: a guide for organic chemists* 2nd ed. Academic Press: Amsterdam ; Boston 2012.

31 Bhalla, T. C.; Miura, A.; Wakamoto, A.; Ohba, Y.; Aoshima, M.; Muramatsu, R.; Furuhashi, K. In *Biochemical Engineering for 2001* Furusaki, S., Endo, I., Matsuno, R., Eds. Springer Japan: Tokyo

1992 pp 225-227.

Si de très nombreuses enzymes sont disponibles, et que le dédoublement enzymatique reste une méthode de choix au stade industriel, sa mise en œuvre requiert de trouver la bonne association enzyme-substrat ce qui peut amener des difficultés dans le cas de dérivés non-naturels. Ainsi la présence de fonctionnalités sur la chaîne latérale de l'acide aminé est souvent un problème, de même que la présence d'un centre quaternaire en position α .³²

b) Par catalyse d'hydrogénation asymétrique

Les méthodes reposant sur l'hydrogénation asymétrique d'un déhydro amino-acide catalysée par des complexes de métaux de transition ont été très largement étudiées (Schéma 7).

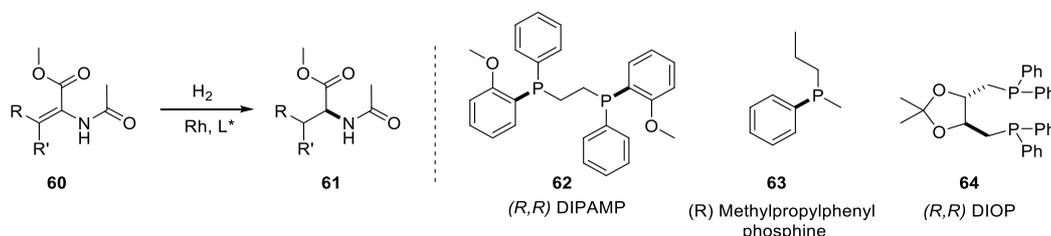


Schéma 7 : Premiers exemples d'hydrogénation asymétrique catalysée par un complexe de rhodium pour la synthèse d'acides aminés énantio-purs

Historiquement cette méthode de synthèse qui a été illustrée par les travaux de L. Horner,³³ W.S. Knowles,³⁴ et H. B. Kagan³⁵ repose sur l'utilisation d'un complexe de rhodium avec des ligands phosphorés chiraux mono- ou bidentes en phase homogène sous pression d'hydrogène. L'hydrogénation de déhydroaminoacides étant une réaction asymétrique de référence, de très nombreux ligands phosphorés de structures variées tels que **65-69**,³⁶ permettent d'obtenir très hautes inductions asymétriques dans ce cas.³⁷

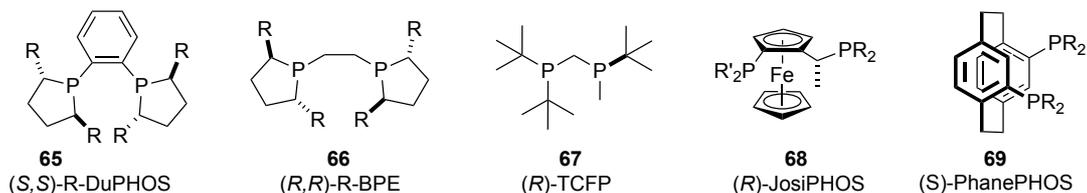


Figure 6 : Ligands utilisés au stade industriel pour l'hydrogénation asymétrique

La facilité de mise en œuvre d'une catalyse d'hydrogénation, la faible pression d'hydrogène requise, la faible charge de catalyseur utilisée (classiquement < 0.1%) ainsi que le peu de déchets générés, en font une méthode de choix pour la synthèse asymétrique d'acides aminés au laboratoire ou au stade industriel.³⁸ Des acides aminés tels que les dérivés de β,β -diaryllalanines **70** et **71** qui ont respectivement des applications thérapeutiques comme anti-diabétique ou pour le traitement de la maladie de Parkinson, sont préparés *via* une étape de catalyse d'hydrogénation asymétrique utilisant des ligands phosphorés chiraux.³⁹

32 Miyazawa, T. *Amino Acids*. **1999**, 16, 191.

33 Horner, L.; Siegel, H.; Büthe, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 942.

34 Knowles, W. S.; Sabacky, M. J. *Chem. Commun. Lond.* **1968**, 22, 1445.

35 Dang, T. P.; Kagan, H. B. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1971**, 10, 481.

36 Nájera, C.; Sansano, J. M. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4584.

37 Kraft, S.; Ryan, K.; Kargbo, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 11630.

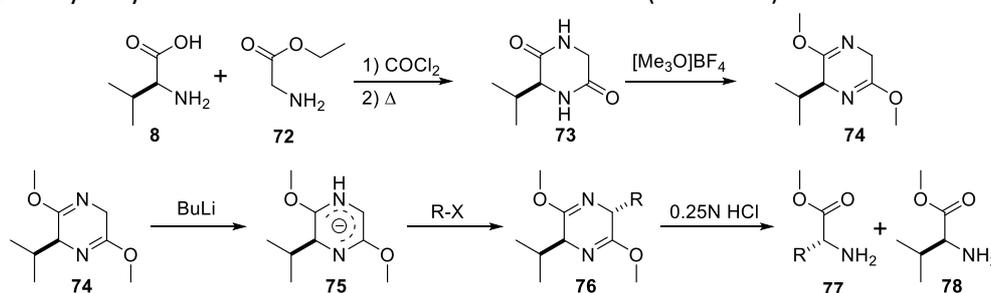
38 Appell, R. B.; Boulton, L. T.; Dausgs, E. D.; Hansen, M.; Hanson, C. H.; Heinrich, J.; Kronig, C.; Lloyd, R. C.; Louks, D.; Nitz, M.; Praquin, C.; Ramsden, J. A.; Samuel, H.; Smit, M.; Willets, M. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 69.

39 Molinaro, C.; Scott, J. P.; Shevlin, M.; Wise, C.; Ménard, A.; Gibb, A.; Junker, E. M.; Lieberman, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 999.

Figure 7 : Exemple de dérivés de β,β -diaryllalanines obtenus par hydrogénation asymétrique

c) Méthode de synthèse de Schöllkopf

La méthode de synthèse de Schöllkopf est l'une des plus efficace pour la préparation d'acides aminés non naturels par formation de liaison C-C à l'échelle du laboratoire. Cette méthode de synthèse repose sur l'alkylation énantiosélective d'un dérivé anionique de glycine, la dihydropyrazine **74**. Cette dihydropyrazine, formée par la condensation de valine et de glycine en dicétopipérazine **73** puis méthylation des carbonyles, permet d'obtenir par déprotonation l'anion **75** qui réagit avec un électrophile sur la face la moins encombrée de l'hétérocycle. L'acide aminé désiré **77** est généralement obtenu après hydrolyse avec de très hautes énantiosélectivités (Schéma 8).⁴⁰

Schéma 8 : Méthode de synthèse de Schöllkopf, à partir de dihydropyrazine **74**

Cette méthode a également été utilisée pour la synthèse d'acides aminés quaternaires à partir d'alanine avec de très bons excès énantiomériques.⁴¹ Bien que certaines procédures aient été développées pour permettre l'utilisation de cette méthode de synthèse à plus grande échelle, la manipulation de réactifs sensibles (Me_3OBF_4 , BuLi) ainsi que l'utilisation de très hautes ($>150^\circ\text{C}$) et très basses ($<-70^\circ\text{C}$) températures de réactions sont des freins à une utilisation au stade industriel.⁴²

d) Méthode de synthèse de Belokon

Le principe de cette méthode repose sur l'alkylation stéréosélective d'un complexe de nickel porteur d'un ligand chiral dérivé le plus souvent de proline tel que **79**. La déprotonation du complexe **80** permet d'obtenir l'équivalent anionique de glycine qui peut ensuite être substitué de façon stéréosélective avec différents halogénoalkyles. Enfin, l'hydrolyse acide du complexe permet d'obtenir l'acide aminé désiré **82**.

La première utilisation de complexe de nickel chiral pour l'obtention d'acides aminés non naturels énantio-purs reposait plus sur la séparation des diastéréoisomères **81** formés que sur la synthèse stéréospécifique proprement dite.⁴³

40 Schöllkopf, U.; Groth, U.; Deng, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, 20, 798.

41 Schöllkopf, U.; Hartwig, W.; Groth, U. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, 18, 863.

42 Chen, J.; Corbin, S. P.; Holman, N. J. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, 9, 185.

43 Belokon', Y. N.; Chernoglazova, N. I.; Kochetkov, C. A.; Garbalinskaya, N. S.; Belikov, V. M. *J Chem Soc Chem Commun.* **1985**, 3, 171.

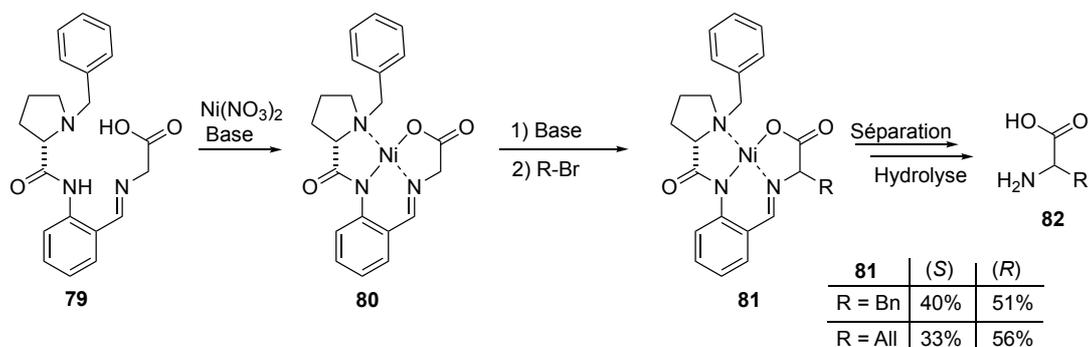


Schéma 9 : Méthode de synthèse de Belokon

Plusieurs améliorations apportées à cette méthode ont permis d'obtenir des diastéréosélectivités bien meilleures par modification du groupe inducteur de chiralité et par échange de l'aminobenzaldéhyde pour des aminobenzophénones (Figure 8). Au-delà de l'amélioration de la stéréosélectivité de la réaction, ce type de complexes a également montré d'excellentes performances pour le dédoublement cinétique dynamique et la stéréoconversion d'acides aminés.^{44,45,46,47,48}

Cette méthode permet d'obtenir une grande variété d'acides aminés, tels que des acides β -aminés⁴⁹ ou α -aminés quaternaires.⁵⁰

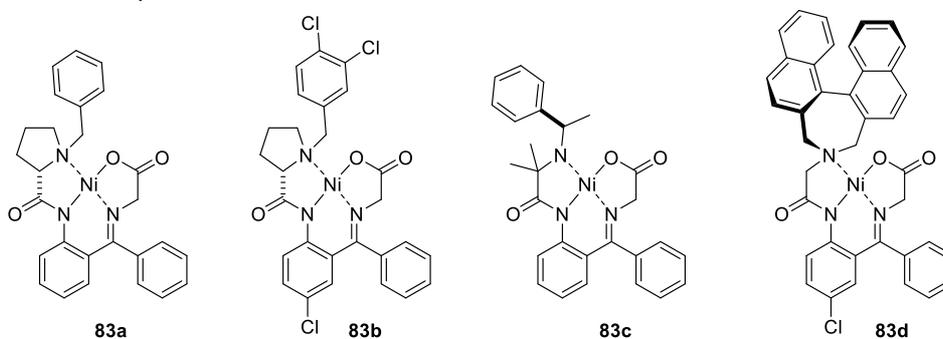


Figure 8 : Complexes de nickel chiraux utilisés dans la méthode de synthèse de Belokon

Enfin cette méthodologie a démontré son efficacité sur une échelle préparative avec la synthèse du ligand **86** à l'échelle de la centaine de grammes⁵¹ ainsi que par son utilisation pour la préparation d'un précurseur de la Dénagliptine **87** à l'échelle de plusieurs dizaines de grammes (Schéma 10).⁵²

44 Nian, Y.; Wang, J.; Zhou, S.; Dai, W.; Wang, S.; Moriwaki, H.; Kawashima, A.; Soloshonok, V. A.; Liu, H. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3501.

45 Takeda, R.; Kawamura, A.; Kawashima, A.; Sato, T.; Moriwaki, H.; Izawa, K.; Akaji, K.; Wang, S.; Liu, H.; Aceña, J. L.; Soloshonok, V. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12214.

46 Nian, Y.; Wang, J.; Zhou, S.; Wang, S.; Moriwaki, H.; Kawashima, A.; Soloshonok, V. A.; Liu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12918.

47 Li, J.; Zhou, S.; Wang, J.; Kawashima, A.; Moriwaki, H.; Soloshonok, V. A.; Liu, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2016, 999.

48 Yamamoto, J.; Kawashima, A.; Kawamura, A.; Abe, H.; Moriwaki, H.; Shibata, N.; Soloshonok, V. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 2017, 1931.

49 Zhou, S.; Wang, J.; Chen, X.; Aceña, J. L.; Soloshonok, V. A.; Liu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7883.

50 Saghiyan, A. S.; Dadayan, S. A.; Petrosyan, S. G.; Manasyan, L. L.; Geolchanyan, A. V.; Djangaryan, S. M.; Andreyan, S. A.; Maleev, V. I.; Khrustalev, V. N. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17*, 455.

51 Romoff, T. T.; Palmer, A. B.; Mansour, N.; Creighton, C. J.; Miwa, T.; Ejima, Y.; Moriwaki, H.; Soloshonok, V. A. *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 732.

52 Deng, G.; Ye, D.; Li, Y.; He, L.; Zhou, Y.; Wang, J.; Li, J.; Jiang, H.; Liu, H. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10512.

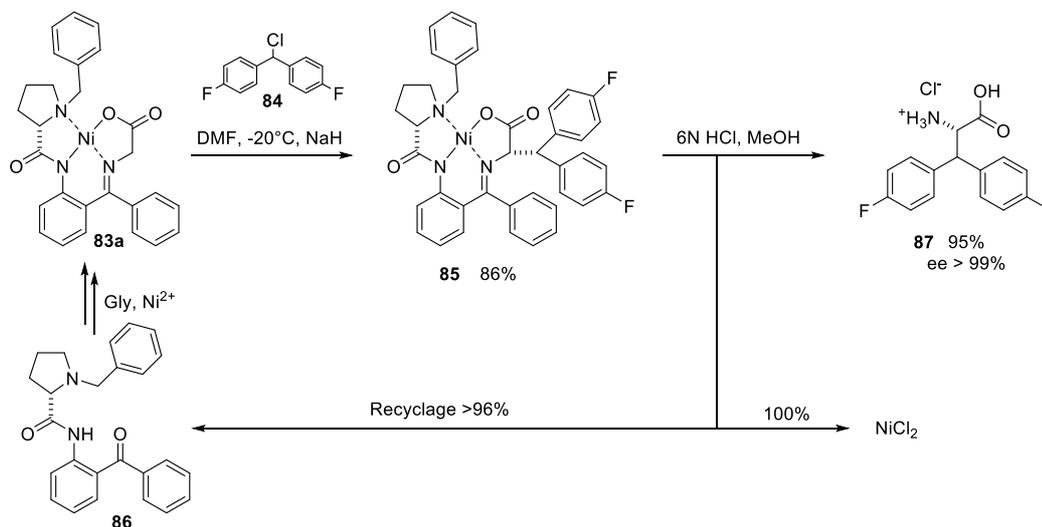


Schéma 10: Application de la méthode Belokon à la synthèse d'un précurseur de la Dénagliptine **87**

Cette synthèse, qui repose sur l'alkylation diastéréospécifique du complexe **83** avec le chlorure de di-(4-fluorophényl)méthane **84**, permet d'obtenir l'acide aminé précurseur de la Dénagliptine **87** avec un bon rendement et une excellente pureté énantiomérique tout en offrant la possibilité de recycler le nickel sous la forme de NiCl_2 et le ligand organique **86**.

e) Hémisynthèse d'acides aminés

Une dernière méthode de synthèse d'acides aminés énantio-purs repose sur la modification structurale d'acides aminés naturels. L'intérêt de cette méthode par hémisynthèse réside dans le fait que le carbone asymétrique est déjà existant mais la difficulté provient de la nécessité de réaliser des réactions qui soient compatibles avec les groupements fonctionnels et n'entraînent pas de racémisation. Un exemple représentatif est donné par la transformation de phénylalanine en 4-iodophénylalanine **88**, qui est un précurseur pour de nombreux dérivés porteurs de groupements alcyne **89a**,⁵³ biaryle **89b**,⁵⁴ organo-stanneux **89c**,⁵⁵ acides boroniques **89d**,⁵⁶ ou encore phosphorés **89e** et **89f** (Schéma 11).^{57,58}

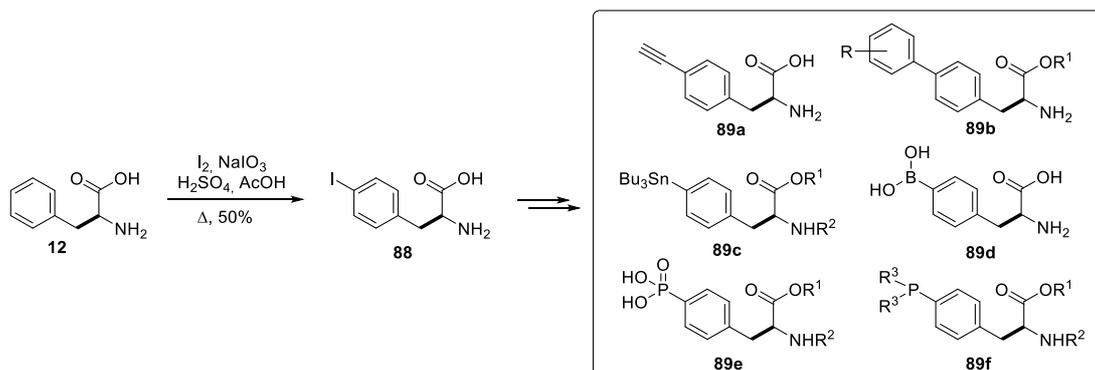


Schéma 11 : Exemples d'hémisynthèses à partir de phénylalanine

Les dérivés énantio-purs hétérofonctionnalisés de la phénylalanine comme **89a,c,d** sont notamment utilisés pour des réactions de couplage catalysées par des métaux de transitions.^{59,60}

53 Čapek, P.; Cahová, H.; Pohl, R.; Hocek, M.; Gloeckner, C.; Marx, A. *Chem. - Eur. J.* **2007**, *13*, 6196.

54 Li, B.; de Laszlo, S. E.; Kamenecka, T. M.; Kopka, I. E.; Durette, P. L.; Lanza, Jr, T.; MacCoss, M.; Tong, S.; Mumford, R. A.; McCauley, E. D.; Van Riper, G.; Schmidt, J. A.; Hagmann, W. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2141.

55 Makaravage, K. J.; Brooks, A. F.; Mossine, A. V.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5440.

56 Malan, C.; Morin, C. J. *Org. Chem.* **1998**, *63*, 8019.

57 Lei, H.; Stoakes, M. S.; Schwabacher, A. W.; Herath, K. P. B.; Lee, J. J. *Org. Chem.* **1994**, *59*, 4206.

58 Kraatz, H.-B.; Pletsch, A. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 1617.

59 Boyle, T. P.; Bremner, J. B.; Coates, J. A.; Deadman, J.; Keller, P. A.; Pyne, S. G.; Somphol, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1001.

60 Harvey, J. E.; Kenworthy, M. N.; Taylor, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2467.

Une hémisynthèse à partir de la méthionine et de son dérivé, le vinylglycinol **90**, permet un accès à différents acides aminés non-naturels de type homophénylalanine *via* une hydroboration suivie d'un couplage de Suzuki « one pot » (Schéma 12).⁶¹

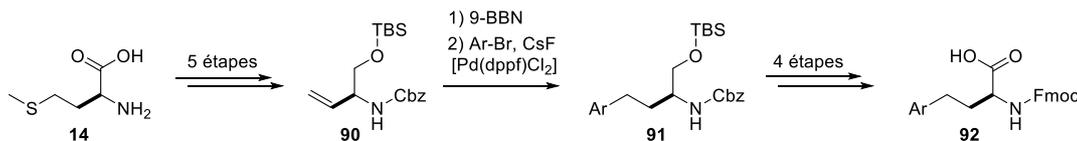


Schéma 12 : Hémisynthèse d'homophénylalanine à partir de méthionine

Dans ce cas, une réduction de la méthionine **14** en méthioninol suivie des protections des fonctions alcool et amine permet l'oxydation en sulfoxyde qui est finalement pyrolysé en un intermédiaire clef, le vinylglycinol **90**. Cet intermédiaire permet l'accès par hydroboration à un dérivé permettant d'effectuer les couplages pallado-catalysés de type Suzuki, qui ouvre ainsi l'accès à une plus large variété d'acides-aminés.

Un autre exemple d'hémisynthèse est donné par l'utilisation de la serine **15**, et de l'aldéhyde de Garner **93** qui en dérive, pour la synthèse d'acides aminés non naturels tels que **95** par réaction de Wittig avec un sel de phosphonium (Schéma 13).^{62,63}

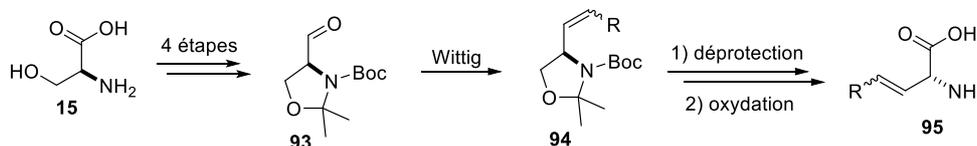


Schéma 13 : Hémisynthèse d'acides aminés β,γ -insaturés à partir de sérine

Dans ce cas, la synthèse impose une inversion de configuration du carbone asymétrique puisque le groupement hydroxy est *in fine* utilisée pour former l'acide carboxylique, si bien que l'acide aminé est obtenu D.

D'autres équipes se sont également intéressées à l'utilisation de la sérine pour l'obtention de dérivés fonctionnalisables tels que la β -iodo-alanine⁶⁴ **98** ou la iodo-méthylloxazolidinone **96**.⁶⁵ La synthèse de sels de phosphonium **97** et **99** à partir de ces composés a permis leur utilisation dans des réactions de Wittig et a ouvert la voie aux acides aminés β,γ insaturés (Schéma 14).⁶⁶

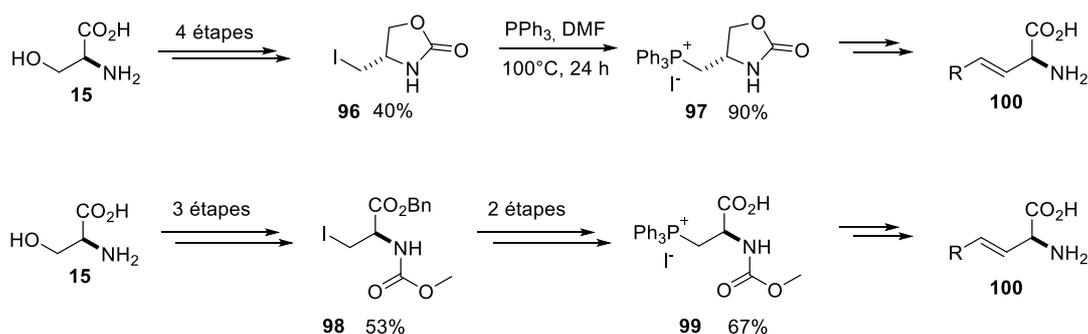


Schéma 14 : Hémisynthèse d'acides aminés β,γ -insaturés à partir de la L-sérine

61 Krebs, A.; Ludwig, V.; Pfizer, J.; Dürner, G.; Göbel, M. W. *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 544.

62 Garner, P.; Park, J. M. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2361.

63 Passiniemi, M.; Koskinen, A. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 2641.

64 Itaya, T.; Mizutani, A. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 347.

65 Sibi, M. P.; Renhowe, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 7407.

66 Sibi, M. P.; Rutherford, D.; Renhowe, P. A.; Li, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7509.

Les dérivés **96** et **98** ont également été utilisés pour la synthèse d'acides aminés par création de liaisons C-C en position β par réaction de substitution nucléophile avec un organo-cuprate⁶⁷ ou par couplage de Negishi.⁶⁸

Au laboratoire, différentes voies d'accès à des acides aminés non naturels ont été développées. En partant de la sérine ou de la thréonine, une méthodologie permettant l'obtention de β -halogéno- α -aminoacides protégés a été décrite.⁶⁹

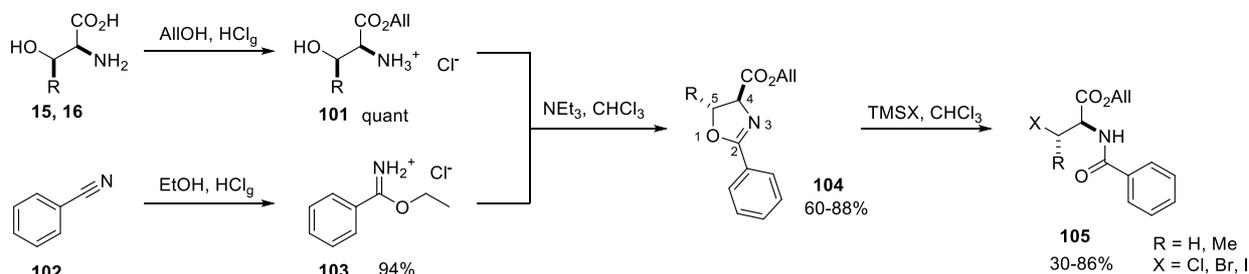


Schéma 15 : Hémisynthèse d'acides aminés β -halogénés à partir de la sérine et de la thréonine

Dans ce cas, la sérine ou la thréonine sont utilisées pour préparer l'oxazoline correspondante **104** qui réagit avec les halogénures de triméthylsilyle pour donner les β -halogéno- α -aminoacides correspondants **105**, par ouverture régiosélective de l'hétérocycle au niveau de la liaison C₅-O (Schéma 15).

Selon une stratégie similaire, la réaction des dialkylphosphites avec l'oxazoline **104** permet l'accès à des acides α -aminés tels que **106** porteurs d'un phosphonate en position β .⁷⁰

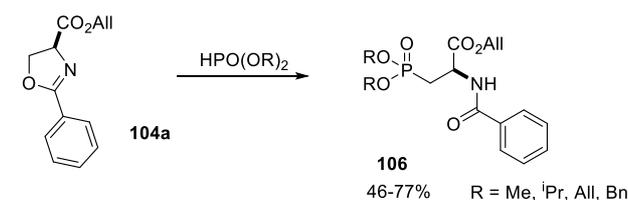


Schéma 16 : Hémisynthèse d'acides aminés porteurs d'un phosphonate en β à partir de sérine

De même, en partant de l'acide aspartique, une voie d'accès à la γ -iodo homoalalanine **107** protégée a été mise au point au laboratoire.⁷¹ Ces dérivés γ -iodés ont été utilisés pour la préparation de différents sels de phosphonium **108** et pour la mise au point de la réaction de Wittig avec des aldéhydes ou cétones, afin de donner stéréosélectivement des acides aminés γ,δ -insaturés (Schéma 18).

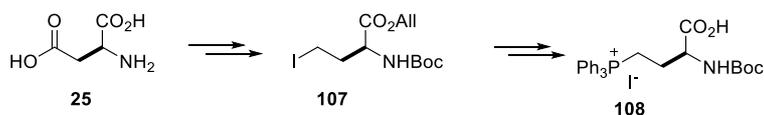


Schéma 17 : Synthèse d'un sel de phosphonium dérivé d'acide aspartique

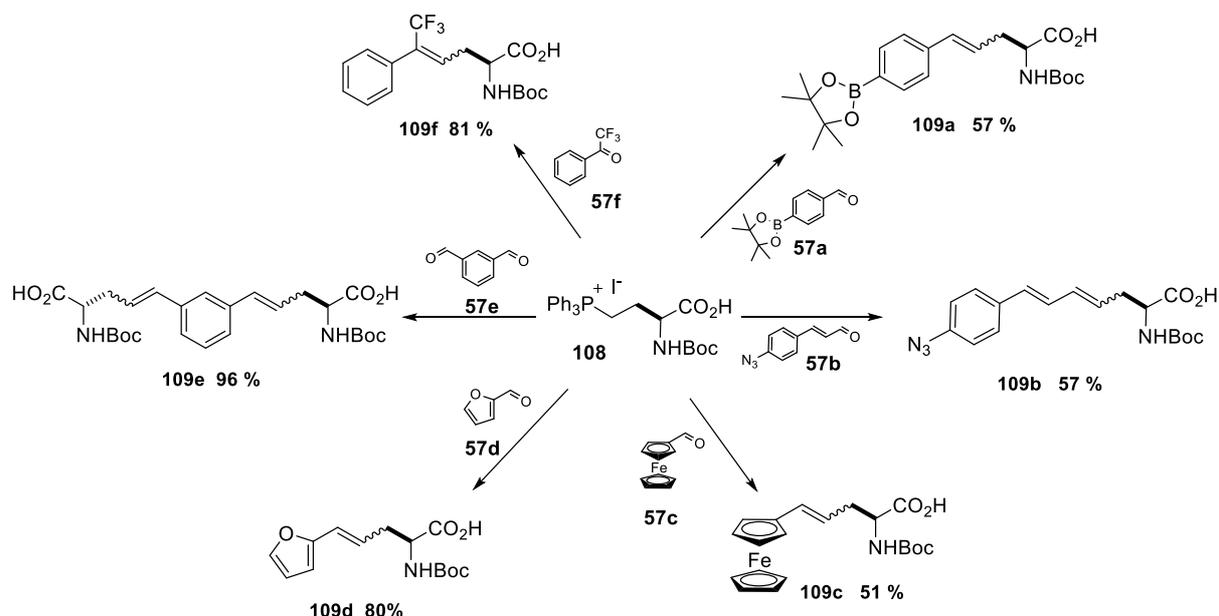
67 Bajgrowicz, J. A.; El Hallaoui, A.; Jacquier, R.; Pigière, C.; Viallefont, P. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2759.

68 Ross, A. J.; Lang, H. L.; Jackson, R. F. W. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 245.

69 Laaziri, A.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, 9, 437.

70 Meyer, F.; Laaziri, A.; Papini, A. M.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron* **2004**, 60, 3593.

71 Rémond, E.; Bayardon, J.; Ondel-Eymin, M.-J.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7579.

Schéma 18 : Formation d'acides aminés γ,δ -insaturés par réaction de Wittig

Différents acides aminés γ,δ -insaturés **109a-f** ont été obtenus par réaction du sel de phosphonium **108** avec les aldéhydes **57a-f** correspondants. Ils sont obtenus sous la forme d'un mélange variable d'isomères *Z-E* qui peut être complètement déplacé vers l'isomère *E* par chauffage avec du disulfure de diphenyle dans le THF. Ainsi de nombreux exemples comprenant des fonctions de bioconjugaison orthogonales telles que pinacolborane **109a** ou azoture **109b**, un composé organométallique avec le ferrocène **109c**, des hétérocycles comme le furane **109d**, des composés disubstitués tels que **109e**, ou des alcènes trisubstitués comme l'exemple trifluorométhylé **109f**, ont pu être obtenus.

De nombreuses autres méthodes de synthèse d'acides aminés ont également été décrites pour la synthèse d'acides aminés hétérofonctionnalisés, et en particulier pour la synthèse d'acides aminés silylés.⁷²

5) Synthèse d'acides aminés silylés

Historiquement, la β -TMS alanine a été le premier acide aminé silylé étudié. Plusieurs méthodes ont été mises au point pour l'obtenir de façon optiquement active. La β -TMS alanine **112** peut être synthétisée par alkylation diastéréosélective de l'imidazolidinone chirale **110** selon la méthode décrite par Seebach.⁷³ Cependant cette méthode ne conduit pas à de hautes stéréosélectivités ni rendements du fait d'une racémisation partielle au cours de l'hydrolyse acide (Schéma 19).

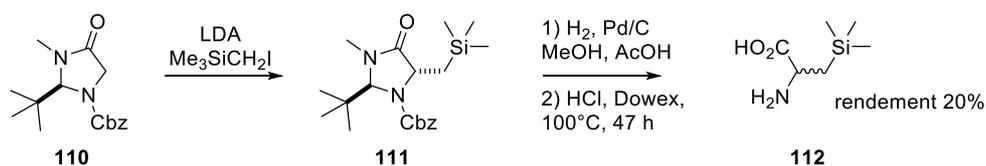


Schéma 19 : Première synthèse stéréosélective d'acide aminé silylé

En revanche, l'utilisation d'un inducteur asymétrique comme la pseudo-éphédrine⁷⁴ (méthode de Myers, Schéma 20a), la 2-hydroxy-3-pinanone⁷⁵ (méthode de Yamada, Schéma 20b) ou encore la

72 Rémond, E.; Martin, C.; Martinez, J.; Cavelier, F. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 11654.

73 Fitz, R.; Seebach, D. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5277.

74 Myers, A. G.; Gleason, J. L.; Yoon, T.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 656.

75 René, A.; Vanthuyne, N.; Martinez, J.; Cavelier, F. *Amino Acids*. **2013**, *45*, 301.

valine⁷⁶ (méthode de Schöllkopf, Schéma 20c), permet la synthèse de β -TMS alanine **112** avec des rendements de 35 à 62% et des excès énantiomériques >98%.

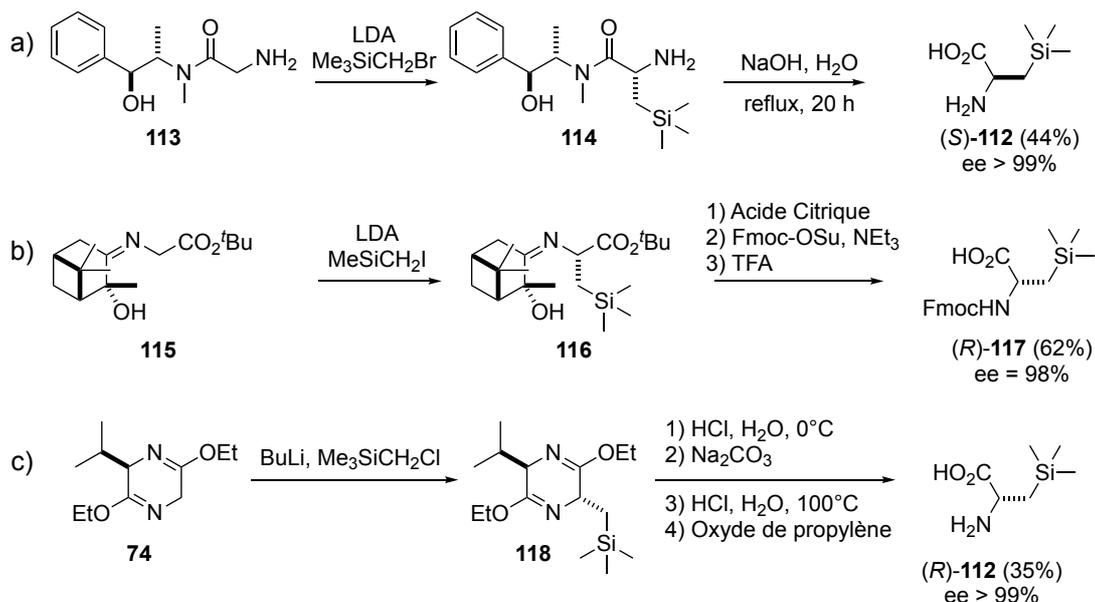


Schéma 20 : Synthèses stéréosélectives de β -TMS alanine

Le dédoublement enzymatique⁷⁷ ou la déracémisation enzymatique⁷⁸ permettent également d'obtenir la β -TMS alanine **112** avec de bons rendements et d'excellents excès énantiomériques (Schéma 21).

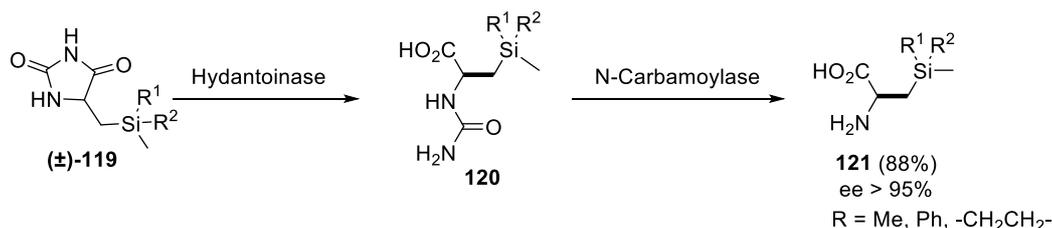


Schéma 21 : Exemple de synthèse de β -silyl alanine énantiopure par voie enzymatique

L'addition d'un groupe triméthylsilyle en position β sur l'alanine, augmente fortement l'encombrement stérique ainsi que la lipophilie de cet acide aminé (Tableau 1). Ces changements structuraux et chimiques ont permis de l'utiliser comme bioisostère de la phénylalanine ou de la leucine.⁷⁹ Cela laisse donc supposer que le volume moléculaire (représentant l'encombrement stérique) et le Log D (représentant la lipophilie) de la β -TMS alanine doivent être proches des valeurs correspondantes de la phénylalanine et de la leucine.

| Acide aminé | R | Volume moléculaire ⁸⁰ | Log D, pH = 7.4 ⁸¹ |
|---------------|---------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Phénylalanine | Ph | 135 | -1.45 |
| TMS-Alanine | CH ₂ TMS | - | - |
| Leucine | <i>i</i> -Bu | 124 | -1.72 |
| Valine | <i>i</i> -Pr | 105 | -2.29 |
| Alanine | Me | 67 | -2.79 |

Tableau 1 : Influence de la chaîne latérale des acides aminés sur leurs propriétés physico-chimiques

76 Tacke, R.; Merget, M.; Bertermann, R.; Bernd, M.; Beckers, T.; Reissmann, T. *Organometallics*. **2000**, *19*, 3486.

77 Yamanaka, H.; Fukui, T.; Kawamoto, T.; Tanaka, A. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1996**, *45*, 51.

78 Smith, R. J.; Pietzsch, M.; Waniek, T.; Syladat, C.; Bienz, S. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 157.

79 a) Cavalier, F.; Marchand, D.; Martinez, J.; Sagan, S. *J. Pept. Res.* **2004**, *63*, 290. b) Fanelli, R.; Besserer-Offroy, E.; Rene, A.; Côte, J.; Tetreault, P.; Collette-Tremblay, J.; Longpre, J.-M.; Leduc, R.; Martinez, J.; Sarret, P.; Cavalier, F. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 7785

80 Darby, N. J.; Creighton, T. E. *Protein structure* in focus IRL Press at Oxford University Press: Oxford ; New York **1993**.

81 El Tayar, N.; Tsai, R.-S.; Carrupt, P.-A.; Testa, B. *J Chem Soc Perkin Trans 2*. **1992**, *1*, 79.

D'autres acides aminés silylés ont également été décrits tels que des acides aminés α,α' -disubstitués **122**,⁸² des acides aminés insaturés **123**,⁸³ des acides aminés cycliques tels que **124**,⁸⁴ ou encore des acides aminés porteurs de groupes silylés fonctionnalisés **125** ou **126** (Figure 9).^{85,86}

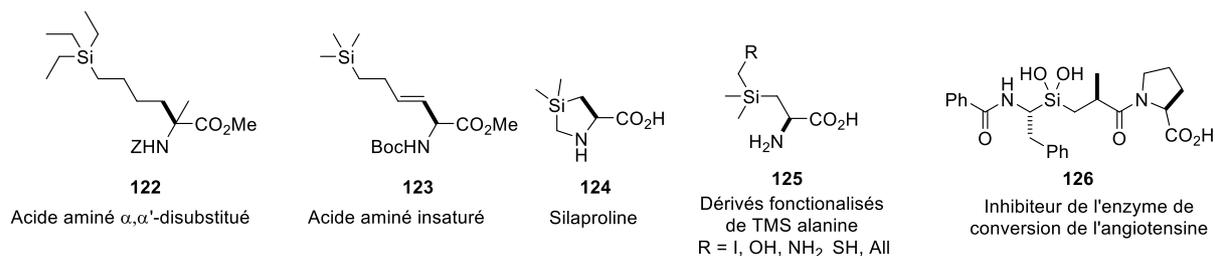


Figure 9 : Autres exemples d'acides aminés silylés

Si l'incorporation du silicium dans un acide aminé et dans un peptide a été tant étudiée, c'est, comme expliqué pour la β -TMS alanine **112**, à cause des modifications qu'il peut provoquer sur leurs propriétés chimiques,⁸⁷ et les changements dans l'organisation secondaire d'un peptide qu'il peut induire tels que la formation de virages β .⁸⁴ Des siliciums fonctionnalisés peuvent également être employés pour lutter contre la dégradation enzymatique ou pour augmenter l'affinité d'un peptide pour le récepteur ciblé. Plus largement, les similitudes entre le silicium et le carbone telles que leur tétravalence et leur géométrie tétraédrique permettent son utilisation en tant que bioisostère dans de nombreuses molécules à visée thérapeutiques.⁸⁸ Dans ce cas, les légères différences existant entre ces deux éléments (tableau 2) sont mises à profit pour améliorer certains paramètres pharmacologiques telles que la lipophilie ou l'affinité avec le récepteur. De plus les formes oxydées, silanediol⁸⁹ ou silanetriol,⁹⁰ peuvent également être utilisées comme mimes stables d'état de transition d'hydrolyse d'amide ou d'ester et ainsi bloquer le site actif de certains carboxyesterases⁹¹ (Figure 10).

| Silicium | | Carbone |
|---------------|-----------------------------|---------|
| 1.87 Å | Longueur de liaison (X-C) | 1.54 Å |
| 2.10 Å | Rayon de van Der Waals | 1.70 Å |
| 1.74 instable | Electronégativité | 2.50 |
| | Hybridation sp ² | courant |

Tableau 2 : Comparaison de certaines propriétés du silicium et du carbone

82 Cavellier, F.; Marchand, D.; Martinez, J. *Chem. Biodivers.* **2008**, 5, 1279.

83 Reginato, G.; Mordini, A.; Meffre, P.; Tenti, A.; Valacchi, M.; Cariou, K. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, 17, 922.

84 Cavellier, F.; Vivet, B.; Martinez, J.; Aubry, A.; Didierjean, C.; Vicherat, A.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2917.

85 Tacke, R.; Handmann, V. I. *Organometallics.* **2002**, 21, 2619.

86 Sieburth, S. M.; Chen, C.-A. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 311.

87 Madsen, J. L. H.; Hjørringgaard, C. U.; Vad, B. S.; Otzen, D.; Skrydstrup, T. *Chem. - Eur. J.* **2016**, 22, 8358.

88 a) Ramesh, R.; Reddy, D. S. *J. Med. Chem.* **2017**, 61, 3779, b) Franz, A. K.; Wilson S. O. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 388

89 Gelb, M. H.; Svaren, J. P.; Abeles, R. H. *Biochemistry (Mosc.)* **1985**, 24, 1813

90 Blunder, M.; Hurkes, N.; Spirk, S.; List, M.; Pietschnig, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 363

91 Montella, I. R.; Schama, R.; Valle, D. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **2012**, 107, 437

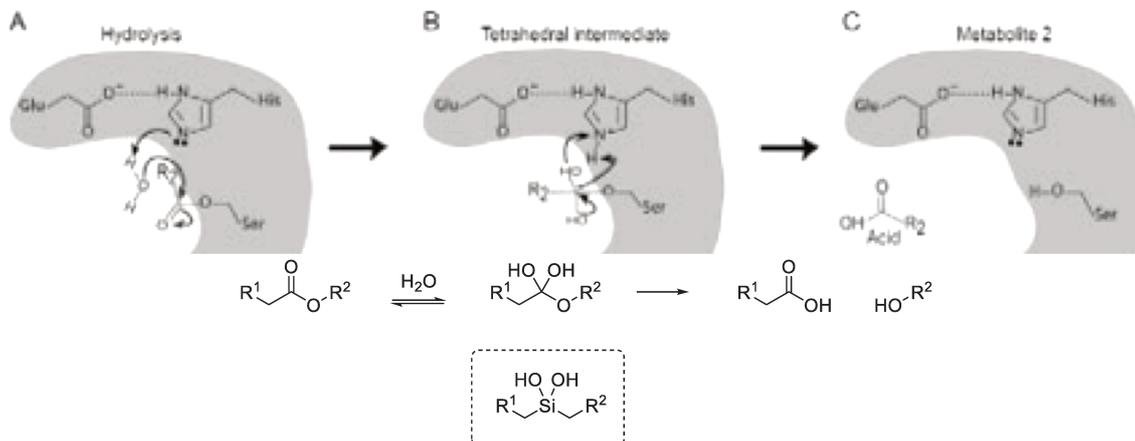


Figure 10 : Utilisation de silanediol comme mème stable de l'état de transition d'hydrolyse d'ester

Parmi les autres applications des acides aminés et peptides silylés, il faut également citer la fluoration. En effet la formation de liaison silicium-fluor a ainsi pu être mise en œuvre dans l'imagerie médicale et plus spécifiquement pour la tomographie par émission de positons (TEP) *via* l'utilisation de fluorures radioactifs.

6) Tomographie par émission de positons

La tomographie par émission de positons repose sur la vectorisation d'un radioisotope présentant un mode de désintégration β^+ de telle sorte qu'il s'accumule dans une région particulière du corps où il va se désintégrer et pourra donc être détecté.

Le traceur le plus utilisé actuellement est le [^{18}F]-FluoroDéoxyGlucose **127**, ou [^{18}F]-FDG. C'est un agent d'imagerie principalement utilisé pour la visualisation de tumeurs cancéreuses (Figure 11).

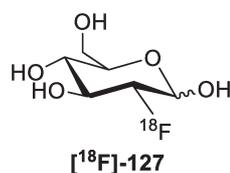


Figure 11 : Structure du [^{18}F]-FluoroDéoxyGlucose

Le mode d'action du [^{18}F]-FDG se base sur son analogie structurale avec le glucose. Les cellules tumorales, qui possèdent des récepteurs au glucose surexprimés à leur surface afin d'assurer leur apport énergétique, internalisent le [^{18}F]-FDG plus rapidement que le font les cellules saines. Une fois à l'intérieur de la cellule, la présence d'un atome de fluor à la place du groupe hydroxyle en position 2 du glucose l'empêche d'être métabolisé et provoque son accumulation dans la cellule tumorale.⁹² (Schéma 22).

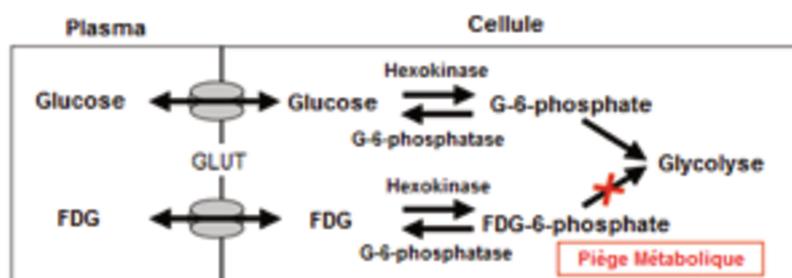


Schéma 22 : Mécanisme d'accumulation du FDG dans une cellule tumorale

Le [^{18}F]-FDG ainsi piégé dans la cellule sera amené à se désintégrer en émettant un positon qui va s'annihiler avec un électron en émettant deux photons γ dans la même direction, mais en sens

opposés. Les signaux captés par des caméras γ placées autour du patient sont ensuite utilisés pour obtenir la tomographie qui est une image tridimensionnelle de la répartition de l'isotope radioactif.

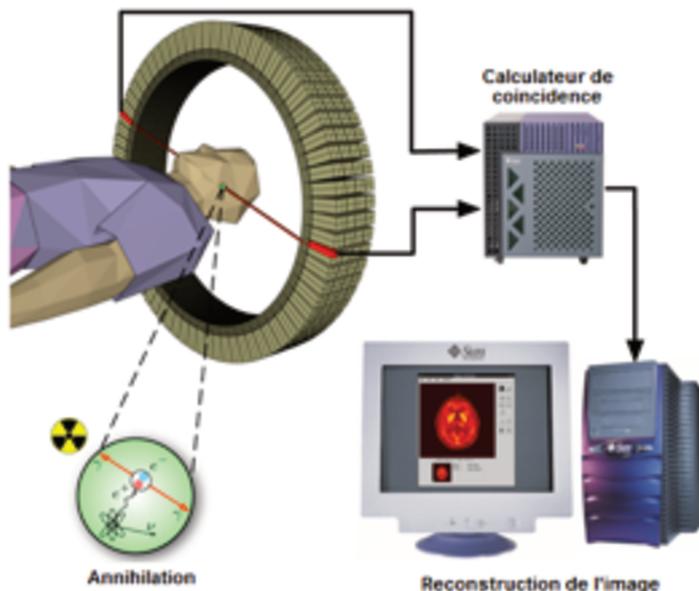


Figure 12 : Principe de la tomographie utilisant un agent d'imagerie β^+

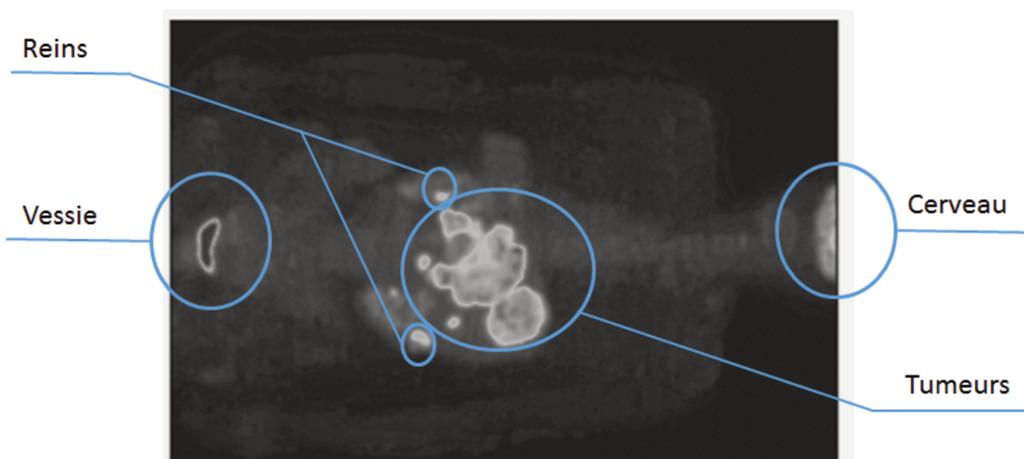


Figure 13 : Image de tomographie obtenue par émission de positons avec le $[^{18}\text{F}]$ -FDG.

L'utilisation du $[^{18}\text{F}]$ -FDG comme agent d'imagerie rencontre certains problèmes. En effet, les tumeurs apparaissent en surbrillance mais le cerveau à cause de sa consommation de glucose, ainsi que la vessie et les reins à cause de l'excrétion rénale du traceur, montrent également un marquage important. Un bruit de fond également présent dans le reste du corps dénote du manque de sélectivité de cet agent imageant qui est également internalisé par tous tissus ayant besoin de glucose, notamment dans des foyers infectieux, ou des zones inflammatoires.⁹³

De nombreux autres agents imageants ont été développés pour permettre de résoudre les problèmes rencontrés avec le $[^{18}\text{F}]$ -FDG. Ainsi, d'autres radioisotopes peuvent être utilisés pour la tomographie par émission de positons, et d'autres vecteurs plus spécifiques des petites molécules, des peptides ou des biomolécules telles que des anticorps, peuvent être utilisés pour amener l'isotope radioactif à la cible biologique. Toutefois, certains critères doivent être respectés pour associer un radioélément à un vecteur.⁹⁴

93 Gambhir, S. S. *Nat. Rev. Cancer*. 2002, 2, 683.

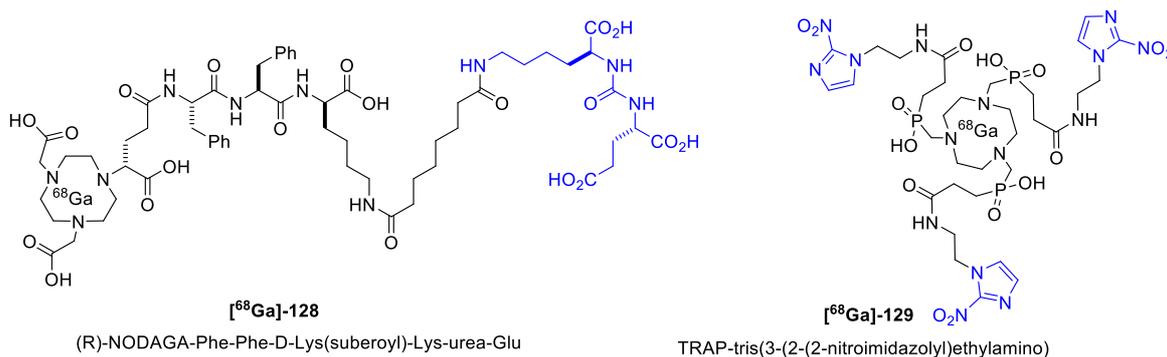
94 Wadsak, W.; Mitterhauser, M. *Eur. J. Radiol.* 2010, 73, 461.

| Radioélément | Demi-Vie | % de désintégration β^+ | Energie maximale du positon | Mode de production |
|------------------|-----------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| ^{11}C | 20.4 min | 99.8% | 960 KeV | Cyclotron |
| ^{13}N | 9.96 min | 99.8% | 1198 KeV | Cyclotron |
| ^{15}O | 122 s | 99.9% | 1735 KeV | Cyclotron |
| ^{18}F | 109.8 min | 96.9% | 634 KeV | Cyclotron |
| ^{64}Cu | 12.7 h | 17.5% | 653 KeV | Cyclotron |
| ^{68}Ga | 67.8 min | 87.7% | 1899 KeV | Générateur |
| ^{89}Zr | 78.4 h | 22.8% | 902 KeV | Cyclotron |
| ^{82}Rb | 76 s | 81.8% | 3381 KeV | Générateur |

Tableau 3 : Liste de radio-isotopes usuels en TEP⁹⁵

Certains radioisotopes comme ^{13}N , ^{15}O et ^{82}Rb , possèdent des demi-vies trop courtes (respectivement, 9.96 min, 122s, et 76s ; Tableau 3) pour pouvoir être incorporés dans des molécules bioactives. Dans ce cas, ils sont utilisés très rapidement après leurs radiosynthèses, sous la forme respectivement de ^{13}N - NH_3 , ^{15}O - H_2O , ou ^{82}Rb - RbCl pour des applications essentiellement en cardiologie.⁹⁶

Par contre des radioisotopes métalliques tels que ^{64}Cu , ^{68}Ga ou ^{89}Zr , peuvent être accrochés à des molécules bioactives telles que des peptides ou des anticorps par l'intermédiaire d'un groupe chélatant comme des macrocycles azotés.⁹⁷ Leur utilisation pour le radiomarquage de petites molécules est rarement envisagée à cause de la taille importante de l'ensemble [radioélément + macrocycle] qui influence fortement son affinité avec le récepteur ainsi que sa pharmacocinétique. Les petits peptides peuvent toutefois être utilisés et certaines stratégies comme l'utilisation d'un linker approprié⁹⁸ ou l'utilisation de la multivalence^{99,100} ont permis de contrebalancer cet inconvénient.

Figure 14 : Exemples de radiomarquage de petites molécules par le ^{68}Ga en association avec l'utilisation de linker (**128**) ou de multivalence (**129**)

C'est la raison pour laquelle le ^{11}C ainsi que le ^{18}F sont les plus utilisés pour la synthèse de petites molécules marquées telles que des petits peptides. Le ^{18}F , de par son mode de désintégration pratiquement β^+ pur, ainsi que par la faible énergie moyenne du positon émis est un radioisotope permettant une très bonne résolution en tomographie par émission de positons. De plus, sa radiosynthèse est relativement aisée, et sa demi-vie de 109.8 minutes, compatible avec les pharmacocinétiques moyennes des petites molécules et des peptides, permet la réalisation de plusieurs étapes de synthèse et le transport du radiopharmaceutique à distance (Tableau 3). Pour cela, le ^{18}F est un radioisotope de choix pour le radiomarquage de petits peptides et molécules.

95 Données du laboratoire National Henri Becquerel : http://www.nucleide.org/DDEP_WG/DDEPdata.htm.

96 Maddahi, J.; Packard, R. R. *Semin. Nucl. Med.* **2014**, *44*, 333.

97 Bhattacharyya, S.; Dixit, M. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6112.

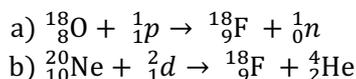
98 Gourni, E.; Canovas, C.; Goncalves, V.; Denat, F.; Meyer, P. T.; Maecke, H. R. *PLOS ONE.* **2015**, *10*, e0145755.

99 Seelam, S. R.; Lee, J. Y.; Lee, Y.-S.; Hong, M. K.; Kim, Y. J.; Banka, V. K.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Jeong, J. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 7743.

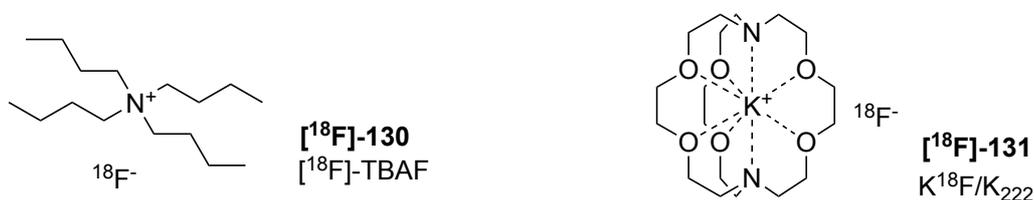
100 Li, Z. -b.; Cai, W.; Cao, Q.; Chen, K.; Wu, Z.; He, L.; Chen, X. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1162.

7) Application de ^{18}F pour la radiosynthèse d'agents d'imagerie.

Le ^{18}F peut être produit selon plusieurs méthodes mais deux sont principalement utilisées.^{101,102,103} La première méthode utilise un isotope lourd de l'oxygène, ^{18}O , (Schéma 23a) pour la synthèse de ^{18}F nucléophile ou électrophile. La seconde méthode utilise l'isotope le plus courant du néon, ^{20}Ne , (Schéma 23b) principalement pour la synthèse de ^{18}F électrophile.

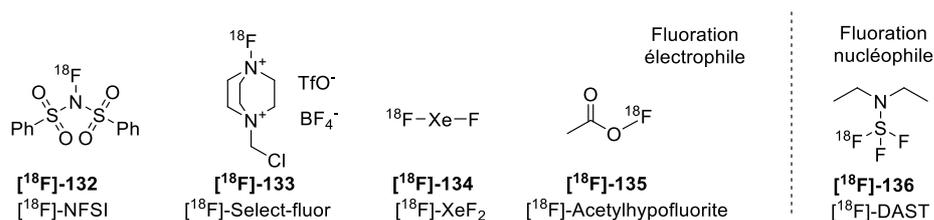
Schéma 23 : Nucléosynthèses de ^{18}F

Le ^{18}F nucléophile est obtenu à l'échelle préparative par irradiation de $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ dans un cyclotrons de basse énergie (énergie des protons 2-16 MeV) avec des activités molaires jusqu'à 5500 GBq/ μmol , mais plus couramment de 300-600 GBq/ μmol ¹⁰². Le radioisotope est obtenu en solution aqueuse puis est isolé par séparation sur résine échangeuse d'ions, puis est le plus souvent élué et séché par entraînement azéotropique avec de l'acétonitrile afin d'obtenir le $^{18}\text{F}^-$ avec le contre ion choisi (Figure 15).

Figure 15 : Exemples de $[^{18}\text{F}]$ -nucléophiles pour la fluoration

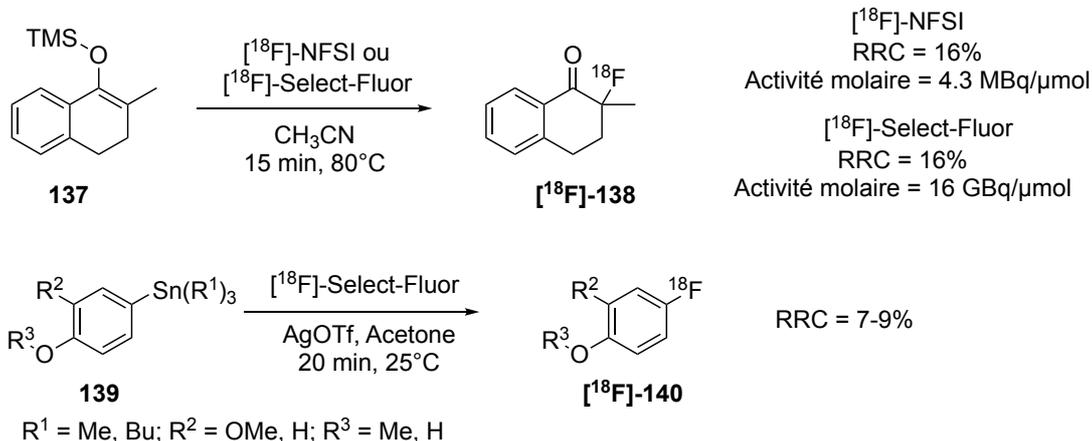
En revanche, le ^{18}F électrophile est obtenu par irradiation de néon avec des noyaux de deutérium selon la réaction $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$, ou bien par double irradiation de $[^{18}\text{O}]\text{O}_2$ avec des protons selon la réaction $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ (Schéma 23). Ces deux méthodes de production réalisées au sein de cyclotrons de basse énergie permettent d'obtenir le ^{18}F électrophile avec des activités molaires plus faibles (<55 GBq/ μmol). En effet, afin de capter le ^{18}F obtenu sous forme de $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ il est nécessaire d'ajouter une grande quantité de difluor non radioactif (90 à 99% de $[^{19}\text{F}]\text{-F}_2$) pour désorber le $[^{18}\text{F}]\text{-F}_2$ de la cellule d'irradiation et pour être utilisé en radiosynthèse.

Différents groupes se sont intéressés à la synthèse de réactifs de fluoration électrophile à partir de $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$, tels que $[^{18}\text{F}]\text{-NFSI}$ **132**,¹⁰⁴ $[^{18}\text{F}]\text{-SelectFluor}$ **133**,¹⁰⁵ $[^{18}\text{F}]\text{-XeF}_2$ **134**,¹⁰⁶ ou $[^{18}\text{F}]\text{-AcOF}$ **135**,¹⁰⁷ ou nucléophile comme le $[^{18}\text{F}]\text{-DAST}$ **136**¹⁰⁸ (Figure 16).

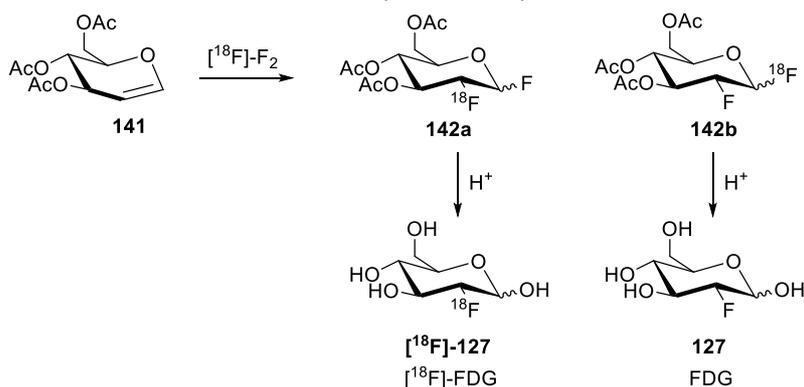
Figure 16 : Exemples de réactifs de $[^{18}\text{F}]$ -fluoration

L'élaboration de réactifs de radiofluoration a conduit à la mise au point de procédures de radiomarquage utilisables sur des motifs d'intérêt pharmaceutique (Schéma 24).^{104,105}

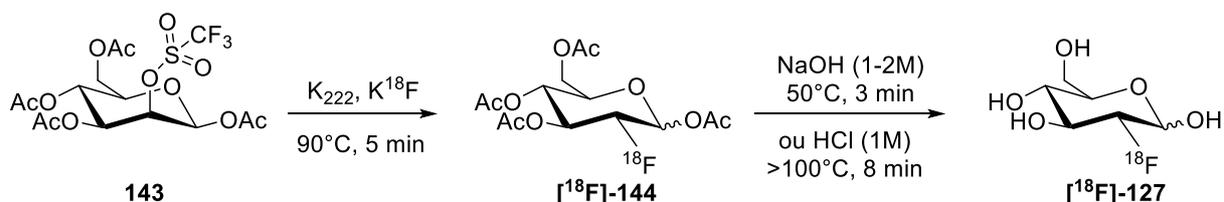
101 Bergman, J.; Solin, O. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24, 677.102 a) Jacobson, O.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. *Bioconjug. Chem.* **2015**, 26, 1. b) Preshlock, S.; Tredwell, M.; Gouverneur, V. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 719103 Hess, E.; Blessing, G.; Coenen, H. H.; Qaim, S. M. *Appl. Radiat. Isot.* **2000**, 52, 1431.104 Teare, H.; Robins, E. G.; Årstad, E.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V. *Chem Commun.* **2007**, 23, 2330.105 Teare, H.; Robins, E. G.; Kirjavainen, A.; Forsback, S.; Sandford, G.; Solin, O.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6821.106 Vasdev, N.; Pointner, B. E.; Chirakal, R.; Schrobilgen, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12863.107 Murakami, M.; Takahashi, K.; Kondo, Y.; Mizusawa, S.; Nakamichi, H.; Sasaki, H.; Hagami, E.; Iida, H.; Kanno, I.; Miura, S.; Uemura, K. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1988**, 25, 573.108 Straatmann, M. G.; Welch, M. J. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1977**, 18, 151.

Schéma 24 : Exemples d'utilisation de réactifs de $[^{18}\text{F}]$ -fluoration

Toutefois certaines limitations intrinsèque à ces méthodes, telles que la nécessité de réaliser au moins une étape de synthèse supplémentaire pour l'obtention du réactif de $[^{18}\text{F}]$ -fluoration, ou bien l'utilisation de de $[^{18}\text{F}]\text{-F}_2$ comme source de fluor électrophile restent des obstacles majeurs pour leurs utilisations en production. En effet, au-delà des difficultés opératoires liées à l'utilisation de difluor, la dilution du ^{18}F avec son isotope stable ^{19}F fait que la présence de molécules de difluor doublement marquées, $^{18}\text{F}\text{-}^{18}\text{F}$, est improbable. Pour cette raison, lors de la première synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{-FluoroDéoxyGlucose}$ qui était réalisée par addition de $[^{18}\text{F}]\text{-F}_2$ sur la double liaison, un rendement radiochimique de maximum 50% était accessible (Schéma 25).

Schéma 25 : Première synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{-FluoroDéoxyGlucose}$ par voie électrophile

Cependant, cette voie de synthèse a été rapidement délaissée au profit d'une voie de synthèse par usage de fluor nucléophile. La radiosynthèse de $^{18}\text{F}^-$ par irradiation de $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ avec des protons permet d'une part d'obtenir des activités molaires supérieures d'un facteur 100 à 5500 par rapport à la synthèse de ^{18}F électrophile et d'autre part l'utilisation de ce radioisotope sous forme $^{18}\text{F}^-$ est plus aisée.¹⁰⁵

Schéma 26 : Synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ par voie nucléophile

Dans ce cas, la synthèse du FDG par voie nucléophile est réalisée par la substitution d'un triflate du D-mannose **143** par chauffage à 90°C en présence de $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ pendant 5 minutes. L'hydrolyse du

composé radiomarqué obtenu par une solution de soude ou d'acide chlorhydrique permet d'obtenir le [^{18}F]-FDG avec un rendement radiochimique supérieur à 60% (Schéma 26).¹⁰⁹

Le passage d'une voie électrophile à une voie nucléophile pour la synthèse du [^{18}F]-FDG a ainsi permis de multiplier le rendement global de synthèse par un facteur 8 et de le produire à l'échelle de la centaine de μg .

La fluoration nucléophile a également été largement utilisée pour le radiomarquage de petites molécules comme les composés **145** à **148** par création de liaison carbone-fluor (Figure 17).¹⁰²

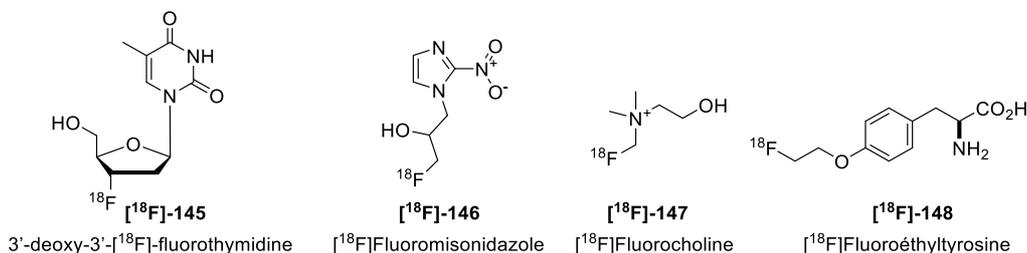


Figure 17 : Exemples de radiotraceurs synthétisés à partir de ^{18}F nucléophile

De nombreux composés peuvent être fluorés par cette méthode mais dans le cas de très grosses molécules, celles-ci sont rarement marquées de cette façon. Ainsi les peptides ou d'autres biomolécules sont plutôt marqués par l'intermédiaire de groupements prosthétiques tels que **149-153** (Schéma 27).^{110,111,112,113}

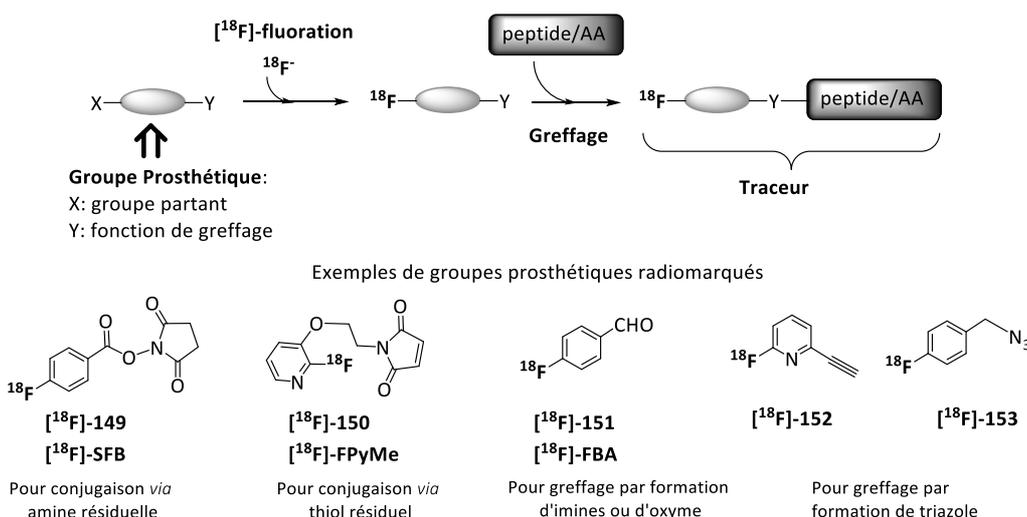


Schéma 27 : Illustration de la méthodologie de radiomarquage par groupes prosthétiques

Par cette méthode, le groupement prosthétique peut être radiomarqué dans des conditions réactionnelles dures, puis bioconjugué au vecteur dans des conditions douces. De cette manière le radiomarquage de peptides a été rendu possible, mais cette méthode demande plusieurs étapes et nécessite donc du temps et des purifications supplémentaires au détriment de l'activité radiochimique.

C'est pourquoi une approche plus directe du radiomarquage de biomolécules est toujours un objectif d'actualité. Dans ce but, trois approches ont été récemment développées qui reposent toutefois sur le même principe, la préfonctionnalisation de la biomolécule avec des groupements accepteurs de fluorures tels que **154-157** (Schéma 28).^{114,115}

109 Krause, W. *Contrast Agents II Optical, Ultrasound, X-Ray and Radiopharmaceutical Imaging* Springer-Verlag Berlin Heidelberg **2002**.

110 Glaser, M.; Morrison, M.; Solbakken, M.; Arukwe, J.; Karlsen, H.; Wiggen, U.; Champion, S.; Kindberg, G. M.; Cuthbertson, A. *Bioconjug. Chem.* **2008**, *19*, 951.

111 Sutcliffe-Goulden, J. L.; O'Doherty, M. J.; Marsden, P. K.; Hart, I. R.; Marshall, J. F.; Bansal, S. S. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **2002**, *29*, 754.

112 Richter, S.; Wuest, M.; Krieger, S. S.; Rogers, B. E.; Friebe, M.; Bergmann, R.; Wuest, F. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 1025.

113 Campbell-Verduyn, L. S.; Mirfeizi, L.; Schoonen, A. K.; Dierckx, R. A.; Elsinga, P. H.; Feringa, B. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11117.

114 Li, Z.; Lin, T.-P.; Liu, S.; Huang, C.-W.; Hudnall, T. W.; Gabbaï, F. P.; Conti, P. S. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9324.

115 Ting, R.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13094.

Dans ce cas, le prémarqueur qui comprend un groupement hétérosubstitué ayant une haute affinité avec le fluor tel que le bore, le silicium ou l'aluminium, est greffé sur une biomolécule avant radiomarquage proprement dit, qui s'effectue par formation de liaisons Si- ^{18}F , B- ^{18}F ou Al- ^{18}F . Cependant, le principal inconvénient de cette méthode de radiomarquage réside dans la stabilité à l'hydrolyse des liaisons hétéroatome-fluor dans les conditions physiologiques.

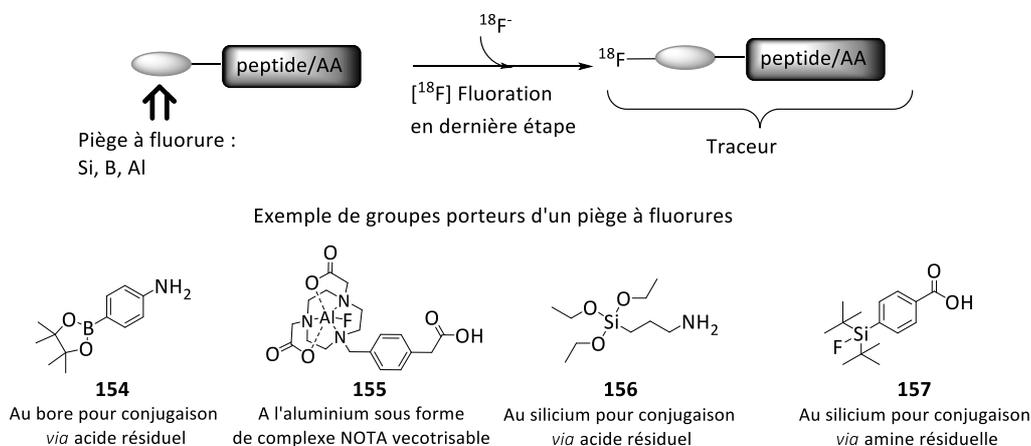


Schéma 28 : Illustration de la méthodologie de radiomarquage par piégeage de fluorures

8) Utilisation du silicium pour le radiomarquage par ^{18}F

Dans le cas du silicium, jusqu'à présent peu d'exemples illustrent l'usage de groupements silylés propice à l'incorporation du ^{18}F sur la chaîne latérale d'acides aminés.

Dans un premier temps, S. M. Ametamey *et al* se sont intéressés à l'influence des groupements silylés sur la vitesse d'hydrolyse des fluorosilanes. Les études théoriques et expérimentales ont ainsi montré l'importance de l'encombrement stérique des substituants sur la stabilité des fluorosilanes, et cela a permis de proposer un mécanisme pour l'hydrolyse.¹¹⁶

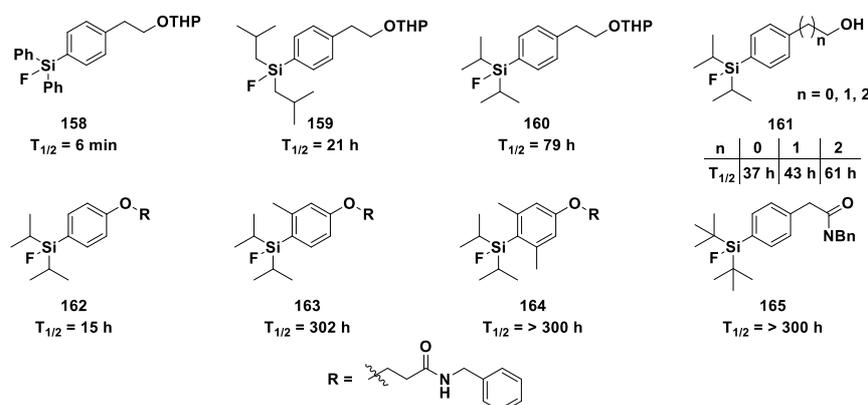


Figure 18 : Etude de l'influence de l'environnement du silicium sur la stabilité des fluorosilanes

Concrètement, les seuls composés présentant une stabilité suffisante pour de potentielles applications *in vivo* sont ceux présentant une défluoration inférieure à 5% au bout de 6 heures, ce qui équivaut à un temps de demi hydrolyse supérieur à 81 heures. Les groupements phényles **158**, *i*-butyles **159** ou même *i*-propyles **160-162** sur le silicium ne sont donc pas suffisants pour obtenir une bonne stabilité du fluorosilane correspondant (Figure 18). En revanche, l'augmentation de l'encombrement du fluorosilane par utilisation de groupes *t*-butyles **165**, *o*-tolyle **163** ou *m*-xylyle **165** permet un net gain en stabilité avec des temps de demi-hydrolyses supérieurs à 300 heures. Ces derniers fluorosilanes présentent une stabilité suffisante pour rendre possible des études *in-vivo*.

L'inconvénient qui découle de l'encombrement important nécessaire autour de l'atome de silicium se traduit par une augmentation forte de la lipophilie qui est souvent problématique pour le maintien des propriétés pharmacologiques d'un traceur. Dans le but de surmonter ces difficultés, Ametamey *et al* se sont ensuite intéressés à l'application des résultats de leur étude *in silico*¹¹⁷ pour la synthèse de différents dérivés d'acides aminés porteurs de groupements silylés ayant une lipophilie réduite. L'acide aminé fluorosilylé **169** a ainsi pu être obtenu par cycloaddition [3+2] entre la propargylglycine racémique **166** et l'azoture silylé **167**. Dans ce cas l'acide aminé fluorosilylé **169** qui présente une lipophilie réduite du fait de la présence du noyau triazole sur la chaîne latérale est obtenu sous la forme d'un mélange racémique avec un rendement global de 8%. Cet acide aminé fluorosilylé présente cependant une stabilité réduite avec un temps de demi-hydrolyse de 16 heures en tampon phosphate (pH = 7.2).

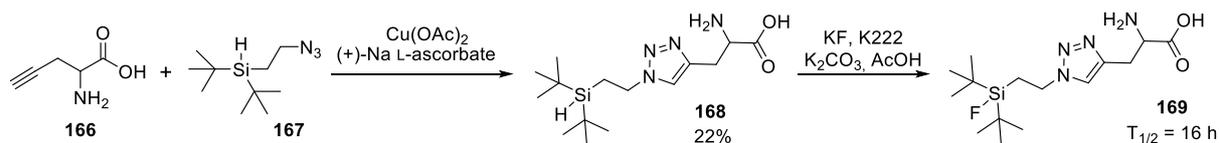


Schéma 29 : Synthèse d'un fluorosilane dérivé d'acide aminé par cycloaddition [3+2]

D'un autre côté, le groupe de R. Schirmmayer s'est intéressé à la synthèse d'un dérivé silylé de la phénylalanine, par hydrogénation asymétrique de la déhydrophénylalanine **174**¹¹⁸ (Schéma 30). Cette voie de synthèse conduit au dérivé de phénylalanine silylé avec un rendement global de 43%. Grâce à l'encombrement généré par la présence de deux groupes *t*-butyles et d'un aryle autour du silicium, le fluorosilane obtenu **177** présente une très bonne stabilité à l'hydrolyse.

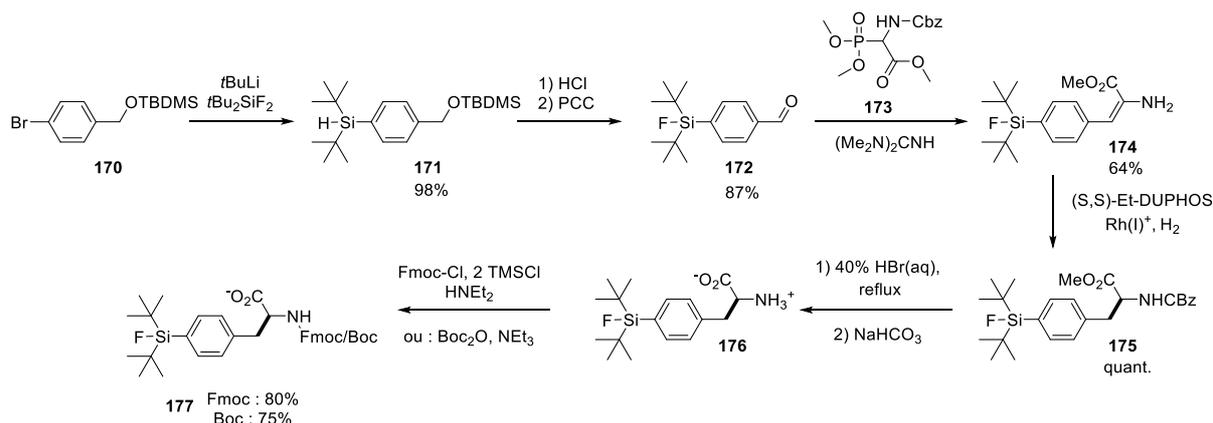


Schéma 30 : Synthèse d'un dérivé fluorosilylé de phénylalanine **177** par catalyse d'hydrogénation asymétrique

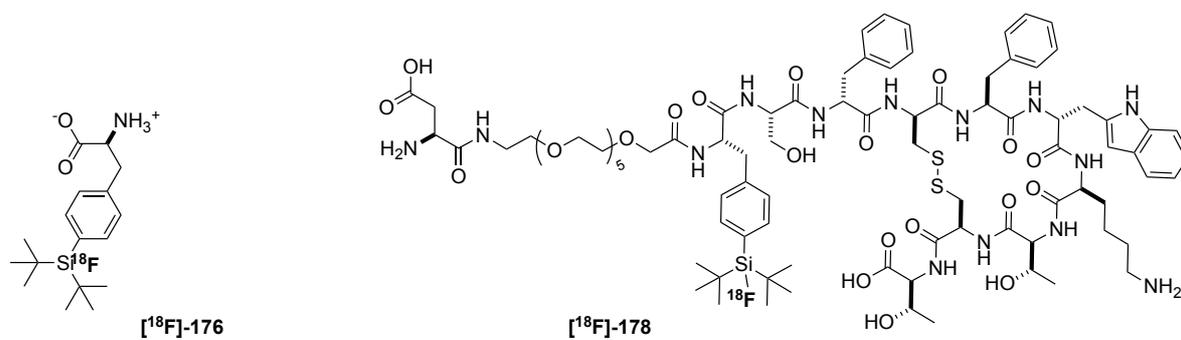
Ce composé a été introduit sur la partie N-terminale d'un peptide d'intérêt pour l'imagerie médicale, l'octréotide (Figure 19). Ce cyclooctapeptide est un analogue de la somatostatine, et est utilisé classiquement pour localiser des tumeurs neuroendocriniennes par scintigraphie avec l'¹¹¹In.¹¹⁹

Après dérivation par ajout d'acides aminés et d'une chaîne polyéthylène glycol nécessaires au maintien des propriétés pharmacocinétiques du cyclopeptide, le composé a montré de très bons résultats en radiomarquage par échange isotopique avec l'obtention d'activités molaires compatibles avec l'imagerie au stade clinique, ainsi qu'une stabilité supérieure à 45 min dans une solution isotonique à pH physiologique (pH 7.3) (Figure 19).

117 Dialer, L. O.; Selivanova, S. V.; Müller, C. J.; Müller, A.; Stellfeld, T.; Graham, K.; Dinkelborg, L. M.; Krämer, S. D.; Schibli, R.; Reiher, M.; Ametamey, S. M. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 7552.

118 Iovkova, L.; Könnig, D.; Wängler, B.; Schirmmayer, R.; Schoof, S.; Arndt, H.-D.; Jurkschat, K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, *2011*, 2238.

119 Krenning, E. P.; Bakker, W. H.; Kooij, P. P.; Breeman, W. A.; Oei, H. Y.; de Jong, M.; Reubi, J. C.; Visser, T. J.; Bruns, C.; Kwekkeboom, D. J. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1992**, *33*, 652.



| N° | Activité finale (G bq) | Rendement radiochimique | Activités molaires (G bq/ μmol) |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|---|
| $[^{18}\text{F}]\text{-176}$ | 0.31 | 6-10% | 31 |
| $[^{18}\text{F}]\text{-178}$ | 1.2 | 24-40% | 48 |

Figure 19 : Radiomarquage de l'octréotide **178** par prémarquage avec la phénylalanine fluorosilylé **176**

OBJECTIF

L'objectif de ce travail porte sur la mise au point de nouvelles méthodes d'hémisynthèse d'acides aminés non naturels hétérosubstitués par des groupes silylés ou phosphorés.

Une méthode d'hémisynthèse stéréosélective a été mise au point au laboratoire par fonctionnalisation d'un acide aminé sur la chaîne latérale grâce à une réaction de Wittig.

Le principe de cette méthode qui est rappelé en Schéma 18, page 12, consiste à faire réagir un sel de γ -phosphonium **108** dérivé d'acide aspartique **25** avec des aldéhydes fonctionnalisés **57** pour donner les acides aminés γ,δ -insaturés correspondants **109**. L'application de cette méthode pour la synthèse et le design d'acides aminés utiles en radiomarquage de peptides par ^{18}F a été envisagée dans la première partie de ce travail (Schéma 31a).

Dans une seconde partie, une nouvelle méthode de bifonctionnalisation de la chaîne latérale d'un acide aminé est mise au point par cycloaddition [3+2] entre un précurseur azoture **179** et un alcyne interne **180** (Schéma 31b). L'utilisation de différents groupes hétérofonctionnels R^3 et R^4 (tels que des groupes silylés ou phosphorés) permet d'envisager de multiples applications telles que le radiomarquage, la chimie de coordination pour des usages en catalyse ou en chimie bioinorganique (Schéma 31b).

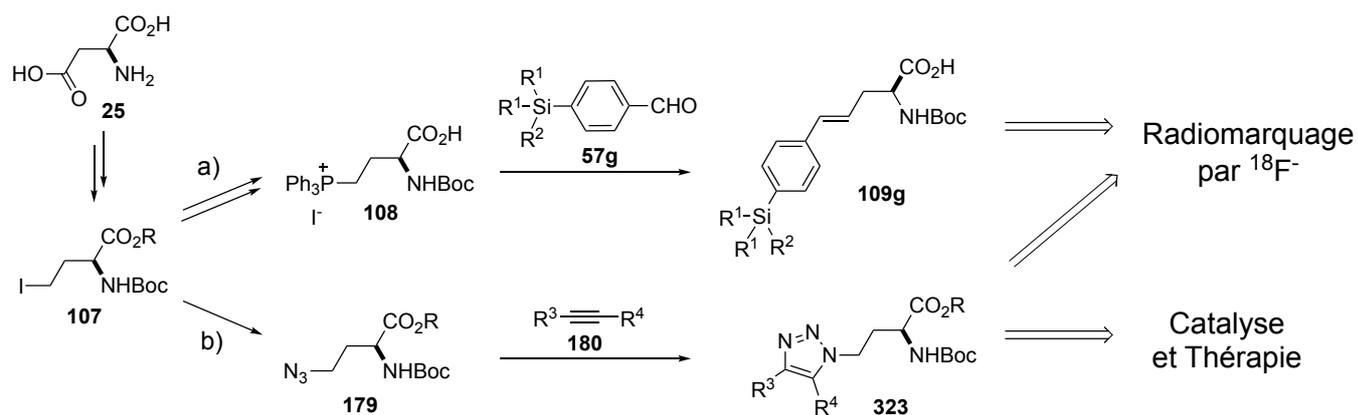


Schéma 31 : Objectifs de la thèse

Chapitre 1 :

Synthèse d'acides aminés et de peptides silylés pour le radiomarquage par ^{18}F

I] Synthèse des réactifs de Wittig et Horner-Wadsworth-Emmons dérivés d'acides aminés

Il a été rappelé précédemment que le sel de phosphonium dérivé de l'acide aspartique **108** montre une excellente réactivité avec une large gamme d'aldéhydes et conduit stéréosélectivement aux acides aminés correspondants. Ces acides aminés non naturels présentent une fonction acide carboxylique libre qui permet leur utilisation directe en synthèse peptidique.

L'objectif de ce travail était d'une part d'approfondir l'étude de l'influence des modifications structurales du centre silylé sur les performances en radiomarquage et, d'autre part, de préparer des peptides porteurs de groupements silylés accepteurs de fluorures pour les étudier en radiofluoration. Pour cela, l'utilisation de cette méthodologie semblait a priori appropriée. De plus l'obtention immédiate de la fonction acide carboxylique libre permet l'obtention rapide de petits peptides pouvant être radiomarqués en dernière étape.

La synthèse du sel de phosphonium dérivé d'acide aminé **108**, réactif clef de cette synthèse, est réalisée à partir d'acide aspartique selon la procédure présentée ci-dessous.

Dans une seconde partie, la synthèse d'un phosphonate dérivé d'acide aminé **190** (potentiel réactif de Horner-Wadsworth-Emmons) a été réalisée et sa réactivité étudiée.

1) Préparation des précurseurs γ -iodo acides aminés

Les dérivés γ -iodo NHBoc-aminoester **107** sont préparés à partir d'acide L-aspartique **25** selon un mode opératoire mis au point au laboratoire (Schéma 32).⁷¹ La monoestérification régiosélective de l'acide aspartique est réalisée avec une solution de chlorure de thionyle dans le méthanol pour donner le composé **181**. Puis les protections de l'amine et de l'acide sont réalisées successivement par greffage d'un groupement *t*-butoxycarbonyl (Boc) et traitement du carboxylate avec le bromure d'allyle ou le bromure de benzyle pour obtenir les dérivés **183**. Après l'introduction d'un deuxième groupe protecteur Boc, la fonction ester de méthyle terminale est réduite en alcool par traitements successifs avec le DIBAL et NaBH₄. Le dérivé de l'homosérine **185** obtenu est ensuite engagé dans une réaction du diiode en présence de triphénylphosphine et d'imidazole pour obtenir **186**. Une mono déprotection sélective de **186** est enfin réalisée par réaction avec NaI et CeCl₃·7H₂O pour obtenir le dérivé **107** énantiomériquement pur (e.e. > 99%) stable, avec un rendement global à partir de l'acide aspartique de 39% pour **107a** et 36% pour **107b**.

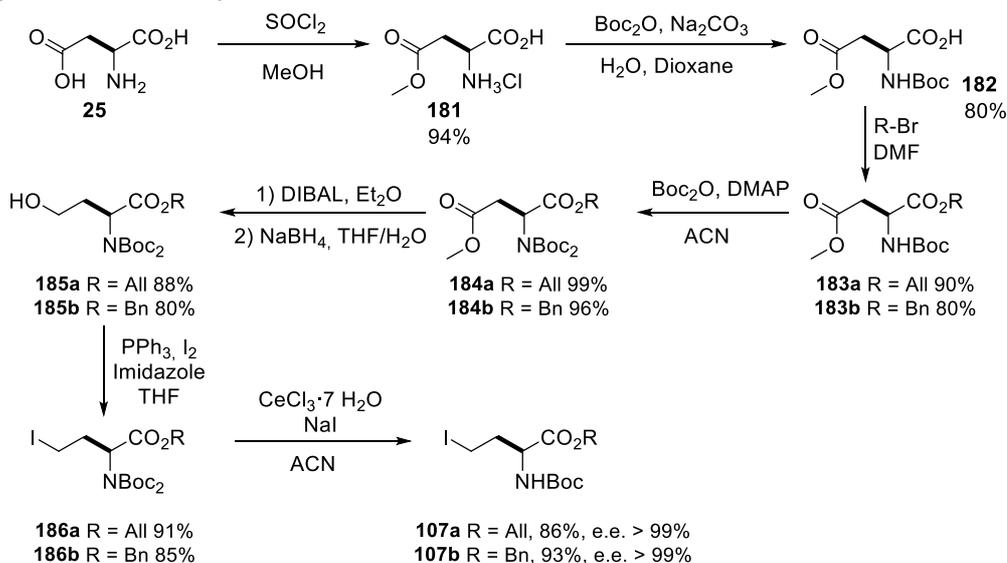


Schéma 32 : Hémissynthèse de dérivés γ -iodés d'acides aminés **107** à partir d'acide L-aspartique **25**

2) Préparation du sel de phosphonium dérivé d'α-amido acide 108

Les sels de phosphonium dérivés d'aminoesters sont obtenus par quaternisation de PPh₃ avec l'iodure **107**.⁷¹ Cette réaction qui s'effectue dans la triphénylphosphine fondue conduit au sel de phosphonium avec un rendement de 98%. La déprotection de l'ester allylique **187** en acide carboxylique est réalisée par amination nucléophile du système allylique en présence d'un complexe de palladium avec un rendement de 83% (Schéma 33).⁷¹

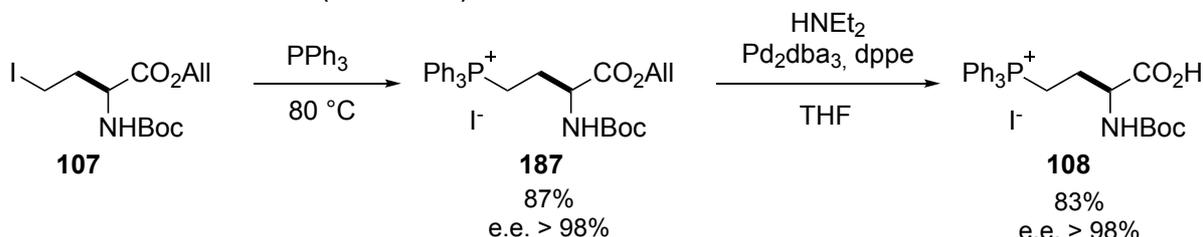


Schéma 33 : Préparation du sel de phosphonium **108**

Le réactif de Wittig dérivé d'acide aminé est obtenu avec un rendement de 72% sur deux étapes avec une grande pureté énantiomérique (ee > 98%, contrôlé par RMN ³¹P en présence de l'anion chiral BINPHAT) et présente une bonne stabilité et peut être stocké à l'air.

La mise en œuvre de la réaction de Wittig avec le sel de phosphonium **108** se fait dans le chlorobenzène à 80°C pendant plusieurs heures en présence d'une base faible comme le phosphate de potassium.⁷¹ Dans ces conditions le sel de phosphonium **108** est présent sous forme zwitterionique par déprotonation de l'acide carboxylique en carboxylate. Ce carboxylate empêche la déprotonation du carbone asymétrique et le protège ainsi de toute racémisation. L'utilisation de sels de phosphonium d'aminoesters **187** est possible dans les conditions de la réaction de Wittig décrites précédemment, cela conduit à une racémisation partielle et à une diminution du rendement du fait d'une saponification de la fonction ester dans ces conditions.

Dans le cas où la synthèse du sel de phosphonium **108** est tentée par débenzylation du sel de phosphonium **187b** par hydrogénéolyse catalysée au palladium ou par saponification, le produit n'est pas obtenu soit par manque de réactivité soit à cause de la dégradation du sel de phosphonium.

3) Préparation d'un dérivé γ-phosphonato acide aminé 190

Dans le but de proposer une alternative à la réaction de Wittig précédemment décrite, l'utilisation de phosphonates d'acides aminés dans une réaction de Horner-Wadsworth-Emmons a été envisagée.

La préparation des dérivés phosphonates d'acides aminés est réalisée par chauffage à 130°C des dérivés iodés **107b** ou **186a** dans le triéthylphosphite. Lorsque l'iodure d'aminoester (NHBoc) de benzyle **107b** est utilisé, le phosphonate **188b** (R = Bn, R' = H) est obtenu avec 10% de rendement. Si l'iodure d'aminoester (*N,N*-diBoc) d'allyle **186a** est utilisé, la réaction conduit à un mélange (1 :1) de phosphonates **188a** (*N,N*-diBoc, R = All) et **189** (NH-Boc), qui est obtenu avec un rendement de 71%. La réaction du mélange de produits mono et di-*N*-protégés **188a** et **189** avec NaI et CeCl₃·7H₂O dans l'acétonitrile, permet d'obtenir uniquement le produit mono *N*-protégé **189** quantitativement. Enfin, la saponification de **189** permet d'obtenir le γ-phosphonato acide aminé **190** avec 63% de rendement (Schéma 34).

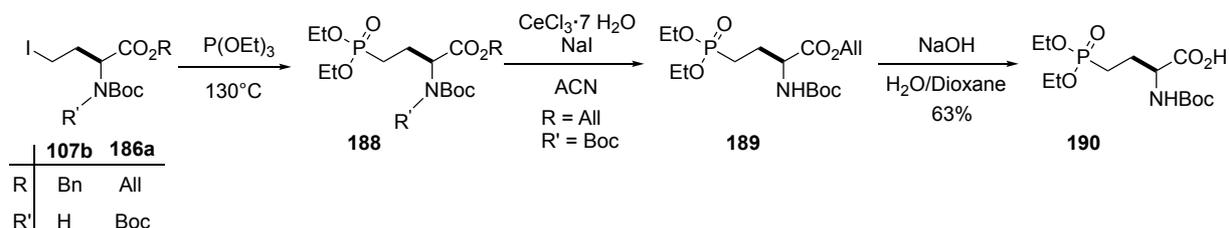
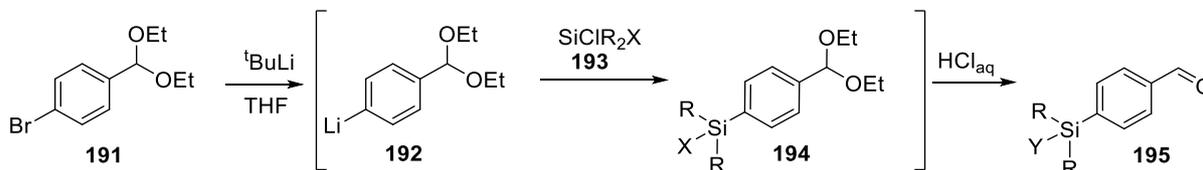


Schéma 34 : Préparation du dérivé γ-phosphonato acide aminé **190**

4) Préparation des dérivés silylés de benzaldéhyde

La préparation des aldéhydes silylés est réalisée en une étape par échange halogène métal sur le *p*-bromobenzaldéhyde diéthylacétal par le *t*-butyllithium suivi du piégeage de l'anion formé par les chlorosilanes **193a** et **193b** ou le dichlorosilane **193c**. Une hydrolyse acide pendant le traitement de la réaction permet la déprotection de l'acétal en aldéhyde ainsi que, le cas échéant, l'hydrolyse du chlorosilane en silanol. Les dérivés hydrosilanes **195a** et **195b** ainsi que le silanol **195c** sont obtenus avec de bons rendements (Tableau 4).



| | R | X | Aldéhyde | Y | Rendement |
|---|--------------|----|-------------|----|-----------|
| 1 | <i>t</i> -Bu | H | 195a | H | 88% |
| 2 | <i>i</i> -Pr | H | 195b | H | 69% |
| 3 | <i>i</i> -Pr | Cl | 195c | OH | 91% |

Tableau 4 : Synthèse des aldéhydes silylés

II] Synthèse des acides aminés silylés

Les dérivés phosphonium **108** et phosphonate **190** d'acides aminés ont été utilisés pour la synthèse d'acides aminés insaturés par réaction avec les benzaldéhydes silylés **195** préparés précédemment.

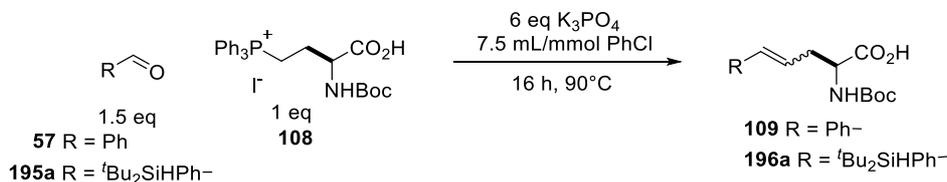


Schéma 35 : Synthèse d'acides aminés insaturés par réaction de Wittig

1) Etude de la réactivité du sel de phosphonium **108**

a) Influence de la quantité d'eau sur la réaction de Wittig

Il avait été montré que la réaction du sel de phosphonium **108** avec les aldéhydes était sensible à la présence de traces d'eau dans le milieu réactionnel contenant du phosphate de potassium. Bien que ceci puisse s'expliquer par une hydratation de la surface de la base, qui facilite la réaction de Wittig dans les conditions de transfert de phase, cette influence de l'eau n'a jamais été quantifiée et surtout s'avérait dépendre des substrats. D'un autre côté, l'ajout d'un excès d'eau au milieu réactionnel entraînait une chute de rendement. Une étude a donc été réalisée pour réexaminer l'influence de l'ajout de traces d'eau dans le milieu réactionnel et en particulier lors de la réaction avec un aldéhyde silylé. Les conditions standards utilisent 0.2 mmol de sel de phosphonium **108** en solution dans 1.5 mL de chlorobenzène, auxquels sont ajoutés successivement 0.3 mmol d'aldéhyde et 1.2 mmol de K_3PO_4 sec. Le mélange est ensuite chauffé pendant 16 heures à 90°C .

La quantité d'eau présente dans le chlorobenzène commercial et dans le chlorobenzène distillé sur CaH_2 a été mesurée par titration de Karl-Fischer. La quantité d'eau présente dans le phosphate de potassium a été déterminée par analyse thermogravimétrique. Les teneurs en eau obtenues par ces analyses ont été rapportées à la quantité de solvant ou de base utilisées dans la réaction afin de mesurer la quantité d'eau apportée par le composé au milieu réactionnel (Tableau 5).

| | Conditions | Teneur en eau | Quantité utilisée | Quantité d'eau |
|---|---|---------------|-------------------|----------------|
| 1 | Chlorobenzène pour synthèse | 175 ppm | 1,5 mL | 16 µmol |
| 2 | Chlorobenzène sec (CaH ₂) | 15 ppm | 1,5 mL | 1,3 µmol |
| 3 | K ₃ PO ₄ pour synthèse (pot neuf) | 5,6% | 250 mg | 780 µmol |
| 4 | K ₃ PO ₄ sec (550°C, 10 min, 10 mbar) | négligeable | 250 mg | négligeable |

Tableau 5 : Mesures de la quantité d'eau dans le solvant et la base

Sans purification, le chlorobenzène commercial a une teneur en eau de 175 ppm. Lorsque la réaction est réalisée dans les conditions standards, 1.5 mL de chlorobenzène est utilisé ce qui correspond donc à un apport de 16 µmol d'eau au milieu réactionnel. Rapporté à la quantité de sel de phosphonium (0.2 mmol) cela représente 8 mol% (Tableau 5, entrée 1). Après distillation sur CaH₂ le chlorobenzène contient de l'eau à hauteur de 15 ppm ce qui correspond à 1.3 µmol d'eau soit 0.5 mol% par rapport au sel de phosphonium (Tableau 5, entrée 2). Le K₃PO₄ commercial est hydraté à hauteur de 5.6% massique, si bien que l'utilisation de 250 mg de cette base provoque un apport de 780 µmol d'eau au milieu réactionnel. Cela représente donc 3.9 équivalents par rapport au sel de phosphonium (Tableau 5, entrée 3). Enfin, après séchage sous vide à haute température jusqu'à masse constante, la quantité d'eau présente dans le phosphate de potassium est considérée comme négligeable (entrée 4).

Différents essais mettant en jeu le chlorobenzène et le phosphate de potassium séché ou non ont été réalisés pour mesurer l'impact de la quantité d'eau sur la réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **108** et le benzaldéhyde **57** ou l'aldéhyde silylé **195a**.

| | Conditions ^a | | Aldéhyde | Quantité d'eau ^c | Rendement |
|---|-------------------------|--------------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------|
| | Chlorobenzène | K ₃ PO ₄ | | | |
| 1 | pour synthèse | Sec | 57 ^b | 10 mol% | 70% |
| 2 | pour synthèse | Sec + 1mmol H ₂ O | 57 ^b | 5 équivalents | 33% |
| 3 | pour synthèse | Commercial | 195a | 4 équivalents | 0% |
| 4 | Sec | Sec | 195a | négligeable | 8% |
| 5 | pour synthèse | Sec | 195a | 10 mol% | 88% |

^a Pour les essais comparatifs : 0.2 mmol de sel de phosphonium **108**, 1.5 mL de chlorobenzène, 0.5 mmol d'aldéhyde, et 1.2 mmol de K₃PO₄, chauffage à 90°C pendant 16 heures.

^b Le benzaldéhyde est préalablement séché par distillation sur CaH₂

^c Quantité d'eau par rapport à la quantité de sel de phosphonium

Tableau 6 : Impact de la teneur en eau sur le succès de la réaction de Wittig

Lorsque la réaction de Wittig est réalisée avec le benzaldéhyde **57** en présence de 10 mol% d'eau par rapport à la quantité de sel de phosphonium dans le milieu, l'acide aminé insaturé **109** est obtenu avec un rendement de 70% (Tableau 6, entrée 1). Par contre si 5 équivalents d'eau sont présents dans la réaction, le composé **109** n'est obtenu qu'avec un rendement de 33% (entrée 2). Dans le cas où l'aldéhyde silylé **195a** est utilisé avec un milieu réactionnel contenant 4 équivalents d'eau, la réaction de Wittig ne donne pas l'acide aminé attendu **196a** (entrée 3). Lorsque le chlorobenzène et le phosphate de potassium utilisés ont été séchés, la présence d'eau dans le milieu réactionnel est inférieure à 1% et la réaction ne conduit qu'à un faible rendement de 8% (entrée 4). Par contre, quand le phosphate de potassium sec est utilisé en combinaison avec le chlorobenzène commercial, une quantité d'eau de 10 mol% est alors présente dans le milieu et la réaction de Wittig entre le sel de phosphonium **108** et l'aldéhyde silylé **195a** permet d'obtenir le produit désiré **196a** avec un rendement de 88% (entrée 5).

La présence d'une quantité limitée d'eau est donc nécessaire pour le bon déroulement de la réaction, bien qu'un excès soit largement défavorable au bon déroulement de la réaction. Ces conditions réactionnelles, qui nécessitent une teneur en eau de l'ordre de 10 mol%, sont retenues pour la synthèse d'autres acides aminés insaturés.

b) Etude de la stéréosélectivité (Z/E) de la réaction de Wittig

D'une façon générale, il est admis que lorsque la réaction de Wittig est réalisée avec un ylure non stabilisé (dérivé du sel de phosphonium **197**), un alcène **198** de configuration Z est obtenu de façon majoritaire (Schéma 36a). Dans les résultats antérieurs du laboratoire, la réaction du sel de phosphonium **108**, qui donne à priori un ylure non stabilisé, avec des aldéhydes conduit majoritairement aux isomères E des alcènes **109** (Schéma 36b).

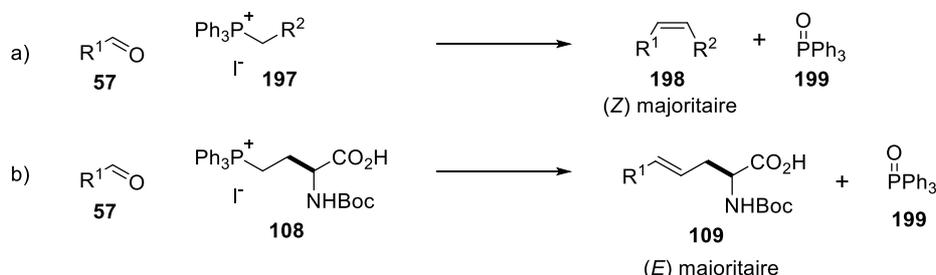
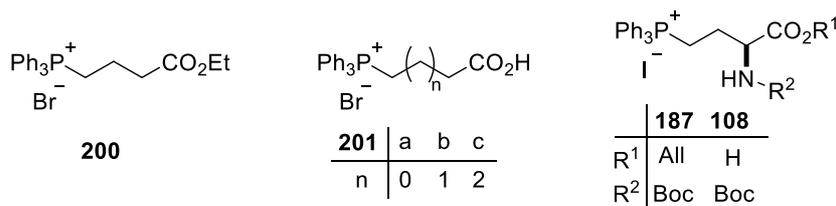


Schéma 36 : Stéréosélectivité (Z/E) de la réaction de Wittig: a) avec un ylure de phosphonium non stabilisé; b) avec le sel de phosphonium d'acide aminé.

En réalité, la stéréosélectivité de la réaction de Wittig dépend également des substituants portés par le sel de phosphonium. Ainsi, les stéréosélectivités obtenues par réaction de Wittig des sels de phosphonium porteurs de fonctions esters¹²⁰ **200**, acides carboxyliques¹²¹ **201**, et dérivés d'acides aminés **187** et **108**, sont rassemblées dans le Tableau 7.



| | Sel de phosphonium | Aldéhyde | Base | Solvant | Rendement | Ratio Z/E |
|----|--------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------|-----------|--------------|
| 1 | 200 | <i>p</i> -anisaldéhyde | NaHMDS | THF | 59% | 91/9 |
| 2 | 201a | Benzaldéhyde | LiHMDS | THF | - | 10/90 |
| 3 | 201b | Benzaldéhyde | LiHMDS | THF | 61% | 7/93 |
| 4 | 201b | Benzaldéhyde | NaHMDS | THF | 53% | 10/90 |
| 5 | 201b | Benzaldéhyde | KHMDS | THF | 53% | 14/86 |
| 6 | 201c | Benzaldéhyde | LiHMDS | THF | 74% | 13/87 |
| 7 | 187 | Benzaldéhyde | K ₃ PO ₄ | PhCl | 83% | 88/12 |
| 8 | 108 | Benzaldéhyde | K ₃ PO ₄ | PhCl | 72% | 30/70 |
| 9 | 108 | <i>p</i> -anisaldéhyde | K ₃ PO ₄ | PhCl | 67% | 24/76 |
| 10 | 108 | <i>p</i> -nitrobenzaldéhyde | K ₃ PO ₄ | PhCl | 75% | 15/85 |

Tableau 7 : Stéréosélectivité Z/E de la réaction de Wittig selon la structure des sels de phosphonium

L'utilisation du sel de phosphonium **200** porteur d'une fonction ester conduit après réaction avec le *p*-anisaldéhyde, au produit de Wittig correspondant de configuration majoritaire Z (entrée 1).¹²⁰

Lorsque les sels de phosphonium porteurs d'une fonction acide carboxylique en position β, γ ou δ tels que **201a-c** sont utilisés dans une réaction avec le benzaldéhyde, les produits insaturés sont obtenus avec une configuration E majoritaire (entrées 2-6).¹²¹

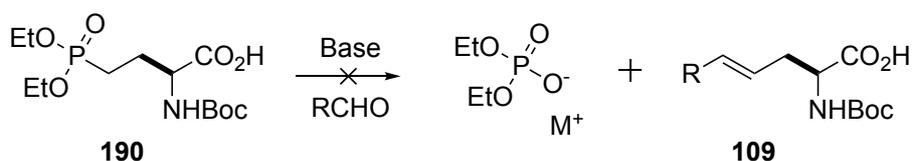
120 Ward, A. F.; Wolfe, J. P. *Org. Lett.* **2010**, 12, 1268 (supplementary materials).

121 Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B.; Duhl-Emswiler, B. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 217.

Bien que la réaction de Wittig des sels de phosphonium dérivés d'acides aminés soit réalisée dans des conditions différentes, à chaud dans des conditions de transfert de phase, la stéréochimie des produits de la réaction avec le benzaldéhyde ou le *p*-anisaldéhyde est similaire. Ainsi le sel de phosphonium **187** conduit par réaction de Wittig à un aminoester insaturé de configuration majoritaire *Z* (entrée 7), tandis que l'analogue acide aminé **108** donne les produits de Wittig **109** de configuration majoritaire *E* (entrées 8-10). Bien que plusieurs groupes se soient penchés sur l'origine de cette stéréochimie *E* majoritaire obtenue avec des sels de phosphonium portant des fonctions protiques telles que des alcools, des amines ou des acides carboxyliques, le mécanisme exact menant à cette stéréochimie reste encore mal compris.^{121,122}

2) Etude de la réaction du phosphonate dérivé d'acide aminé **190**

Le phosphonate **190** a été préparé pour étudier une voie de synthèse alternative d'acides aminés insaturés par réaction de Horner Wadsworth Emmons.



Les différentes conditions de réaction testées sont présentées dans le tableau ci-dessous.

| | Aldéhyde | Solvant | Base | Température | Rendement |
|---|------------------------------|---------|---------------------------------------|-------------|-----------|
| 1 | Benzaldéhyde | THF | LDA (3 eq) | -78°C | 0% |
| 2 | Benzaldéhyde | THF | BuLi (3 eq) | -78°C | 0% |
| 3 | Benzaldéhyde | THF | BuLi (3 eq) | -20°C | 0% |
| 4 | Benzaldéhyde | THF | BuLi (3 eq) | 25°C | 0% |
| 5 | <i>o</i> -fluorobenzaldéhyde | PhCl | K ₃ PO ₄ (6 eq) | 90°C | 0% |

Tableau 8 : Tentatives de réaction de Wittig-Horner avec **190**

Lorsque le phosphonate est déprotoné à basse température par 3 équivalents de LDA ou de *n*-BuLi dans le THF, aucune réactivité n'est observée par ajout de benzaldéhyde (entrées 1 et 2). L'utilisation de plus hautes températures, après déprotonation avec le *n*-BuLi, n'a pas permis d'observer une meilleure réactivité (entrées 3 et 4).

Dans le cas où le phosphonate **190** est utilisé dans les conditions de transfert de phase mises au point pour le sel de phosphonium **108**, avec l'*o*-fluorobenzaldéhyde, le suivi de la réaction par RMN ^{19}F a permis d'observer qu'il n'y avait aucune réactivité après 16h.

Afin de comprendre l'absence de réaction entre un aldéhyde et le phosphonate dérivé d'acide aminé **190**, une étude par RMN ^{31}P et ^7Li a été réalisée dans le THF (Figure 20). Tout d'abord l'analyse du spectre RMN ^{31}P du phosphonate **190** dans le chloroforme et dans le THF montre des déplacements chimiques sensiblement différents +30.7 ppm (vs +37.5 ppm, Figure 20A). Lorsque 3 équivalents de *n*-BuLi sont ajoutés au phosphonate **190** en solution dans le THF, un nouveau signal apparaît à +58.7 ppm (Figure 20B). Ce nouveau signal est attribué à la formation du trianion **204** formé par déprotonation du phosphonate **190**. Cette attribution est en accord avec le déplacement chimique de l'anion lithié du méthyl phosphonate de diéthyle ($\text{CH}_3\text{P}(\text{O})(\text{OEt})_2$ vs $\text{Li}^+ \text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OEt})_2$) décrit dans la littérature.¹²³

122 Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863.

123 <https://www.chem.wisc.edu/areas/reich/nmr/11-p-data.htm>.

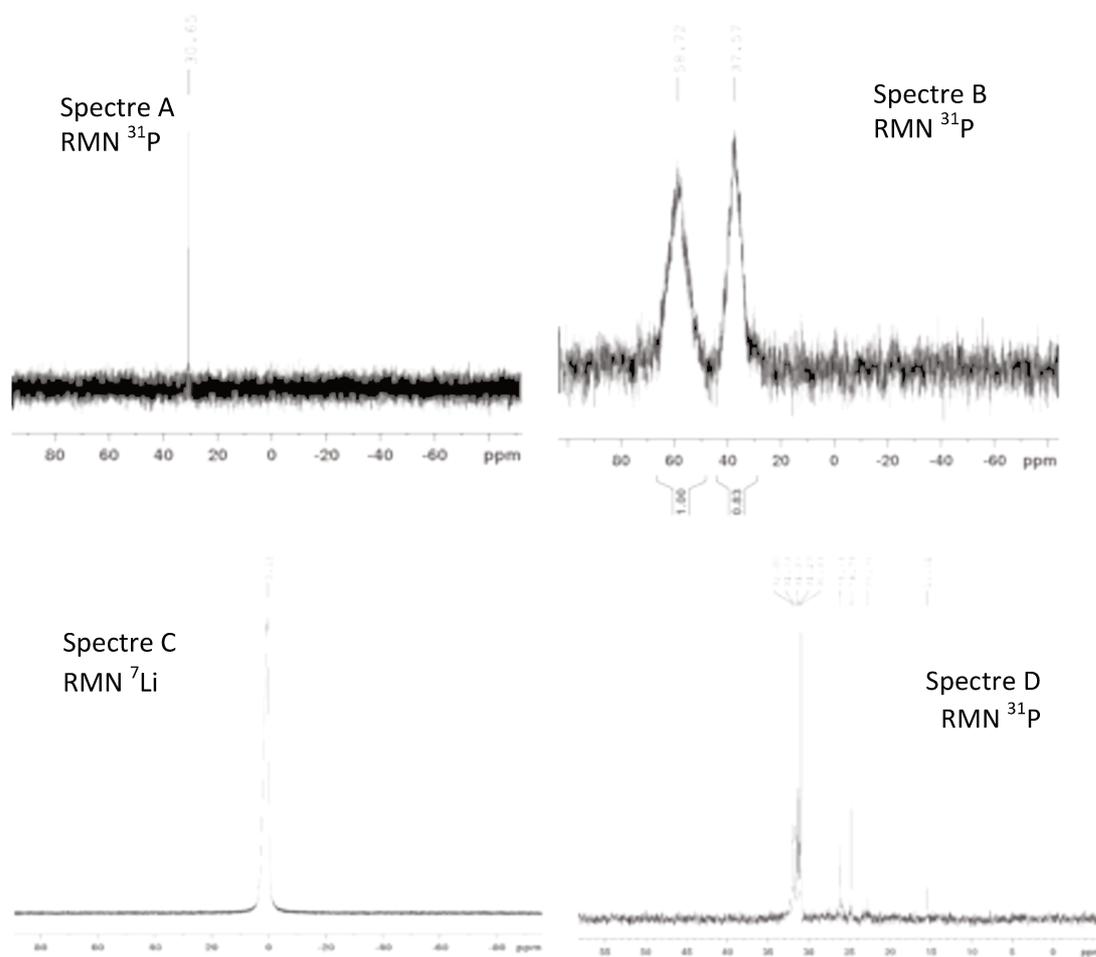


Figure 20 : analyse par RMN ^{31}P et ^7Li de la réactivité du phosphonate **190** dans le THF

Une tentative de caractérisation du trianion lithié **204** par RMN ^7Li a été réalisée, mais le spectre montre uniquement un signal large à +0.5 ppm par rapport à une solution molaire de LiCl dans D_2O . Ce signal large à +0.5 ppm est attribué aux cations lithium en solution dans le THF (Figure 20C).

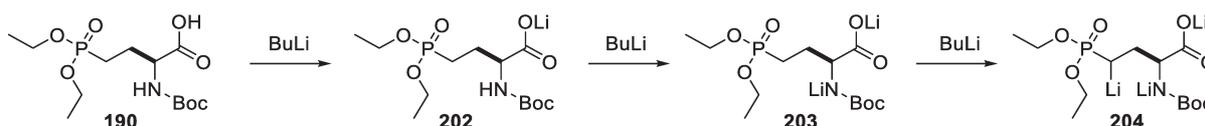


Schéma 38 : Déprotonations successives du phosphonate **190** par le BuLi

L'étude de la structure du phosphonate **204** déprotoné par RMN dans d'autres solvants n'a pas été envisagée pour des raisons de solubilité. Finalement du benzaldéhyde a été ajouté au phosphonium déprotoné dans le THF, et le mélange réactionnel a été analysé par RMN ^{31}P (Figure 20D). Dans ce cas le spectre montre un ensemble de signaux vers +30 ppm et l'absence de signaux significatifs vers 0 ppm qui indiquerait la formation de phosphates. Seule l'analyse par HPLC-MS a permis de mettre en évidence des traces d'acides aminés insaturés **109**, ce qui confirme l'absence de réaction de Wittig Horner dans les conditions étudiées. Cette approche synthétique a été abandonnée pour la suite du travail.

3) Synthèse d'acides aminés silylés par réaction de Wittig

a) Synthèse du dérivé di-*t*-butylsilane **196a**

L'acide aminé porteur d'un groupe di-*t*-butylsilyle **196a** a été préparé avec 90% de rendement par réaction du sel de phosphonium **108** avec l'aldéhyde **195a** dans les conditions de transfert de phase mises au point précédemment (Tableau 6). Le composé **196a** qui est obtenu sous la forme d'un mélange Z/E dans un rapport 30 : 70, est isomérisé quantitativement en (*E*)-**196a**, par chauffage à reflux dans le

THF pendant 16 heures en présence d'une quantité catalytique de disulfure de diphenyle **205** (Schéma 39). Cette réaction d'isomérisation se produit par addition réversible de radicaux thiyles à la double liaison ce qui conduit à l'isomère *E* thermodynamiquement plus stable (Schéma 39).

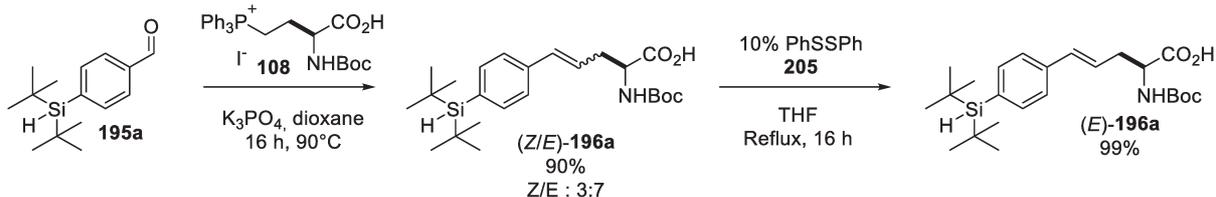


Schéma 39 : Synthèse de l'acide aminé silylé (*E*)-**196a**

L'isomérisation est suivie par analyse RMN ^1H et ^{29}Si . En effet, une différence faible mais significative est observée entre les isomères *Z* et *E* avec respectivement des déplacements chimiques de +12.85 et +12.73 ppm pour les signaux en RMN ^{29}Si , et de +3.87 et +3.86 ppm pour les signaux correspondants au Si-H en RMN ^1H (Figure 21).

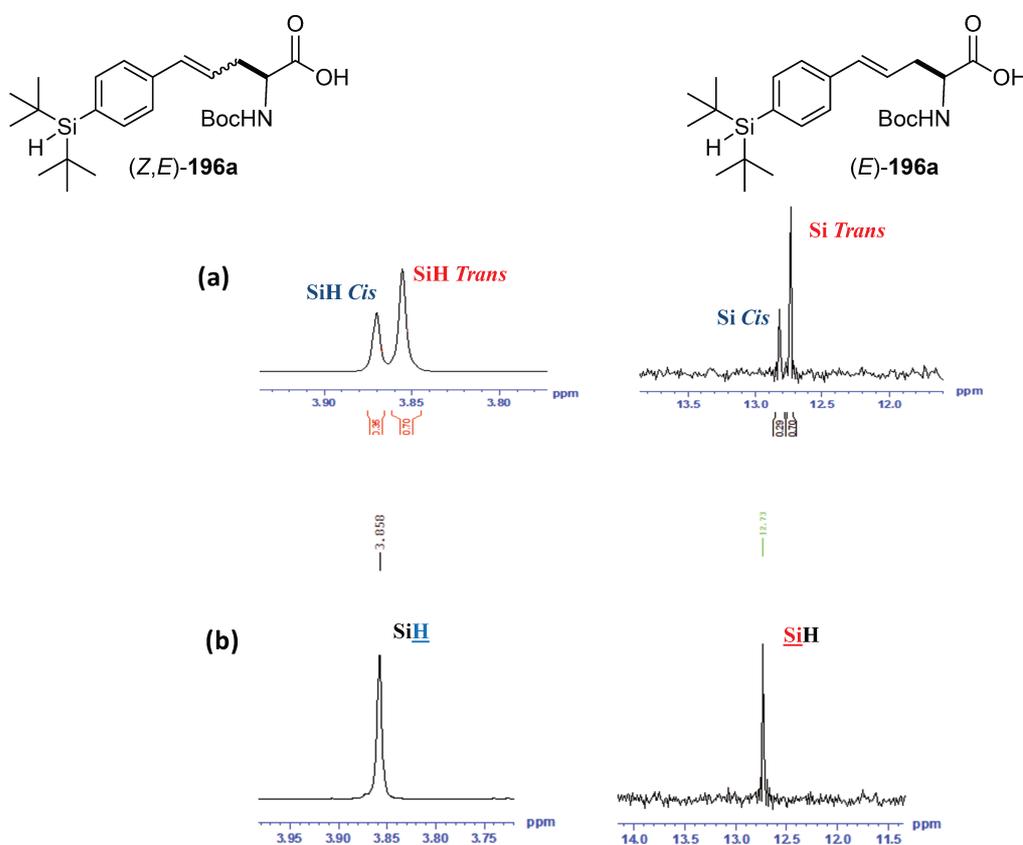


Figure 21 : Analyse RMN ^1H et RMN ^{29}Si de **196** : avant (a) et après isomérisation (b)

b) Synthèse du dérivé di-*i*-propylsilane **196b**

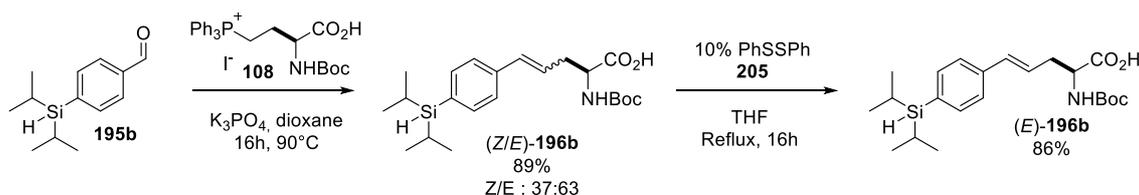
Dans les conditions de réaction utilisées précédemment pour la synthèse des acides aminés insaturés, la réaction du sel de phosphonium **108** avec l'aldéhyde **195b** donne l'acide aminé silylé **196b** avec un rendement de 10% (Tableau 9). Sa synthèse a donc fait l'objet d'une optimisation dont les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

Ainsi un premier essai a été réalisé par ajout de 10 mol% de bromure de tétrabutylammonium dans le milieu réactionnel. Une augmentation du rendement à 27% a été observée (Tableau 9, entrée 3). Lorsque du carbonate de césium est utilisé comme base ou lorsque le diméthoxéthane est utilisé comme solvant, l'acide aminé insaturé **196b** n'est pas obtenu (entrées 2 et 4). Dans le cas où le dioxane est utilisé comme solvant, le produit désiré **196b** est obtenu avec 37% de rendement (entrée 5).

| | Solvant | Base | Température | Traitement | Rendement isolé |
|---|-------------------------------|---|-------------|------------------------|-----------------|
| 1 | PhCl | K ₃ PO ₄ (sec) | 90°C | Hydrolyse + extraction | 10 % |
| 2 | PhCl | Cs ₂ CO ₃ (sec) | 90°C | Hydrolyse + extraction | 0% |
| 3 | PhCl | K ₃ PO ₄ (sec) + TBAB 10 mol% | 90°C | Hydrolyse + extraction | 27% |
| 4 | Diméthoxyéthane | K ₃ PO ₄ (sec) | 90°C | Hydrolyse + extraction | 0% |
| 5 | Dioxane | K ₃ PO ₄ (sec) | 90°C | Hydrolyse + extraction | 37% |
| 6 | Dioxane (Δ CaH ₂) | K ₃ PO ₄ (sec) | 90°C | Hydrolyse + extraction | 58% |
| 7 | Dioxane (Δ CaH ₂) | K ₃ PO ₄ (sec) | 90°C | Filtration | 89% |

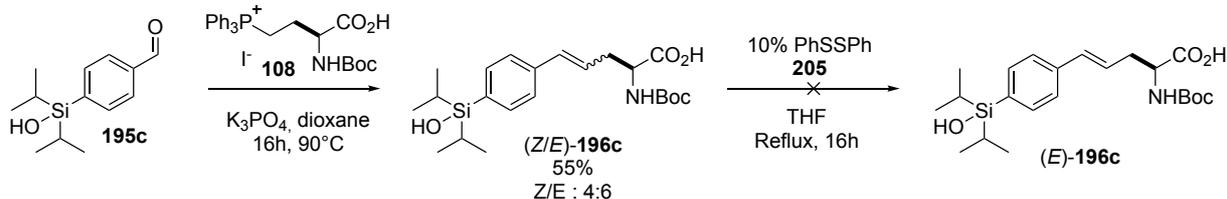
Tableau 9 : Optimisation de la synthèse de **196b**

Par contre lorsque le dioxane utilisé est séché par distillation sur CaH₂, l'acide aminé silylé **196b** est obtenu avec 58% de rendement (Tableau 9, entrée 6). Finalement, le traitement de la réaction sans hydrolyse ni extraction, mais seulement par filtration directe du mélange réactionnel sur Célite[®] a permis d'accéder au produit désiré avec rendement de 89% sous la forme d'un mélange de stéréoisomères *Z/E* dans un rapport 37 : 63. Après isomérisation par chauffage avec du disulfure de diphenyle dans le THF, l'acide aminé silylé (*E*)-**196b** est isolé avec 86% de rendement, soit un rendement global de 76% à partir du sel de phosphonium **108** (Schéma 40).

Schéma 40 : Synthèse de l'acide aminé silylé (*E*)-**192b**

c) Synthèse du dérivé di-*i*-propylsilanol **196c**

Cette fois, dans les conditions de réaction mises au point pour le dérivé di-*t*-butylsilane **196a**, le sel de phosphonium **108** réagit avec l'aldéhyde **195c** pour donner le silanol d'acide aminé **196c** sous forme d'un mélange *Z/E* (40 : 60) avec un rendement de 55% (Schéma 41). Le rendement modéré obtenu dans ce cas peut s'expliquer par le fait que le silanol d'acide aminé **196c** est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un éluant contenant 1% d'acide acétique.

Schéma 41 : Synthèse du silanol d'acide aminé **196c** par réaction de Wittig

Il faut noter que très peu de silanols dérivés d'acides aminés et de peptides ont été décrits jusqu'à présent.^{124, 125, 126}

Malheureusement l'isomérisation du mélange de stéréoisomères (*Z/E*)-**196c** ne se produit pas par chauffage avec le disulfure de diphenyle (Schéma 41), ce qui doit sûrement s'expliquer par la présence de la fonction silanol qui empêche probablement la formation de radicaux thiyles nécessaires à la réaction.

124 Mortensen, M.; Husmann, R.; Veri, E.; Bolm, C. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 1002.125 Kim, J. K.; Sieburth, S. M. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 2901.126 Smith, R. J.; Bienz, S. *Helv. Chim. Acta.* **2004**, 87, 1681.

III] Synthèse de peptides silylés

1) Etude la réaction de couplage des acides aminés silylés.

Les acides aminés **196a-c** obtenus précédemment présentent une fonction amine protégée par un groupement Boc et une fonction acide carboxylique libre.

L'étude de la réaction de ces acides aminés avec l'ester méthylique de la L-alanine **206** a été réalisée dans le DMF en utilisant le HATU ou le HBTU^{127,128} comme agent de couplage et en présence de di-*i*-propyléthylamine (DIPEA) (Schéma 42). Dans ces conditions, les acides aminés (*E*)-**192a** et (*E*)-**192b** conduisent aux dipeptides **207a** et **207b** correspondants avec respectivement 75 et 93% de rendement.

Dans le cas de l'acide aminé porteur du groupe silanol (*Z/E*)-**196c**, le dipeptide **207c** est obtenu avec 38% de rendement en utilisant le réactif de couplage HBTU. La baisse de rendement s'explique par la présence de la fonction silanol sur l'acide aminé et le dipeptide qui doit rendre ces composés plus sensibles aux conditions de couplage et lors de la purification sur gel de silice.

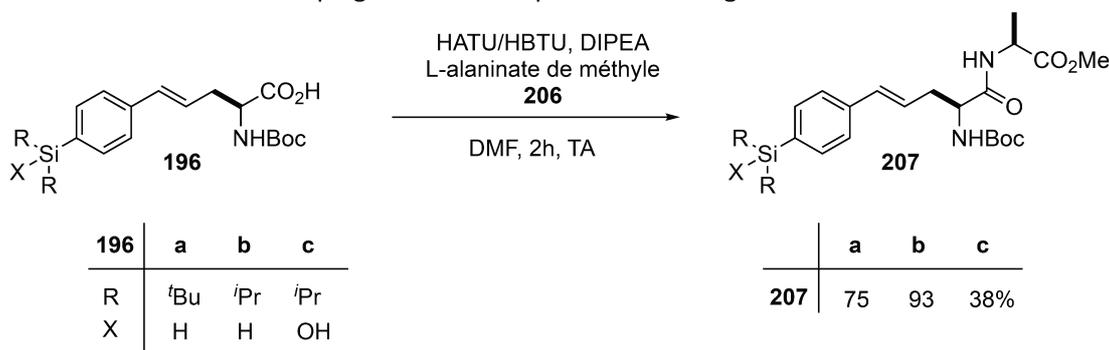


Schéma 42 : Synthèse de dipeptides silylés dérivés de L-alanine

Afin de vérifier l'absence de racémisation lors de la synthèse du dipeptide, l'acide aminé (\pm)-(*E*)-**196a** a été préparé à partir du sel de phosphonium racémique (\pm)-**108**. Ce dernier a été préparé à partir de l'acide aspartique racémique selon la méthode décrite précédemment (Schéma 32).

Ainsi lorsque l'acide aminé (\pm)-(*E*)-**196a** est couplé avec l'ester méthylique de la L-alanine, le dipeptide **207a** est obtenu sous la forme de 2 épimères. L'analyse par RMN ¹H montre deux signaux pour le groupe méthyle porté par la fonction ester du dipeptide (*E*)-**207a'**, alors que précédemment, pour le spectre de (*E*)-**207a**, un seul signal était présent sur le spectre (Figure 22a et b). Cela prouve donc l'absence de racémisation lorsque les acides aminés silylés sont couplés dans ces conditions de couplage peptidique.



127 MacMillan, D. S.; Murray, J.; Sneddon, H. F.; Jamieson, C.; Watson, A. J. B. *Green Chem.* **2013**, *15*, 596.

128 Dourtoglou, V.; Ziegler, J.-C.; Gross, B. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 1269

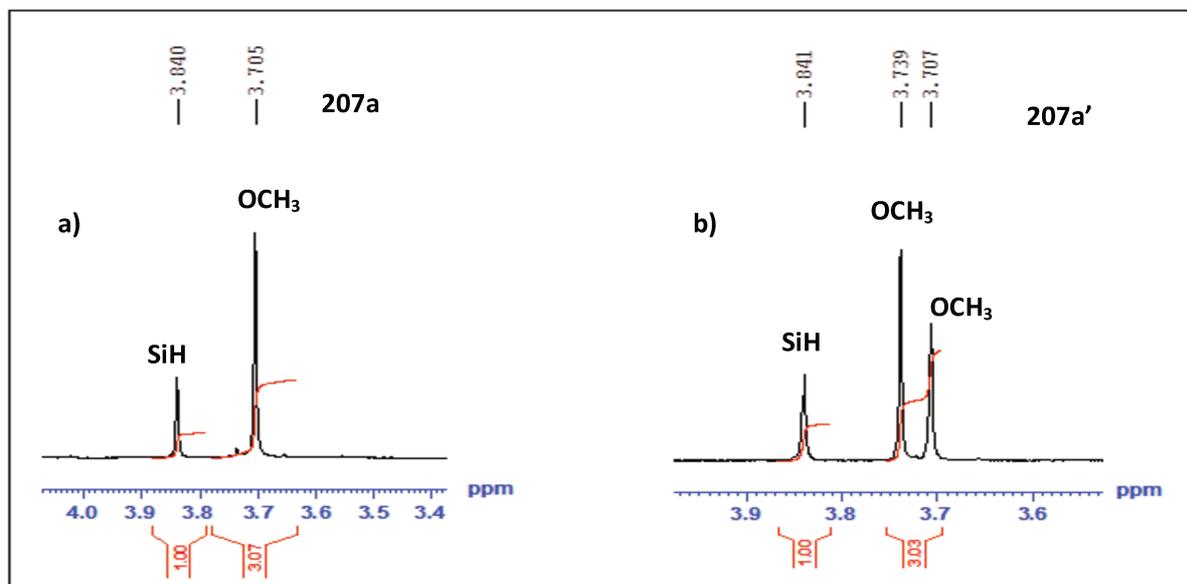


Figure 22 : Etude de la stéréosélectivité de la synthèse du dipeptide **207a** par RMN ^1H : a) Spectre RMN ^1H du dipeptide **207a** ; b) Spectre RMN ^1H du dipeptide **207a'** en mélange d'épimères

2) Synthèse d'un tripeptide silylé

Après avoir démontré que les acides aminés silylés peuvent être couplés à l'ester méthylique de la L-alanine **206** au niveau de la fonction acide carboxylique, un second couplage au niveau du groupe amino de **207a** a été envisagé.

Pour réaliser ceci, la déprotection du groupe Boc du dipeptide silylé **207a** est réalisée par traitement avec une solution (1 : 1) d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane (Schéma 43). Le sel **208** obtenu est utilisé sans purification dans la réaction de couplage peptidique avec le N-Boc-L-phénylalanine **209** en présence de HATU et de DIPEA (Schéma 43). Le tripeptide silylé **210** est ainsi obtenu avec un rendement de 72% ce qui démontre la compatibilité des dérivés silylés tels que **196a** et **207a** en synthèse peptidique.

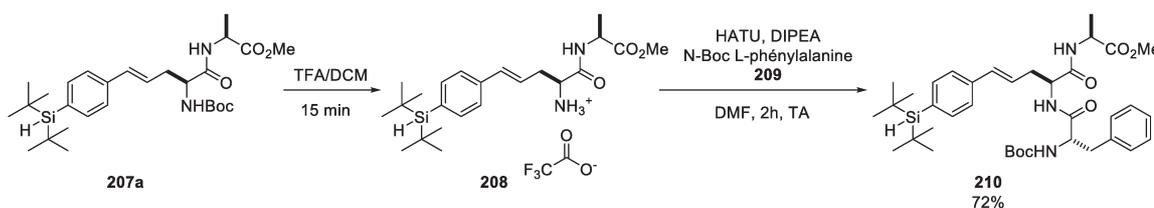
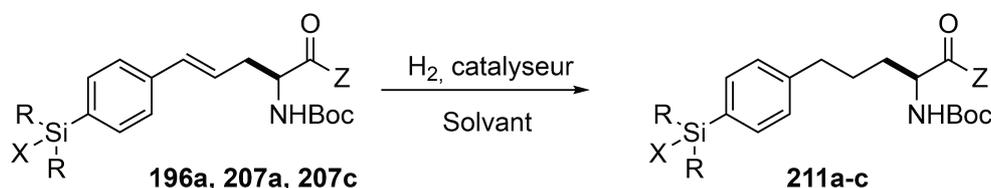


Schéma 43 : Synthèse du tripeptide-silylé **210**

3) Hydrogénation des acides aminés et dipeptides silylés insaturés

La réaction de Wittig permet de synthétiser des acides aminés silylés insaturés comme **196a**. L'hydrogénation de **196a** et des peptides insaturés silylés **207a** et **207c** a été étudiée pour permettre l'obtention d'analogues silylés saturés. Les résultats sont présentés dans le Tableau 10.



| | Substrat | | | Catalyseur | Solvant | P_{H_2} | Produit | |
|---|----------|-----|--------------|-------------|--------------------------------------|------------------|---------|---|
| | X | Z | R | | | | | N° |
| 1 | H | OH | <i>t</i> -Bu | 196a | Pd/C 10% | DCM | 10 bar | Pas de conversion |
| 2 | H | OH | <i>t</i> -Bu | 196a | Pd/C 10% | AcOEt | 5 bar | Dégradation |
| 3 | H | OH | <i>t</i> -Bu | 196a | [Rh(COD)Cl] ₂ | DCM | 5 bar | pas de conversion |
| 4 | H | OH | <i>t</i> -Bu | 196a | Rh(COD) ₂ BF ₄ | DCM | 10 bar | pas de conversion |
| 5 | H | Ala | <i>t</i> -Bu | 207a | Pd/C 10% | MeOH | 10 bar | 211a (X = OMe), (99%) |
| 6 | OH | Ala | <i>i</i> -Pr | 207c | Pd/C 10% | MeOH | 10 bar | 211b (X= OH), 211c (X= OMe) (85%) |

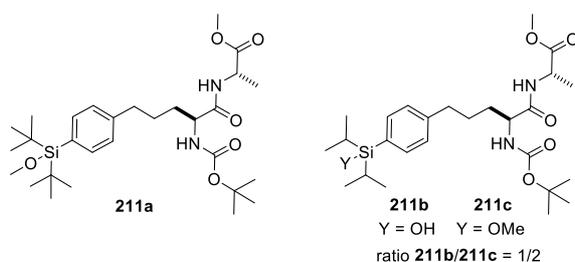
Tableau 10 : Etude d'hydrogénation d'acides aminés et dipeptides insaturés silylés

Toutes les tentatives d'hydrogénation de l'acide aminé silylé **196a** dans le dichlorométhane ou l'acétate d'éthyle en présence de Pd/C ou d'un complexe de rhodium, se sont révélées vaines (Tableau 10, entrées 1 à 4). Par contre, lorsque le dipeptide **207a** est hydrogéné dans le méthanol en présence de Pd/C 10%, le dipeptide saturé **211a** est obtenu quantitativement sous la forme d'un méthoxysilane (entrée 5).

La formation du dipeptide porteur d'une fonction méthoxysilane, à partir du dipeptide porteur d'un silane peut s'expliquer par la réaction de la fonction silane avec le méthanol en présence de palladium de manière similaire à différentes préparations de siloxanes à partir de silanes décrits dans la littérature^{129,130}.

Cette réactivité des silanes en présence de palladium traduit une insertion du métal dans la liaison Si-H ce qui explique probablement l'absence d'hydrogénation de l'acide aminé **196a** dans des solvants non protiques comme le dichlorométhane ou l'acétate d'éthyle. En effet, dans ce cas le palladium se trouve désactivé par hydrosilylation de sa surface empêchant ainsi l'hydrogénation.

Enfin, lorsque le dipeptide silanol **207c** est hydrogéné dans le méthanol en présence de Pd/C 10%, un mélange de peptide silylé **211b** (Y = OH) et **211c** (Y = OMe) dans un rapport 1 : 2 est obtenu avec 85% de rendement. Là aussi la formation du dérivé siloxane **211c** peut s'expliquer par la réaction des dérivés silanols avec le méthanol en présence de Pd/C 10% (entrée 6). Les nouveaux dipeptides silylés saturés **211a-c** ont ainsi été obtenus avec des rendements respectifs de 99 et 85% (entrées 5 et 6).



IV] Etude de la fluoration des acides aminés et peptides silylés et de la stabilité des dérivés fluorosilylés

Compte tenu de la durée de demi-vie du radioisotope ^{18}F (109 minutes),¹³¹ l'intérêt d'un pré-marqueur tel qu'un dérivé silylé d'acide aminé va être apprécié par la vitesse de fluoration, la facilité de purification et la stabilité du produit marqué. Cette stabilité sera mesurée par étude de l'hydrolyse du produit fluoré dans des conditions physiologiques.

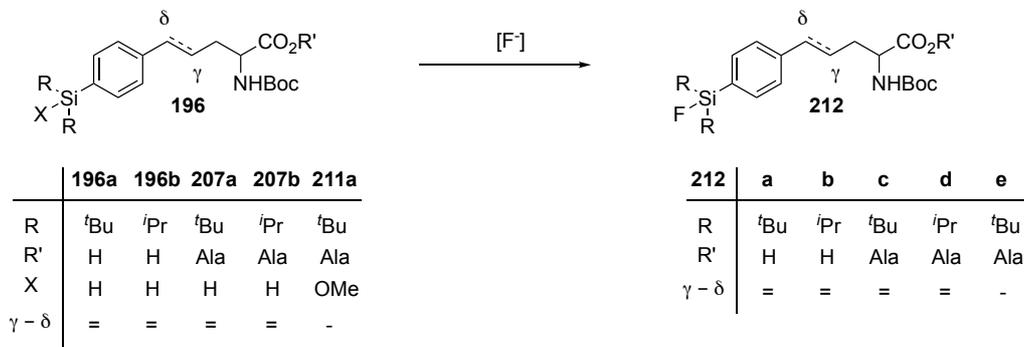
La fluoration nucléophile des acides aminés **196** et des dipeptides **207** et **211** a été étudiée dans un premier temps par RMN ^{19}F en utilisant C_6F_6 comme étalon interne. Bien que la RMN ^{19}F soit une méthode d'analyse assez lente pour des études cinétiques (phénomènes observés de l'ordre de la

129 Sommer, L. H.; Lyons, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 7061.130 Ikawa, T.; Sajiki, H.; Hirota, K. *Tetrahedron* **2004**, 60, 6189.131 R. Schirmmayer, C. Wängler, E. Schirmmayer, in *Fluorine-18 Radiochemistry: Theory and Practice in Pharmaceutical Radiochemistry (I)*, H. J. Wester, (Ed.), Vol.1. Munich Molecular Handbook series, Scintomics Print Media and Publishing, **2010**, pp 5-73.

minute) et d'une sensibilité limitée ($\approx 1\%$ au mieux), elle se révèle extrêmement simple à mettre en œuvre et suffisamment précise pour étudier les vitesses de fluoration et d'hydrolyse des dérivés silylés préparés qui demandent plusieurs minutes.

1) Etude de la réaction de fluoration

La fluoration par différentes sources de fluorures des acides aminés **196** et peptides **207** et **211**, a été étudiée dans différentes conditions similaires à celles décrites pour le radiomarquage de dérivés silylés.^{116,118} Les résultats sont résumés dans le Tableau 11.



| | Substrat | Source de fluorures | Solvant | Additif | T (°C) | Temps de fluoration | Produit | Rdt |
|----|-------------|---------------------|---------|--------------|--------|---------------------|-------------|----------------|
| 1 | 196a | KF/K222 | THF | AcOH (6 eq) | 60 | 48 h | 212a | 97% |
| 2 | 196b | KF/K222 | THF | AcOH (6 eq) | 60 | 18 h | 212b | 99% |
| 3 | 207a | KF/K222 | THF | AcOH (6 eq) | 60 | 48 h | 212c | 96% |
| 4 | 196b | TBAF | THF | - | 25 | 20 min | 212b | 79% |
| 5 | 207b | TBAF | THF | - | 25 | 20 min | 212d | 99% |
| 6 | 207a | TBAF | THF | - | 25 | >7 h ^a | - | - |
| 7 | 207a | KF/K222 | DMSO | AcOH (6 eq) | 60 | 60 min | 212c | - ^b |
| 8 | 207a | KF/K222 | DMSO | AcOH (30 eq) | 60 | 40 min | 212c | - ^b |
| 9 | 207b | KF/K222 | DMSO | AcOH (6 eq) | 60 | 15 min | 212d | - ^b |
| 10 | 211a | KF/K222 | DMSO | AcOH (6 eq) | 60 | >18 h ^a | - | - |

^a pas de fluoration observée ; ^b produit non isolé, conversion >70%

Tableau 11 : Etude des conditions de fluoration

Si les radiofluorations nucléophiles de dérivés silylés sont usuellement effectuées en présence de KF et du cryptand K222, le TBAF **130** a également été étudié comme agent de fluoration de ces dérivés. Le K222 (1,10-diaza-4,7,13,16,21,24-hexaoxobicyclo[8.8.8]hexacosane ou Kryptofix®) est un cryptand [2,2,2] qui complexe le potassium dans sa cavité centrale tel que **131**. Cela permet d'augmenter fortement la nucléophilie de fluorures par séparation des paires d'ions dans les solvants non protiques.

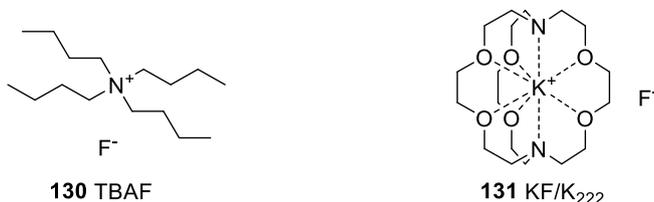


Figure 23 : Réactifs de fluoration nucléophile.

Dans un premier temps l'efficacité de la réaction a été étudiée. Lorsque **196a** est fluoré à 60°C par KF/K222 en présence d'acide acétique dans le THF, le fluorosilane **212a** est obtenu au bout de 48 heures avec 97% de rendement (Tableau 11, entrée 1). Le dipeptide **207a** est fluoré dans les mêmes conditions pendant 48 heures pour obtenir le dipeptide fluorosilane correspondant avec un rendement de 96% (entrée 3). Ces conditions ont également permis de fluorer totalement l'acide aminé **196b** en 48 heures (entrée 2). Puis, la cinétique de la réaction a été étudiée par RMN ^{19}F . Dans le cas de l'acide aminé

di-*i*-propylsilane **196b**, la fluoration par le TBAF se révèle très rapide avec l'obtention d'un rendement de 79% en seulement 20 minutes (entrée 4).

De même, à l'aide de TBAF dans le THF à température ambiante, une fluoration totale du dipeptide di-*i*-propylsilylé **207b** est obtenue en 20 minute (entrée 5). Par contre l'utilisation de ces conditions sur le dipeptide porteur de di-*t*-butylsilane **207a** n'a pas conduit à la formation de fluorosilane après 7 heures de réaction (entrée 6).

Lorsque le dipeptide **207a** est fluoré à 60°C par KF/K222 **131** en présence d'acide acétique dans le THF, la fluoration, bien que complète, est lente, aucune trace de fluorosilane n'est observée après la première heure de réaction (entrée 3). L'utilisation de DMSO, à la place de THF, dans des conditions similaires, permet une nette accélération de la réaction de fluoration, avec une fluoration totale réalisée en 60 minutes (entrée 7). Il a également été observé que l'augmentation de la quantité d'acide acétique dans le mélange réactionnel menait à une légère augmentation de la vitesse de fluoration (entrée 8). Une fluoration plus facile est là encore observée avec le dérivé di-*i*-propylsilane **207b** avec un temps de fluoration dans ces conditions de 15 min.

Enfin, ces conditions ont également été utilisées pour un essai de fluoration du dipeptide porteur de siloxane **211a**, aucune fluoration n'a été observée après 18h.

Il ressort de ces résultats que la vitesse de fluoration des silanes dépend de leur encombrement stérique et aussi des conditions de réaction. Cela s'explique par le mécanisme de substitution au niveau du centre silylé qui mène, par la formation d'un intermédiaire pentavalent **214**, à la rupture d'une liaison Si-X et à la formation d'une liaison Si-F (Schéma 44).

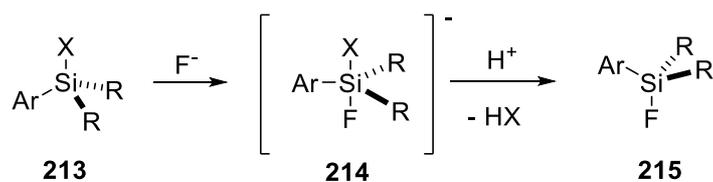


Schéma 44 : Mécanisme de fluoration d'aryldialkylsilane

Lorsque R= *i*-Pr l'encombrement stérique est plus faible qu'avec R= *t*-Bu, l'énergie d'activation requise pour la réaction de fluoration est plus faible. La fluoration est donc beaucoup plus rapide avec R= *i*-Pr qu'avec R= *t*-Bu, comme vérifié expérimentalement (entrées 4, 5, 9 vs entrées 6, 7).

D'un autre côté l'augmentation de la température de réaction permet une fluoration plus rapide. De même l'utilisation d'un solvant très polaire comme le DMSO plutôt que le THF permet de stabiliser l'état de transition **214a** et ainsi de faciliter la fluoration. De plus le DMSO présente également l'avantage d'être un meilleur solvant pour les peptides. Enfin sa température d'ébullition plus élevée permet de réaliser la fluoration à plus haute température.

Enfin les silanes **196a-b** et **207a-b** se révèlent plus réactifs que le siloxane **211a** car dans le cas de la fluoration de silane, il y a une rupture de liaison Si – H (76 kcal/mol) et la formation d'une liaison Si – F (135 kcal/mol) tandis que pour les dérivés méthoxysilane, il y a une rupture d'une liaison Si – O (108 kcal/mol) pour la création d'une liaison Si – F (135 kcal/mol), moins favorisée énergétiquement.

Finalement, ces résultats permettent de proposer le classement de fluoration suivant : *t*-Bu₂SiOMe < *t*-Bu₂SiH < *i*-Pr₂SiH et que les acides aminés et les peptides porteurs de groupes silanes préparés par la stratégie Wittig peuvent être fluorés dans des conditions compatibles au radiomarquage de peptides. Les fluorosilanes « froids » préparés seront utilisés comme échantillons de référence HPLC lors des radiomarquages.

2) Etude d'hydrolyse des dérivés fluorosilylés d'acides aminés ou de peptides

Les fluorosilanes **215** peuvent s'hydrolyser en silanols correspondants **216** (Schéma 45) ce qui constitue un inconvénient en tomographie par émission de positons car cela altère la résolution et la netteté des images. Le mécanisme d'hydrolyse proposé passe par la formation d'espèces pentavalentes

intermédiaires **217a** et **217b** dans lesquelles l'eau nucléophile attaque le centre silicium pendant que le départ du fluorure est assisté par la création d'une liaison hydrogène¹¹⁶ (Schéma 45).

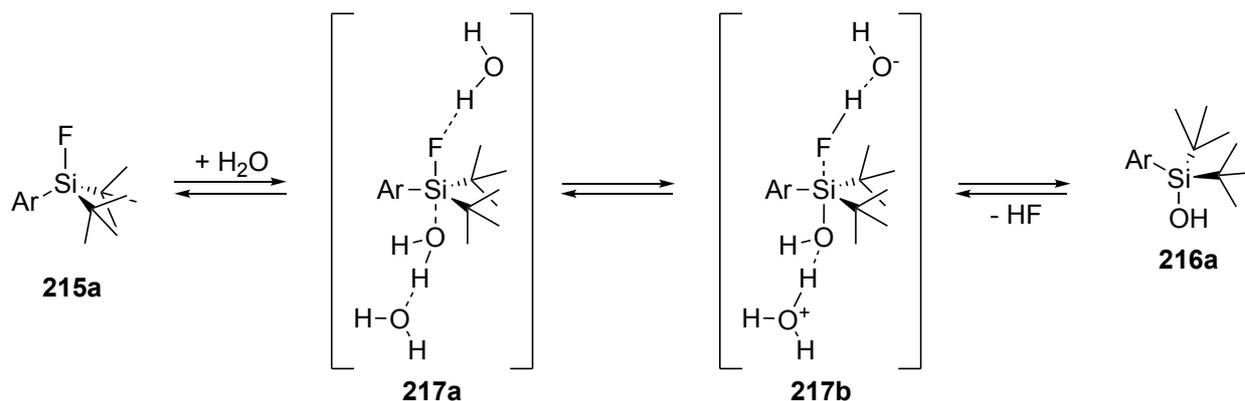


Schéma 45 : Mécanisme d'hydrolyse des fluorosilanes

L'étude d'hydrolyse des fluorosilanes **212c** et **212d**, qui a été réalisée dans un mélange 1 : 1 tampon phosphate aqueux (pH = 7.2) /DMSO à 25°C, montre que le composé **212c** est parfaitement stable dans ces conditions car seules des traces de fluorures libres sont observées par RMN ^{19}F après 10 jours (Figure 25). En revanche, dans le cas du dipeptide **212d**, l'hydrolyse est rapide avec un temps de demi-hydrolyse de 15 minutes.

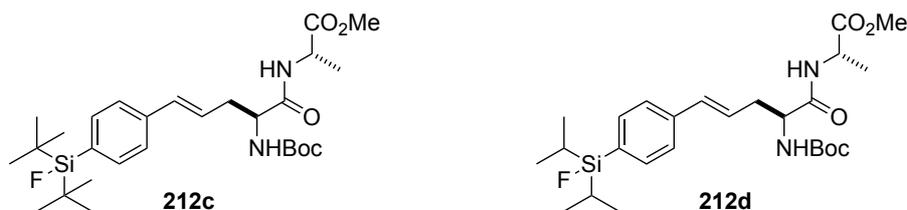


Figure 24 : Stabilité des fluorosilanes de dipeptides en hydrolyse

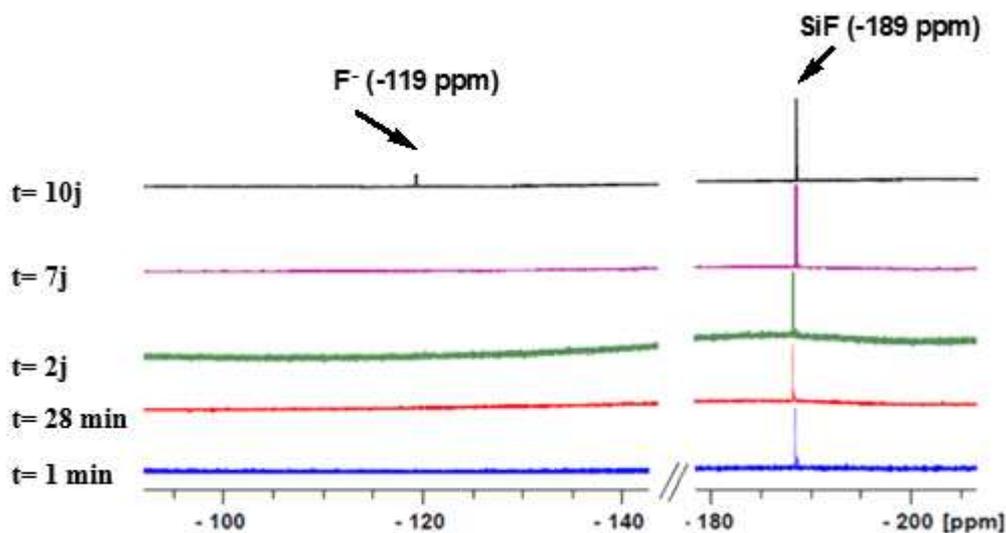


Figure 25: Etude d'hydrolyse de **212c** par RMN ^{19}F .

Pour le di-*t*-butylfluorosilane **212c** une hydrolyse très lente mais continue est observée. Dans le cas du dérivé di-*i*-propylfluorosilane **212d** l'hydrolyse est rapide sur les premières 25 minutes, puis se ralentit (Figure 26a). De plus une nouvelle espèce apparaît en RMN ^{19}F à plus haut champ (Figure 26b).

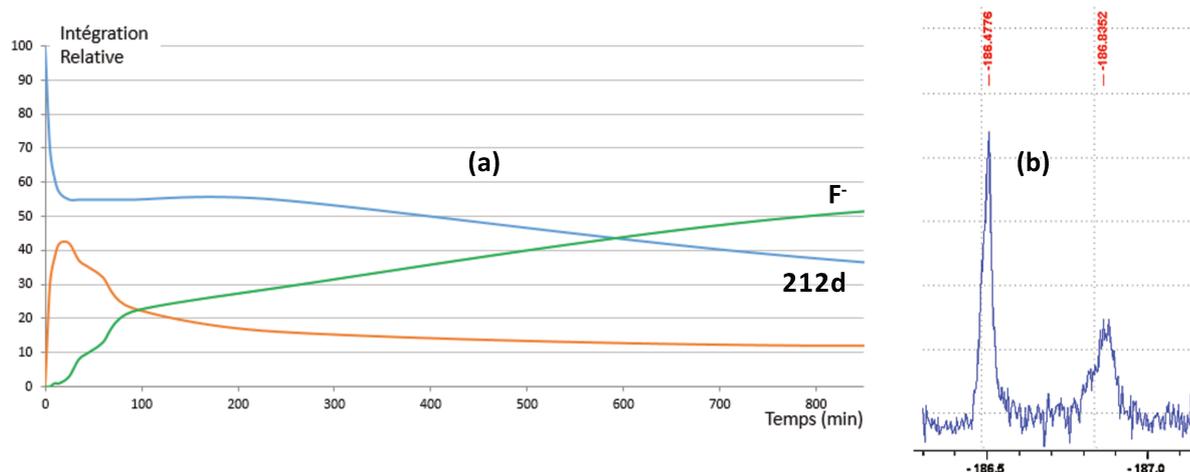


Figure 26 : a) Etude par RMN ^{19}F de l'hydrolyse de **212d**
 b) Signaux RMN ^{19}F de **212d** (-186,5 ppm) et de l'intermédiaire supposé **217** (-186,8 ppm)

Cette nouvelle espèce se forme très rapidement à partir du composé **212d** puis se transforme lentement en fluorures libres. Il s'agit donc probablement d'un intermédiaire stabilisé.

Compte tenu de la différence de cinétique lors de l'hydrolyse des fluorosilanes **212c** (très lente) et **212d** (rapide puis lente), cela amène à s'interroger sur le mécanisme d'hydrolyse de **212d**. En effet, la présence d'un signal supplémentaire en RMN du fluor à plus haut champ pendant l'hydrolyse semble indiquer la formation d'un intermédiaire stabilisé tel que l'hydrate **218** hydrate (Schéma 46).

La formation de cet intermédiaire dans le cas de **212d**, proviendrait de la diminution d'encombrement stérique autour de l'atome de silicium du fait de la présence de groupements *i*-Pr, plutôt que *t*-Bu. Ainsi, l'hydratation du di-*i*-propylfluorosilane **215b** doit conduire de façon réversible aux hydrates **217c** et surtout **218**, qui est stabilisé par liaisons hydrogènes intramoléculaires, ce qui expliquerait l'observation de cet intermédiaire par RMN ^{19}F (Figure 26). Comme la stéréopermutation des espèces pentavalentes du silicium demande une faible énergie (10-20 kcal/mol),^{132,133,134} l'équilibre entre les espèces hydratées **217c** et **218** s'explique par la formation de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et le fluorure.¹³⁵ Le départ du fluorure à partir de **217c** ou de **218** permet d'obtenir le silanol correspondant **216b** (Schéma 46).

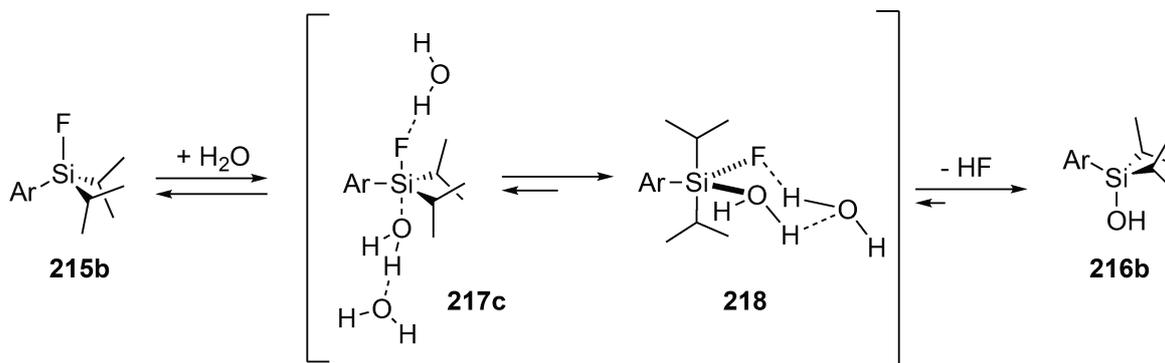


Schéma 46 : Mécanisme d'hydrolyse de fluorosilane SiF avec formation d'un hydrate stabilisé **218**

Compte tenu de l'hydrolyse rapide des dérivés di-*i*-propylfluorosilanes, les tests de radiomarquages ne seront effectués que sur les acides aminés et dipeptides di-*t*-butylsilylés.

132 Corriu, R. J. P. *J. Organomet. Chem.* **1990**, 400, 81.

133 Bassindale, A. R.; Sohail, M.; Taylor, P. G.; Korlyukov, A. A.; Arkhipov, D. E. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 3274.

134 Negrebetsky, V. V.; Baukov, Y. I. *Russ. Chem. Bull.* **1997**, 46, 1807.

135 Cypryk, M. *J. Organomet. Chem.* **1997**, 545-546, 483.

V] Radiomarquage par ^{18}F des dipeptides silylés.

Les données obtenues pendant les tests de fluoration avec du fluor 19 ont servi de références pour l'étude du radiomarquage de ces composés au fluor 18. Celle-ci a été réalisée au cours d'un séjour au sein de l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine (INCIA) à Bordeaux en octobre 2015 dans l'équipe du Pr. P. Fernandez et avec la collaboration de D. Vimont et du Dr. J. Schultz.

Le cyclotron présent sur place permet de produire le fluor 18 nucléophile sans additifs en irradiant une cible de H_2^{18}O avec un faisceau de protons de 60 μA pendant environ une heure. La réaction nucléaire ($^{18}_8\text{O} + ^1_1\text{p} \rightarrow ^{18}_9\text{F} + ^1_0\text{n}$) permet d'obtenir une solution de ^{18}F avec une activité de 100 à 130 GBq. Compte tenu des hautes activités, le mélange radioactif est transféré dans une cellule de réaction plombée *via* un circuit en PTFE (polytétrafluoroéthylène) où toutes les opérations sont réalisées par un automate de synthèse préalablement programmé.

Les ions fluorures générés sont piégés sur une cartouche de résine échangeuse d'anions QMA (fonctions ammoniums quaternaires), puis élués avec une solution 1 : 1 acétonitrile/eau de K222 et de carbonate de potassium. L'éluat est ensuite séché par entraînement azéotropique à 100°C d'acétonitrile pour donner le $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ anhydre. Une solution du peptide, dans 500 μL de DMSO et 3 μL d'acide acétique, est utilisée pour dissoudre le réactif obtenu et procéder au radiomarquage à la température désirée. Toutes les opérations de transfert de composés radioactifs sont réalisées automatiquement *via* une tubulure en PTFE.

Le mélange réactionnel radioactif obtenu est ensuite purifié par HPLC en phase inverse (C_{18}) pour donner le produit radiomarqué pur qui une fois fractionné en plusieurs échantillons, est analysé afin de déterminer l'activité molaire, le rendement radiochimique (RRC), ainsi que la stabilité du produit radiomarqué.

L'activité molaire, A_m , est une mesure de la pureté isotopique du fluor incorporé. Dans le cyclotron l'isotope radioactif ^{18}F est en effet systématiquement obtenu en mélange variable avec ^{19}F . Le radioisotope ^{18}F pur a une activité molaire de 63360 GBq/ μmol , cela représente donc l'activité molaire maximale possible. Par mesure simultanée de l'activité volumique (A_v en GBq/mL) et de la concentration du produit fluoré (C_m en $\mu\text{mol}/\text{mL}$) d'un échantillon donné, l'activité molaire est obtenue par la relation suivante :

$$A_m = \frac{A_v}{C_m} \text{ (en Gbq}/\mu\text{mol}).$$

Le rendement radiochimique, **RRC**, représente le rendement de la réaction en utilisant le ^{18}F comme réactif limitant. Il peut être calculé sans correction de la décroissance pour mesurer l'efficacité pratique de l'élaboration du traceur en incluant ainsi toutes les étapes de préparation à partir de la nucléosynthèse, incluant les étapes de radiosynthèse et de purification. Dans ce cas il est obtenu par calcul du rapport entre l'activité finale A_{finale} (du produit radiomarqué) et l'activité initiale A_{initiale} (du ^{18}F) selon la formule suivante :

$$\text{RRC} = \frac{A_{\text{finale}}}{A_{\text{initiale}}}$$

Le rendement radiochimique, **RRC**, peut également être calculé avec correction de la décroissance pour mesurer la performance de la réaction de marquage sans tenir compte du temps de synthèse.

Pour cela l'activité finale A_{finale} est corrigée de la décroissance radioactive pour obtenir l'activité corrigée du temps de préparation $A_{\text{corrigée}}$ selon la formule suivante :

$$A_{\text{corrigée}} = A_{\text{finale}} \times e^{(\lambda t)}$$

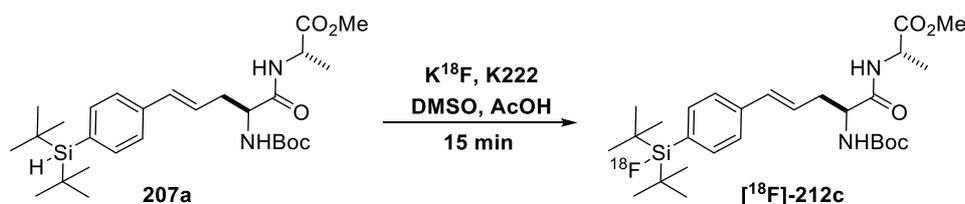
où λ est la constante radioactive du radioisotope, définie par $\lambda = \frac{\text{Ln}(2)}{\text{T}}$ où **T** est la demie-vie du radioisotope (109.77 minutes pour ^{18}F), et où **t** est le temps total de préparation. Le rapport de l'activité corrigée et de l'activité initiale permet alors d'obtenir le rendement radiochimique corrigé de la croissance :

$$\text{RRC} = \frac{A_{\text{corrigée}}}{A_{\text{initiale}}}$$

Dans ce travail, tous les rendements radiochimiques utilisés sont des rendements radiochimiques corrigés de la décroissance.

1) Etude du radiomarquage du dipeptide silylé insaturé **207a**

Il a été précédemment montré que le dipeptide silylé **207a** donnait lieu à une fluoration en 40 minutes dans le DMSO à 60°C en présence d'acide acétique (Tableau 11, page 41).



| | Activité initiale (GBq) | Température | Acide acétique | RRC (%) | Activité molaire (GBq/μmol) |
|---|----------------------------|-------------|----------------|---------------|--------------------------------|
| 1 | 120 | 100°C | 3 μL | 26 | 410 |
| 2 | 94 ± 9 | 80°C | 3 μL | 31 ± 8 | 169 ± 86 (n = 3) |
| 3 | 117 | 60°C | 3 μL | 28 | 158 |
| 4 | 122 | 80°C | 50 μL | 19 | 116 |
| 5 | 65 | 80°C | 3 μL | 29 | 93 |

Tableau 12 : Radiomarquage de **207a**

Des conditions similaires ont été appliquées pour le radiomarquage du dipeptide **207a** : 5 mg sont ainsi chauffés pendant 15 minutes entre 60 et 100°C en présence de 65 à 122 GBq de $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K}222$ dans une solution de 500 μL de DMSO avec 3 à 50 μL d'acide acétique. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 12.

La comparaison des essais réalisés à 100, 80 et 60°C (entrées 1, 2 et 3) montre une faible influence de la température sur le rendement radiochimique. Par contre les activités molaires montrent des différences significatives en fonction de la température de réaction choisie. Comme cela a été expliqué précédemment, l'activité molaire représente la pureté isotopique $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ pour le composé marqué. Parmi les différents mécanismes expliquant la dilution isotopique du ^{18}F ,¹³⁶ il apparaît que le phénomène de substitution isotopique est majoritaire dans cette étude. En effet, en augmentant la température de réaction, la radiofluoruration du silane est plus rapide et les $^{18}\text{F}^-$ ont moins tendance à s'échanger avec ceux du PTFE immergé dans le ballon de réaction. Une contribution mineure de la radiolyse du PTFE à la dilution isotopique du ^{18}F est aussi appuyée par l'essai réalisé avec une activité initiale deux fois inférieure, dans ce cas une activité molaire plus basse est obtenue (entrée 5 vs 3).

Lorsque la quantité d'acide acétique a été augmentée, une baisse significative du rendement radiochimique à 19% est observée (entrée 4). Cela s'explique certainement par une acidolyse partielle du groupement protecteur Boc, le produit déprotégé n'est pas récupéré après purification par HPLC et le rendement radiochimique est d'autant réduit.

Le temps de synthèse comprend l'isolement de $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K}222$, le radiomarquage en lui-même, et la purification par HPLC en phase inverse, pour une durée totale de 60 min, ce qui est appropriée pour l'utilisation du ^{18}F . Les conditions de radiomarquage optimisées ont été utilisées pour la réalisation de l'expérience en triplicata (n = 3) et permettent d'obtenir de bons rendements radiochimiques (31 ± 8%),

ainsi que des activités molaires élevées ($169 \pm 86 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$), et ce à une température de réaction compatible avec le radiomarquage de petits peptides au ^{18}F .

Une fois le radiomarquage de **207a** réalisé, l'étude de la stabilité du ^{18}F -fluorosilane ^{18}F -**212c** dans différents milieux a été réalisée. Pour cela le produit, dilué dans le milieu à étudier, est injecté régulièrement sur une HPLC analytique munie d'un détecteur UV/Visible ainsi que d'un compteur Geiger. Les chromatogrammes et radiochromatogrammes obtenus sont étudiés et comparés.

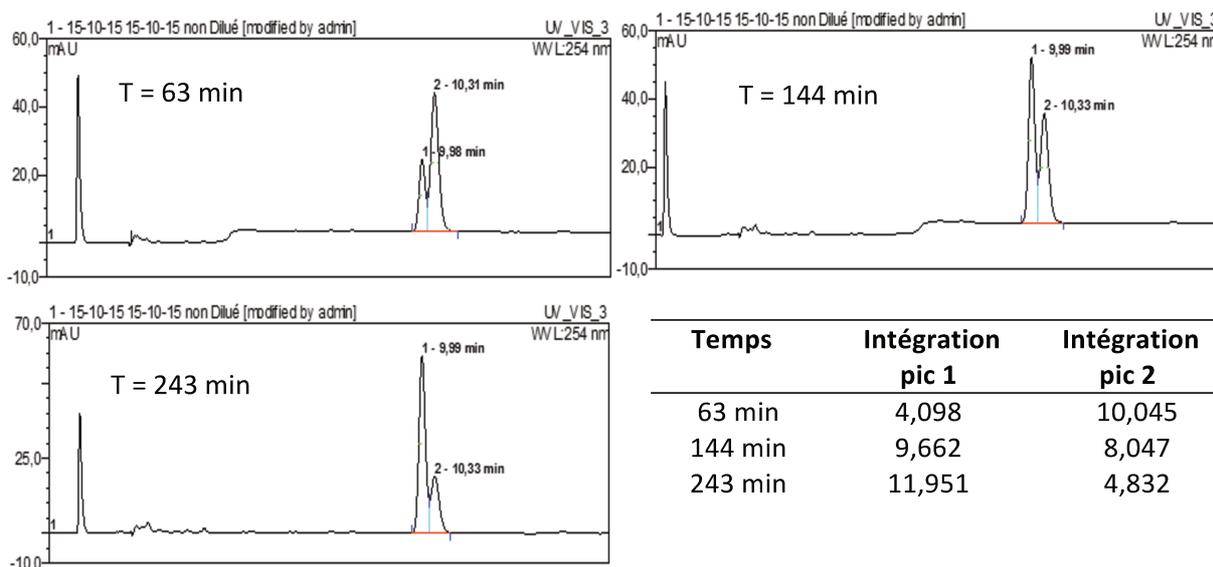
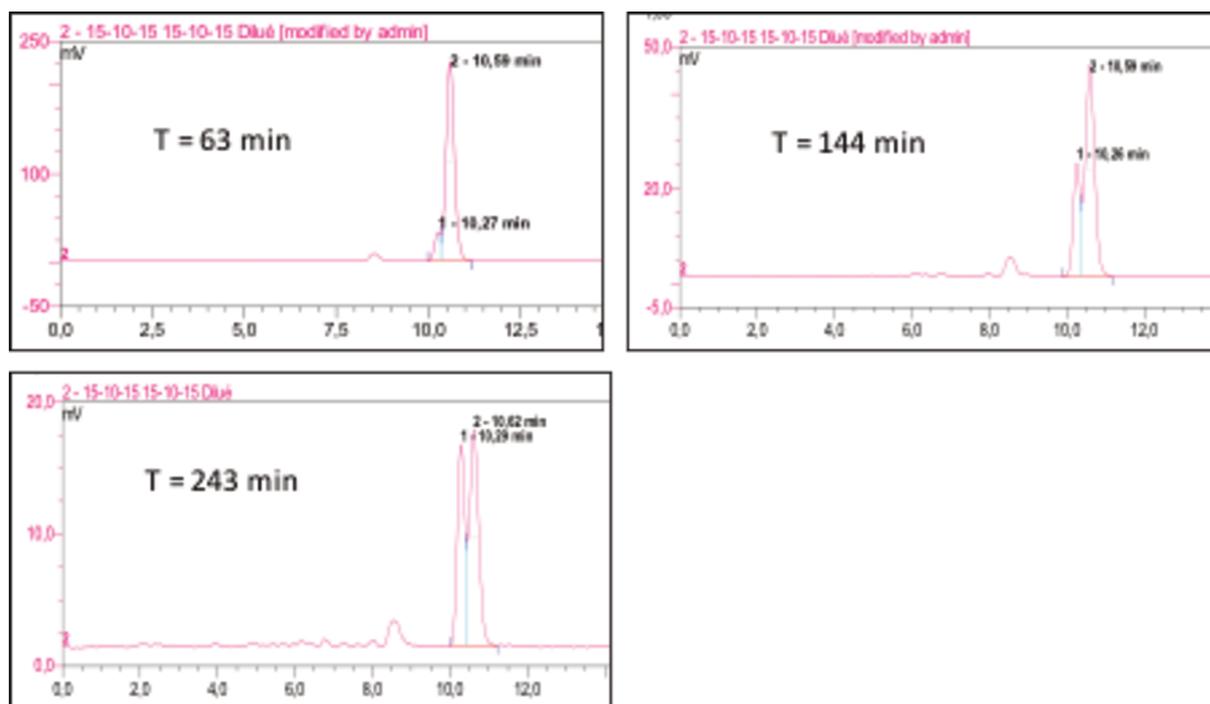


Figure 27 : Chromatogrammes avec détection UV de ^{18}F -**212c** en fonction du temps

Dans le mélange eau/acétonitrile 15 : 85 + 0.1% TFA (éluant HPLC préparative), une conversion rapide du composé ^{18}F -**212c** en un autre composé est observée en UV/Visible à 254 nm (Figure 27). Une co-injection avec le produit de référence **212c** a permis d'attribuer de façon certaine le pic avec un temps de rétention de 10,33 min à **212c**.

Le même phénomène de conversion en sous-produit est observé avec le compteur Geiger. Avec les radiochromatogrammes ci-dessous il apparaît de plus que ce nouveau composé est lui aussi radioactif (Figure 28). Pour des raisons techniques de distance entre les détecteurs, les temps de rétentions sont légèrement décalés (10.31 min vs 10.59 min par exemple).


 Figure 28 : Radiochromatogrammes de $[^{18}\text{F}]\text{-212c}$ en fonction du temps

Dans un premier temps, la vitesse de conversion de **212c** en un sous-produit a été suivie à différentes concentrations par HPLC UV/Visible à 254 nm. Deux solutions de fluorosilane $[^{18}\text{F}]\text{-212c}$, ont été préparées selon les conditions décrites précédemment (Tableau 12, entrée 2) et séparées en deux aliquots, un concentré et l'autre dilué avec une solution saline. Les premières solutions sont préparées par récupération de la fraction d'éluion de l'HPLC (éluant : eau/ CH_3CN 15 : 85 + 0.1% AcOH) contenant $[^{18}\text{F}]\text{-212c}$ et **212c** (Tableau 13, entrées 1 et 3). Les deuxièmes solutions sont préparées par dilution de cette solution concentrée par environ un facteur 15 avec une solution saline (NaCl 0.9%) (Tableau 13, entrées 2 et 4). Compte tenu des difficultés pour obtenir des résultats reproductibles en radiomarquage seul un nombre réduit de points a pu être collecté lors de cette étude.

| | Concentration initiale de 212c ($\mu\text{mol/L}$) | Activité volumique initiale (GBq/L) | Solution | Temps (minutes) | Concentration de 212c ($\mu\text{mol/L}$) |
|---|---|-------------------------------------|-------------------------|-----------------|--|
| 1 | 24,30 | 3839 | concentrée ^a | 63 | 17,26 |
| | | | | 144 | 13,83 |
| | | | | 243 | 8,30 |
| 2 | 1,99 | 314 | diluée ^b | 26 | 1,84 |
| | | | | 113 | 0,71 |
| | | | | 193 | 0,45 |
| 3 | 32,57 | 4397 | concentrée ^a | 136 | 23,63 |
| | | | | 205 | 18,93 |
| | | | | 1563 | 1,51 |
| 4 | 1,88 | 254 | diluée ^b | 94 | 1,73 |
| | | | | 188 | 0,88 |
| | | | | 1546 | 0,09 |

^a éluant eau/ CH_3CN 15 : 85 + 0.1% AcOH

^b éluant eau/ CH_3CN 15 : 85 + 0.1% AcOH + solution saline (1 : 15)

 Tableau 13 : Etude par HPLC de la concentration de **212c** en fonction du temps

L'examen des résultats du Tableau 13 montre que la vitesse de dégradation du composé fluorosilylé **212c** dépend de sa concentration. En effet si l'on trace les logarithmes des concentrations

de **212c** en fonction du temps, la diminution des logarithmes des concentrations en fonction du temps apparaît linéaire. Des pentes similaires ont été obtenues à différentes concentrations (Figure 29, expériences 1,3 et 2,4). Il ressort que la dégradation semble en bon accord avec une cinétique du 1^{er} ordre, dépendant donc uniquement de la concentration de ^{18}F -**212c**, selon l'équation de vitesse $V = k[^{18}\text{F}\text{-212c}]$.

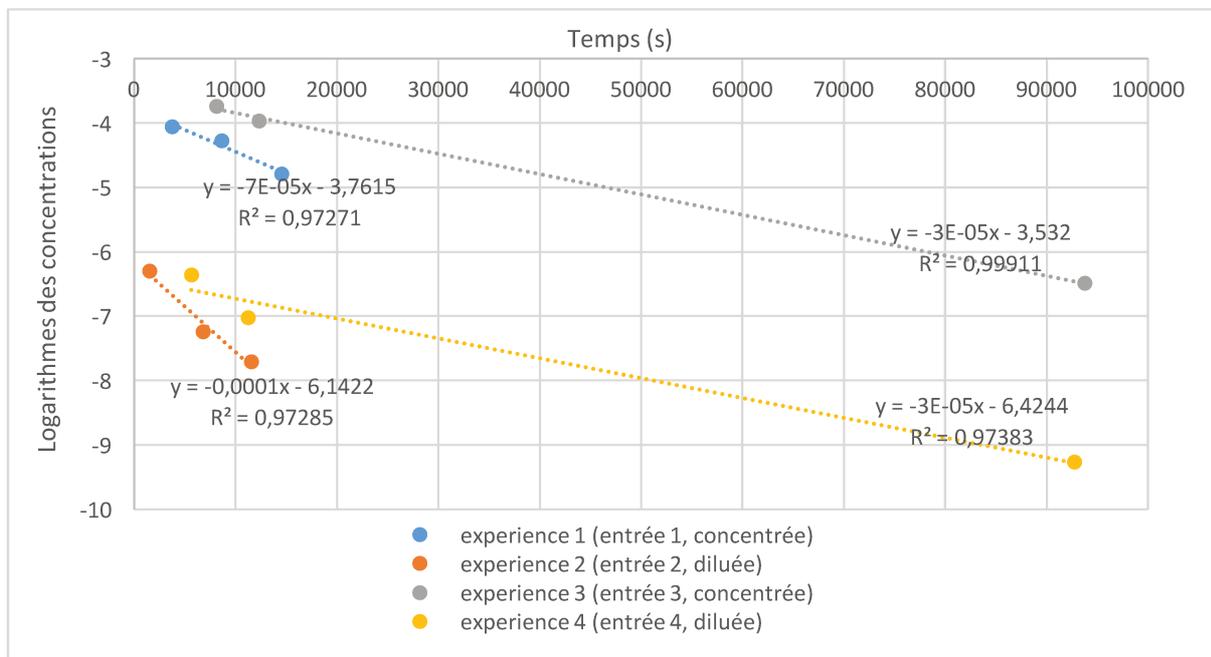


Figure 29 : Evolution du logarithme de la concentration de **212c** en fonction du temps

La dégradation de ^{18}F -**212c** provenant certainement d'une réaction radicalaire provoquée par le milieu ionisé, l'ajout d'acide ascorbique **219** au milieu a été étudié pour déterminer l'influence éventuelle d'un piège à radicaux.¹³⁷ En effet, il est bien connu que l'acide ascorbique (Vitamine C) est un excellent piège à radicaux du fait de sa capacité à perdre deux radicaux hydrogènes dans ces conditions, pour donner une espèce oxydée **219c** (Schéma 47).

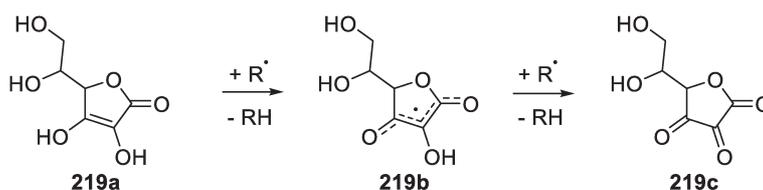


Schéma 47 : Propriétés antioxydantes de l'anion ascorbate

L'étude cinétique de cette conversion a été réalisée avec différentes concentrations d'acide ascorbique et de ^{18}F -**212c** pour en déterminer l'influence sur cette dégradation. Les solutions sont préparées de la même façon que précédemment (Tableau 13), l'acide ascorbique étant ajouté soit juste en sortie de colonne HPLC, soit 10 minutes après.

Les résultats du Tableau 14 montrent que l'ajout de 0.1% d'acide ascorbique **219**, soit directement après la purification soit après 10 minutes, entraîne un net ralentissement de la dégradation puisque la concentration de **212c** n'évolue pratiquement plus après 100 minutes (entrées 1 et 2). Dans le cas où 1% d'acide ascorbique **219** est ajouté, en sortie de colonne HPLC, la dégradation de **212c** est stoppée plus rapidement malgré une activité volumique plus élevée (entrée 3).

| | [212c] _{initiale} ($\mu\text{mol/L}$) | Activité volumique initiale (GBq/L) | Solution | Acide Ascorbique (temps après purification) | Temps (minutes) | [212c] ($\mu\text{mol/L}$) |
|---|---|--|-------------------------|---|--------------------|---------------------------------|
| 1 | 2,51 | 291 | Diluée ^b | 0.1% 219 (T+ 10 min) | 17 | 2,41 |
| | | | | | 107 | 1,46 |
| | | | | | 222 | 1,46 |
| 2 | 37,58 | 4359 | Concentrée ^a | 0.1% 219 (T+ 0 min) | 63 | 35,27 |
| | | | | | 159 | 28,37 |
| | | | | | 175 | 28,26 |
| 3 | 3,01 | 280 | Diluée ^b | 1% 219 (T+ 0 min) | 15 | 2.94 |
| | | | | | 98 | 0,98 |
| | | | | | 179 | 0,87 |

^a Eluant de chromatographie Eau/ CH_3CN 15 : 85 + 0,1% TFA

^b Eluant de chromatographie Eau/ CH_3CN 15 : 85 + 0,1% TFA + solution saline (1 : 15)

Tableau 14 : Suivi cinétique de la conversion de **212c** en milieu ionisant et en présence d'acide ascorbique

Au vu de ces résultats, la dégradation du dipeptide marqué [^{18}F]-**212c** en un sous-produit radioactif semble donc provenir d'une réaction radicalaire qui peut s'expliquer par la présence d'une double liaison sur la chaîne latérale du fait de la synthèse par réaction de Wittig. Malgré les tentatives de caractérisation du sous-produit par HPLC/MS, il n'a pas été possible d'établir avec certitude sa structure. Il est probable qu'il s'agisse d'un dérivé provenant d'une addition radicalaire sur la double liaison dans les conditions ionisantes.

Trois mécanismes peuvent être envisagés pour expliquer la formation de ce sous-produit radioactif. Dans le premier cas, la formation d'une oxazine **220a** est envisageable par addition intramoléculaire de l'amide sur la position γ de la chaîne latérale de **212c**. L'oxazine **220a** peut ensuite conduire à l'oxazinone correspondante **220b** (Schéma 48a).

Dans le second cas, la formation d'oxazine peut être envisagée par ouverture d'un époxyde **221a** formé à partir de dérivés réactifs de l'oxygène et du dipeptide insaturé **212c**. L'oxazine **221b** est elle aussi susceptible de conduire à l'oxazinone **221c** (Schéma 48b). Ces dérivés réactifs de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène peuvent se former dans l'eau en présence de rayonnements ionisants.^{138,139}

Enfin, le sous-produit radioactif peut provenir de l'hydratation anti-Markovnikov du dipeptide insaturé **212c** en un dérivé hydroxylé **222** (Schéma 48c).

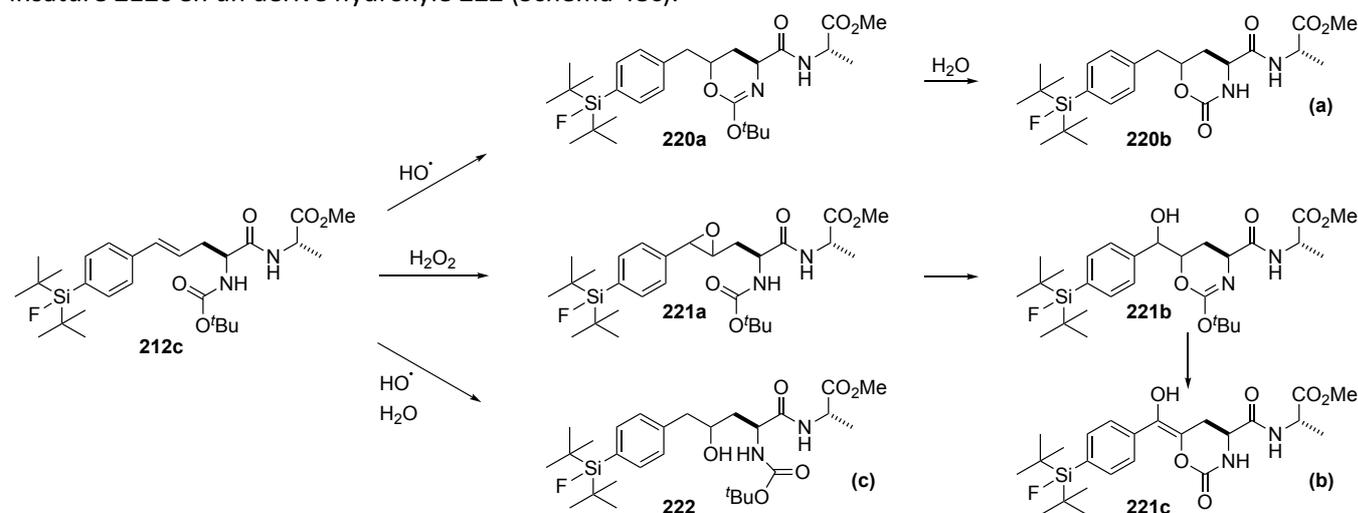


Schéma 48 : Mécanismes proposés pour la formation de sous-produits à partir de **212c**, dans les conditions de radiolyse

138 Hiroki, A.; Pimblott, S. M.; LaVerne, J. A. *J. Phys. Chem. A*. **2002**, 106, 9352.

139 Pastina, B.; LaVerne, J. A. *J. Phys. Chem. A*. **2001**, 105, 9316.

Bien que la fluoration du dipeptide insaturé silylé **212c** ait été démontrée par les différents tests de radiomarquage réalisés et qu'il soit possible de stabiliser le produit de radiomarquage [^{18}F]-**212c** par ajout d'acide ascorbique, la fluoration du dipeptide saturé **211a** par ^{18}F a également été envisagée afin d'étudier la stabilité du fluorosilane saturé.

2) Etude du radiomarquage du dipeptide silylé saturé **211a**

Bien que la fluoration de **211a** par $\text{KF}/\text{K222}$ à 60°C dans le DMSO n'ait pas été concluante (Tableau 11, entrée 10), des essais de radiomarquage ont été réalisés dans des conditions similaires à celles précédemment décrites (Tableau 12). Les résultats de radiomarquage sont indiqués dans le Tableau 15.



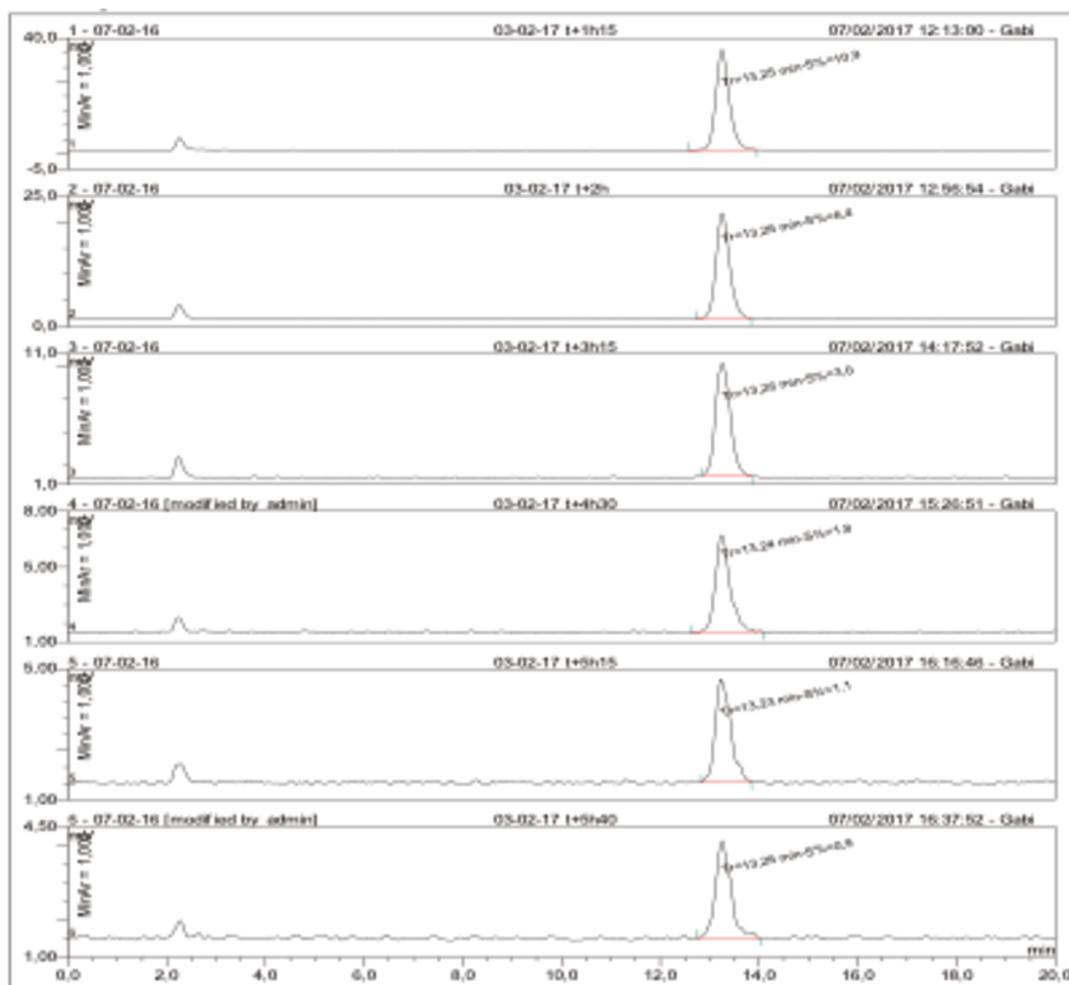
| | Température | Acide acétique | RCC (%) | Activité molaire (GBq/ μmol) |
|---|---------------------|-----------------|------------|--|
| 1 | 80°C | 3 μL | 12 ± 1 | 88 ± 11 (n = 5) |
| 2 | 100°C | 3 μL | 15 | 82 |

Tableau 15 : Etude du radiomarquage du dipeptide saturé **211a**

Comme cela avait été remarqué dans les tests préliminaires, la fluoration se révèle plus laborieuse avec le méthoxysilane **211a** qu'avec les silanes (SiH) **207a** et **207b**. Cela se traduit par de plus faibles rendements radiochimiques et de plus faibles activités molaires. Ainsi, lorsque le radiomarquage est réalisé à 80°C , un rendement radiochimique de $12 \pm 1\%$, et une activité molaire de 88 ± 11 GBq/ μmol (n = 5) sont obtenus (entrée 1). En comparaison le dipeptide silane insaturé **207a** donnait un rendement radiochimique de $31 \pm 8\%$ et une activité molaire de 169 ± 86 GBq/ μmol (n = 3) (Tableau 12, entrée 2). Dans le cas où le radiomarquage de **211a** est réalisé à 100°C , le rendement radiochimique et l'activité molaire obtenus sont comparables à ceux obtenus à 80°C (entrée 2).

Là encore, le temps total de radiomarquage qui comprend la préparation de $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$, le radiomarquage proprement dit et la purification par HPLC en phase inverse, se révèle être d'une heure ce qui est compatible avec l'utilisation du ^{18}F pour le marquage de peptides.

La stabilité du dipeptide saturé radiomarqué [^{18}F]-**212e** a été suivie par HPLC sur colonne C_{18} . Dans ce cas aucune dégradation n'est observée au bout de 5h40 (Figure 30).

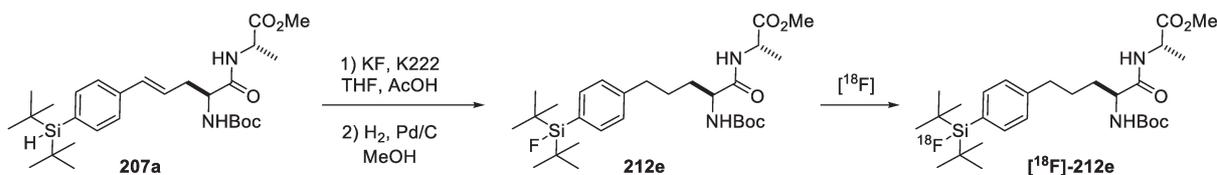

 Figure 30 : Etude de stabilité par HPLC du dipeptide saturé radiomarqué $[^{18}\text{F}]$ -**212e**

Par conséquent il ressort que le dipeptide saturé **211a** conduit à un produit radiomarqué $[^{18}\text{F}]$ -**212e** beaucoup plus stable que dans le cas de l'analogue insaturé **207a**, bien que le rendement radiochimique et l'activité molaire obtenus sont sensiblement plus faibles qu'avec $[^{18}\text{F}]$ -**212a**.

3) Etude du radiomarquage du dipeptide fluorosilylé **212e** par échange isotopique

Une seconde méthode a été envisagée pour radiomarquer les dipeptides silylés. Celle-ci consiste à réaliser un échange isotopique sur les $[^{19}\text{F}]$ -fluorosilanes avec des $[^{18}\text{F}]$ -fluorures. Cette méthode dite méthode SiFA (Silicon-Fluoride-Acceptor) a fait l'objet de nombreuses études et applications pour l'imagerie TEP.^{140,141,142}

Le dipeptide saturé fluorosilylé **212e** a été préparé à partir du précurseur insaturé **207a**, successivement par fluoration avec $\text{KF}/\text{K222}$ dans le THF à chaud avec une trace d'acide acétique, suivi d'une hydrogénation dans le méthanol en présence de Pd/C .


 Schéma 49 : Synthèse et radiomarquage du dipeptide fluorosilylé **212e**

140 Wängler, C.; Niedermoser, S.; Chin, J.; Orchowski, K.; Schirmacher, E.; Jurkschat, K.; Iovkova-Berends, L.; Kostikov, A. P.; Schirmacher, R.; Wängler, B. *Nat. Protoc.* **2012**, 7, 1946.

141 Lindner, S.; Michler, C.; Leidner, S.; Rensch, C.; Wängler, C.; Schirmacher, R.; Bartenstein, P.; Wängler, B. *Bioconjug. Chem.* **2014**, 25, 738.

142 Niedermoser, S.; Chin, J.; Wangler, C.; Kostikov, A.; Bernard-Gauthier, V.; Vogler, N.; Soucy, J.-P.; McEwan, A. J.; Schirmacher, R.; Wangler, B. *J. Nucl. Med.* **2015**, 56, 1100.

Le radiomarquage du dipeptide fluorosilylé par échange isotopique a été étudié dans le DMSO à température ambiante ou à 90°C ainsi qu'en utilisant deux sources de fluorures différentes, ^{18}F TBAF et $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$. Pour la préparation de $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ la méthode précédemment décrite (page 45) utilisant une cartouche de résine échangeuse d'ions QMA a été utilisée. Par contre pour l'obtention de ^{18}F -TBAF une autre résine échangeuse d'anions est utilisée, PS-HCO_3 , mais la méthodologie est similaire, les ions fluorures sont piégés par élution sur la résine puis ceux-ci sont récupérés par élution de la colonne avec une solution de TBAHCO_3 dans l'acétonitrile. En plus de la purification classique par HPLC en phase inverse sur colonne C18, des essais de purification sur cartouche d'alumine ont été réalisés. Les résultats de radiomarquage sont présentés dans le Tableau 16.

| Entrée | Cartouche | Source de fluorure | Activité initiale (GBq) | Température | Méthode de purification | RRC |
|--------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------|-------------------------|-------|
| 1 | QMA | $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ | 3,1 | 25°C | C18 | 0.01% |
| 2 | QMA | $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ | 4,9 | 90°C | C18 | 0% |
| 3 | QMA | $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ | 4,6 | 90°C | C18 | 0.13% |
| 4 | QMA | $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ | 2,8 | 25°C | Alumine | 0% |
| 5 | QMA | $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K222}$ | 6,2 | 90°C | Alumine | 0.08% |
| 6 | PS-HCO_3 | ^{18}F -TBAF | 2,7 | 25°C | C18 | 2.47% |
| 7 | PS-HCO_3 | ^{18}F -TBAF | 7,5 | 90°C | C18 | 0.95% |

Tableau 16 : essais de radiomarquage par échange isotopique

En dépit des différents essais effectués, l'échange isotopique sur le dipeptide fluorosilylé **212e** n'a pas donné un radiomarquage très probant puisque le rendement radiochimique maximal obtenu est de seulement 2.47% (entrée 6). L'utilisation de cartouche PS-HCO_3 et son élution avec du TBA-HCO_3 pour la purification des fluorures en sortie de cyclotron semble avoir un impact bénéfique sur le rendement radiochimique (entrées 6 et 7). Par contre l'utilisation d'une température de réaction élevée ainsi que l'utilisation de plus fortes activités semblent défavoriser le radiomarquage (entrée 6 versus 7).

Compte tenu de la faible énergie requise pour l'échange isotopique dans l'acétonitrile (obtenue par calculs DFT, 5-10 kcal/mol),¹⁴³ une faible influence de la température était attendue pour cette réaction. La diminution du rendement radiochimique lors de l'augmentation de la température peut s'expliquer par une pollution accrue du milieu réactionnel avec du ^{19}F provenant de la dégradation du PTFE comme expliqué précédemment.

VI] Conclusion du chapitre 1

Dans ce chapitre, une nouvelle méthode de synthèse d'acides aminés et peptides silylés ainsi que leur application pour la préparation de dérivés fluorés et pour le radiomarquage par ^{18}F sont décrits.

Le principe de la synthèse repose sur la réaction de Wittig entre un sel de phosphonium dérivé de l'acide aspartique avec un aldéhyde aromatique porteur d'un groupe silane (SiH) ou silanol (SiOH). Les acides aminés insaturés sont obtenus avec des rendements de 55 à 90% sous la forme d'un mélange d'isomères *E/Z* dans un rapport proche de 7 : 3. Dans le cas des acides aminés porteurs de groupes silanes, l'isomérisation en tout-(*E*) est effectuée quantitativement par chauffage en présence de disulfure de diphényle.

Les acides aminés silylés ont été utilisés pour préparer des dipeptides avec des rendements de 38 à 93% par couplage avec l'ester méthylique de la L-alanine. Dans un cas, le dipeptide silylé a été déprotégé au niveau de la fonction amine pour réaliser un couplage peptidique avec la N-Boc-

phénylalanine. Un tripeptide di-*t*-butylsilylé est obtenu dans ce cas avec 72% de rendement ce qui confirme que ces dérivés d'acides aminés sont parfaitement utilisables en synthèse peptidique.

La fluoration des acides aminés et dipeptides préparés a été étudiée dans la perspective d'un développement de tels composés pour le radiomarquage de biomolécules. Celle-ci a été réalisée sur une échelle préparative dans le THF à 60°C par utilisation de KF en présence de Kryptofix® et d'une trace d'acide acétique, les dérivés fluorosilylés correspondants sont obtenus avec des rendements de 79 à 97%. L'étude cinétique de la réaction de fluoration a permis de montrer qu'une nette accélération de la fluoration des dipeptides silylés est possible par utilisation de DMSO à la place du THF. Il a également été montré qu'une fluoration rapide de dérivés porteurs d'*i*-propylsilanes peut être réalisée à température ambiante par utilisation de TBAF dans le THF.

Afin de vérifier la stabilité des fluorosilanes dérivés d'acides aminés et peptides vis-à-vis de l'hydrolyse, une étude par RMN ^{19}F a été réalisée. Il ressort que le dipeptide fluorodi-*t*-butylsilylé se révèle particulièrement stable dans un mélange DMSO/tampon phosphate à pH = 7.2, car aucune trace de fluorures libres n'est détectable après plusieurs jours. En revanche dans le cas d'un dérivé fluorodi-*i*-propylsilylé, le peptide s'hydrolyse totalement en quelques heures et l'étude RMN ^{19}F a permis de mettre en évidence un intermédiaire attribué à un hydrate.

Enfin, l'étude du radiomarquage de dipeptides silylés a été réalisée en collaboration avec l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine à Bordeaux. Dans le cas du dipeptide di-*t*-butylsilane, le radiomarquage est réalisé avec $\text{K}^{18}\text{F}/\text{K}222$ par chauffage à 80°C dans le DMSO en présence d'acide acétique. Dans ces conditions, le fluorosilane est obtenu avec un rendement radiochimique de $31 \pm 8\%$ et une activité molaire de $169 \pm 86 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($n = 3$). Avec un chauffage à 100°C un rendement radiochimique de 26% et une activité molaire de $410 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ont été obtenus. Il s'agit d'une activité molaire parmi les plus élevées obtenues par utilisation de prémarqueurs silylés dans une séquence peptidique.

Cependant, il est apparu que le dipeptide [^{18}F]-fluorosilylé évolue en quelques minutes et selon une cinétique apparente d'ordre 1 vers un sous-produit radioactif. Cela a été attribué à une dégradation du dipeptide fluorosilylé insaturé par un processus radicalaire impliquant la double liaison conjuguée.

La fluoration par ^{18}F d'un dérivé dipeptide méthoxysilane saturé obtenu par hydrogénation du précurseur insaturé di-*t*-butylsilane dans le méthanol en présence de Pd/C, permet d'obtenir le produit radiomarqué correspondant, stable plus de 5 heures en tampon phosphate, avec $12 \pm 1\%$ de rendement radiochimique et présentant une activité molaire de $88 \pm 11 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($n = 5$).

Ces résultats démontrent que la voie de synthèse des acides aminés et peptides silylés par une stratégie utilisant une réaction de Wittig, offre une nouvelle méthodologie performante pour le radiomarquage par formation de liaison Si- ^{18}F .

Chapitre 2

Synthèse d'acides aminés et peptides porteurs de triazoles trisubstitués

Dans ce chapitre, une seconde méthode d'hémisynthèse permettant l'obtention d'acides aminés non naturels, hétérosubstitués ou fonctionnalisés est présentée. Le principe de cette hémisynthèse repose sur une cycloaddition [3+2] entre un azoture porté sur la chaîne latérale d'un acide aminé et un alcyne vrai ou interne.

I] Rappels bibliographiques sur la cycloaddition [3+2]

La synthèse de triazoles par réaction entre un alcyne et un azoture a été décrite pour la première fois par O. Dimroth en 1902.¹⁴⁴ Toutefois ce n'est que soixante ans plus tard que R. Huisgen a rationalisé le concept de cycloadditions 1,3-dipolaires.¹⁴⁵ Cette réaction sous activation thermique était alors cantonnée à l'utilisation d'alcyne appauvris en électrons à moins d'utiliser des conditions de chauffage à hautes températures (>110°C), et proposait un rendement limité en fournissant souvent le produit sous la forme d'un mélange d'isomères *syn* et *anti* (Schéma 50).

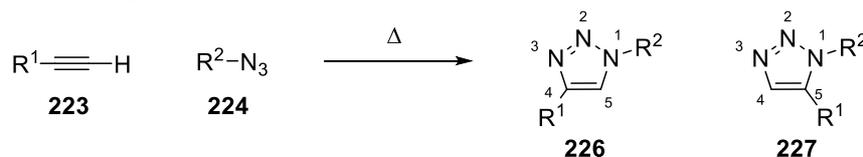


Schéma 50 : Réaction de cycloaddition azoture-alcyne [3+2] donnant des triazoles

Cette réaction est restée peu étudiée jusqu'aux travaux¹⁴⁶ de K. B. Sharpless *et al* qui ont mis en valeur l'utilité de cette réaction en tant que « chimie click », en particulier comme réaction de bioconjugaison et comme méthodologie en chimie combinatoire.¹⁴⁷ Le développement de la catalyse au cuivre, mené indépendamment par M. Meldal *et al*¹⁴⁸ et K.B. Sharpless *et al*,¹⁴⁹ dans la formation de triazoles a en effet permis l'utilisation de conditions beaucoup plus douces (température ambiante), une bien plus large chimiocompatibilité ainsi que l'obtention de rendements généralement très élevés. Enfin, le produit de réaction est obtenu sous la forme d'un seul régioisomère, le 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué.

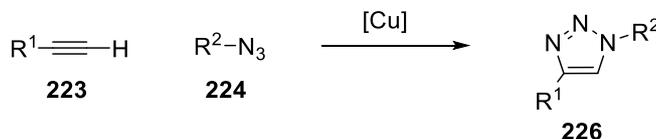


Schéma 51 : Cycloaddition azoture-alcyne [3+2] catalysée au cuivre

1) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués

A la suite de ces travaux, la formation de triazoles catalysée au cuivre (Copper Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition ou CuAAC) a connu un essor considérable et a eu un impact majeur dans de nombreux domaines de la chimie organique,¹⁵⁰ tels que la chimie des peptides, la bioconjugaison, la chimie médicinale, la chimie de coordination, la chimie supramoléculaire, la synthèse de dendrimères, la chimie des matériaux, la synthèse de polymères et bien d'autres. Compte tenu de l'importance de cette réaction, des études ont été réalisées sur le mécanisme de cette réaction.

V. V. Fokin *et al*, ont pu mettre en évidence par utilisation de cuivre marqué isotopiquement que le mécanisme implique deux ions Cu(I) (Schéma 52).¹⁵¹ Dans un premier temps la coordination π Cu-Alcyne **225a** permet d'abaisser le pKa du proton acétylénique qui rend ainsi possible la formation d'acétylure de cuivre **225b** et provoque la polarisation de la triple liaison. La coordination de l'azoture

144 Dimroth, O. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1902**, 35, 1029.

145 Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 633.

146 Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2001**, 40, 2004.

147 Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discov. Today* **2003**, 8, 1128.

148 Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057.

149 Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2002**, 41, 2596.

150 Meldal, M.; Tornøe, C. W. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2952.

151 Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. *Science* **2013**, 340, 457.

au complexe π de cuivre **225c** permet l'attaque de la triple liaison sur l'azoture par addition oxydante sur le complexe de cuivre **225d**. Puis, l'élimination réductrice provoque la formation du cycle triazole **225e** ainsi que la décooordination d'un ion Cu(I). Enfin la protonolyse du complexe σ triazole-cuivre permet la libération du triazole **226** et le retour du cuivre dans le cycle catalytique.

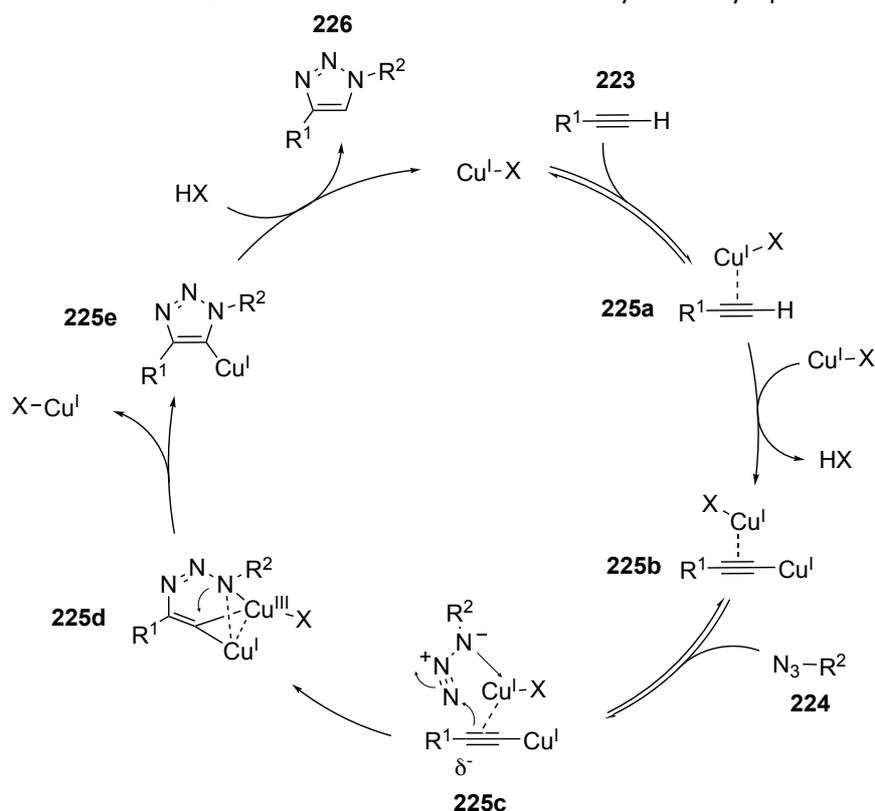


Schéma 52 : Mécanisme de la cycloaddition [3+2] catalysée au cuivre.

Certains groupes se sont intéressés à l'élaboration de ligands pour favoriser la réaction et pour protéger le catalyseur de l'oxydation. Des ligands de type triazole **228**,^{152,153} bipyridine **229**,¹⁵⁴ ou polyamine **230a** et **230b**,¹⁵⁵ ont été étudiés et ont montré une nette amélioration des performances de la réaction en termes de rendement et de charge catalytique (Figure 31). Toutefois ces ligands restent peu utilisés d'une part, parce que le cuivre est bon marché, et d'autre part parce qu'un ajout d'acide ascorbique est souvent suffisant pour permettre la réduction de Cu(II) en Cu(I) et garantir ainsi l'activité du catalyseur.

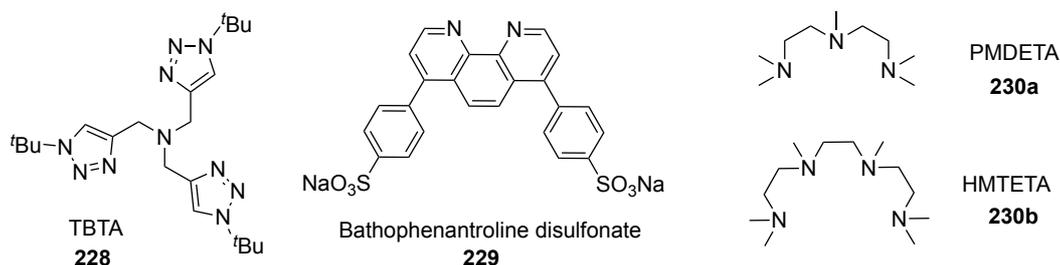


Figure 31 : Exemples de ligands utilisés en CuAAC

Grâce aux conditions douces utilisées lors de la synthèse et au caractère bioorthogonal des alcynes et des azotures, cette méthodologie a particulièrement marqué la chimie des peptides où les propriétés du triazole en tant que bioisostère de la liaison peptidique ont été largement exploitées.¹⁵⁶

152 Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, 6, 2853.

153 Hein, J. E.; Fokin, V. V. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 1302

154 Lewis, W. G.; Magallon, F. G.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9152.

155 Golas, P. L.; Tsarevsky, N. V.; Sumerlin, B. S.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules.* **2006**, 39, 6451.

156 Li, H.; Aneja, R.; Chaiken, I. *Molecules.* **2013**, 18, 9797.

En effet d'un point de vue structurel, certaines ressemblances entre une liaison peptidique *trans* et un 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué sont observées aussi bien au niveau des donneurs et accepteurs de liaisons hydrogènes qu'au niveau de la distance inter-acides aminés (Figure 32). Ces ressemblances sont suffisantes pour permettre de tromper certains sites actifs de récepteurs.¹⁵⁷

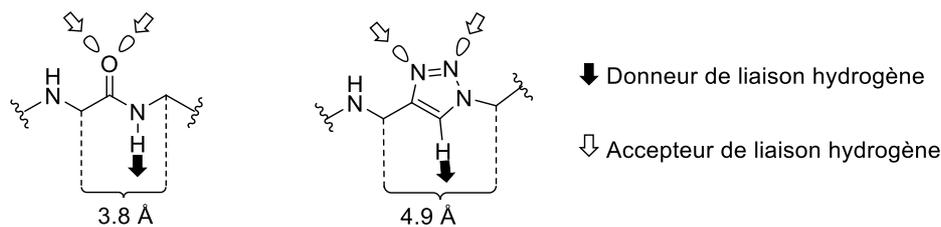


Figure 32 : Analogies entre une liaison peptidique *trans* et un 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué

Un certain nombre de différences entre ces deux liaisons existent cependant, le triazole est plus rigide et non-hydrolysable. Cela rend son utilisation en tant qu'analogue de liaison peptidique particulièrement intéressante pour éviter des problèmes de stabilité de peptides¹⁵⁸ ou pour mieux contrôler la structure secondaire de certains peptides.¹⁵⁹ Enfin, cet isostère est également utilisé comme agrafe afin de permettre la macrocyclisation de peptides qui est particulièrement difficile dans des conditions de couplage peptidique classique.¹⁶⁰

Devant l'intérêt suscité par la cycloaddition [3+2], la synthèse d'analogues 1,5-disubstitués a également été étudiée.

2) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués

Les premiers exemples de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués ont été synthétisés sélectivement par utilisation d'alcynures de magnésium (Schéma 53).¹⁶¹

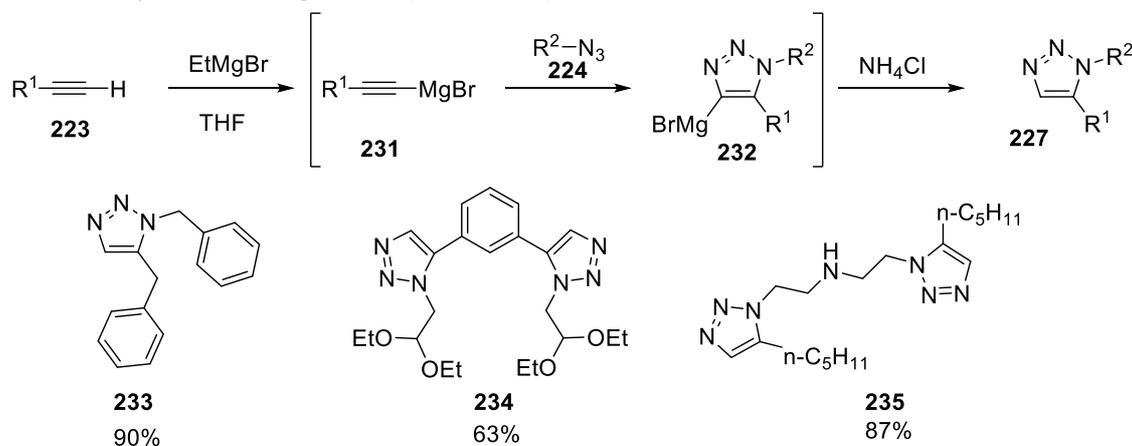


Schéma 53 : Premières synthèses régioselectives de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués

Cette synthèse permet d'obtenir un certain nombre de triazoles 1,5-disubstitués, tels que **233-235**, avec de bons rendements, mais elle présente l'inconvénient principal de passer par un Grignard ce qui limite fortement la fonctionnalité.

Une autre méthode se basant sur l'utilisation du ruthénium en quantité catalytique (ou RuAAC) a été développée. Contrairement à la CuAAC, une importance très forte des ligands sur le bon déroulement de la réaction ainsi que sur la régioselectivité a été observée (Tableau 17).¹⁶²

157 Valverde, I. E.; Mindt, T. L. *Chim. Int. J. Chem.* **2013**, 67, 262.

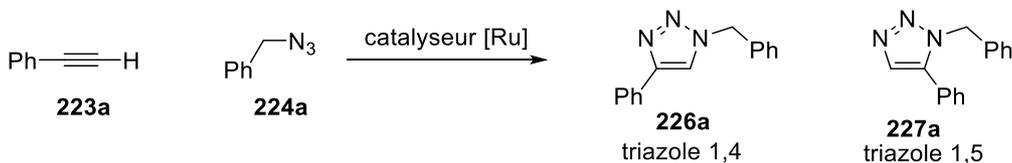
158 Valverde, I. E.; Bauman, A.; Kluba, C. A.; Vomstein, S.; Walter, M. A.; Mindt, T. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 8957.

159 Horne, W. S.; Yadav, M. K.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15366.

160 White, C. J.; Yudin, A. K. *Nat. Chem.* **2011**, 3, 509.

161 Krasinski, A.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, 6, 1237.

162 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.



| Catalyseur | Rendement | Régioselectivité 1,4:1,5 | Catalyseur | Rendement | Régioselectivité 1,4:1,5 |
|---|-----------|-----------------------------|---|-----------|-----------------------------|
| RuHClCO(PPh ₃) ₃ | < 20% | 100:0 | Cp*RuCl(PPh ₃) ₂ | 100% | 0:100 |
| RuCl ₂ (PPh ₃) ₂ | < 20% | 100:0 | Cp*RuCl(NBD) | 100% | 0:100 |
| Ru(OAc) ₂ (PPh ₃) ₂ | > 90% | 100:0 | Cp*RuCl(COD) | 100% | 0:100 |
| CpRuCl(PPh ₃) ₂ | 50% | 15:85 | [Cp*RuCl ₂] ₂ | 100% | 0:100 |

Tableau 17 : Influence des ligands sur la catalyse de cycloaddition [3+2] par un complexe de ruthénium

D'une façon générale, la catalyse par un complexe de ruthénium, même si un chauffage modéré (60-80°C) peut-être nécessaire, permet de réaliser la cycloaddition [3+2] avec un grand nombre de substrats fonctionnalisés.¹⁶³ De nombreux composés d'intérêt pharmacologique ou des synthons tels que les dérivés d'acide aminé **236**, de sucre **239**, de stéroïde **237**, de nucléoside **238**, de terpène **240** ou encore d'organoborane **241** peuvent être préparés en utilisant cette réaction (Figure 33).

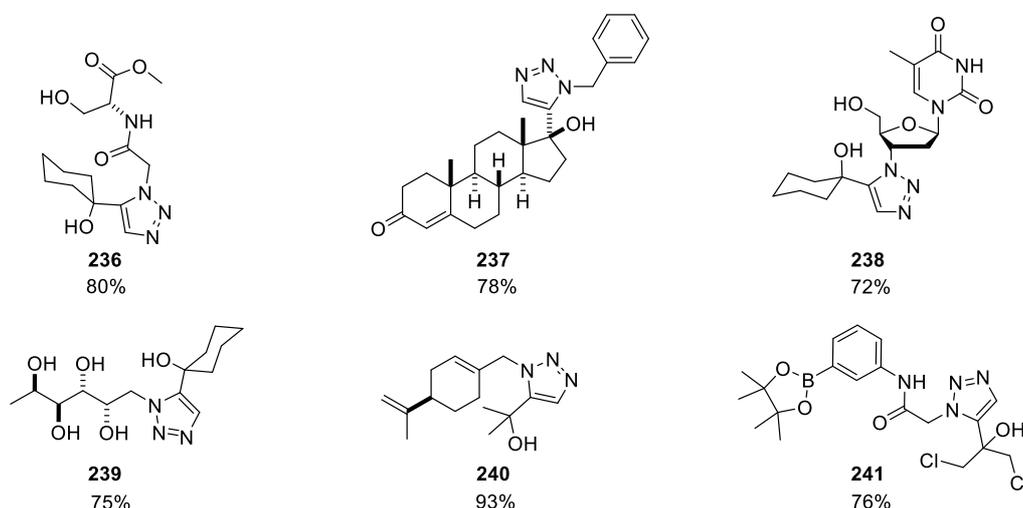
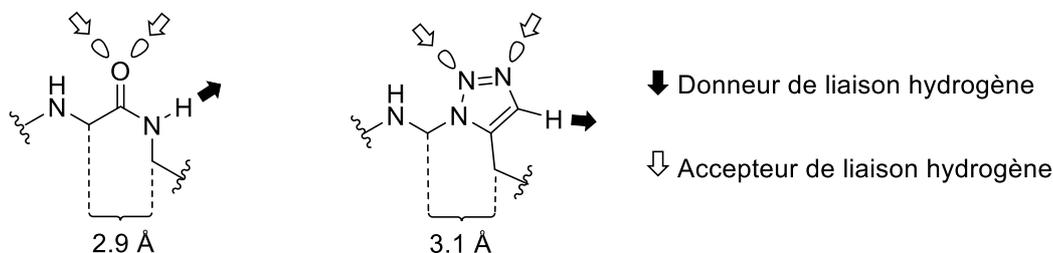


Figure 33 : Exemples de composés d'intérêt biologique et synthétique préparés par RuAAC

Avec cette méthodologie, la synthèse régioselective et bio-orthogonale de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués était rendue possible. Ces nouveaux triazoles ont ainsi trouvé des applications dans un grand nombre de domaines, la comparaison de ses performances avec celles de son régioisomère a été réalisée à de nombreuses reprises.¹⁶⁴ Il a ainsi pu être montré que ces nouvelles espèces sont également des bioisostères de la liaison peptidique dans sa configuration *cis* (Figure 34).¹⁵⁷


 Figure 34 : Analogies entre une liaison peptidique *cis* et un 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué

163 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.

164 Johansson, J. R.; Beke-Somfai, T.; Said Stålsmeden, A.; Kann, N. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 14726.

De plus, en partant de substrats identiques et selon la catalyse choisie, l'obtention d'analogues de la liaison peptidique dans une conformation *trans* ou *cis* est possible (Schéma 54).^{165,166}

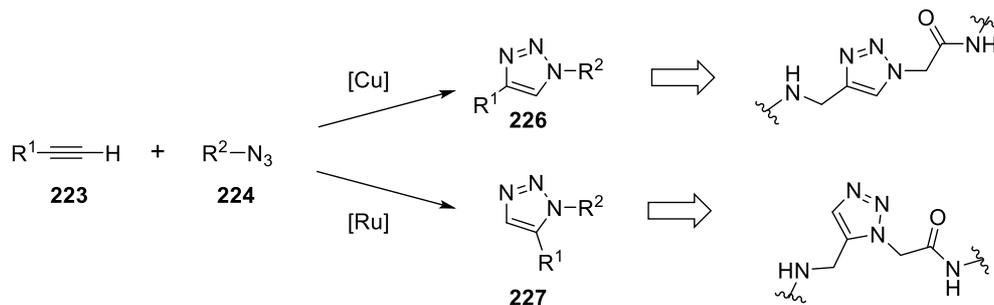


Schéma 54 : Synthèse régiodivergente de pseudo-peptides

Une autre méthode utilisant le nickelocène comme catalyseur a également été mise au point,¹⁶⁷ et permet d'obtenir de très bonnes régiosélectivités tout en étant compatible avec la polyfonctionnalité (Schéma 55).

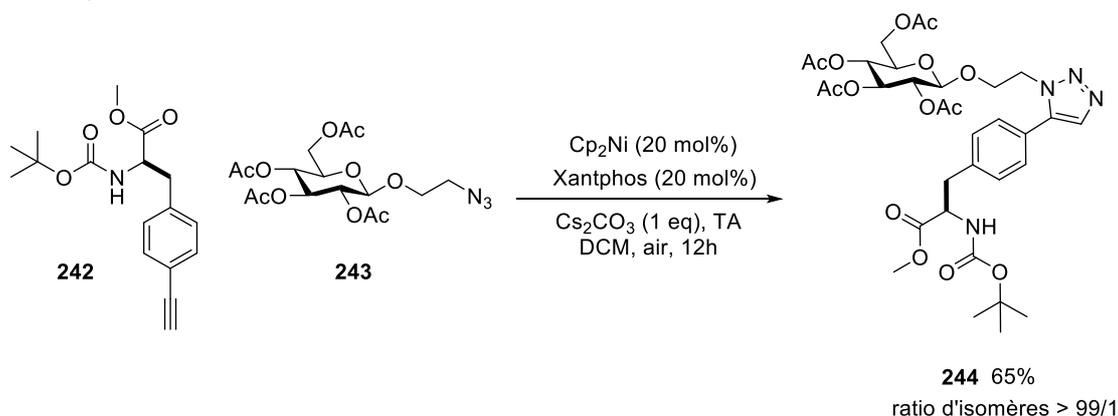


Schéma 55 : Synthèse de glycophénylalanine **244** par cycloaddition [3+2] catalysée par un complexe de nickel

3) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués

Après la synthèse des deux régioisomères des triazoles disubstitués l'intérêt s'est porté sur les possibilités de synthèse de triazoles trisubstitués et sur les possibilités de contrôler la régiosélectivité. Une méthode a été développée *via* la formation d'un dérivé iodotriazole **246**, par cycloaddition [3+2] avec un iodoalcyne **245**, qui est suivie d'une réaction de couplage catalysée par un complexe de palladium (Schéma 56).^{168,169}

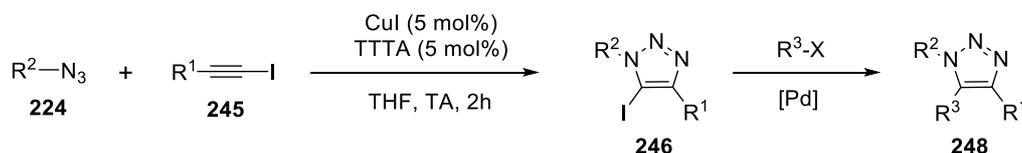


Schéma 56 : Synthèse de triazoles trisubstitués par réaction tandem cycloaddition/couplage

D'un autre côté, la méthode au ruthénium évoquée précédemment a été étendue aux alcynes internes. Le premier exemple concernant la synthèse d'un 1,2,3-triazole 1,4,5-trisubstitué concernait l'utilisation d'un alcyne symétrique, le diphénylacétylène **247a** (Schéma 57).¹⁶²

165 Kann, N.; Johansson, J. R.; Beke-Somfai, T. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 2776.

166 Isidro-Llobet, A.; Hadje Georgiou, K.; Galloway, W. R. J. D.; Giacomini, E.; Hansen, M. R.; Méndez-Abt, G.; Tan, Y. S.; Carro, L.; Sore, H. F.; Spring, D. R. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 4570.

167 Kim, W. G.; Kang, M. E.; Lee, J. B.; Jeon, M. H.; Lee, S.; Lee, J.; Choi, B.; Cal, P. M. S. D.; Kang, S.; Kee, J.-M.; Bernardes, G. J. L.; Rohde, J.-U.; Choe, W.; Hong, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 12121.

168 Hein, J. E.; Tripp, J. C.; Krasnova, L. B.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8018.

169 Ackermann, L.; Potukuchi, H. K. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4503.

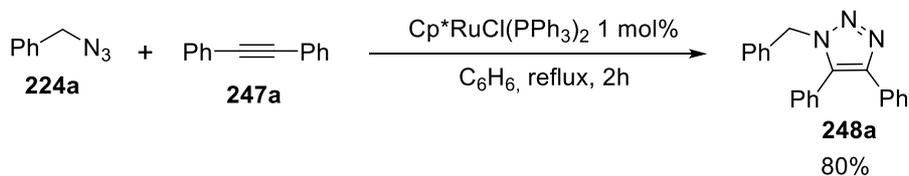


Schéma 57 : Cycloaddition [3+2] de diphenylacétylène catalysée par un complexe de ruthénium.

La cycloaddition et la régiosélectivité de la réaction de RuAAC avec des alcyne internes dissymétriques est apparue comme étant guidée à la fois par les paramètres électroniques de l'alcyne et par l'encombrement stérique de l'azoture et de l'alcyne. Le Tableau 18 reporte l'évolution de la régiosélectivité de la cycloaddition en fonction des substituants.¹⁷⁰

$$\text{R}^1-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^2 \quad + \quad \text{R}^3-\text{N}_3 \xrightarrow[\text{C}_6\text{H}_6, \text{ reflux}]{\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2 \text{ 10 mol\%}} \begin{matrix} \text{R}^3-\text{N}(\text{N}=\text{N})-\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2) \\ \text{248} \end{matrix} \quad \begin{matrix} \text{R}^3-\text{N}(\text{N}=\text{N})-\text{C}(\text{R}^2)(\text{R}^1) \\ \text{248}' \end{matrix}$$

| Entrée | R ¹ | R ² | R ³ | Rendement | Rapport 248:248' |
|--------|----------------|----------------------------------|-------------------|-----------|------------------|
| 1 | Ph | Me | Bn | 95% | 38:62 |
| 2 | Ph | Me | CHPh ₂ | 65% | 33:67 |
| 3 | Ph | Me | 1-adamantyl | 10% | 0:100 |
| 4 | Ph | Pr | Bn | 80% | 13:87 |
| 5 | Me | Pr | Bn | 75% | 32:68 |
| 6 | Et | Et | Bn | 85% | - |
| 7 | Me | <i>t</i> -Bu | Bn | 15% | 0:100 |
| 8 | Ph | CO ₂ Et | Bn | 85% | 100:0 |
| 9 | Ph | COMe | Bn | 100% | 100:0 |
| 10 | Ph | CH ₂ OH | Bn | 70% | 0:100 |
| 11 | Ph | CH(OEt) ₂ | Bn | 75% | 50:50 |
| 12 | Et | COMe | Bn | 90% | 100:0 |
| 13 | Et | CMe ₂ OH | Bn | 80% | 0:100 |
| 14 | Me | CH ₂ NEt ₂ | Bn | 70% | 0:100 |

Tableau 18 : Etude de la réaction de RuAAC avec des alcyne internes

Il apparait ainsi que l'encombrement crée par les substituants R¹, R² ou R³, est globalement défavorable à la réaction et que cet encombrement est un facteur important pour la régiosélectivité de la réaction (Tableau 18, entrées 1-7). D'un autre côté, les effets électroniques semblent néanmoins dominants pour la régiosélectivité de la réaction. Ainsi la présence de groupes électroattracteurs conjugués avec l'alcyne oriente systématiquement vers le régioisomère **248** ayant R² en position 4 (entrées 8,9 et 12). En revanche, la présence de groupes électrodonneurs, bien que non-conjugués, oriente fortement la régiosélectivité vers l'isomère **248'** ayant R² en position 5 (entrées 10, 13, 14). Les facteurs électroniques montrent une plus forte importance que les paramètres stériques puisqu'un alcyne très encombré non fonctionnalisé est très peu réactif (entrée 7), alors que des dérivés hétérosubstitués présentant un encombrement voisin (entrées 13 et 14) donnent de bonnes réactivités.

Cette méthode de cycloaddition [3+2] avec des alcyne internes et catalysée par des complexes de ruthénium a été appliquée pour la synthèse de composés polyfonctionnalisés ou d'intérêt biologique tels que **249-251**.¹⁶³

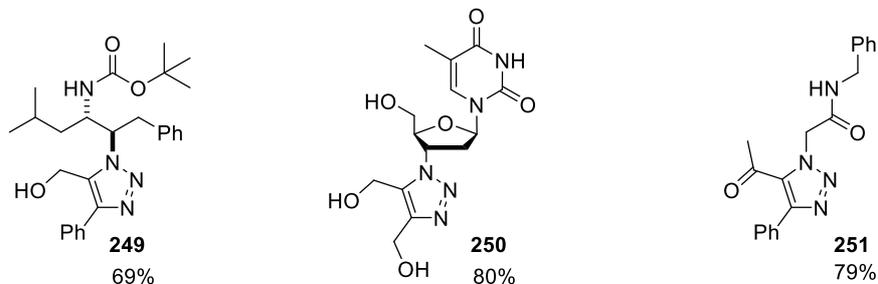


Figure 35 : Exemples de composés polyfonctionnalisés synthétisés par RuAAC

D'autres méthodes de synthèse de triazoles 1,4,5-trisubstitués ont été décrites, soit par cycloaddition [3+2] avec des alcynes internes, soit par C-H activation et couplage de triazoles 1,5-disubstitués en présence d'un catalyseur de palladium.¹⁷¹

Dans une première approche, un complexe d'iridium est utilisé comme catalyseur de la réaction de cycloaddition [3+2] entre des azotures **224** et des thioalcyne **252**. Cette méthode permet d'obtenir régiosélectivement et à température ambiante des triazoles trisubstitués **253** avec le substituant « thio » en position 5 (Schéma 58).¹⁷²

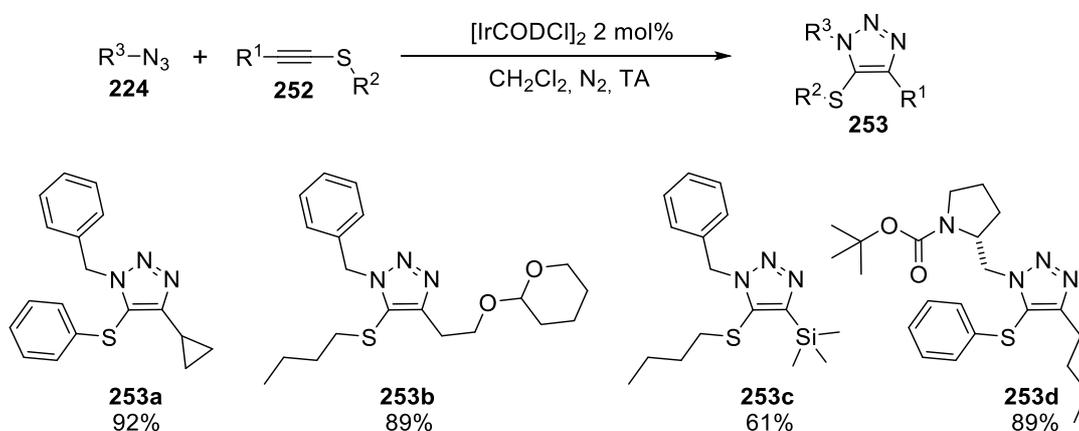


Schéma 58 : Cycloaddition [3+2] de thioalcyne catalysée par un complexe d'iridium

Une seconde approche est basée sur l'utilisation d'un complexe de rhodium comme catalyseur de la réaction de cycloaddition [3+2] entre des azotures **224** et des ynamines **254**. Cette approche a également permis l'obtention de différents triazoles trisubstitués **255** porteurs d'un groupe « amino » en position 5 (Schéma 59).¹⁷³

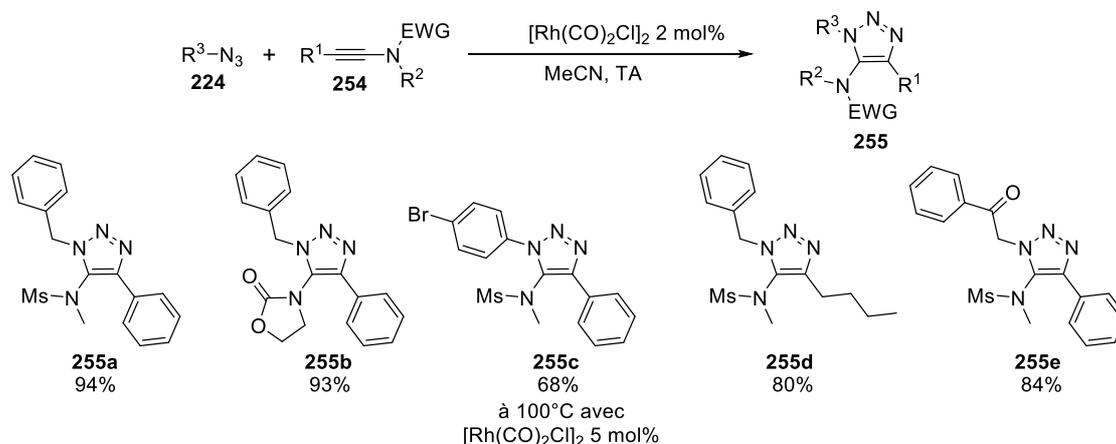


Schéma 59 : Cycloaddition [3+2] d'ynamines catalysée par un complexe de rhodium

 171 Wei, F.; Wang, W.; Ma, Y.; Tung, C.-H.; Xu, Z. *Chem Commun.* **2016**, 52, 14188.

 172 Ding, S.; Jia, G.; Sun, J. *Angew. Chem.* **2014**, 126, 1908.

 173 Liao, Y.; Lu, Q.; Chen, G.; Yu, Y.; Li, C.; Huang, X. *ACS Catal.* **2017**, 7529.

Cette cycloaddition d'ynamines permet également l'accès à des pseudo-peptides tels que **256**. Les 5-amino-triazoles ont également montré leur intérêt dans l'élaboration de composés tels que **257** pour le traitement de maladies inflammatoires du rein,¹⁷⁴ ou **258** qui est un antiparasitaire pour coccidies (Figure 36).¹⁷⁵

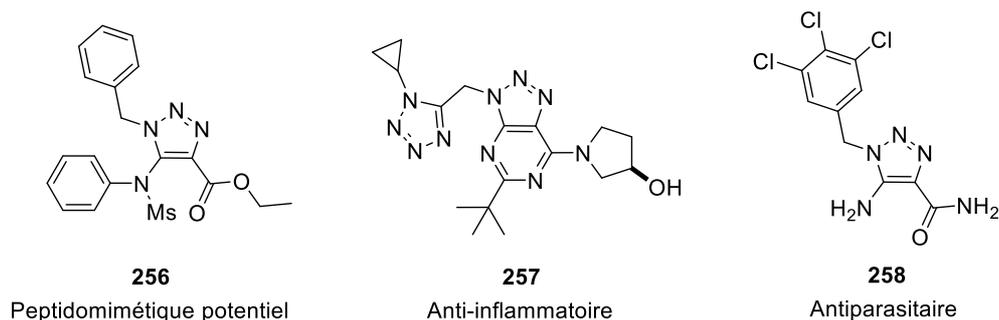


Figure 36 : Intérêt des 5-amino-triazoles 1,4-disubstitués

4) Synthèse de 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués par libération de tension de cycle

Enfin, une méthode de synthèse de triazoles 1,4,5-trisubstitués sans catalyse par des métaux de transition, a été développée par C. R. Bertozzi *et al.*¹⁷⁶ Celle-ci repose sur la libération de tension de cycle de cycloalcyne (Strain Promoted Azide Alkyne Cycloaddition ou SPAAC). Elle permet l'obtention d'excellents résultats que ce soit en termes de cinétique, de sélectivité ou de rendement. Cette réaction bioorthogonale a été largement étudiée pour ses performances en bioconjugaison. Elle a notamment été utilisée pour le radiomarquage de peptides¹¹³ et de biomolécules¹⁷⁷ ainsi que pour l'étude de processus biologiques *in vivo* par fluorescence.¹⁷⁸

Bien que de nombreuses équipes se soient intéressées à l'amélioration de cette réaction, la plupart des efforts se sont concentrés sur la modification du cycloalcyne pour l'amélioration des performances en bioconjugaison par augmentation de la cinétique. De nombreux cycloalcyne tels que **259a-d**, ont ainsi été développés (Schéma 60).¹⁷⁹

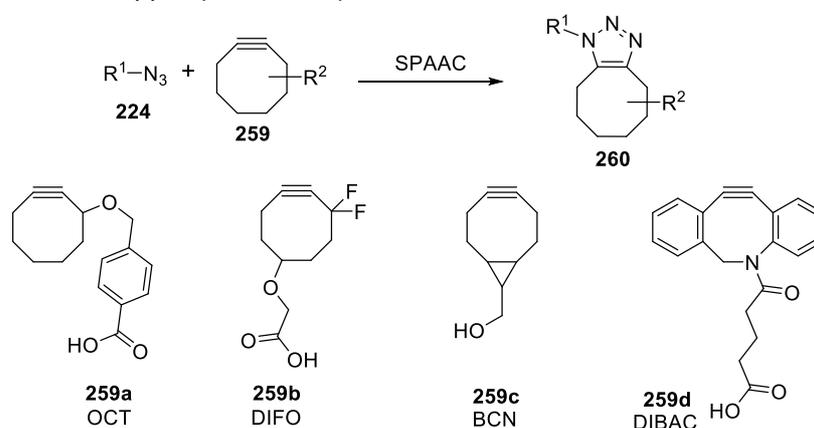


Schéma 60 : Exemples de cyclooctynes utilisées en cycloaddition par libération de tension de cycle

174 Nettekoven, M.; Adam, J.-M.; Bendels, S.; Bissantz, C.; Fingerle, J.; Grether, U.; Grüner, S.; Guba, W.; Kimbara, A.; Ottaviani, G.; Püllmann, B.; Rogers-Evans, M.; Röver, S.; Rothenhäusler, B.; Schmitt, S.; Schuler, F.; Schulz-Gasch, T.; Ullmer, C. *ChemMedChem*. **2016**, *11*, 179.

175 Sjogren, E. B.; Rider, M. A.; Nelson, P. H.; Bingham, S.; Poulton, A. L.; Emanuel, M. A.; Komuniecki, R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 3295.

176 Agard, N. J.; Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046.

177 Zeng, D.; Zeglis, B. M.; Lewis, J. S.; Anderson, C. J. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 829.

178 Dehnert, K. W.; Baskin, J. M.; Laughlin, S. T.; Beahm, B. J.; Naidu, N. N.; Amacher, S. L.; Bertozzi, C. R. *ChemBioChem*. **2012**, *13*, 353.

179 McKay, C. S.; Finn, M. G. *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 1075.

Ce n'est que très récemment que des recherches ont été réalisées sur la modification du cycloalcyne pour des applications en synthèse de la SPAAC avec notamment l'emploi de cycloalcynes porteurs de sulfamates.¹⁸⁰

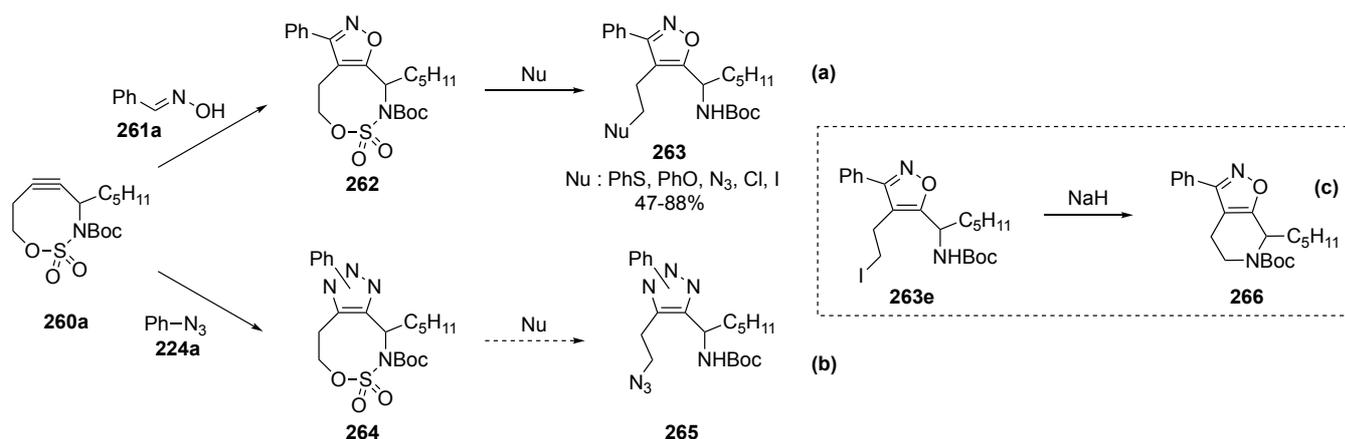


Schéma 61 : Utilisation de cyclooctyne sulfamate pour l'obtention de cycloadduits trisubstitués fonctionnalisés par ouverture de cycle

Cette stratégie repose dans un premier temps sur l'utilisation de la tension de cycle de la cyclooctyne **260a** pour réaliser la cycloaddition [3+2] avec une oxime **261** en présence de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (Schéma 61a), ou avec un azoture **224** (Schéma 61b). Dans un second temps, le dérivé bicyclic **262** a été ouvert au niveau du sulfamate avec des nucléophiles variés pour obtenir les isoxazoles fonctionnalisés **263a-e** avec des rendements globaux de 47-88%. Enfin, le dérivé **263e** a pu être cyclisé en présence de NaH pour conduire au dérivé bicyclic **266** (Schéma 61c).

Bien que cette séquence réactionnelle n'ait pas été entièrement réalisée sur le produit de cycloaddition avec l'azoture, ses bonnes performances sur le produit d'addition avec différentes oximes laissent supposer une réactivité similaire pour le dérivé triazole.

5) Exemples d'utilisation des 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués

Jusqu'à présent l'utilisation de triazoles 1,4,5-trisubstitués dans le domaine des peptides consiste essentiellement en leur application comme méthode de bioconjugaison utilisant la SPAAC. Seulement de rares exemples proposent une autre utilisation des 1,2,3-triazole 1,4,5-trisubstitués.

H. Kuijpers *et al* ont été les premiers à décrire une méthode de synthèse de glycoacides aminés **269** par cycloaddition avec des bromoalcynes **267** (Schéma 62).¹⁸¹ L'intérêt de cette synthèse réside dans l'obtention de triazoles trisubstitués par catalyse au cuivre. Le bromotriazole **269** permet d'envisager la fonctionnalisation par des réactions de couplage catalysées au palladium.^{169,171} De plus les conditions modérées utilisées sont compatibles avec le dérivé azoture en position anomérique du glucose **268**.^{161,182}

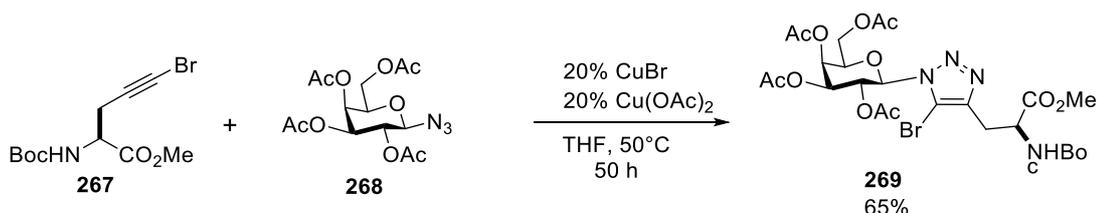


Schéma 62 : Synthèse d'un glyco-acide aminé porteur d'un triazole bromé

180 Burke, E. G.; Schomaker, J. M. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 9038.

181 Kuijpers, B. H.; Dijkmans, G. C.; Groothuys, S.; Quaedflieg, P. J.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. *Synlett.* **2005**, *20*, 3059.

182 Wu, Y.-M.; Deng, J.; Li, Y.; Chen, Q.-Y. *Synthesis.* **2005**, *8*, 1314.

La synthèse d'un acide aminé quaternaire portant un triazole trisubstitué a été proposée par Zhou *et al* (Schéma 63).¹⁸³ Malgré l'excès énantiomérique moyen obtenu lors de la construction du centre quaternaire, le reste de la synthèse se fait sans racémisation et peut donc être considéré comme compatible avec la synthèse d'acides aminés quaternaires porteurs de triazoles trisubstitués. Cette synthèse utilise la réactivité accrue des alcynes électroniquement appauvris par cycloaddition thermique avec les azotures. Il s'agit du seul exemple d'acide aminé quaternaire porteur de triazole trisubstitué décrit dans la littérature.

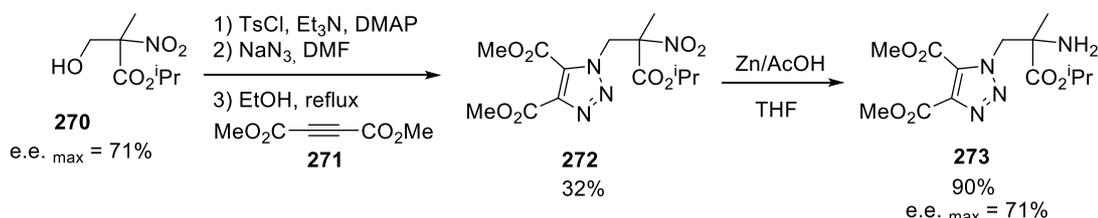


Schéma 63 : Synthèse d'acide aminé quaternaire porteur de triazole trisubstitué sur la chaîne latérale

Une synthèse d'acide aminé porteur d'un complexe d'or **276** a été décrite par G. Gray *et al*.¹⁸⁴ Dans ce cas l'étape clef de la synthèse repose sur une cycloaddition [3+2] entre l'alcyne d'or **274** et l'azoture d'acide aminé **275** qui conduit au triazole trisubstitué **276** avec 89% de rendement (Schéma 64).

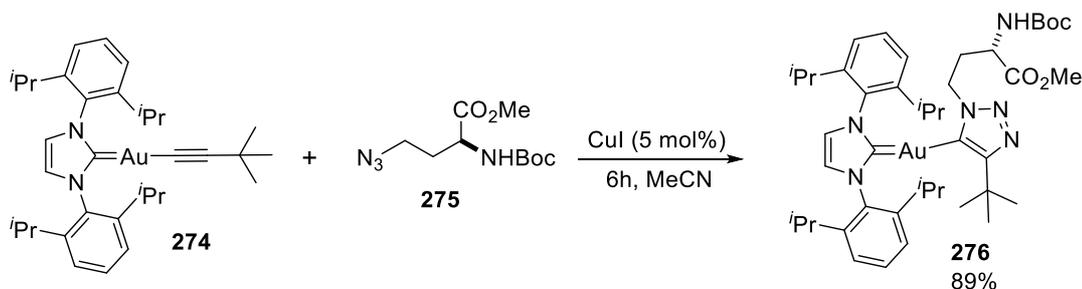


Schéma 64 : Synthèse d'un acide aminé porteur d'un complexe triazole-Or-NHC

L'efficacité remarquable de la cycloaddition [3+2] est à nouveau démontrée par cette synthèse car le noyau triazole est porteur de groupes très encombrés en positions 4 et 5, respectivement un *t*-butyle et un complexe Au-(1,3-bis(2,6-di-*i*-propylphenyl)imidazol-2-ylidene).

S. Chandrasekaran *et al* se sont intéressés à l'utilisation de triazoles trisubstitués sur la chaîne latérale d'acides aminés (Schéma 65) pour synthétiser des molécules d'intérêt thérapeutique.¹⁸⁵

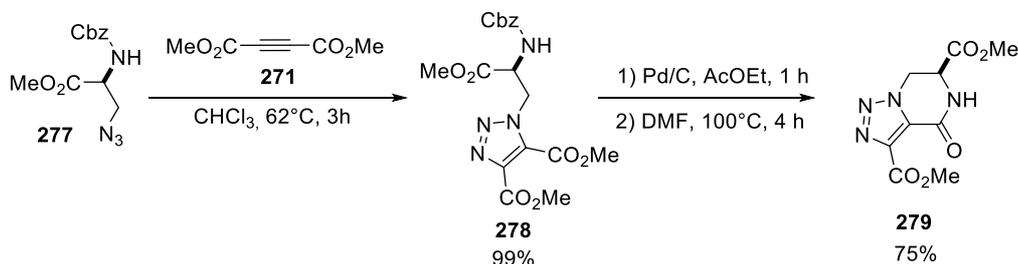


Schéma 65 : Utilisation de triazoles trisubstitués pour la synthèse d'acides aminés hétérocycliques.

Dans ce cas la cycloaddition thermique dans le chloroforme du but-2-ynedioate de méthyle **271** avec le β -azoture d'acide aminé **277** donne quantitativement le dérivé triazole trisubstitué **278**. Après la

183 Ji, C.-B.; Liu, Y.-L.; Cao, Z.-Y.; Zhang, Y.-Y.; Zhou, J. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 6118.

184 Heckler, J. E.; Deligonul, N.; Rheingold, A. L.; Gray, T. G. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 5990.

185 Sai Sudhir, V.; Phani Kumar, N. Y.; Nasir Baig, R. B.; Chandrasekaran, S. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 7588.

déprotection du groupe Cbz suivie d'une cyclisation intramoléculaire par formation d'une fonction amide, l'acide aminé **279** est obtenu avec 75% de rendement.

M. Taddei *et al* se sont penchés sur la synthèse de mimes de peptides à base de triazoles trisubstitués.¹⁸⁶ Ces acides β -aminés ont été obtenus par cycloaddition d'ynamines **280** catalysée par un complexe de ruthénium (Schéma 66). L'utilisation du triazole d'acide aminé en synthèse peptidique a permis d'obtenir différents analogues de peptides tels que **282b** qui présente de prometteuses propriétés anticancéreuses.

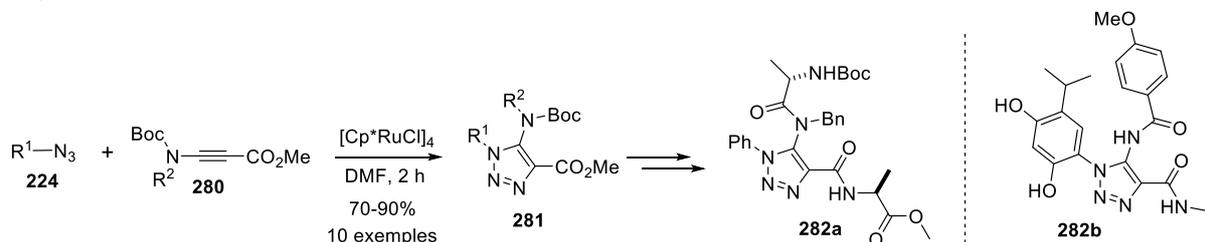


Schéma 66 : Synthèse de mimes de peptides à base de triazoles trisubstitués

Enfin, Marsault *et al* se sont intéressés à l'élaboration d'antagonistes de la Motiline, une hormone stimulatrice du péristaltisme digestif, en synthétisant une série de tripeptides macrocycliques.¹⁸⁷ Le cyclopeptide **285** a été ainsi synthétisé par réaction de cycloaddition [3+2] thermique avec le but-2-yne **284** pour donner le dérivé triazole trisubstitué **285** avec 65% de rendement (Schéma 67).

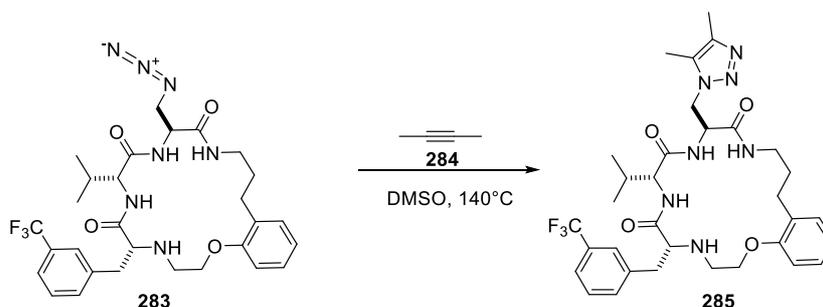


Schéma 67 : Synthèse d'un antagoniste de la Motiline

Le cyclopeptide **285** montre des propriétés d'antagoniste de la Motiline très prometteuses ($K_i = 23$ nM) qui permet d'envisager des applications pour la résolution de problèmes liés au péristaltisme digestif tels que le syndrome du côlon irritable.

186 Ferrini, S.; Chandanshive, J. Z.; Lena, S.; Comes Franchini, M.; Giannini, G.; Tafi, A.; Taddei, M. *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 2562.

187 Marsault, E.; Benakli, K.; Beaubien, S.; Saint-Louis, C.; Déziel, R.; Fraser, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 4187.

Objectif de ce chapitre

Nous avons développé au chapitre précédent la synthèse de dérivés silylés d'acides aminés et de peptides en utilisant la réaction de Wittig à des fins de radiomarquage par les ion $^{18}\text{F}^-$. Cependant, la présence nécessaire de groupes *t*-butyles sur l'atome de silicium, pour stabiliser les dérivés fluorosilylés, accroît la lipophilie et l'encombrement stérique ce qui n'est pas sans effet sur les propriétés pharmacologiques du peptide, sur sa structure secondaire et sur son affinité vis-à-vis de la cible biologique.

D'un autre côté, il a été montré qu'une stabilisation des fluorosilanes pouvait être obtenue par blocage de la conformation,¹¹⁶ ou par des interactions intramoléculaires avec un groupe acide de Lewis comme montré par le dérivé boronaté **286** (Figure 37).¹⁸⁸

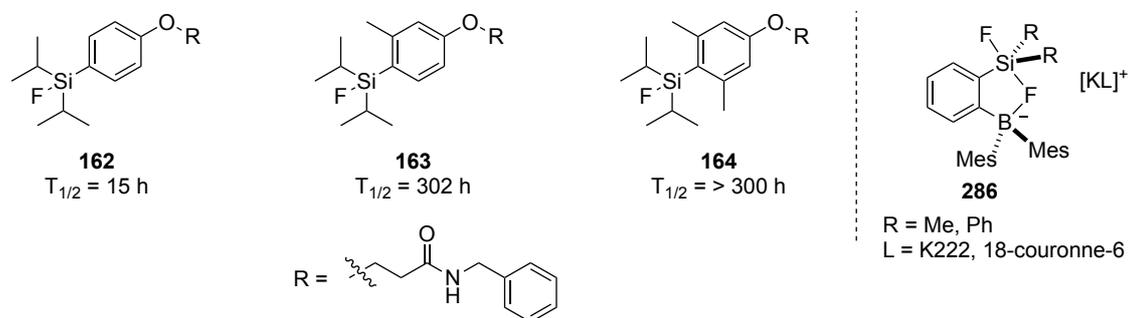


Figure 37 : Effet de la structure de l'organofluorosilane sur sa stabilité

Afin de pouvoir accéder à de telles structures sur la chaîne latérale d'un acide aminé, l'étude de la cycloaddition [3+2] a été envisagée pour l'obtention de triazoles trisubstitués porteurs de groupements silylés, phosphorés, amino, ou boronates sur les positions 4 et 5 (Schéma 68).

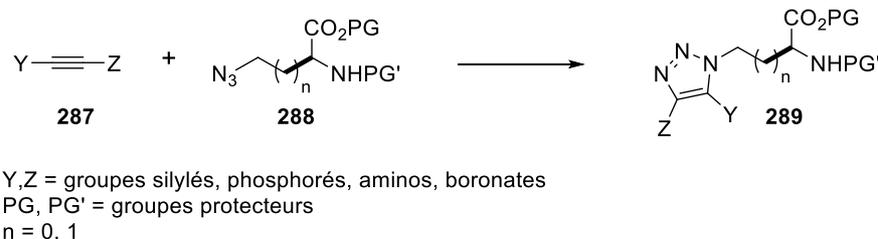


Schéma 68 : Stratégie de synthèse de triazoles d'acides aminés trisubstitués par cycloaddition [3+2]

En cas de succès, la mise au point de cette cycloaddition permettrait la synthèse de dérivés disilylés, diphosphino ou d'hybride silyle-boronate qui sont très peu ou pas décrits jusqu'à présent et dont les applications intéresseraient non seulement le radiomarquage par des fluorures mais aussi la complexation de métaux de transition pour l'imagerie, la thérapie ou encore la catalyse et l'organocatalyse asymétriques.

II] Synthèse d'azotures acides aminés et peptides

Les azotures d'acides aminés utilisés dans ce travail ont été préparés par substitution de dérivés δ ou γ -iodé d'acides aminés par l'azoture de sodium.

1) Dérivés γ -azido acides aminés

Les dérivés γ -iodo NHBoc-aminoester **107a** et **107b** ont été préparés à partir de l'acide L-aspartique selon la méthode du laboratoire⁷¹ décrite au chapitre I. La réaction de l'azoture de sodium avec les dérivés iodés **107** dans le DMF à 40°C pendant 16 heures, permet d'obtenir quantitativement les azotures correspondants **290a** et **290b** (Schéma 69).¹⁸⁹

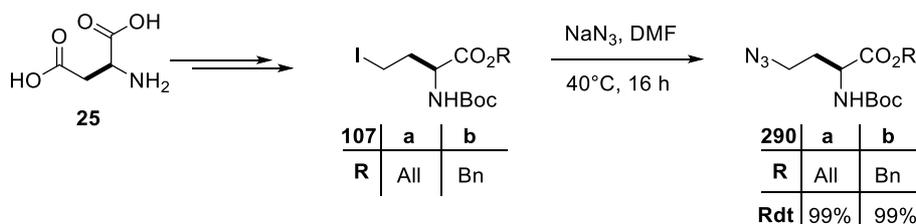


Schéma 69 : Synthèse des azotures d'homoalanine

2) Dérivé δ -azido acide aminé

Dans ce cas le dérivé δ -iodo acide aminé **297** est préparé à partir d'acide glutamique **26** selon une suite de réactions analogues à celles réalisées avec l'acide aspartique (Schéma 70).^{71,190}

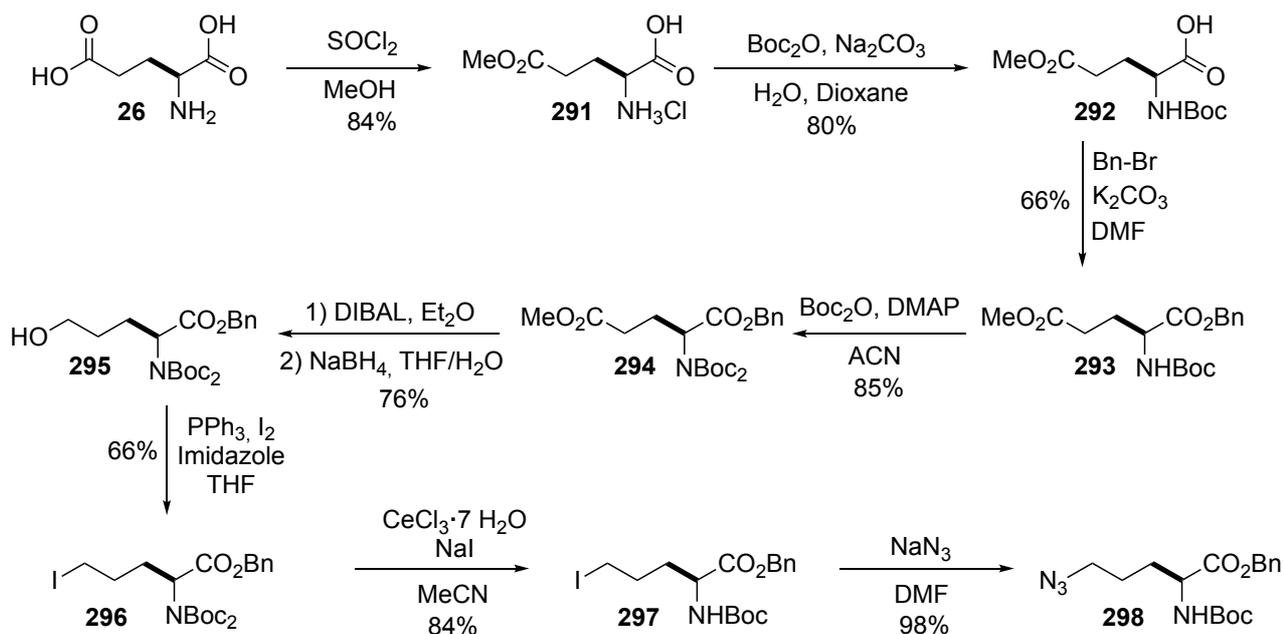


Schéma 70 : Synthèse des δ -iodo NHBoc-aminoesters énantiopurs

Ainsi l'acide glutamique est monoestérifié par le méthanol puis l'amine est protégée par un groupe Boc, et une réaction de benzylation de l'acide conduit au diester **293** avec 44% de rendement global (Schéma 70). Après une seconde protection de l'amine suivi d'une réduction au DIBAL et au NaBH₄, le dérivé δ -hydroxylé **295** est obtenu avec 76% de rendement. Ce dérivé est ensuite iodé par réaction avec PPh₃/I₂, et monodéprotégé en présence de sel de cérium pour obtenir le dérivé δ -iodo aminoester **297** avec 55% de rendement pour les deux étapes (Schéma 70). Enfin, la réaction du δ -iodo aminoester **297** avec l'azoture de sodium dans le DMF permet d'obtenir le dérivé δ -azido d'acide aminé **298** avec 98% de rendement (Schéma 70).

189 Minois, P.; Bayardon, J.; Meunier-Prest, R.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 11358.

190 Koseki, Y.; Yamada, H.; Usuki, T. *Tetrahedron Asymmetry* **2011**, *22*, 580.

3) Synthèse d'un dérivé azido dipeptide

Le γ -azido N-Boc aminoester de benzyle **290b**, préparé au paragraphe précédent, a été déprotégé pour donner le composé **299** sous la forme d'un sel d'ammonium. Ce composé a été utilisé tel quel pour synthétiser le γ -azidodipeptide **300** avec 85% de rendement global, par réaction avec la N-Boc-L-Phe-OH **209** en présence de HBTU et de DIPEA (Schéma 71).

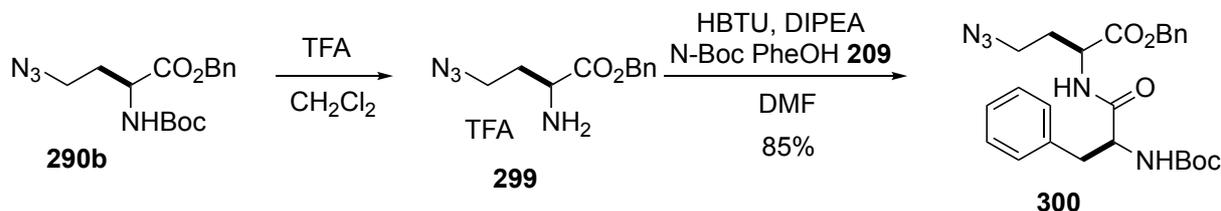


Schéma 71 : Synthèse d'un azoture de dipeptide par couplage peptidique

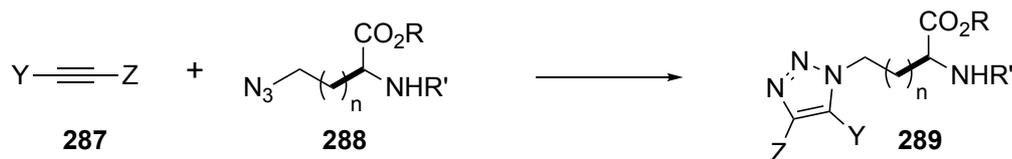
Cette méthode de synthèse a permis de préparer l'azidodipeptide **300** avec un bon rendement global sur une échelle de plusieurs centaines de milligrammes.

III] Cycloaddition [3+2] d'azotures d'amoesters avec des alcynes internes

1) Introduction

Il a été rappelé précédemment les différents exemples de cycloaddition conduisant à des triazoles trisubstitués. Dans certains travaux, la cycloaddition est réalisée en utilisant un azoture d'acide aminé mais les réactions sont limitées aux alcynes comme le butyne, le but-2-yndioate de méthyle ou encore à un alcyne d'or.

Lorsque ces travaux ont été envisagés, aucune cycloaddition impliquant un azoture d'acide aminé et des alcynes symétriques ou dissymétriques fonctionnalisés par des groupes hétéroatomiques Y, Z tels que silyles, phosphines, ou borane n'avait été reportée.



Y, Z = groupes silylés, phosphorés, aminés, boronés
 R = All, Bn
 R' = Boc, Phe
 n = 0, 1

Schéma 72 : Cycloaddition d'azoture d'amoester ou de peptide avec des alcynes hétérosubstitués

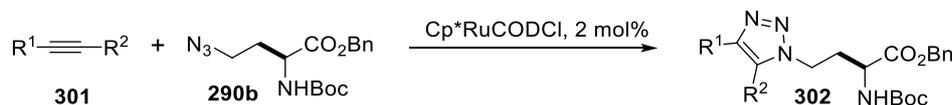
Pour que cette stratégie puisse être applicable, il faut que la cycloaddition [3+2] tolère la présence de groupes fonctionnels variés et n'engendrent pas de racémisation de l'acide aminé. De plus, pour le cas des alcynes dissymétriques, il est également important de connaître la régiosélectivité des produits de cycloaddition.

2) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acides aminés par RuAAC

Du fait des conditions plutôt modérées généralement utilisées pour réaliser la cycloaddition catalysée au ruthénium, de sa bonne régiosélectivité, des bons rendements obtenus et de sa large compatibilité fonctionnelle, la RuAAC semblait être une méthode de choix pour développer la synthèse de triazoles 1,4,5-trisubstitués dérivés d'acides aminés.¹⁶³

a) Etude méthodologique de la RuAAC

Un premier essai de cycloaddition a été réalisé en faisant réagir l'azido-acide aminé **290b** avec le phénylpropyne **301a** dans le toluène en présence de 2 mol% de Cp^{*}Ru(COD)Cl (Tableau 19, entrée 1). Le protocole expérimental utilisé dans ce cas (Protocole A) consiste à ajouter successivement l'alcyne **301a** (un équivalent) puis une solution de l'azoture **290b** (1 équivalent) à 2 mol% de catalyseur dans le toluène sec sous atmosphère inerte (Argon). Dans ces conditions la réaction mène au triazole **302a** en 30 minutes à température ambiante, avec un rendement de 90% et sous la forme d'un seul régioisomère (entrée 1). L'analyse RMN ¹H du triazole **302a** n'a pas permis d'établir avec certitude la régiosélectivité proposée.



| N° | Alcyne | | Solvant | T (°C) | Protocole ^a | Durée | Rdt | Résultat | | | |
|----|----------------|----------------|----------------------------------|---------|------------------------|----------|--------|----------|--------------------------|----------------|----|
| | R ¹ | R ² | | | | | | N° | R ¹ | R ² | |
| 1 | 301a | Ph | Me | Toluène | 25 | A | 30 min | 90% | 302a ^b | Ph | Me |
| 2 | 301b | <i>n</i> -Bu | TMS | Toluène | 25 | A | 16 h | 0% | - | | |
| 3 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | Toluène | 25 | A | 16 h | 0% | - | | |
| 4 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | Toluène | 40 | A | 16 h | 0% | - | | |
| 5 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | Toluène | 0 | A | 16 h | 0% | - | | |
| 6 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | Toluène | 40 | B | 16 h | 0% | - | | |
| 7 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | DCM | 25 | A | 16 h | 0% | - | | |
| 8 | 301c | Ph | (<i>i</i> -Pr) ₂ SiH | THF | 25 | A | 16 h | 0% | - | | |

^aProtocole A : Ajouts successifs sous argon de l'alcyne puis de l'azoture en solution à une solution de Cp^{*}RuCl(COD) (2 mol%). Le mélange est agité pendant le temps indiqué. Protocole B : Ajouts successifs sous argon de l'azoture en solution dans le toluène puis de l'alcyne à une solution du catalyseur (2 mol%) dans le toluène. Le mélange est agité pendant le temps indiqué.

^bStructure supposée

Tableau 19 : Etude de la cycloaddition d'azoture d'acide aminé **290b** avec des alcynes internes **298a-c**

Les essais réalisés dans des conditions similaires (Protocole A) avec les alcynes silylés **301b** et **301c** ne donnent pas de réaction (entrées 2 et 3). Après 16 heures une coloration verte du mélange réactionnel apparaît dans les deux cas. Cette coloration peut s'expliquer par une dégradation ou une transformation du catalyseur. Des essais ont été réalisés avec un chauffage modéré (entrée 4) ou à une température inférieure (entrée 5), mais aucune conversion n'a été observée au bout de 16 heures. De même, un essai (entrée 6) en inversant l'ordre d'addition de l'alcyne et de l'azoture (Protocole B) a été réalisé mais n'a pas non plus mené à la réalisation de la cycloaddition. Dans ces trois cas une coloration verte du milieu réactionnel a été observée avant traitement de la réaction. Enfin, les essais réalisés avec des solvants plus ou moins coordinants n'ont mené à aucune formation de triazole et la coloration verte du mélange réactionnel a été à nouveau observée (entrées 7 et 8).

Compte tenu de ces résultats et de ce qui est décrit dans la littérature sur la RuACC¹⁷⁰ et sur les interactions ruthénium-silane,^{191,192} deux hypothèses ont été envisagées pour expliquer l'absence de formation de triazoles.

La présence d'un groupe encombrant comme TMS ou SiH(*i*-Pr)₂ sur l'alcyne pourrait empêcher la coordination de celui-ci au métal et ainsi empêcher la formation du triazole. Afin de vérifier si l'encombrement de l'alcyne était le principal problème, la réactivité du silane a été testée dans les conditions de réaction étudiées. Pour cela une réaction test a été réalisée dans les conditions classiques (Protocole A), mais avec l'ajout de 26 équivalents de méthanol.

191 Trost, B. M.; Ball, Z. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17644.

192 Tan, S. T.; Kee, J. W.; Fan, W. Y. *Organometallics*. **2011**, *30*, 4008.

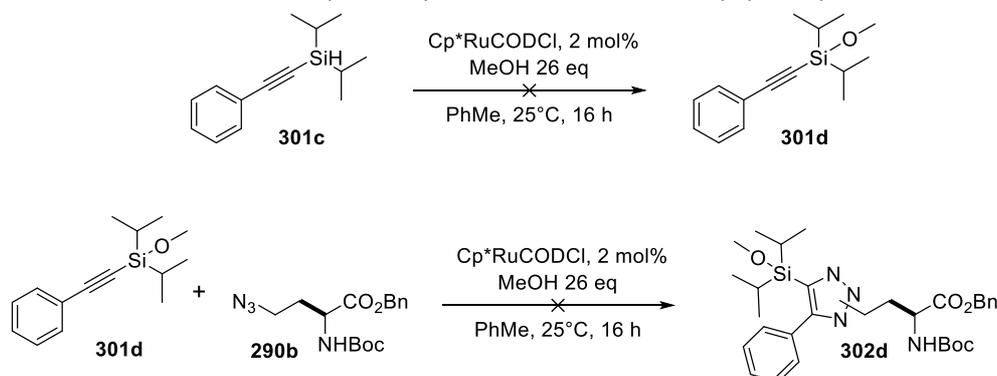
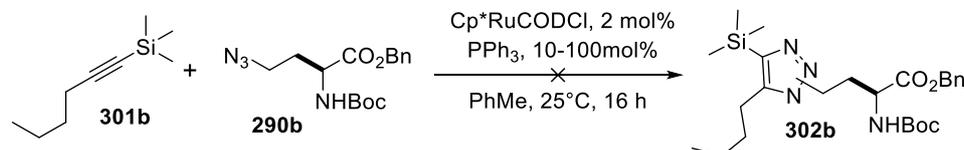


Schéma 73 : Etude de réactivité du silane par addition de MeOH

L'observation d'un dégagement gazeux, simultané à l'ajout du silane dans la solution comprenant le catalyseur et le méthanol dans le toluène, a indiqué la formation du méthylsilyléther **301d** attendu. L'encombrement autour du silicium n'est donc pas suffisant pour bloquer la réactivité de l'hydrogène porté par celui-ci, il semble donc peu probable que l'alcyne ne puisse pas se coordonner au ruthénium. De plus, contrairement aux résultats décrits dans la littérature (Tableau 18) la présence d'un groupement électrodonneur non-conjugué sur **301d** n'a, ici, pas abouti sur une formation facilitée du triazole.

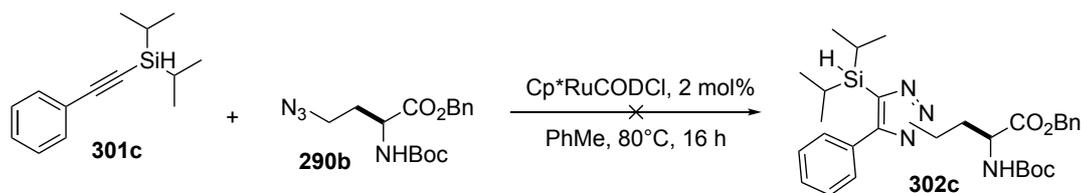
La seconde hypothèse impliquait une désactivation du catalyseur, que ce soit par oxydation ou par formation de nanoparticules.

Pour vérifier cela, deux tentatives ont été réalisées avec respectivement un ajout de 5 et 50 équivalents de triphénylphosphine, par rapport au ruthénium, afin d'essayer de stabiliser le complexe. L'ajout d'un équivalent de triphénylphosphine, par rapport à l'azoture, a été réalisé car celle-ci peut également être consommée dans une réaction de Staudinger pour former l'imino-phosphorane correspondant. L'utilisation de l'alcyne **301b** à la place de **301c** a été réalisée pour enlever l'influence d'un silane potentiellement réactif dans ces conditions.

Schéma 74 : Tentative de stabilisation du complexe de ruthénium par ajout de PPh₃

Ces deux tentatives n'ont pas non plus permis d'observer la formation de triazole et une coloration verte du mélange réactionnel est apparue encore une fois. Cela laisse donc supposer que si une désactivation du catalyseur a lieu, ce n'est pas par un mécanisme d'oxydation ni par précipitation en nanoparticules.

Enfin, comme une attention particulière à l'ordre d'addition des réactifs est notée dans la littérature,¹⁹³ un essai a été réalisé avec un ajout goutte à goutte très lent de l'azoture **290b** (5 mol%/6 minutes) dans une solution d'alcyne **301c** et de catalyseur dans le toluène à 80°C. Ce mode opératoire n'a pas permis d'obtenir le triazole espéré.

Schéma 75 : Tentative de RuAAC par ajout lent d'azido-amino ester **290b** à haute température

Finalement, il paraît peu probable que la gêne liée à la présence d'un silane encombrant sur l'alcyne explique à elle seule l'absence de réactivité en RuACC. De même, la présence d'un hydrosilane

sur l'alcyne tel que pour **301c** n'est pas à mettre en cause de par l'absence de réactivité pour l'alcyne triméthylsilylé **301b** et pour le siloxane **301d**.

b) Etude de la désactivation du catalyseur de ruthénium dans les conditions de cycloaddition [3+2]

Une des causes d'absence de formation du triazole lors de la cycloaddition [3+2] catalysée au ruthénium, au-delà du rôle qu'ont certainement les effets électroniques et stériques des alcynes silylés tels que **301b** et **c**, réside dans la désactivation du catalyseur par formation et coordination de ligands tétraazadiènes sur le ruthénium.^{194,195} Il apparaît d'ailleurs que les rares complexes décrits de ce type (Figure 38) présentent tous une couleur verte.

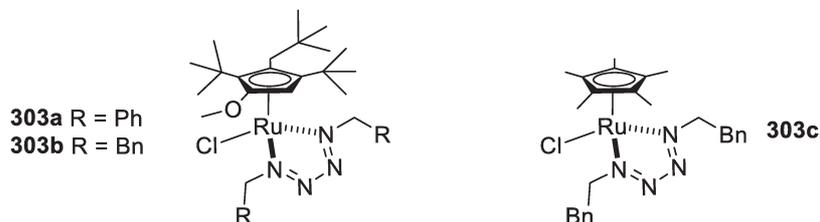


Figure 38 : Exemples de complexes tétraazadiènes de ruthénium

Il a alors été supposé que les alcynes étant trop encombrés, la cycloaddition était défavorisée et un complexe tétraazadiène se formait. Afin de vérifier cette hypothèse, lors de la purification par colonne chromatographique de l'essai 4 (Tableau 19), le composé vert a pu être isolé. Sa structure est alors supposée analogue à celle des complexes tétraazadiènes de ruthénium déjà décrits dans la littérature.

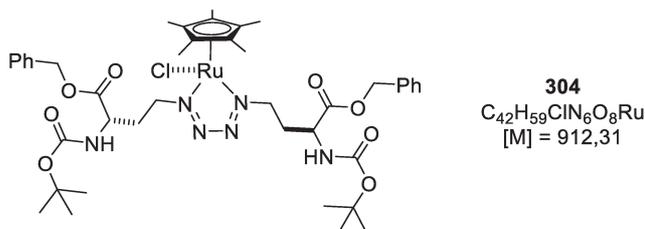


Figure 39 : Structure supposée du complexe désactivé

L'analyse par spectrométrie de masse du composé **304** (Figure 40a) montre un pic principal à 912.8 Da et une répartition du massif isotopique caractéristique d'un complexe de ruthénium (⁹⁹Ru 12,8%, ¹⁰⁰Ru 12,6%, ¹⁰¹Ru 17,1%, ¹⁰²Ru 31,6%, ¹⁰⁴Ru 18,62%) qui est en bon accord avec celle obtenue par simulation (Figure 40b), et confirme l'obtention d'un complexe du ruthénium de la bonne masse molaire.

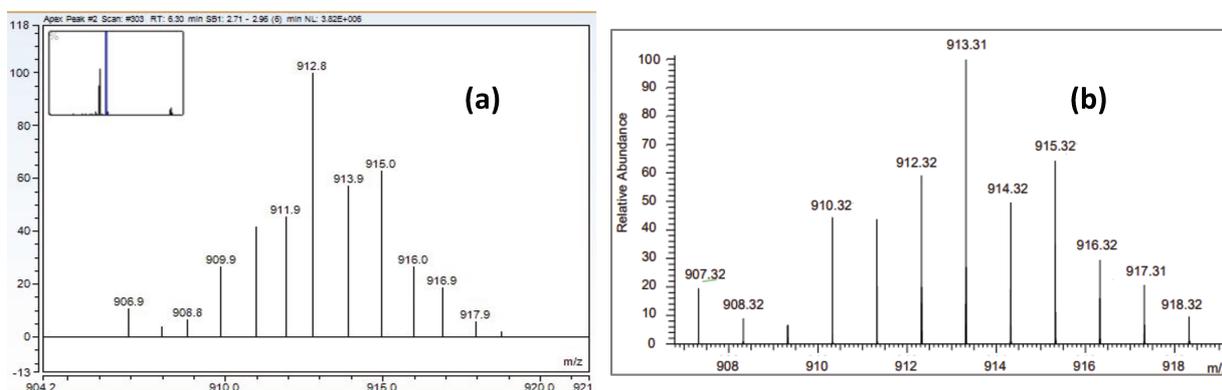


Figure 40 : Massifs isotopiques de **304**: a) Obtenu par masse standard; b) Obtenu par simulation

L'examen du spectre RMN ¹H (Figure 42) confirme la structure du complexe **304** (Figure 39).

194 Lamberti, M.; Fortman, G. C.; Poater, A.; Broggi, J.; Slawin, A. M. Z.; Cavallo, L.; Nolan, S. P. *Organometallics*. **2012**, *31*, 756.

195 Risse, J.; Scopelliti, R.; Severin, K. *Organometallics*. **2011**, *30*, 3412.

En effet, le signal des groupements Boc se présente sous la forme de deux singulets intégrant chacun pour 9 protons (signaux **7** à 1.36 et 1.38 ppm), tandis que les protons méthyléniques en α du carbone asymétrique montrent deux systèmes ABX (signaux **3** à 4.18 et 4.34 ppm) et enfin les protons portés par les amines protégées en NHBoc apparaissent en deux doublets larges (signaux **6** à 5.22 et 5.30 ppm, partiellement masqué par un signal de dichlorométhane). Tous ces signaux dédoublés prouvent que le complexe **304** est pseudochiral au niveau de l'atome de ruthénium (chirotopicité), sans axe de symétrie C₂. Cela fait que les protons, tels que ceux du méthylène en α du carbone asymétrique, ne sont pas équivalents magnétiquement (Figure 41).

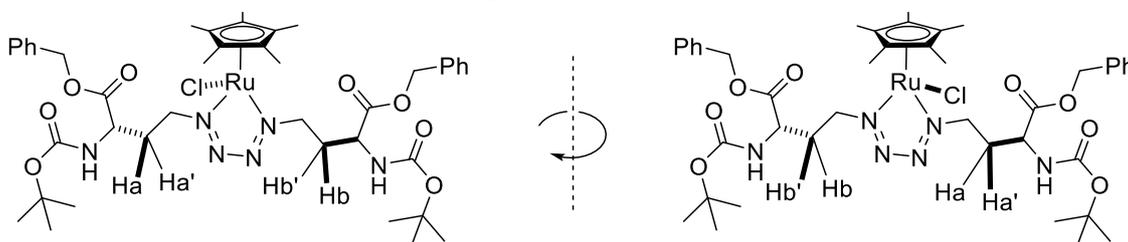


Figure 41 : Diastéréotopie des protons Ha, Ha', Hb et Hb' de **304**

Les protons Ha, Ha' étaient déjà diastéréotopes sur le précurseur γ -azido-acide aminé **290b** et donc non équivalents magnétiquement, de par la présence d'un centre stéréogénique en α . Pour la même raison les couples (Ha, Ha') et (Hb, Hb') sont eux aussi diastéréotopes. Mais à cause de la chirotopicité présente sur l'atome de ruthénium, les couples (Ha, Hb) et (Ha', Hb') ne sont pas non plus équivalents magnétiquement. Ces quatre protons apparaissent donc sous la forme de 4 signaux entre 2.2 et 2.9 ppm (Figure 42).

Cela permet non seulement de s'assurer que le ligand tétraazadiène est bien lié au ruthénium mais également de confirmer la structure du composé **304**.

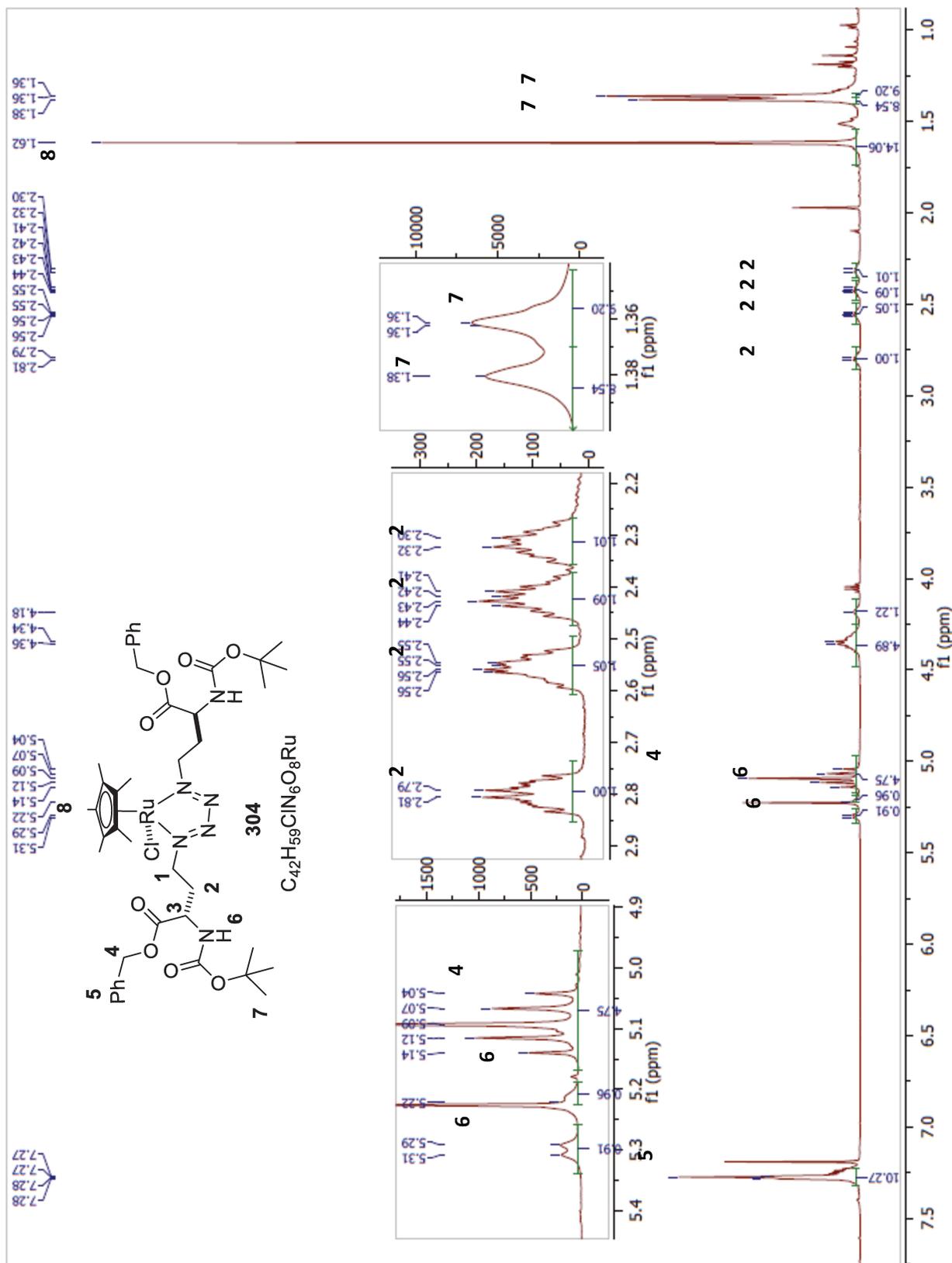


Figure 42 : Spectre RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) du complexe de ruthénium **304**.

En dépit de nombreuses tentatives, le complexe de ruthénium **304**, qui se révèle très stable en résistant à l'hydrolyse de la réaction ainsi qu'à une chromatographie sur silice, n'a pas pu être cristallisé pour permettre d'établir sa structure par diffraction aux rayons X.

Finalement, la désactivation du catalyseur par coordination d'un ligand tétraazadiène issu de la dimérisation d'azoture d'acide aminé est donc la cause de l'absence de cycloaddition observée avec les alcynes silylés.

c) Calculs DFT de la cycloaddition [3+2] en présence de complexes de ruthénium

Plusieurs groupes se sont attelés à l'explication de la catalyse de la cycloaddition [3+2] alcyne-azoture en présence d'un complexe de ruthénium, par des méthodes de calculs quantiques.

Selon les calculs DFT (Théorie Fonctionnelle de la Densité) réalisés par Nolan *et al.*,¹⁹⁴ pour la réaction de l'azoture de benzyle avec le phénylacétylène, la formation et la coordination du tétraazadiène sous la forme du complexe **305g** est un puits de potentiel ($I_f = -54.7$ Kcal/mol) bien que le passage par plusieurs états de transition de hautes énergies ($E_c = 21.8$, $E_d = 20.4$ Kcal/mol) soit nécessaire pour l'atteindre (76).

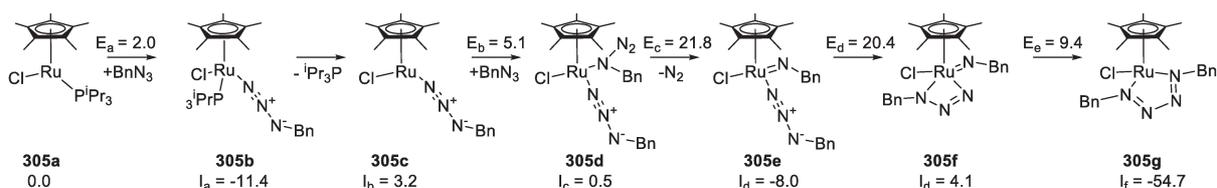


Schéma 76 : Calculs DFT pour la formation d'un tétraazadiène de ruthénium (Énergies des intermédiaires et états de transition en Kcal/mol)

Selon les calculs DFT de Tüzün *et al.* (Schéma 77),¹⁹⁶ la formation du triazole demande une énergie d'activation faible (avec respectivement $ET_1 < 12$ Kcal/mol et $ET_2 < 9.3$ Kcal/mol) et l'étape cinétiquement déterminante est la décooordination du triazole. De plus, il apparaît que les énergies des intermédiaires réactionnels et des états de transition sont dépendantes de l'alcyne utilisé. Un effet stérique défavorable est observé, les différents intermédiaires et états de transition présentent des énergies plus élevées quand l'encombrement de l'alcyne augmente ($E_{306b} > E_{306a} > E_{306c}$). Concernant **306d**, les effets électroniques prennent l'avantage sur les effets stériques et peuvent expliquer les énergies observées. Il faut néanmoins garder en mémoire que le choix du régioisomère pour lequel les calculs ont été réalisés a une influence sur ceux-ci et que, expérimentalement, l'autre régioisomère est obtenu pour le complexe **306b** (Tableau 18).

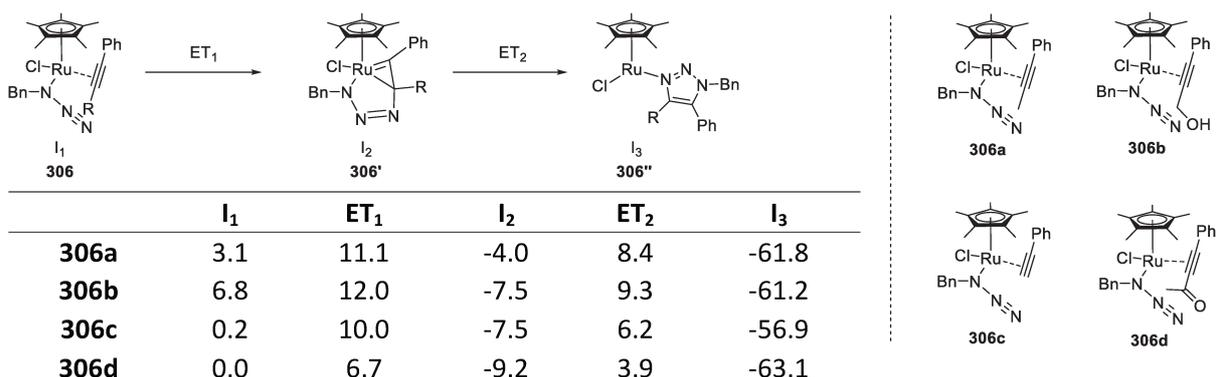


Schéma 77 : Calculs DFT de la formation de différents triazoles (Énergies des intermédiaires et états de transition en kcal/mol)

Grâce à ces données théoriques et aux essais précédents, il a été supposé que l'encombrement trop important lié à l'environnement du silicium engendrait soit une coordination simultanée de l'alcyne

et de l'azoture énergétiquement défavorable, soit une augmentation de l'énergie de l'état de transition ET_1 et bloquerait ainsi le déroulement de la réaction.

Malgré les différentes tentatives d'optimisation il n'a pas été possible d'utiliser cette méthode pour des substrats présentant un encombrement stérique de l'alcyne important à modéré. La formation d'un complexe tétraazadiène de ruthénium inactif vis-à-vis de la RuAAC pourrait éventuellement être évitée par utilisation d'un complexe de ruthénium portant un groupe Cp à la place du Cp* de **304**. L'encombrement réduit autour du ruthénium pourrait amener à une tolérance plus importante de groupes stériquement encombrants sur l'alcyne. Toutefois cela pourrait également provoquer une perte de stabilité du catalyseur par la formation facilitée d'intermédiaires non réactifs.¹⁹³

Il ressort que le complexe tétraazadiène de ruthénium **304** reste intéressant comme méthode de vectorisation d'un complexe de ruthénium pour d'éventuelles applications en thérapie.^{197,198,199,200} Compte tenu de l'absence de catalyse de cycloaddition [3+2] avec des alcynes silylés en présence d'un complexe de ruthénium, l'activation thermique a été envisagée en utilisant le glycérol comme solvant.

IV] Cycloaddition[3+2] azoture/alcyne dans le glycérol

Une méthode de synthèse de triazoles trivalents par voie thermique a récemment été décrite par Gómez *et al.*²⁰¹ Cette méthode utilise le glycérol pour permettre la réalisation, par voie thermique ou microondes, de cycloadditions [3+2] d'azotures avec des alcynes très encombrés. D'après les calculs DFT réalisés par ce groupe, le glycérol permettrait de modifier l'énergie des orbitales frontières de l'azoture **301** par création de liaisons hydrogène entre le glycérol et l'azoture **224a** et diminue ainsi l'énergie de l'état de transition de la cycloaddition. Cet effet est aussi connu pour d'autres solvants protiques mais il est exacerbé dans le cas du glycérol.

| | X | Y | Rendement | Produit | Ratio A:B |
|---|----|--------------------|-----------|-------------|-----------|
| 1 | Ph | Ph | 85% | 307a | - |
| 2 | Ph | Me | 49% | 307b | 1 : 1 |
| 3 | Ph | CO ₂ Me | 83% | 307c | 1 : 1 |
| 4 | Ph | TMS | 85% | 307d | 9 : 1 |
| 5 | Me | TMS | 62% | 307e | 9 : 1 |
| 6 | Ph | TBDMS | 84% | 307f | 10 : 0 |

Tableau 20 : Résultats de cycloaddition [3+2] sous irradiation microondes dans le glycérol²⁰¹

Cette méthode de cycloaddition est compatible avec des alcynes fonctionnalisés, stériquement encombrés, et porteurs de groupements silylés comme cela est illustré par les exemples reportés dans le tableau 20. Elle a donc été étudiée comme méthode de cycloaddition d'azoture d'acides aminés avec des alcynes internes.

197 Meier, S. M.; Novak, M.; Kandioller, W.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Metzler-Nolte, N.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G. *Chem. - Eur. J.* **2013**, 19, 9297.

198 Motswainyana, W. M.; Ajibade, P. A. *Adv. Chem.* **2015**, 1.

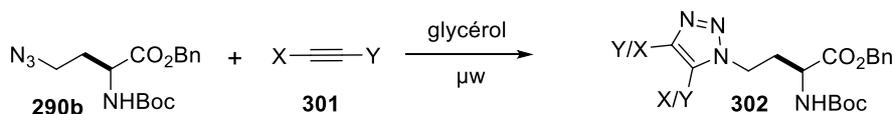
199 Gaiddon, C.; Pfeffer, M. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 2017, 1639.

200 Albada, B.; Metzler-Nolte, N. *Acc. Chem. Res.* **2017**, 50, 2510.

201 Rodríguez-Rodríguez, M.; Gras, E.; Pericàs, M. A.; Gómez, M. *Chem. - Eur. J.* **2015**, 21, 18706.

1) Etude méthodologique de la cycloaddition dans le glycérol

Compte tenu de l'encombrement plus important de l'azoture ainsi que de l'alcyne, il a été nécessaire de mettre au point les conditions réactionnelles.



| | Alcyne | | | T (°C) | Durée | Agitation | Rdt | Produit | Rapport des régioisomères |
|---|--------|-------------------------------|-------------|--------|--------|-----------|-----|-------------|---------------------------|
| | X | Y | N° | | | | | | |
| 1 | Ph | TMS | 301e | 100 | 30 min | Forte | 0% | - | n.d. |
| 2 | Ph | TMS | 301e | 125 | 30 min | Forte | 11% | 302e | n.d. |
| 3 | Ph | TMS | 301e | 150 | 30 min | Forte | 78% | 302e | 8/92 |
| 4 | Ph | TMS | 301e | 150 | 10 min | Forte | 18% | 302e | n.d. |
| 5 | Ph | TMS | 301e | 150 | 30 min | Moyenne | 45% | 302e | 8/92 |
| 6 | Ph | TMS | 301e | 150 | 30 min | Faible | 14% | 302e | n.d. |
| 7 | Ph | <i>i</i> -Pr ₂ SiH | 301c | 150 | 30 min | Moyenne | 40% | 302c | 11/89 |
| 8 | Ph | <i>i</i> -Pr ₂ SiH | 301c | 150 | 30 min | Forte | 50% | 302c | n.d. |

Tableau 21 : Mise au point des conditions de cycloaddition [3+2] du γ -azido-acide aminé **290b** dans le glycérol

Lorsque le l'azoture d'acide aminé **290b** est chauffé à 100°C dans le glycérol par irradiation microondes avec le TMS phénylacétylène **301e** pendant 30 minutes, la cycloaddition ne se produit pas (entrée 1). Par contre, par chauffage à 125 et 150°C, le produit **302e** se forme avec respectivement 11 et 78% de rendement sous la forme d'un mélange de régioisomères dans un rapport 8 : 92 (entrées 2 et 3). Dans le cas où la réaction est réalisée à 150°C avec un temps de réaction réduit à 10 minutes, ou si l'agitation est réduite, le produit de cycloaddition **302** est obtenu avec des rendements plus faibles, respectivement 18, 45 et 14% (entrée 4, 5 et 6).

Ainsi une influence importante de l'agitation sur le rendement a été observée. La « qualité » de l'agitation est déterminée à la fois par la vitesse d'agitation (en tr/min) et par les dimensions du turbulent. Une agitation plus faible provoque systématiquement une diminution du rendement mais est sans incidence sur la régiosélectivité de la réaction. Le glycérol étant nettement plus visqueux que d'autres solvants même à haute température,²⁰² il est nécessaire d'avoir une agitation suffisamment vigoureuse pour obtenir un mélange approprié de la réaction, et ce d'autant plus qu'un chauffage par irradiation microondes est susceptible de provoquer l'apparition de points chauds.

A partir du dérivé iodé racémique **107b**, l'azoture d'acide aminé racémique (\pm)-**290b** correspondant a été synthétisé puis engagé en cycloaddition avec le l'alcyne **301e** pour obtenir (\pm)-**302e**. La mise au point des conditions de séparation du mélange racémique de régioisomères par chromatographie chirale a permis l'obtention du chromatogramme **A** (Figure 43) sur lequel quatre pics sont nettement observés. Les deux premiers, avec des temps de rétention respectifs de 11.6 et 14.2 minutes, présentent des intégrales similaires et correspondent donc à deux énantiomères d'un même régioisomère (majoritaire). Les deux suivants, avec des temps de rétentions respectifs de 16.8 et 19.3 minutes, présentent eux aussi des intégrales similaires, et correspondent donc aux deux énantiomères de l'autre régioisomère (minoritaire). Les ratios de régioisomères obtenus par intégration du chromatogramme (\approx 87/13) correspondent à ceux obtenus par intégration en RMN ¹H (\approx 92/8). La différence entre les rapports de régioisomères observés par RMN ¹H et par HPLC chirale, s'explique probablement par une meilleure précision de la mesure dans ce dernier cas.

L'obtention du chromatogramme **B** dans les mêmes conditions d'éluion sur un mélange de régioisomères obtenu par réaction de l'alcyne **301e** avec l'azoture d'acide aminé **290b** énantio pur montre la présence d'un seul couple de régioisomères avec des temps de rétentions comparables au deuxième et quatrième pics obtenus pour le racémique.

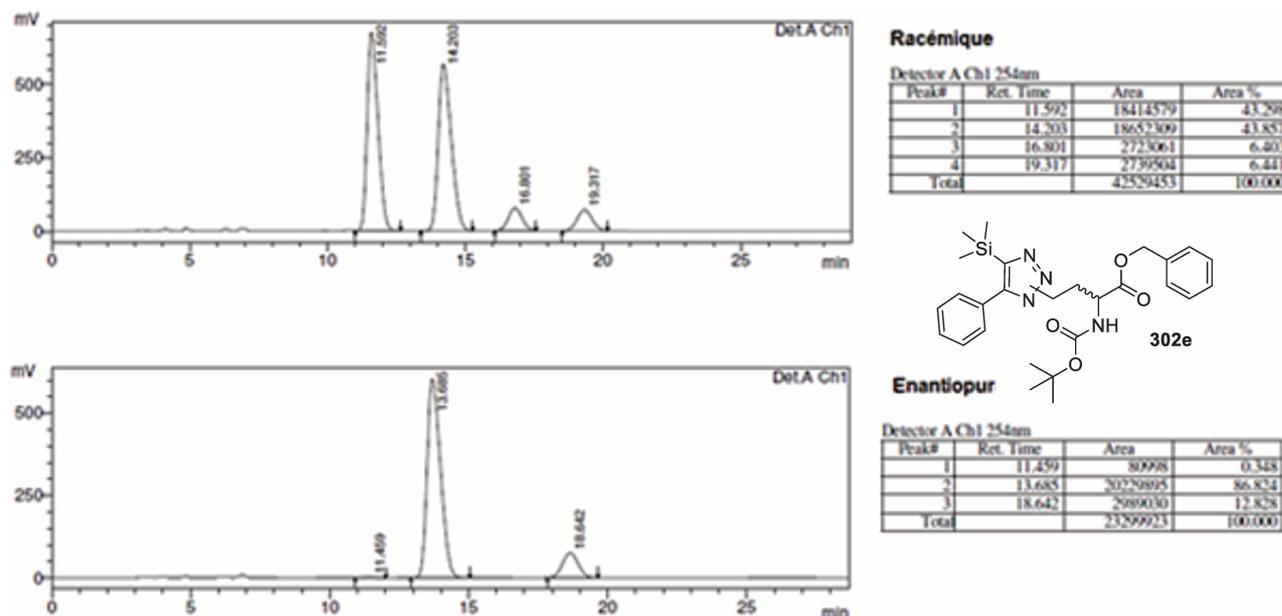


Figure 43 : Détermination de la stéréosélectivité de la cycloaddition par HPLC sur colonne chirale sur le triazole **302e** : a) (\pm) **302e**; b) (L)-**302e**

Ces résultats montrent bien l'absence de racémisation pendant la réaction de cycloaddition et permet de mesurer l'excès énantiomérique obtenu qui est supérieur à 99%.

Par conséquent, les conditions de cycloaddition [3+2] dans le glycérol sous irradiation microondes conduisent à la formation de triazole d'acide aminé sans racémisation et avec de bons rendements. L'extension de cette réaction à d'autres alcynes internes est abordée dans le paragraphe suivant.

2) Préparation des alcynes internes

Afin de développer la cycloaddition [3+2] mise au point précédemment, la synthèse d'alcynes internes **310**, en particulier substitués par des groupements hétéroatomiques, a été réalisée par réaction d'un alcyne avec un électrophile E^+ (Schéma 78).

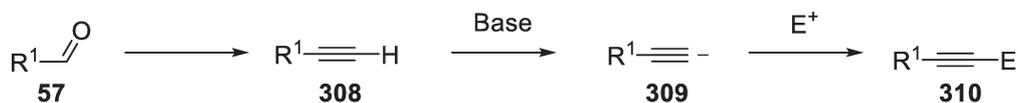


Schéma 78 : Méthode de synthèse d'alcynes internes

Cette voie de synthèse permet l'accès à de nombreux alcynes internes et permet un design précis des substituants de part et d'autre de l'alcyne.

a) Synthèse d'alcynes vrais à partir d'aldéhydes

Les aldéhydes disponibles commercialement sont nombreux et leur synthèse par oxydation d'alcool, réduction d'ester ou par formylation, bien décrite. La préparation d'alcynes vrais à partir d'aldéhydes s'effectue couramment selon les méthodes de Corey-Fuchs, d'Ohira-Bestmann ou de Colvin (Schéma 79).²⁰³

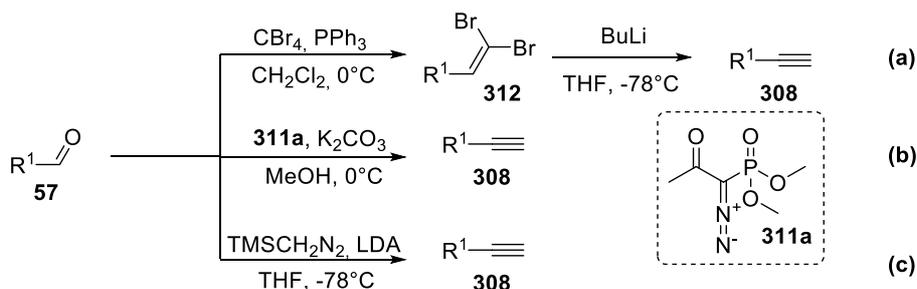


Schéma 79 : Méthodes de synthèse d'alcynes vrais à partir d'aldéhydes : a) Méthode de Corey-Fuchs, b) Méthode d'Ohira-Bestmann, c) Méthode de Colvin

Afin de pouvoir préparer des alcynes internes porteurs de groupes hétérosubstitués, la méthode d'Ohira-Bestmann a été retenue car celle-ci se fait sans utilisation de base forte, comme BuLi ou LDA.

La réaction de Ohira-Bestmann est connue pour sa grande tolérance fonctionnelle, elle est de plus simple à mettre en œuvre et génère peu de sous-produits. Toutefois le prix du réactif d'Ohira-Bestmann **311a** peut être un inconvénient (≈ 17.5 €/mmol).

C'est la raison pour laquelle le dérivé **311b** du réactif d'Ohira-Bestmann **311a** a été synthétisé en adaptant des procédures décrites dans la littérature.^{204,205,206}

Le réactif d'Ohira-Bestmann **311b** a ainsi été synthétisé par réaction de l'azoture **315** avec le β -céto-phosphonate d'éthyle **317** (Schéma 80). Le composé **311b** peut être stocké à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant un an sans perte d'activité.

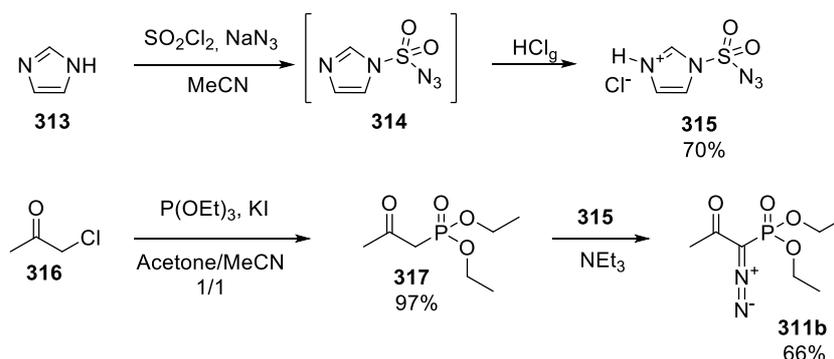


Schéma 80 : Synthèse d'un analogue **311b** du réactif de Ohira-Bestmann à l'échelle préparative (> 1g)

La synthèse des alcynes vrais **308a-l** proprement dite a été réalisée dans le méthanol à température ambiante par réaction d'un aldéhyde avec le réactif **311b** en présence de K_2CO_3 .²⁰⁷ Les résultats sont présentés dans le Tableau 22 ci-dessous.

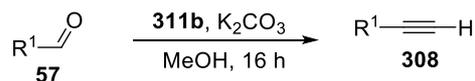
La réaction est compatible aussi bien avec des aldéhydes appauvris qu'enrichis électriquement et leurs alcynes respectifs ont été obtenus avec des rendements modestes (entrées 7 et 8) à très bons (entrées 1, 2, 4, 6, 9). Les hétérocycles ont montré une réactivité modeste, la 2-formylpyridine donne l'alcyne **308c** correspondant avec un bon rendement (entrée 3) mais les autres hétérocycles ou le ferrocène-carboxaldéhyde n'ont montré que peu ou aucune réactivité dans ces conditions (entrées 5, 11, et 12).

204 Kosobokov, M. D.; Titanyuk, I. D.; Beletskaya, I. P. *Mendeleev Commun.* **2011**, 21, 142.

205 Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3797.

206 Jepsen, T. H.; Kristensen, J. L. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 9423.

207 Müller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, H. J. *Synlett.* **1996**, 6, 521.



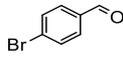
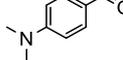
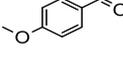
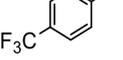
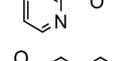
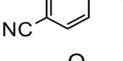
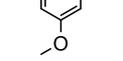
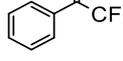
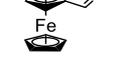
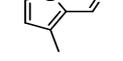
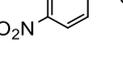
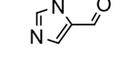
| Entrée | Aldéhyde | Alcyne | | Entrée | Aldéhyde | Alcyne | |
|--------|---|--------|-----|--------|--|--------|-----|
| | | N° | Rdt | | | N° | Rdt |
| 1 |  | 308a | 87% | 7 |  | 308g | 18% |
| 2 |  | 308b | 89% | 8 |  | 308h | 23% |
| 3 |  | 308c | 82% | 9 |  | 308i | 82% |
| 4 |  | 308d | 97% | 10 |  | 308j | 0% |
| 5 |  | 308e | 9% | 11 |  | 308k | 0% |
| 6 |  | 308f | 96% | 12 |  | 308l | 0% |

Tableau 22 : Préparation d'alcynes vrais à partir d'aldéhydes ou cétones

Enfin, un mode opératoire similaire ayant été décrit dans la littérature pour la synthèse d'alcyne interne à partir de cétones, un essai a été réalisé sur la trifluoroacétophénone mais l'alcyne **308j** correspondant n'a pas été obtenu.

b) Dérivation d'alcynes commerciaux

Des alcynes fonctionnalisés ont été préparés à partir d'alcool propargylique **308m** et de l'acide phénylpropiolique **318** selon des procédures standards (Schéma 81).

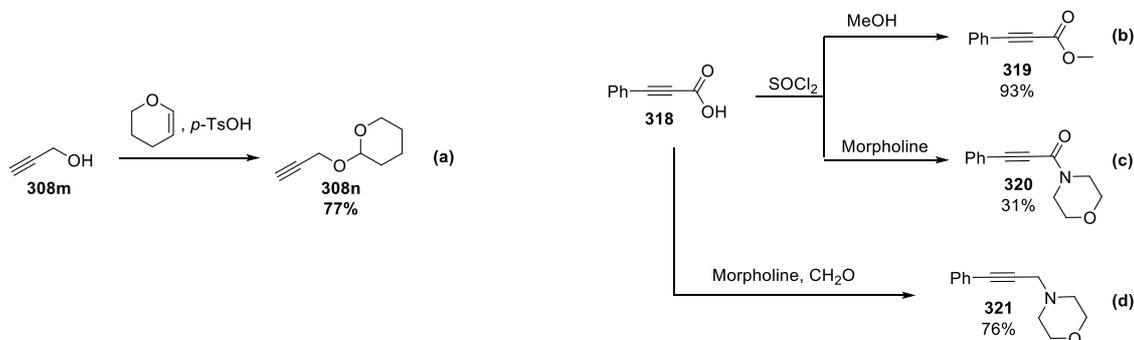


Schéma 81 : Synthèse d'alcynes fonctionnalisés à partir de précurseurs commerciaux

Ainsi, l'alcyne vrai **308n** a été préparé avec 77% de rendement par réaction sans solvant entre l'alcool propargylique et le dihydropyrane en présence de traces d'acide *p*-toluènesulfonique à température ambiante (Schéma 81a).

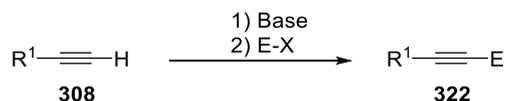
L'ester de méthyle **319** et l'amide **320** ont été préparés à partir d'acide phénylpropiolique **318**, respectivement avec des rendements de 93 et 31%, par réaction avec le chlorure de thionyle puis avec le méthanol ou la morpholine (Schéma 81b,c).

Enfin, l'acide phénylpropiolique **321** a été utilisé pour préparer l'amine propargylique correspondante **321** (Schéma 81d).²⁰⁸ Dans ce cas, l'acide **318** en solution dans l'acétonitrile est chauffé

à reflux en présence de formaldéhyde et de morpholine, ce qui conduit après décarboxylation à l'amine **321** avec 76% de rendement.

c) Préparation d'alcynes internes

Les alcynes internes **322** ont été préparés classiquement à partir des alcynes vrais correspondants par déprotonation avec le BuLi ou le LDA pour donner un alcynure qui est ensuite piégé par un électrophile tel que MeI, MEMCl, cyclopentanone, TMSCl, BnBr. Cette méthode a permis de préparer douze alcynes symétriques ou dissymétriques avec des rendements de 44 à 99%, les résultats sont présentés dans le Tableau 23 ci-dessous.



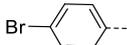
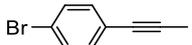
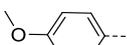
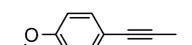
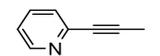
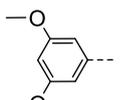
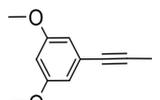
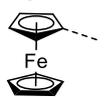
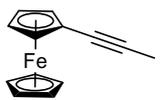
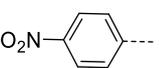
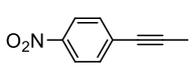
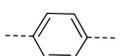
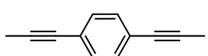
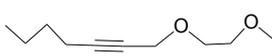
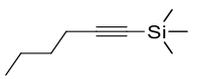
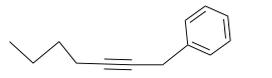
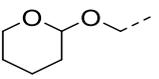
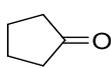
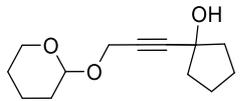
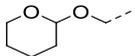
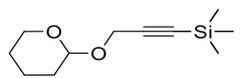
| | Alcynes vrais | | E-X | Alcynes internes | | |
|----|---|-------------|---|--|-------------|-----|
| | R ¹ | N° | | Structure | N° | rdt |
| 1 |  | 308a | MeI |  | 322a | 83% |
| 2 |  | 308b | MeI |  | 322b | 99% |
| 3 |  | 308c | MeI |  | 322c | 82% |
| 4 |  | 308d | MeI |  | 322d | 91% |
| 5 |  | 308e | MeI |  | 322e | 86% |
| 6 |  | 308f | MeI |  | 322f | 99% |
| 7 |  | 308o | MeI |  | 322g | 99% |
| 8 | <i>n</i> -Bu | 308p | MEMCl |  | 322h | 89% |
| 9 | <i>n</i> -Bu | 308p | TMSCl |  | 301b | 82% |
| 10 | <i>n</i> -Bu | 308p | BnBr |  | 322i | 83% |
| 11 |  | 308n |  |  | 322j | 88% |
| 12 |  | 308n | TMSCl |  | 322k | 44% |

Tableau 23 : Synthèse d'alcynes internes par réaction d'alcynures avec des électrophiles

3) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acides aminés avec des alcynes internes

Dans les conditions mises au point précédemment (Tableau 21, entrée 3), la cycloaddition [3+2] des dérivés d'azoture d'acides aminés **290a-b** et **298** et de dipeptide **300** avec les alcynes internes **322**, a été étudiée (Schéma 82). Les résultats sont présentés dans les Schéma 83 et 84 selon les substituants des alcynes internes.

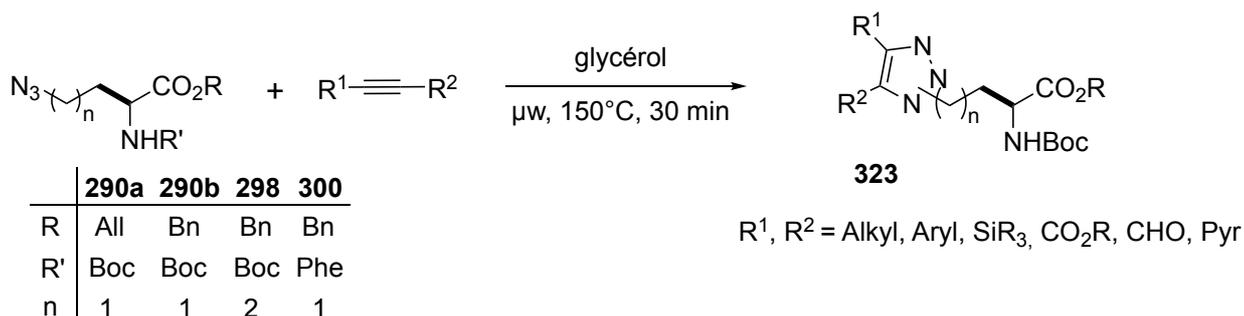


Schéma 82 : Etude de la réaction de cycloaddition [3+2] entre différents azido acides aminés ou peptide avec des alcynes internes

a) Cycloaddition [3+2] d'alcynes internes non fonctionnalisés

Dans un premier temps, la cycloaddition réalisée dans le glycérol à 150°C sous irradiation microondes a été étudiée avec deux azotures d'acides aminés et des alcynes non fonctionnalisés. Les résultats sont présentés dans le Schéma 83 ci-dessous.

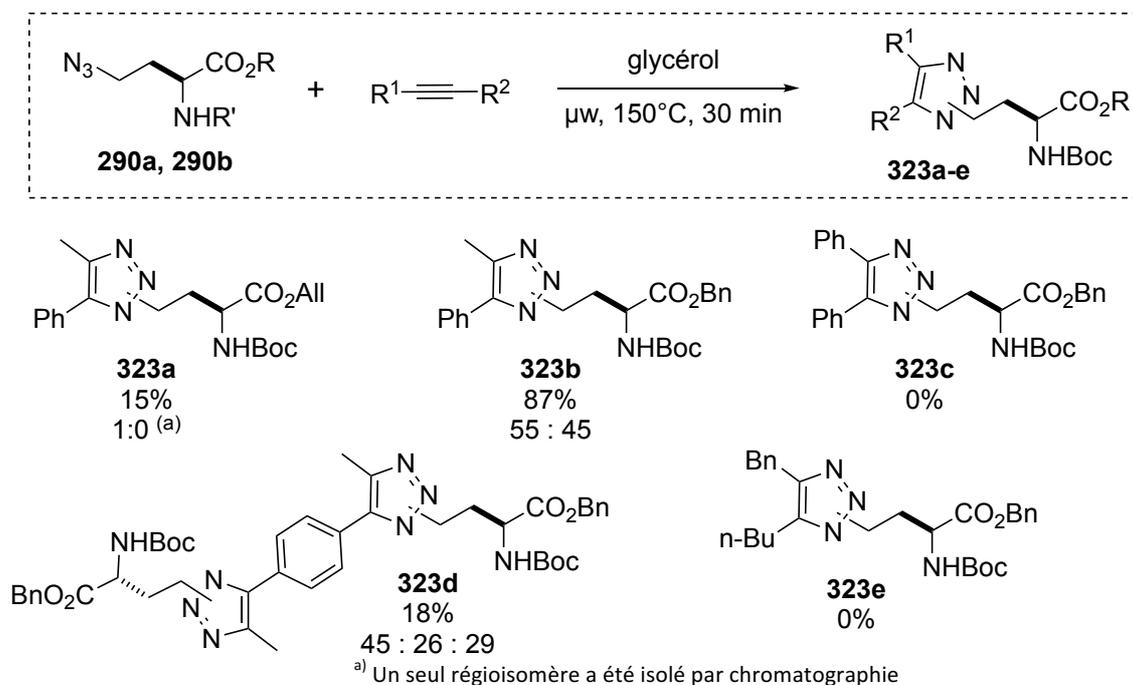


Schéma 83 : Synthèse de dérivés triazolo-acides aminés par cycloaddition d'alcynes internes non fonctionnalisés

Lorsque le γ -azoture d'amido ester d'allyle **290a** réagit avec le phénylpropyne **301a**, le produit de cycloaddition **323a** est obtenu avec un rendement de 15% (Schéma 83). Un seul régioisomère a été isolé, mais du fait du faible rendement observé et il est probable que le second régioisomère n'ait pas pu être identifié après chromatographie sur gel de silice.

Dans le cas de la cycloaddition du γ -azoture d'amido ester de benzyle **290b** avec le phénylpropyne **301a**, le produit **323b** est obtenu avec 87% de rendement dans un rapport régioisomérique de 55 : 45. Cette différence de réactivité entre les azotures **290a** et **290b** s'explique certainement par la dégradation de l'ester d'allyle dans le glycérol à 150°C sous irradiation microondes. Pour cette raison, seuls les azotures d'ester de benzyle **290b**, **298** et **300** seront utilisés dans les cycloadditions suivantes. Dans le cas où le 1,4-diéthynyl-benzène est utilisé, le produit de double cycloaddition **323d** est obtenu avec 18% de rendement sous la forme d'un mélange de trois régioisomères. Cette régiosélectivité s'explique facilement par la formation statistique des noyaux triazoles qui conduisent aux isomères « anti-anti », « syn-syn » et « anti-syn » selon le positionnement

de la chaîne acide aminé par rapport au squelette carboné. Les ratios obtenus pour les différents isomères correspondent à une distribution statistique, 45 : 26 : 29 (Schéma 84).

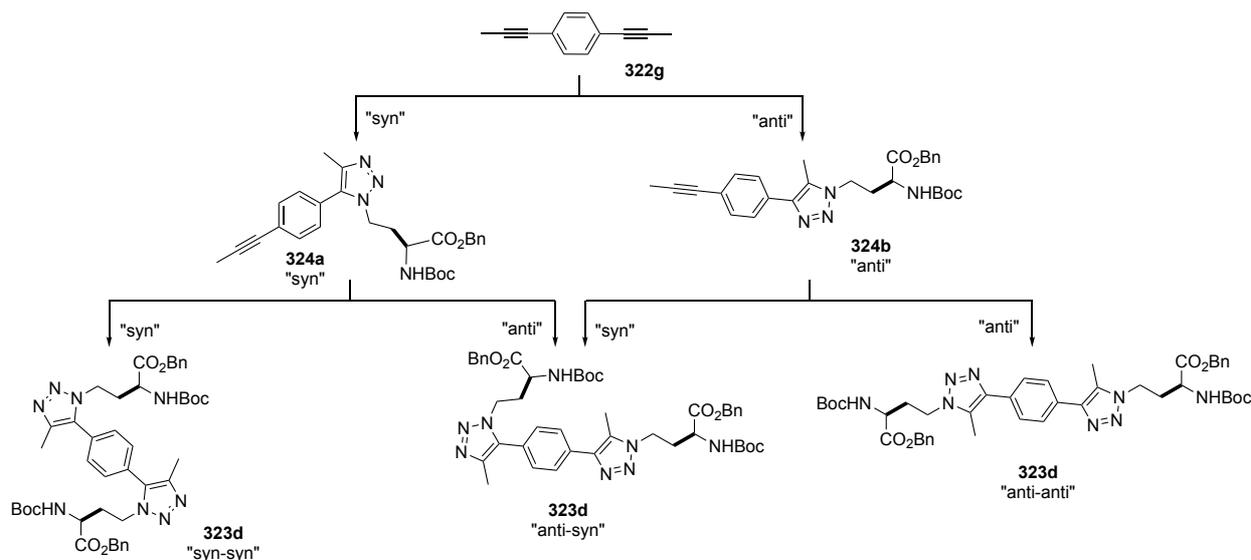
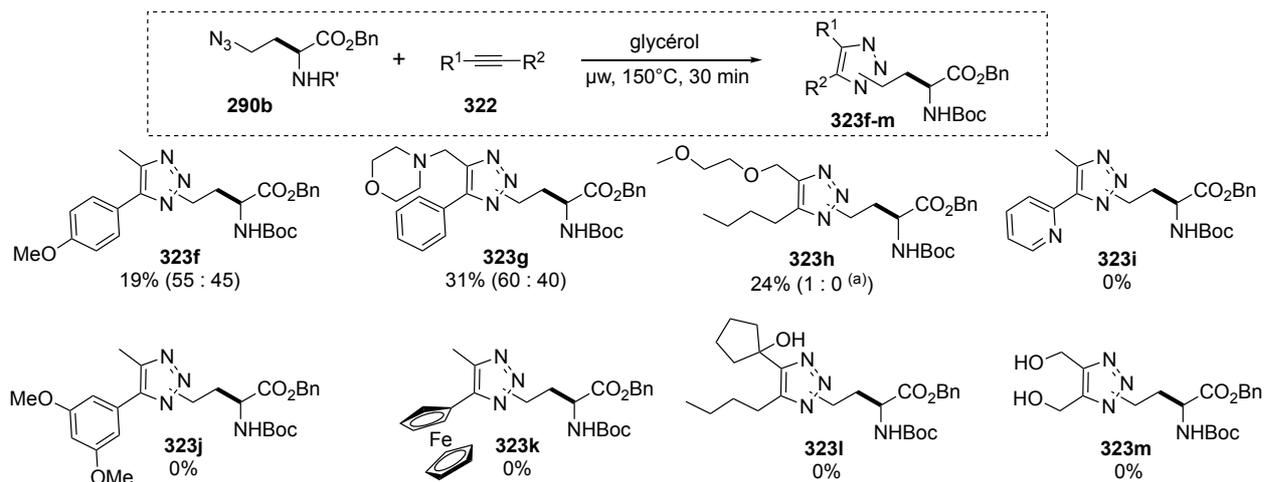


Schéma 84 : Structure des régioisomères **323d** obtenus par cycloaddition [3+2]

Par contre, dans le cas du diphenylacétylène et du dialkylacétylène, aucun produit de cycloaddition n'a été obtenu dans les conditions étudiées (Schéma 83). Bien que ces résultats soient un peu étonnants, l'absence de réactivité peut s'expliquer dans le cas du diphenylacétylène par une solubilité trop faible dans le glycérol. Par contre dans le cas de l'alcyne benzylique, l'absence de cycloaddition doit s'expliquer par la dégradation de l'alcyne qui est susceptible de s'isomériser en allène conjugué Bu-CH=C=CH-Ph.^{209,210,211}

b) Cycloaddition [3+2] d'alcynes internes porteurs de groupes hétérofonctionnalisés

Dans un second temps la compatibilité fonctionnelle de la réaction a été étudiée avec l'azoture d'amido ester de benzyle **290b** et des alcynes substitués par des aryles fonctionnalisés, un hétérocycle, un organométallique et des éthers, amines et alcools propargyliques. Les résultats sont présentés ci-dessous :



a) Un seul régioisomère isolé par chromatographie

Schéma 85 : Synthèse de dérivés triazolo-acides aminés par cycloaddition d'alcynes internes hétérofonctionnalisés

209 Ramming, M.; Gleiter, R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5821.

210 Oku, M.; Arai, S.; Katayama, K.; Shiori, T. *Synlett.* **2000**, *4*, 493.

211 Wang, Y.; Burton, D. *J. Org. Lett.* **2006**, *8*, 5295.

Il est probable que les dérivés acide, aldéhyde, et de façon plus surprenante amide, mènent à des sous-produits non réactifs. Bien qu'une certaine régioselectivité ait pu être attendue lors de l'usage de phénylpropiolate de méthyle **319**, du fait de la polarisation de la triple liaison, le triazole est obtenu sous la forme d'un mélange de régioisomères **323n-1** et **323n-2** dans un rapport 1 : 1 qui ont pu être séparés par chromatographie. Dans ce cas, toutes les tentatives d'attribution de structure par RMN ^1H NOESY se sont révélées vaines, et différentes réactions pour obtenir des dérivés cristalloènes ont été réalisées (Schéma 87).

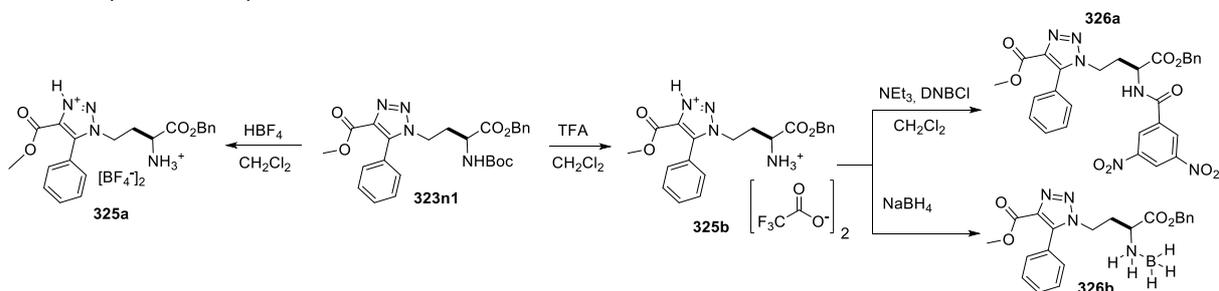


Schéma 87 : Tentative de préparation d'un dérivé cristallisé à partir de **323n-1**.

Ainsi, le composé **323n-1** a été déprotégé au niveau de la fonction amine pour tenter d'obtenir les cristaux d'un sel de tétrafluoroborate **325a** ou de trifluoroacetate **325b**, puis le couplage avec le chlorure d'acide 3,5-dinitrobenzoïque a été réalisé pour donner l'amide **326a**. Enfin la formation d'un complexe borane **326b** a également été tentée (Schéma 87). Ces expériences ont également été réalisées sur l'autre régioisomères **323n-2**. Aucun de ces dérivés n'a fourni de cristaux exploitables pour l'obtention d'une structure par diffraction aux rayons X.

d) Cycloaddition [3+2] avec des alcynes internes porteurs de groupements silylés

Afin de préparer des dérivés silylés d'acides aminés et peptides dans une perspective de radiomarquage par formation de liaison Si- ^{18}F , des tests préliminaires ont été réalisés avec des triméthylsilylalcynes.

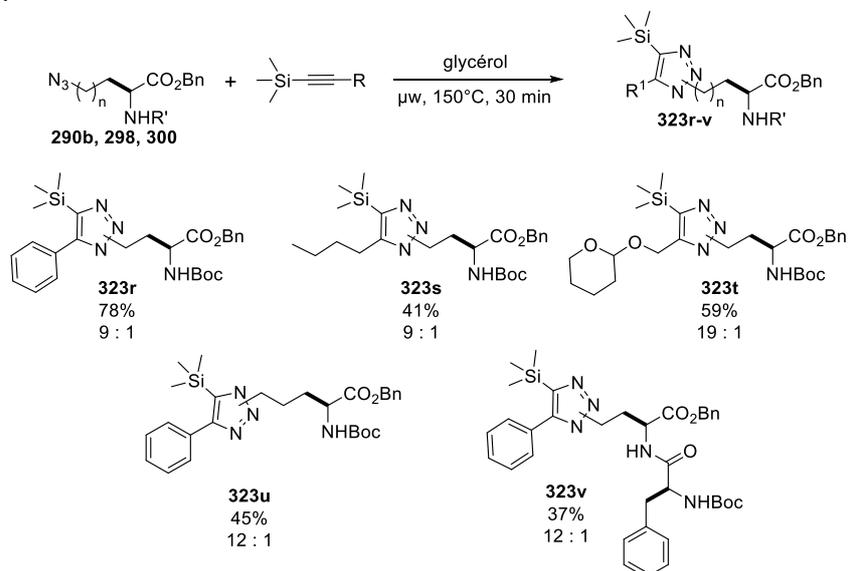


Schéma 88 : Synthèse de dérivés triazolo-acides aminés et peptide par cycloaddition d'alcynes internes porteurs de triméthylsilyl avec des azotures d'acides aminés et de peptide

Ainsi, la réaction de l'azoture **290b** avec le triméthylsilylphénylacétylène **301e** conduit au produit de cycloaddition **323r** avec 78% de rendement dans un ratio régioisomérique de 9 : 1.

Dans le cas où la réaction est réalisée avec l'azoture homologue **298**, le triazole résultant, **323u**, est isolé avec un rendement de 45% dans un ratio régioisomérique de 12 : 1.

Lorsque le même alcyne **301e** est utilisé avec l'azido-dipeptide **300**, le dérivé triazole correspondant **323v** est obtenu avec 37% de rendement sous la forme d'un mélange de régioisomères

12 : 1. L'analyse du spectre obtenu par RMN ^1H démontre la pureté chimique du composé obtenu, et laisse supposer une absence de épimérisation du produit (Figure 45).

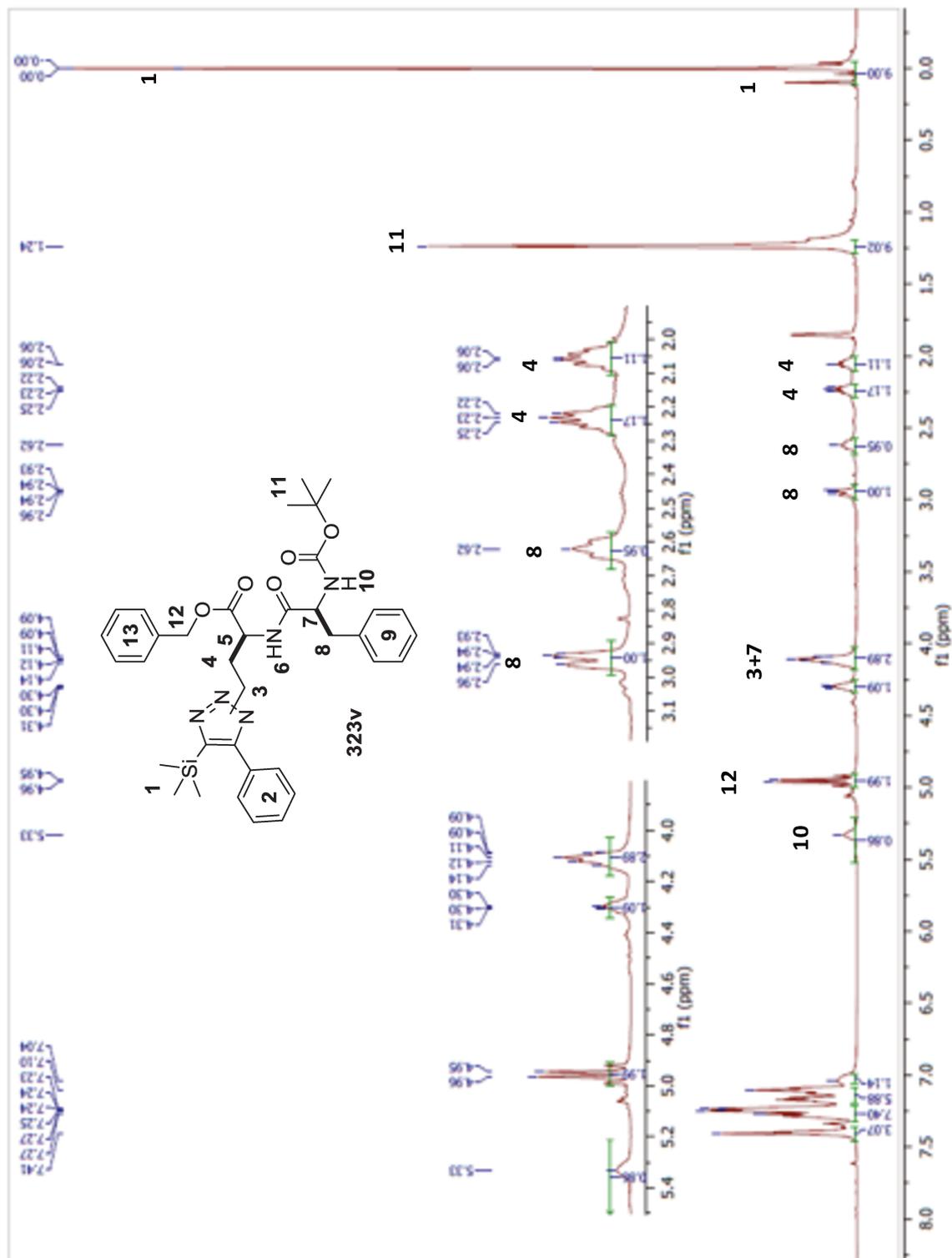


Figure 45 : Spectre RMN ^1H (500 MHz, CD_3CN) de **323v**

Enfin, lorsque des alkylalcyne silylés tels que **301b** et **322k** réagissent avec l'azoture d'acide aminé **290b**, les dérivés triazoles, respectivement, **323s** et **323t** sont obtenus avec des rendements de 41 et 59% et sous la forme de mélanges d'isomères dans des rapports 9 : 1 et 19 : 1.

Finalement il ressort que les dérivés azotures d'acides aminés et de dipeptides réagissent bien à très bien avec les alcynes internes dans les conditions de cycloaddition mises au point, en particulier avec les alcynes porteurs de groupements triméthylsilyl, ester, amine, alkyl et aromatiques. Cependant, dans ce dernier cas, les résultats semblent variables selon la substitution du noyau aromatique.

D'un autre côté, si d'une manière générale, la formation de régioisomères est difficile à éviter dans les conditions mises au point, il faut observer d'une part que la présence de substituants polaires sur le triazole tels que des esters ou des amines semblent favoriser leurs séparations par chromatographie sur silice, et d'autre part qu'une forte dissymétrie (en termes stériques) de l'alcyne interne permet d'orienter la réaction vers un régioisomère. La régioselectivité peut atteindre 19 : 1 dans le cas de **323t**. Enfin, bien que la cycloaddition ne se produise pas avec des alcynes internes très aromatiques, ou porteurs de fonctions acide carboxylique, amide, aldéhyde, ou encore d'alcool propargylique, cela peut souvent s'expliquer par des problèmes de solubilité de l'alcyne dans le glycérol ou alors par sa dégradation thermique.

Compte tenu des bons résultats obtenus par cycloaddition d'alcynes silylés, cette méthode de fonctionnalisation d'acides aminés a été étendue pour étudier la synthèse de dérivés silanes Si-H, dans la perspective de radiomarquage par des fluorures radioactifs ^{18}F , et la synthèse de diphosphines pour la chimie bio-inorganique ou la catalyse asymétrique.

4) Etude de la cycloaddition [3+2] d'azoture d'acide aminé avec des alcynes silanes Si-H

Au chapitre 1, l'utilisation de groupements silylés pour le radiomarquage par fluorures ^{18}F a été exposé. Il a été montré que pour assurer la stabilité des dérivés fluorosilanes $\text{Si}-^{18}\text{F}$, il est nécessaire que l'atome de silicium soit porteur de groupements très encombrants comme *t*-butyle ou *metaxylyle*. L'inconvénient principal de cette substitution provient de l'augmentation de la lipophilie qui peut modifier les propriétés du vecteur.

L'étude par simulation¹¹⁷ réalisée par Ametamey *et al* a permis de montrer l'importance du caractère hautement lipophile des fluorosilanes porteur de deux *t*-butyl. Ainsi, certaines modifications, telles que le changement de fonctions de greffage peut permettre de diminuer le caractère lipophile des fluorosilanes (Figure 46).

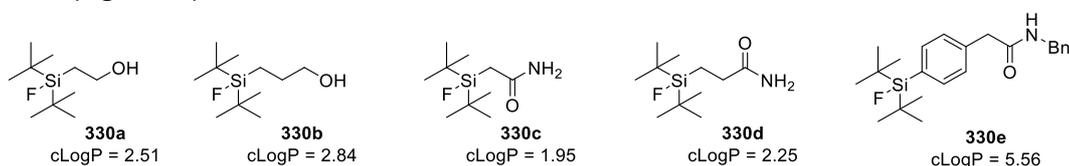


Figure 46 : Influence des substituants du silicium sur la lipophilie des fluorosilanes

Schirmmacher *et al* ont développé une autre méthode²¹² pour réduire la lipophilie des synthons silylés accepteurs de fluorures sans diminuer leurs stabilités à l'hydrolyse grâce à l'utilisation d'un sel d'ammonium tel que **329** (Schéma 89).

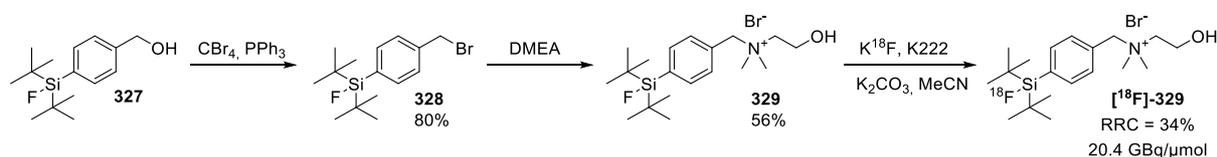


Schéma 89 : Synthèse d'un marqueur di-*t*-butylfluorosilane greffé à un sel d'ammonium

Le fait que le fluorosilane **329** soit accroché à un sel d'ammonium n'a pas altéré sa stabilité à l'hydrolyse dans une solution de sérum sanguin. Ce marqueur permet d'obtenir de très bonnes activités molaires en radiomarquage. Le dérivé **331** a été bioconjugué à l'octréotide, par formation d'une liaison oxime, *via* un bras espaceur préparé à partir d'acide aspartique, et utilisé en radiomarquage par échange isotopique selon la méthode SiFA pour l'imagerie chez le petit animal (Figure 47).²¹³

212 Kostikov, A. P.; Iovkova, L.; Chin, J.; Schirmmacher, E.; Wängler, B.; Wängler, C.; Jurkschat, K.; Cosa, G.; Schirmmacher, R. *J. Fluor. Chem.* **2011**, 132, 27.

213 Litau, S.; Niedermoser, S.; Vogler, N.; Roscher, M.; Schirmmacher, R.; Fricker, G.; Wängler, B.; Wängler, C. *Bioconjug. Chem.* **2015**, 26, 2350.

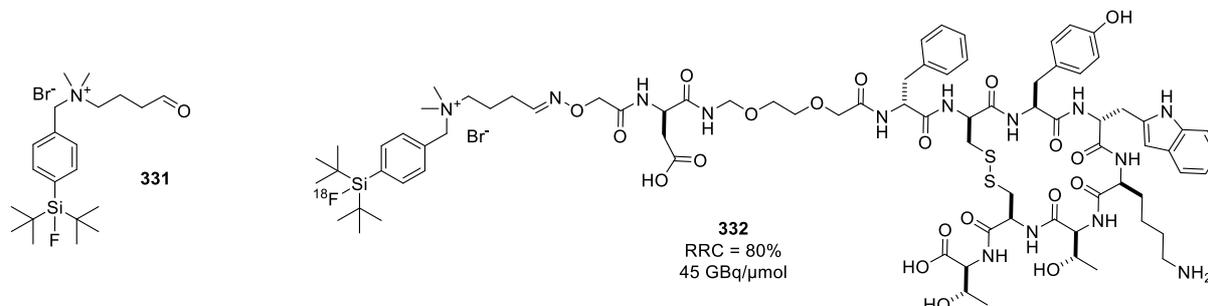


Figure 47 : Application d'un dérivé di-*t*-butylfluorosilane-sel d'ammonium pour le radiomarquage de l'octréotide et l'imagerie chez le petit animal

De très bon résultats ont été obtenus en radiomarquage avec ce tandem di-*t*-butylfluorosilane-sel d'ammonium/octréotide **332** mais le caractère hydrophile du bras espaceur dérivé d'acide aspartique et d'une chaîne de type éthylène glycol est aussi important pour la balance hydrophile/hydrophobe du marqueur (Figure 47). Dans le domaine du radiomarquage des acides aminés et peptides, une méthode récente consiste à piéger le fluorure $^{18}\text{F}^-$ par un groupement boronaté. Celui-ci est stabilisé sous forme de trifluoroborate en interaction avec un sel d'ammonium ou un phosphonium à proximité (Figure 48).^{214,215,216}

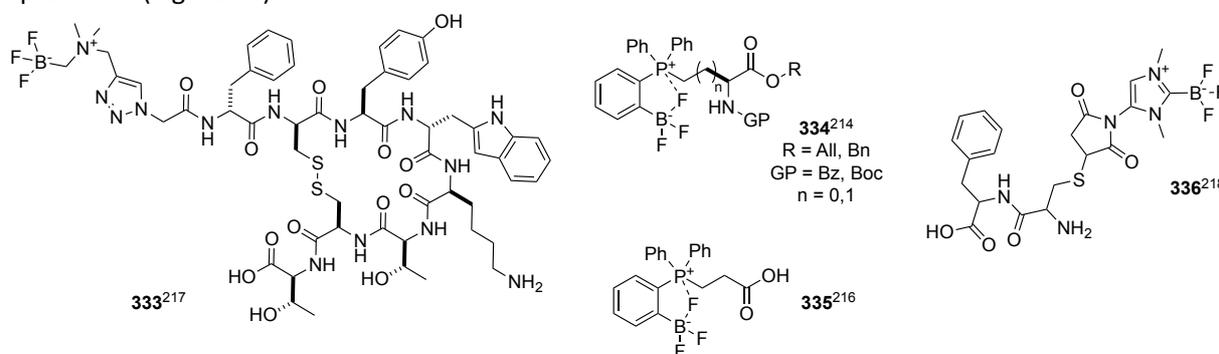


Figure 48 : Exemples d'utilisation de fluoroborates cationiques pour l'imagerie médicale

Ce type de composé a été utilisé en radiomarquage au fluor 18, en utilisant des phosphoniums, des ammoniums,²¹⁷ ou des NHC²¹⁸ comme groupes cationiques (Figure 48). L'intérêt de ces composés réside dans la stabilisation du fluorure par un effet de pince entre le centre cationique et le groupement BF_3^- chargé négativement comme cela est montré plus particulièrement dans le cas des sels de phosphonium **334** et **335** (Figure 48).

Cette stabilisation des fluorures par la présence d'un phosphonium provient principalement de l'interaction électrostatique mais dans certains cas, la formation d'une liaison avec le phosphonium peut s'observer par apparition d'un couplage en RMN ^{31}P et ^{19}F .²¹⁴

Compte tenu du mécanisme d'hydrolyse des fluorosilanes présenté au chapitre 1 (Schéma 45), il a été envisagé de préparer des fluorosilanes ayant un sel d'ammonium voisin tel que **339** pour étudier l'intérêt d'une telle structure vis-à-vis de l'hydrolyse (Schéma 90). En cas de succès, la substitution du silicium par des groupements R moins encombrants et moins lipophiles pourrait s'envisager.

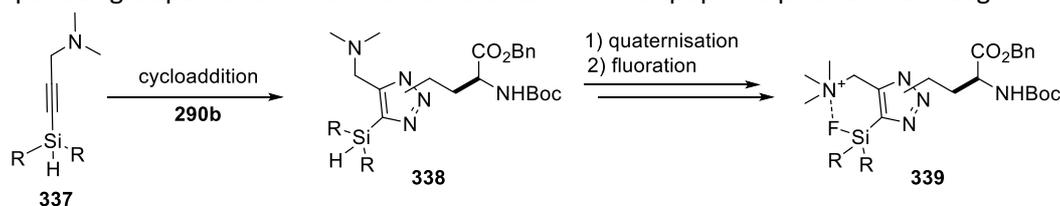


Schéma 90 : Proposition de synthèse pour l'obtention de sels d'ammonium de triazoles fluorosilylés.

214 Bernard, J.; Malacea-Kabbara, R.; Clemente, G. S.; Burke, B. P.; Eymen, M.-J.; Archibald, S. J.; Jugé, S. J. *Org. Chem.* **2015**, 80, 4289.

215 Wade, C. R.; Broomsgrrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbai, F. P. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3958.

216 Wade, C. R.; Zhao, H.; Gabbai, F. P. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6380.

217 Liu, Z.; Pourghiasian, M.; Benard, F.; Pan, J.; Lin, K.-S.; Perrin, D. M. *J. Nucl. Med.* **2014**, 55, 1499.

218 Chansaenpak, K.; Wang, M.; Wu, Z.; Zaman, R.; Li, Z.; Gabbai, F. P. *Chem Commun.* **2015**, 51, 12439.

Afin de synthétiser des dérivés bifonctionnels tels que **339**, la cycloaddition [3+2] d'alcynes internes **337** porteurs de fonctions amine ou ammonium et silane (SiH) avec l'azoture d'aminoester de benzyle **290b**, s'avère une méthode de choix. Le groupement dialkylsilane de l'alkyne **337** a pour objectif de permettre la formation du fluorosilane dans des conditions similaires à celles qui ont été présentées au chapitre 1 (DMSO, 100°C, KF/K222) (Schéma 90). Alors qu'un dérivé de morpholine **337** (potentiellement précurseur d'un sel d'ammonium) a été préparé par cycloaddition [3+2], il était important de vérifier que les alcynes dialkylsilylés (SiH) pouvait réagir également avec l'azoture d'acide aminé **290b** dans ces conditions.

a) Etude de la cycloaddition [3+2] entre l'azoture **290b et les alcynes dialkylsilylés**

Dans un premier temps, les dialkylsilylphénylacétylènes **340a-c** ont été préparés par déprotonation du phénylacétylène **223a** avec le butyllithium, puis piégeage de l'acétylure avec le chlorodialkylsilane **189** correspondant (Schéma 91).

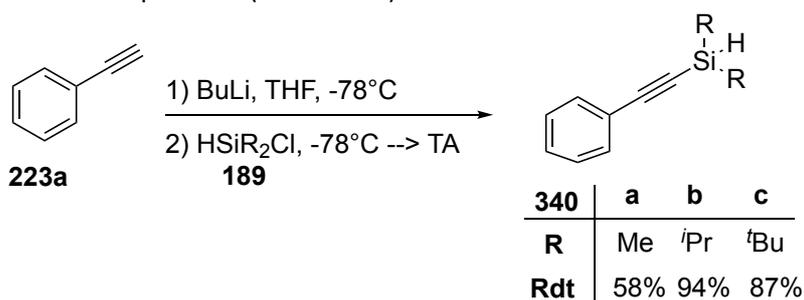


Schéma 91 : Synthèse des phénylacétylènes silylés

De cette manière les alcynes diméthyl, di-*i*-propyl, et di-*t*-butyl silylés **340a-c** ont été obtenus avec respectivement 58, 94 et 87% de rendement (Schéma 91).

La réaction des alcynes **340** avec l'azoture d'amidoester **290b** a été étudiée dans les conditions de cycloaddition mises au point (150°C microonde, glycérol, 30 minutes).

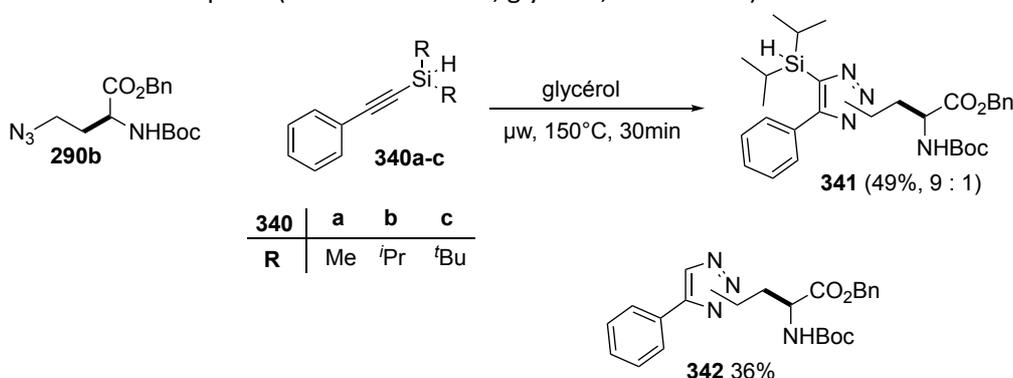


Schéma 92 : Préparation de triazoles à partir des phénylacétylènes dialkylsilylés (SiH)

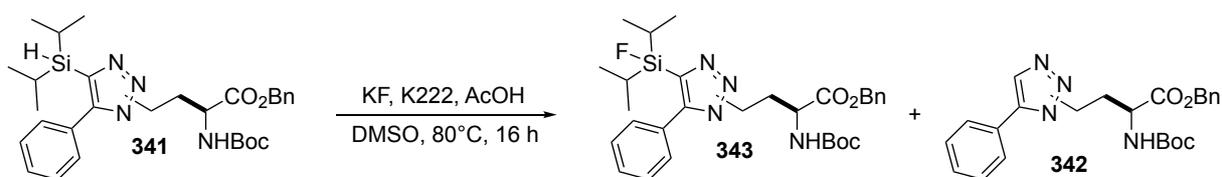
Seul le di-*i*-propylsilylphénylacétylène **340b** permet d'obtenir le cycloadduit correspondant **341** avec un rendement de 50% (Schéma 92). Ce composé se présente sous la forme d'un mélange de régioisomères dans un rapport 9 : 1.

Dans le cas où le diméthylsilylphénylacétylène **340a** est utilisé, la cycloaddition se produit bien mais le produit **342** est malheureusement obtenu désilylé avec 36% de rendement (Schéma 92). Cette désilylation s'explique par le plus faible encombrement stérique au niveau de l'atome de silicium qui permet une attaque nucléophile et la coupure de la liaison Si-C dans ces conditions.

En revanche, le di-*t*-butylsilylphénylacétylène **340c** ne réagit pas avec l'azoture **290b** et est récupéré en fin de réaction. Bien qu'il soit intéressant de savoir que les alcynes silanes Si-H peuvent donner lieu à la réaction de cycloaddition, le fait que les dérivés diméthyl et di-*t*-butyl ne conduisent pas aux produits attendus dans les conditions de réaction, en démontre les limitations.

b) Etude de la fluoration du dérivé di-*i*-propylsilane d'amoester

Un essai de fluoration dans les conditions précédemment décrites a été réalisée sur le dérivé di-*i*-propylsilane **341** (Schéma 93).

Schéma 93 : Essai de fluoration sur le dérivé di-*i*-propylsilyle **341**

Dans ces conditions, le fluorosilane **343** se forme, mais la réaction est incomplète et le produit se trouve accompagné du silane SiH **341** de départ ainsi que du produit résultant de la désilylation **342** (Schéma 93).

Si la faisabilité d'un radiomarquage par cette voie semble possible, la désilylation des dérivés triazoles qui a été observée tant lors de la synthèse (avec le composé diméthylsilyl) que lors de la fluoration, limite sérieusement les possibilités de modification structurale au niveau de l'atome de silicium.

c) Etude de la cycloaddition de l'azoture d'amoester 290b avec des alcynes internes porteurs de groupements ammonium et di-*i*-propylsilane

La cycloaddition de composés bifonctionnels silane Si-H/sel d'ammonium **344** pour obtenir des dérivés fluorés stabilisés par interaction électrostatiques, a été envisagée selon trois approches.

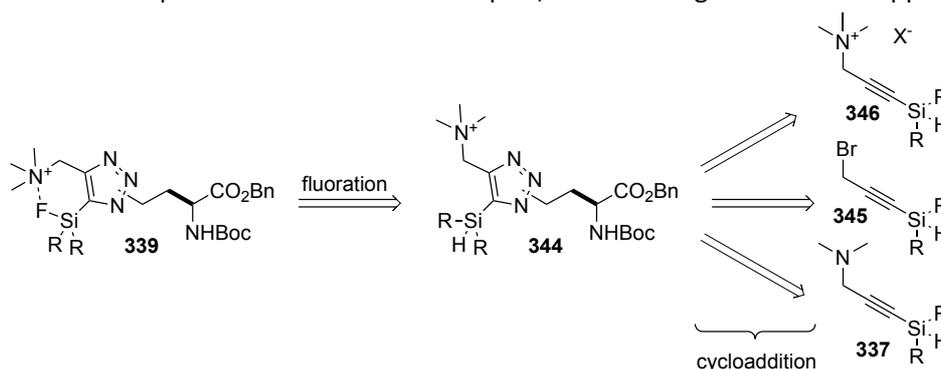
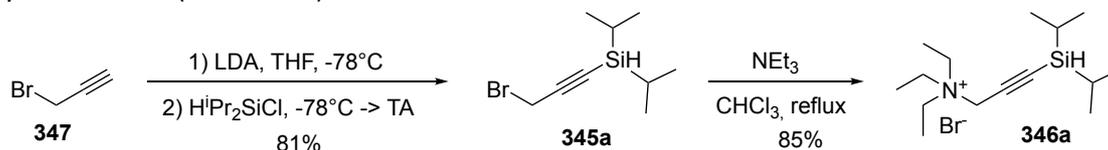


Schéma 94 : Stratégie de synthèse de composés bifonctionnels silane Si-H/sel d'ammonium par cycloaddition

Les trois approches se différencient par l'alcyne interne utilisé pour la cycloaddition selon que celui-ci porte un bromure tel que **345a**, un sel d'ammonium **346a** ou encore une amine tertiaire **337** (Schéma 94). La préparation du bromure de propargyle silylé **345a** a été réalisée avec 81% de rendement par déprotonation du bromure de propargyle par le LDA suivi d'un piégeage avec le di-*i*-propylchlorosilane (Schéma 95).

Schéma 95 : Préparation du bromure de propargyle silylé **345a** et du sel de triéthylammonium **346a** correspondant.

La quaternisation de la triéthylamine par le bromure de propargyle silylé **345a** à reflux du chloroforme, permet d'obtenir l'alcyne interne bifonctionnel **346a** avec 85% de rendement (Schéma 95).

La synthèse des propargylamines silylées **337** a été réalisée en deux étapes à partir du bromure de propargyle **347** (Schéma 96). Dans un premier temps, le bromure de propargyle est aminé par réaction de morpholine ou de N-méthylpipérazine en présence d'une base faible.

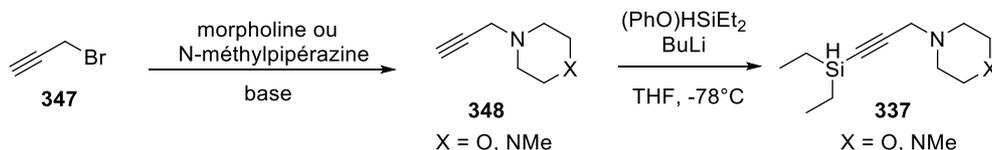


Schéma 96 : Synthèse des amines propargyliques silylées

L'optimisation des conditions d'amination du bromure de propargyle a été réalisée en fonction du solvant, de la température et de la base utilisée (Tableau 24).

| | Amine | Base | Solvant | Température ^a | Rendement | Produit |
|---|--------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------|-----------|-------------|
| 1 | Morpholine | K ₂ CO ₃ | CHCl ₃ | 61°C | 42% | 348a |
| 2 | Morpholine | K ₂ CO ₃ | CH ₃ CN | 82°C | 16% | 348a |
| 3 | Morpholine | Cs ₂ CO ₃ | Acétone | 56°C | 81% | 348a |
| 4 | Morpholine | K ₂ CO ₃ | MeOH | 0°C -> TA | 35% | 348a |
| 5 | N-méthylpipérazine | K ₂ CO ₃ | MeOH | 0°C -> TA | 60% | 348b |

^a Temps de réaction 16h

 Tableau 24 : Mise au point de l'amination du bromure de propargyle **347**

La *N*-propargylmorpholine **348a** a été obtenue avec 81% de rendement par réaction du bromure de propargyle avec la morpholine dans l'acétone à reflux en présence de carbonate de césium (entrée 3). Par contre, c'est la réaction du bromure de propargyle avec la *N*-méthylpipérazine, en présence de K₂CO₃ dans le méthanol à température ambiante, qui permet d'obtenir la *N*-méthylpropargyle pipérazine **348b** avec un rendement de 60% (entrée 5).

Comme le diéthylchlorosilane Et₂SiHCl est très onéreux, la silylation des propargylamines **348** a été effectuée par réaction avec le phénoxydiéthylsilane **350** facilement préparé au laboratoire avec 90% de rendement par réaction du phénol avec le diéthylsilane **349** (Schéma 97).

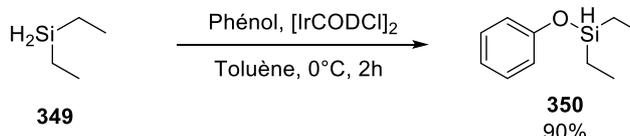


Schéma 97 : Préparation de phénoxydiéthylsilane

Finalement, la morpholine et la *N*-méthylpipérazine silylées **337** ont été obtenues par déprotonation des amines propargyliques correspondantes avec du butyllithium puis réaction avec le phénoxydiéthylsilane **350**, et addition d'HCl sec pour précipiter l'alcyne sous forme de chlorhydrate d'ammonium.

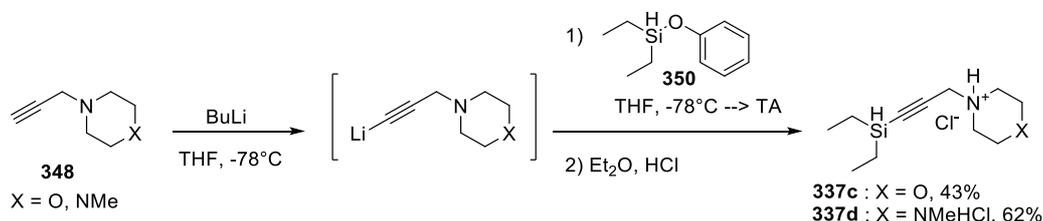


Schéma 98 : Préparation des sels de propargylammonium silylés

L'étude de la cycloaddition de l'azoture d'aminoester de benzyle **290b** avec les alcynes internes silylés **337c**, **337d**, **345a**, et **346a**, a été réalisée selon le protocole mis au point précédemment (Schéma 99).

Lorsque la cycloaddition est tentée avec l'alcyne **346a**, une montée en pression du tube microonde a été observée pendant la réaction et le triazole silylé attendu n'a pas été obtenu. La dégradation de l'alcyne **346a**, ou du produit de réaction, a été confirmée par identification en HPLC-MS du produit de cycloaddition désilylé **351** (Schéma 99a).

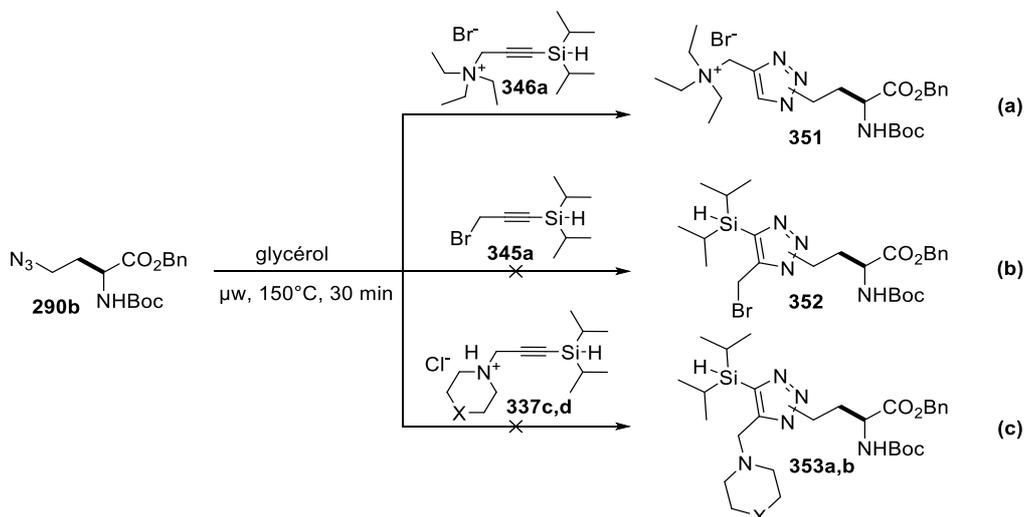


Schéma 99 : Tentatives de synthèse de composés bifonctionnels silane Si-H/sel d'ammonium par cycloaddition

Dans le cas où l'alcyne interne **345a** porteur d'un bromure en position propargylique est utilisé dans la cycloaddition avec l'azoture **290b**, là encore le produit de cycloaddition espéré **352** n'est pas obtenu (Schéma 99b). Dans ce cas l'analyse par HPLC-MS a mis en évidence la formation d'un dérivé résultant de la cycloaddition et qui est probablement un siloxane cyclique comme **352b** résultant de la réaction avec le glycérol (Figure 49).

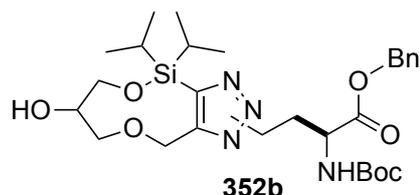


Figure 49 : Siloxane cyclique mis en évidence dans les produits de cycloaddition de l'alcyne **345a**

Enfin, tous les essais pour réaliser la cycloaddition de l'azoture **290b** avec les propargylamines silylées **337** n'ont pas donné de résultats significatifs. Dans le glycérol, les chlorures de propargylamine silylés **337c** et **337d** se sont révélés peu solubles et en dépit d'un préchauffage avant irradiation microonde, d'un ajout de base (DIPEA), et même d'eau, aucun produit de cycloaddition n'a pu être identifié.

En conclusion, malgré l'utilisation de différentes stratégies pour la synthèse des acides aminés bifonctionnalisés, par un silane Si-H et un sel d'ammonium, par réaction de cycloaddition dans le glycérol sous irradiation microonde d'un alcyne interne et d'un azoture d'acide aminé, les triazoles espérés n'ont pas été obtenus. La principale raison repose certainement sur la trop grande réactivité des dérivés propargyliques possédant des potentiels groupes partants tels que bromures, ammoniums et silanes dans les conditions de réaction à 150°C dans le glycérol.

5) Cycloaddition [3+2] d'azoture d'acide aminé avec des alcyne porteurs de phosphines

a) Rappel bibliographique

Depuis longtemps, les acides aminés ont été utilisés comme matière première pour préparer des phosphines chirales utiles pour la catalyse asymétrique.²¹⁹ D'un autre côté, l'accrochage de

phosphines sur la chaîne latérale d'acides aminés a été mis à profit en catalyse et organocatalyse asymétrique.²²⁰

L'accrochage de groupements phosphorés sur le squelette d'acides aminés se fait soit par formation d'une liaison P-O ou P-N,^{221,222} soit par formation d'une liaison P-C ou encore par accrochage à la fonction amine *via* un groupement carboné.^{223,224}

De nombreux exemples illustrent l'intérêt des monophosphines supportées par un peptide en catalyse asymétrique.

Ainsi, Hoveyda *et al* ont montré que le ligand **354** permet de réaliser des additions de Michael asymétriques avec des organozinciques sur des énonés cycliques avec des excès énantiomériques pouvant être supérieurs à 98% (Schéma 100).²²³



Schéma 100 : Additions 1,4 asymétriques catalysées par un sel de cuivre en présence d'une phosphine supportée par un peptide

De même, Lu *et al* ont décrit l'utilisation de dipeptides dérivés de β -phosphino acide aminé tels que **355** comme organocatalyseur dans des réactions de cycloaddition d'esters α,β -insaturés ou d'allènes (Schéma 101).^{225,226,227}

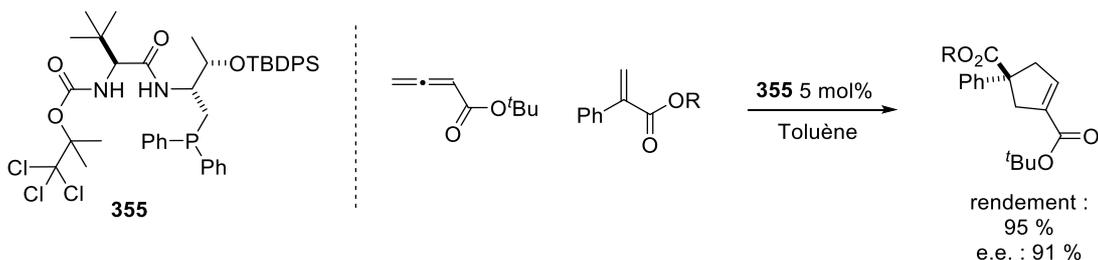


Schéma 101 : Cycloaddition asymétrique catalysée par un peptide porteur de phosphine

Cette réaction permet d'obtenir des esters insaturés cycliques avec des énantiosélectivités très élevées atteignant 91%.

La préparation de diphosphines supportées par un acide aminé ou un peptide a fait l'objet de peu de travaux. Par exemple les ligands bidentes **356** et **357**, formés respectivement par incorporation d'un motif diphosphine à pont *N,N*-diméthylamine et par incorporation de deux monophosphines au sein d'un même peptide, ont été utilisés en catalyse d'allylation asymétrique par des complexes de palladium (Schéma 102).^{228,229}

220 Gilbertson, S. R.; Wang, X. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 434.

221 Naili, S.; Mortreux, A.; Agbossou, F. *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, 9, 3421.

222 Galka, P. W.; Kraatz, H.-B. *J. Organomet. Chem.* **2003**, 674, 24.

223 Degrado, S. J.; Mizutani, H.; Hoveyda, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 755.

224 Christensen, C. A.; Meldal, M. *Chem. - Eur. J.* **2005**, 11, 4121.

225 Han, X.; Wang, Y.; Zhong, F.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 1726.

226 Yao, W.; Dou, X.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 54.

227 Wang, T.; Yu, Z.; Hoon, D. L.; Huang, K.-W.; Lan, Y.; Lu, Y. *Chem Sci.* **2015**, 6, 4912.

228 Greenfield, S. J.; Agarkov, A.; Gilbertson, S. R. *Org. Lett.* **2003**, 5, 3069.

229 Agarkov, A.; Greenfield, S. J.; Ohishi, T.; Collibee, S. E.; Gilbertson, S. R. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 8077.

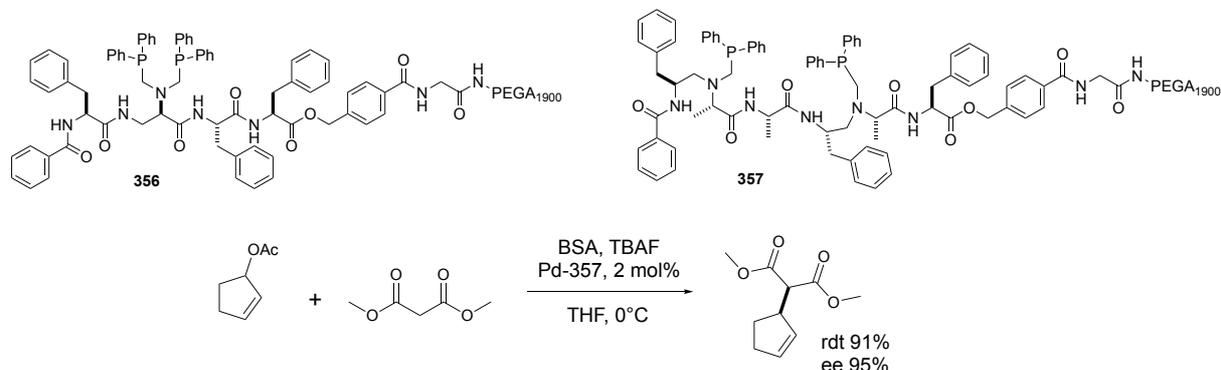


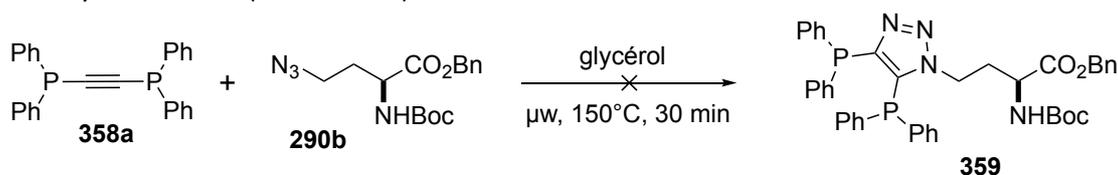
Schéma 102 : Application de diphosphines supportées sur peptides en catalyse d'allylation asymétrique

La catalyse par le complexe de palladium/**357** conduit ainsi au produit d'allylation du malonate de méthyle avec un excès énantiomérique de 95% (Schéma 102).

A la vue du peu de méthodes décrites pour la synthèse de diphosphines supportées par la chaîne latérale d'acide aminé, l'extension de la réaction de cycloaddition [3+2] à des diphosphines à pont acétylène telles que **358** a été envisagée.

b) Synthèse de diphosphines supportées sur un acide aminé par cycloaddition [3+2]

La cycloaddition de l'azoture d'aminoester de benzyle **290b** avec le bis-diphénylphosphinoacétylène **358a**, qui est commercial, a été tentée dans les conditions mises au point pour les alcynes internes (Schéma 103).


 Schéma 103 : Tentative de cycloaddition avec le bis-diphénylphosphinoacétylène **358a**

Cependant, dans ces conditions, la cycloaddition ne se produit pas à cause de la réaction de l'azide avec les phosphines pour donner un iminophosphorane qui s'hydrolyse en oxyde de phosphine.²³⁰ Pour contourner cet inconvénient, la transformation du bis-diphénylphosphinoacétylène a été envisagée en un complexe de diborane **358b**, en un bis-oxyde **358c**, ou en un bis-sulfure **358d** (Figure 50).

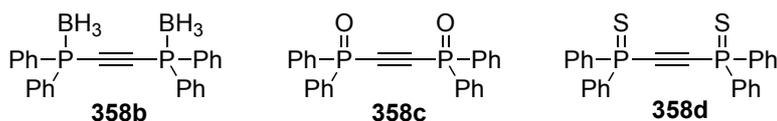


Figure 50 : Protections envisagées du bis-diphénylphosphinoacétylène

L'utilisation du complexe de diborane **358b** dans les conditions d'un chauffage microondes dans le glycérol a été écartée car le borane ne résisterait pas.

Bien qu'il y ait de grandes chances que le bis-oxyde de phosphine **358c** donne bien lieu au produit de cycloaddition, la potentielle difficulté de leur désoxygénation en présence d'un fragment acide aminé a amené à envisager la réaction avec le bis-sulfure **358d**. En effet, la désulfuration de thiophosphine par chauffage en présence de nickel de Raney,²³¹ ou de phosphines enrichies électroniquement telles que HMPA,^{232,233} semblait a priori plus compatible avec la partie acide aminé.

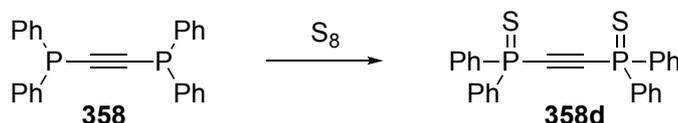
La préparation du bis-sulfure **358d** a été étudiée dans différentes conditions de solvant, de températures et avec différentes quantités de soufre.

230 Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta.* **1919**, *2*, 635.

231 Gilbertson, S. R.; Chang, C.-W. T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8424.

232 Kanemura, S.; Kondoh, A.; Yorimitsu, H.; Oshima, K. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2031.

233 Gorla, F.; Venanzi, L. M.; Albinati, A. *Organometallics.* **1994**, *13*, 43.



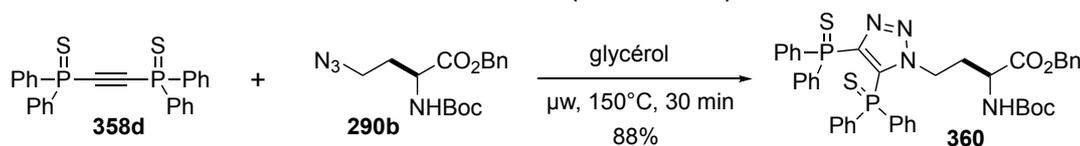
| Entrée | Quantité de soufre | Solvant | Température | Durée | Rendement |
|--------|--------------------|---------|-------------|-------|-----------|
| 1 | 2.5 eq | THF | TA | 16h | 37% |
| 2 | 12 eq | THF | TA | 16h | 35% |
| 3 | 30 eq | THF | reflux | 16h | Quant. |
| 4 | 30 eq | Toluene | reflux | 16h | Quant. |

Tableau 25 : étude des conditions de sulfuration sur la préparation de **358d**

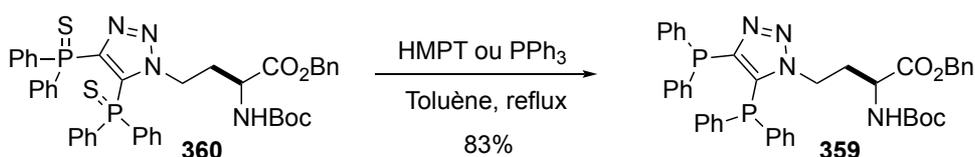
Lorsque la diphosphine **358** est agitée pendant 16 heures à température ambiante dans le THF en présence de 2,5 équivalents de soufre, le rendement obtenu n'est que de 37% (entrée 1). L'augmentation de la quantité de soufre à 12 équivalents ne mène pas à une augmentation du rendement (entrée 2). C'est par chauffage dans le THF ou dans le toluène, avec 30 équivalents de soufre, que la bis-thiophosphinoacétylène **358d** est obtenue quantitativement (entrées 3 et 4).

c) Etude de la synthèse de diphosphines par cycloaddition [3+2]

Dans les conditions optimisées de cycloaddition [3+2] d'alcynes internes, l'azoture d'amoester de benzyle **290b** a réagit avec la bis-diphénylthiophosphinoacétylène **358d**, pour donner le produit de cycloaddition recherché **360** avec 88% de rendement (Schéma 104).

Schéma 104 : Réaction de cycloaddition [3+2] de l'azoture d'acide aminé **290b** avec le bis-diphénylthiophosphinoacétylène **358d**

La désulfuration de la bis-thiophosphine **360** est facilement réalisée par chauffage à reflux du toluène en présence d'un excès (5 équivalents) de triphénylphosphine ou de HMPA pour donner le 4,5-diphosphinotriazole porteur d'un substituant acide aminé en position 1 avec 88% de rendement (Schéma 105). Finalement, la diphosphine **359** est obtenue avec un rendement global de 83% à partir de la bis-diphénylphosphinoacétylène **358a**. Son spectre RMN ^1H atteste la pureté chimique de ce composé (Figure 51).

Schéma 105 : Déprotection du bis-thiophosphinotriazole **360**

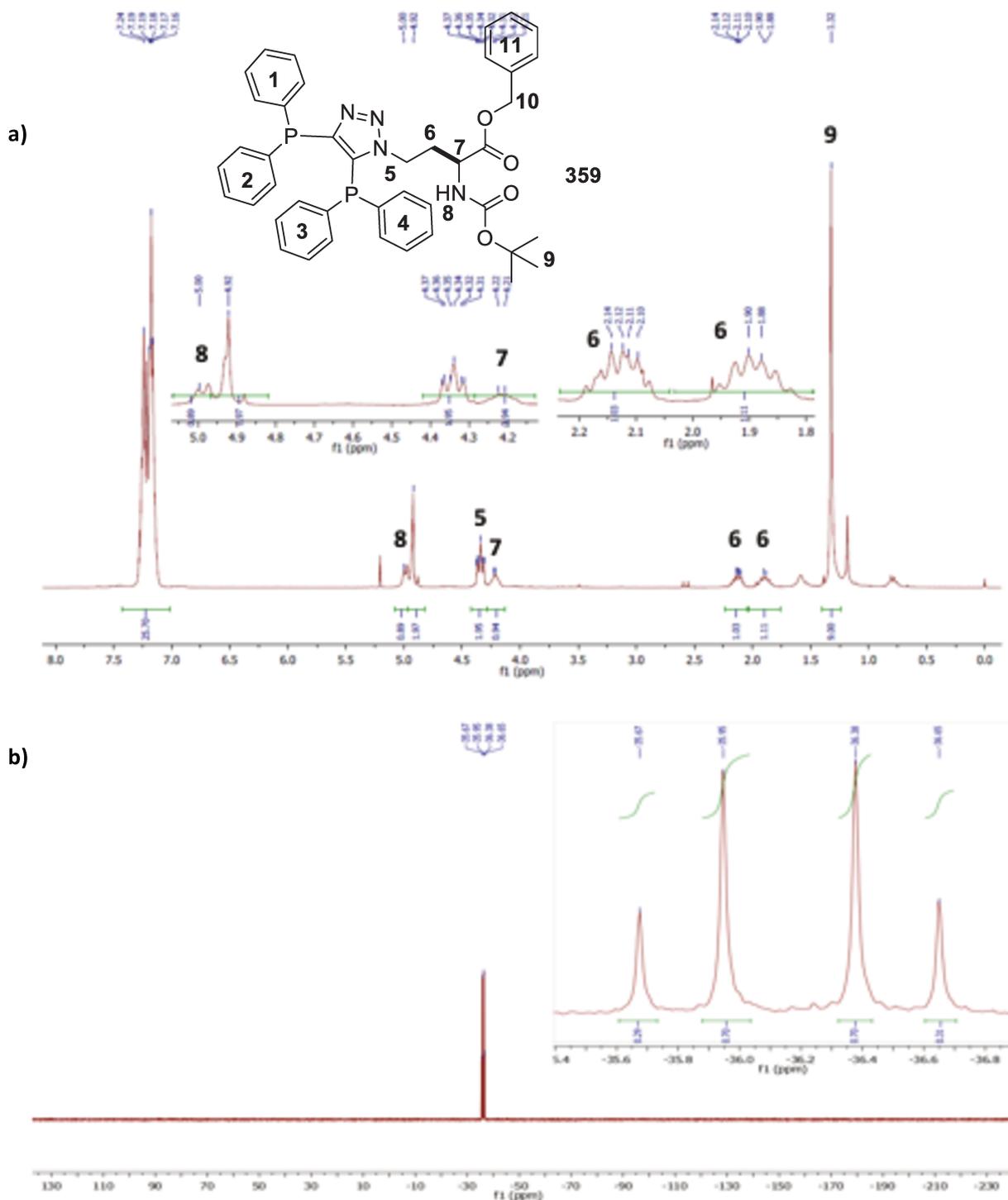


Figure 51 : a) Spectres RMN de la diphosphine **359** : a) ^1H (CDCl_3 , 300 MHz); b) ^{31}P (CDCl_3 , 121 MHz)

V] Conclusion du chapitre 2

La cycloaddition [3+2] d'azotures dérivés d'acides aminés et de dipeptides avec des alcynes internes symétriques ou dissymétriques a été mise au point pour synthétiser les triazoles correspondants, porteurs de deux groupes fonctionnels. Cette cycloaddition est réalisée par chauffage, sous irradiation microondes, dans le glycérol à 150°C pendant 30 minutes et conduit dans plusieurs cas à des rendements supérieurs à 70%. Dans ces conditions la réaction est compatible avec des alcynes internes substitués par des alkyles, des aryles, et différents groupes fonctionnels tels qu'ester, amine,

éther, silyl, thiophosphine. Cependant, dans certains cas, par exemple avec des aromatiques ou des amides, la cycloaddition ne se produit pas et cela peut s'expliquer par un manque de solubilité de l'alcyne dans le glycérol ou bien par dégradation de l'alcyne ou du produit de cycloaddition dans les conditions de réaction.

Parmi les résultats les plus marquants, la cycloaddition d'azoture de dipeptide avec le triméthylsilylphénylacétylène donnant le triazole correspondant **323v** avec 37% de rendement, ainsi que la synthèse d'une diphosphine **359** supportée par la chaîne latérale d'un acide aminé avec un rendement de 73% en trois étapes, illustrent le potentiel de cette méthode pour la synthèse de dérivés d'acides aminés ou peptides bifonctionnels (Figure 52).

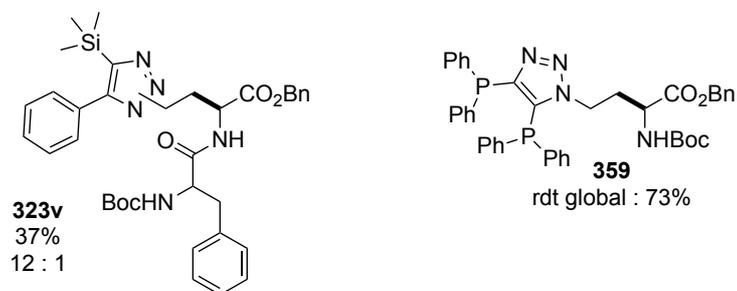


Figure 52 : Résultats marquants de la cycloaddition

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail de thèse, qui a été réalisé au sein de l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne et en collaboration avec l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, porte sur la mise au point de nouvelles méthodes de synthèses stéréosélectives d'acides aminés hétérofonctionnalisés et sur leurs applications en radiomarquage par des fluorures ^{18}F .

Dans le premier chapitre, la synthèse d'acides aminés porteurs de groupements silylés accepteurs de fluorures pour le radiomarquage interne de peptides par formation de fluorosilane Si^{18}F est mise au point en utilisant la réaction de Wittig, avec un sel de phosphonium dérivé d'acide L-aspartique et des aldéhydes silylés. Ces acides aminés silylés sont obtenus avec des rendements de 55 à 90% sous la forme d'un mélange d'isomères *Z/E* et peuvent, dans le cas des silanes, être isomérisés en tout *E* par chauffage dans le THF en présence de diphényldisulfure. Ces acides aminés silylés ont été utilisés en synthèse peptidique avec l'ester méthylique de la L-alanine (couplage sur la fonction acide) et avec la L-N-Bocphénylalanine (couplage sur l'amine) pour donner les di et tripeptides silylés correspondants avec des rendements de 38 à 92%. Par la suite, il a été montré que par chauffage à 60°C dans le DMSO en présence de KF/K222 et d'acide acétique, les dérivés silylés d'acides aminés et de dipeptides conduisent aux fluorosilanes correspondants quantitativement. La stabilité à l'hydrolyse de ces fluorosilanes a été étudiée à $\text{pH} = 7.2$. Il ressort de façon non surprenante que les dérivés di-*t*-butylfluorosilylés sont plus stables dans ces conditions que les analogues di-*i*-propylsilylés.

L'étude du radiomarquage des dipeptides insaturés par $\text{K}^{18}\text{F/K222}$ a permis d'obtenir le fluorosilane radioactif avec des rendements radiochimiques et des activités molaires atteignant respectivement 39% et 410 GBq/ μmol . Cependant, du fait de la présence d'une double liaison sur la chaîne latérale de l'acide aminé silylé (issue de la réaction de Wittig), le produit marqué évolue en quelques heures en un second dérivé radioactif provenant de la réactivité de la double liaison en conditions de radiolyse. Pour contourner cet inconvénient, le dipeptide a été hydrogéné en présence de palladium. Dans ce cas, le produit saturé radiomarqué est stable pendant au moins 5 heures.

Dans le second chapitre une méthode de synthèse d'acides aminés et dipeptide bifonctionnalisés est développée. Cette stratégie, reposant sur une cycloaddition [3+2] entre un azoture d'acide aminé et un alcyne interne, a d'abord été testée en utilisant une catalyse par un complexe de ruthénium. Cette procédure a rapidement montré ces limites face à des alcynes internes encombrés, car le complexe de ruthénium évolue vers un dérivé tétraazadiène qui pourrait présenter un intérêt dans la synthèse de complexes de ruthénium vectorisés à visée thérapeutique.

Afin d'obtenir des triazoles bifonctionnalisés porteurs d'un groupe acide aminé, une procédure utilisant le glycérol sous irradiation microondes a été mise au point. Dans ces conditions, la réaction de cycloaddition se révèle compatible avec des alcynes internes symétriques ou dissymétriques substitués par des alkyles, aryles ou des groupements fonctionnels tels qu'ester, éther, amine, silyl, thiophosphine et conduit sans racémisation aux dérivés triazolo-acides aminés correspondants. Treize acides aminés et dipeptides ainsi fonctionnalisés ont été obtenus par cette méthode avec des rendements pouvant atteindre 89%. L'efficacité et la sélectivité de la cycloaddition mise au point sont illustrées par la synthèse d'un dérivé silylé par réaction d'un azoture de dipeptide ainsi que par la synthèse d'une diphosphine à pont triazole supportée sur la chaîne latérale d'un acide aminé.

Les méthodologies mises au point dans ce travail de thèse ouvrent de très intéressantes perspectives pour la synthèse d'acides aminés et peptides bifonctionnels, en particulier porteurs de groupement silylés ou phosphorés utiles pour la chimie de coordination et la bio-inorganique, la catalyse asymétrique, et le radiomarquage par des fluorures radioactifs.

Experimental part

Material and analytical procedures

I] Analytical procedures

Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR):

NMR spectra (^1H , ^7Li , ^{13}C , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P) were recorded with Bruker 300 MHz, 500 MHz or 600 MHz apparatus, using tetramethylsilane as internal reference for ^1H , ^{13}C and ^{29}Si NMR, phosphoric acid (85%) as external reference for ^{31}P NMR, CFCl_3 as external reference for ^{19}F NMR, and aqueous LiCl 1M as external reference for ^7Li .

Abbreviations used to describe the multiplicity of the signal are:

s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), bs (broad signal), m (multiplet).

Exact mass:

Mass spectra were performed under electrospray ionization conditions (ESI) with a Thermo LTQ Orbitrap XP.

Optical rotation:

Specific rotations were measured at 20°C on a Perkin Elmer 241 polarimeter, at 589 nm (sodium lamp).

Melting points:

Melting points were measured using a Köfler melting point apparatus and are uncorrected.

FTIR:

FTIR spectra were recorded on BRUKER ATR Vector spectrophotometer. Absorption bands are given in cm^{-1} .

Elemental analysis:

Elemental analyses were performed with a CHNS/O Thermo Electron Flash EA 1112 instrument.

HPLC analysis:

HPLC analyses were performed either on a Shimadzu HPLC chromatograph equipped with a UV detector at $\lambda = 210$ nm and $\lambda = 254$ nm, or a JASCO system equipped a MD-2010 Plus photodiode array detector, or a Dionex P680 system equipped with UV multiwavelength and Raytest Gabi Star detectors, or a Thermo-Dionex Ultimate 3000 instrument (pump + auto-sampler) equipped with a diode array detector (Thermo-Dionex DAD 3000-RS) and a MSQ Plus single quadrupole mass spectrometer (LRMS analyses through ESI).

High-performance liquid chromatography (HPLC) analyses were performed using a Phenomenex Luna C_{18} column (250 × 4.6 mm, 5 μm , flow 1 mL/min) and the indicated conditions.

All radiofluorination experiments were run on a commercial TRACERLab Fx F-N° (GE Healthcare).

All microwave experiments were performed using a commercial Monowave 400 (Anton Paar).

II] Materials

All reagents were purchased either from Acros Organics, Sigma-Aldrich, Fischer Scientific, Alfa Aesar or ABCR and used without further purification

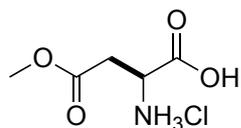
THF, diethylether, toluene, methanol and DMF were dried over alumina cartridges using a solvent purification system MB-SPS-800 model from M. BRAUN.

Glycerol was treated by overnight stirring at 60°C under high vacuum.

Column chromatography were conducted on silica gel 60-200 μm or 40-63 μm purchased from Sigma-Aldrich.

Synthesis of iodo aminoacid derivatives

(S)-2-Aminobutanedioic acid 4-methyl ester hydrochloride **181**⁷¹

**181**

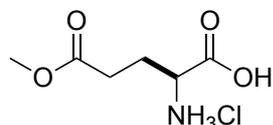
Chemical Formula: C₅H₁₀ClNO₄
Molecular Weight: 183,59

L-Aspartic acid **25** (5 g, 37.6 mmol) was added at -10°C to a solution of SOCl₂ (3.0 mL, 41.2 mmol) in MeOH (26 mL) and the mixture was stirred for 2h at room temperature. 75 mL of ether were introduced and a precipitate appeared. The hydrochloride salt **177** was isolated by filtration (6.43 g, 35.2 mmol, 94% yield).

Appearance: white powder

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3.05 (m, 2H; CH₂), 3.78 (s, 3H; OCH₃), 4.33 (m, 1H; CHN) ppm.

(S)-2-Aminopentanedioic acid 4-methyl ester hydrochloride **291**

**291**

Chemical Formula: C₆H₁₂ClNO₄
Molecular Weight: 197,62

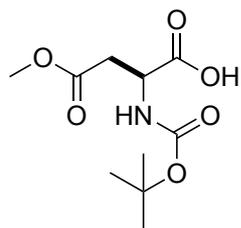
L-Glutamic acid **26** (5 g, 34.0 mmol) was added at -10°C to a solution of SOCl₂ (2.7 mL, 37.3 mmol) in MeOH (23 mL) and the mixture was stirred for 2h at room temperature. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the crude product was directly engaged in the next step (5.65 g, 28.59 mmol, 84% yield).

Appearance: white powder

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ = 2.16 (m, 2H; CH₂), 2.56 (m, 2H; CH₂), 3.63 (s, 3H; OCH₃), 4.03 (m, 1H; CHN) ppm.

¹³C NMR (500 MHz, D₂O): δ = 24.9 (CH₂CHN), 29.4 (CH₂CO₂CH₃), 52.1 (CHN), 52.4 (OCH₃), 171.6 (CO₂CH₃), 175.0 (CO₂H) ppm.

(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-3-methoxycarbonylbutanoic acid **182**⁷¹

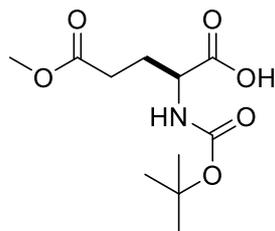
**182**

Chemical Formula: C₁₀H₁₇NO₆
Molecular Weight: 247,25

Aspartic acid monoester **181** (6.43 g, 35.2 mmol) was dissolved in 150 mL of a dioxane/water mixture (2:1). The reaction mixture was cooled to 0°C and Na₂CO₃ (3.8 g, 35.6 mmol) was added. After 30 min of stirring at 0°C, Na₂CO₃ (3.8 g, 35.6 mmol) was added followed by the addition of Boc₂O (8.6 g, 44.2 mmol) the reaction was then let stirred overnight at room temperature. After solvent evaporation, ice-cold water (100 mL) was added and the solution was washed with Et₂O (3*40 mL). After acidification with NaHSO₄ (1M) until pH= 3 (180 mL), the mixture was extracted with Et₂O (3*125 mL). The organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using EtOAc as eluent to afford (S)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-3-methoxycarbonylbutanoic acid **182** (7.00 g, 28.3 mmol, 80% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.4 (EtOAc)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.82-3.02 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.69 (s, 3H; OCH₃), 4.60 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.57 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H; NHBoc), 10.8 (brs, 1H; COOH) ppm.

(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-4-methoxycarbonylpentanoic acid 292**292**Chemical Formula: C₁₁H₁₉NO₆

Molecular Weight: 261,27

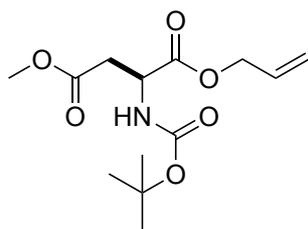
Using a similar procedure as for **178**, Glutamic acid monoester **291** (5.65 g, 28.59 mmol) was reacted with Na₂CO₃ (3.06 g, 28.9 mmol), and Boc₂O (7.8 g, 35.9 mmol) in 120 mL of a dioxane/water mixture (2:1) and afforded (*S*)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-3-methoxycarbonylpentanoic acid **292** (7.00 g, 28.3 mmol, 80% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.4 (EtOAc)

NMR spectra are unclear, presence of rotamers due to intramolecular H-bonding might explain the inconvenience.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.98-2.27 (ABX pattern, 2H; CH₂), 2.47 (m, 2H; CH₂CO₂Me), 3.69 (s, 3H; OCH₃), 4.23-4.38 (m, 1H; CHN), 5.29-5.36 (m, 1H; NHBoc), 10.51 (brs, 1H, COOH) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 27.5 (CH₂CHN), 28.3(C(CH₃)₃), 30.2 (CH₂CO₂Me), 51.9 (OCH₃), 52.8 (CHN), 80.4 (C(CH₃)₃), 155.7 (CON), 173.5 (CO₂Me), 176.3 (CO₂H)

(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-1-allyl-4-methyl succinate 183a⁷¹**183a**Chemical Formula: C₁₃H₂₁NO₆

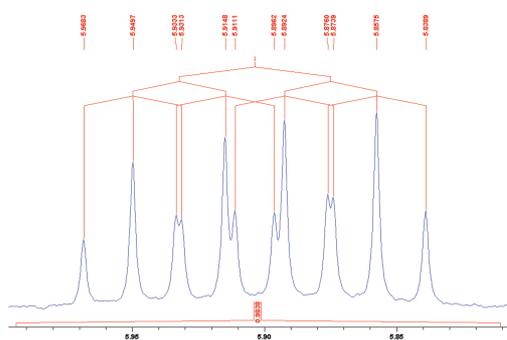
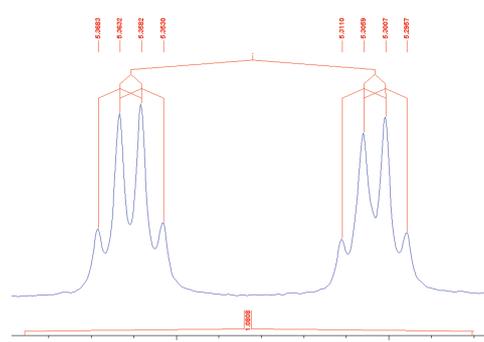
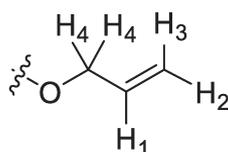
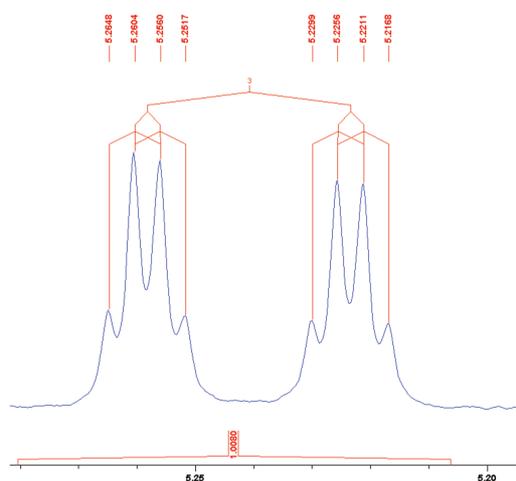
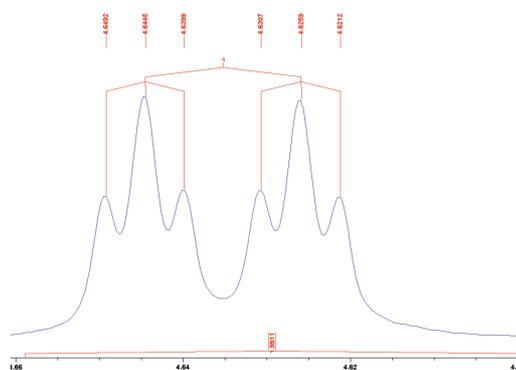
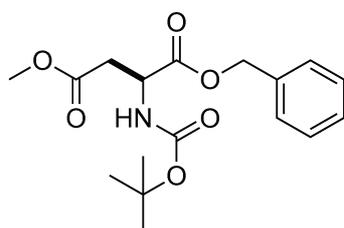
Molecular Weight: 287,31

To a solution of **182** (8.60 g, 34.78 mmol) in DMF (108 mL), were introduced successively K₂CO₃ (11.5 g, 83.5 mmol) and allyl bromide (6.0 mL, 69.5 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature then 100 mL of water were added and the solution was extracted with 3*100 mL EtOAc. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (8:2) as eluent to afford (*S*)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-1-allyl-4-methyl succinate **183a** (9.0 g, 31.3 mmol, 90% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.41 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.79-2.98 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.65 (s, 3H; OCH₃), 4.55 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.60 (dt, ³J = 5.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.14 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H; NHBoc), 5.20 (dq, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.28 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.79 (ddt, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ³J = 5.7 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

Allylic protons systems

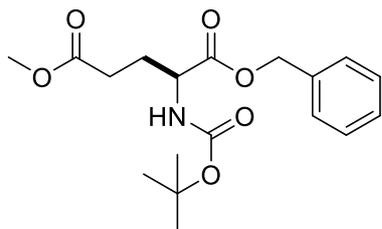
H₁H₃H₂H₄**(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-1-benzyl-4-methyl succinate 183b**⁷¹**183b**Chemical Formula: C₁₇H₂₃NO₆

Molecular Weight: 337,37

To a solution of **182** (7.00 g, 28.3 mmol) in DMF (90 mL), were introduced successively K₂CO₃ (9.39 g, 68 mmol) and benzyl bromide (6.8 mL, 56.6 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature then 90 mL of water were added and the solution was extracted with 3*100 mL EtOAc. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (8:2) as eluent to afford (*S*)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-1-benzyl-4-methyl succinate **183b** (7.65 g, 22.6 mmol, 80% yield).

Appearance: white solid, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

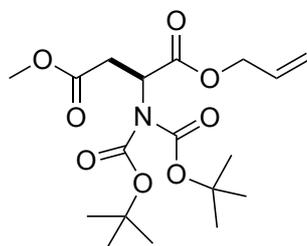
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.36 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.75-2.94 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.55 (s, 3H; OCH₃), 4.55 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.10 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 5.45 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H; NHBoc), 7.27 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-1-benzyl-5-methyl glutarate 293**293**

Chemical Formula: C₁₈H₂₅NO₆
Molecular Weight: 351,40

Using a similar procedure as for **183b**, **292** (2.70 g, 10.33 mmol) was reacted with benzyl bromide (2.45 ml, 20.6 mmol) and K₂CO₃ (3.42 g, 24.7 mmol) in 33 mL DMF to afford (S)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-1-benzyl-5-methyl glutarate **293** (2.41 g, 6.86 mmol, 66% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

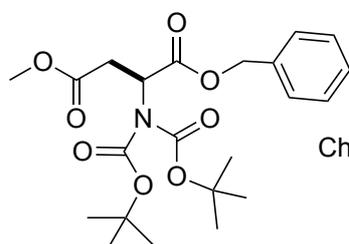
(S)-2-[Bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-allyl-4-methyl succinate 184a⁷¹**184a**

Chemical Formula: C₁₈H₂₉NO₈
Molecular Weight: 387,43

To a solution of **183a** (9.00 g, 31.3 mmol) in MeCN (140 mL), were introduced successively DMAP (1.15 g, 9.4 mmol), and Boc₂O (17.1 g, 78.3 mmol). The yellow reaction mixture was stirred overnight at room temperature then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (8:2) as eluent to afford (S)-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-allyl-4-methyl succinate **184a** (12.1 g, 31.3 mmol, quantitative yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.68-3.20 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.63 (s, 3H; OCH₃), 4.55 (dt, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.15 (dq, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.25 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.40 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.81 (ddt, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ³J = 5.5 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

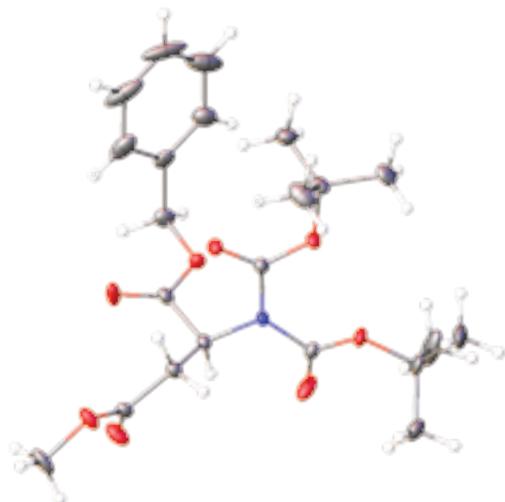
(S)-2-[Bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-4-methyl succinate 184b⁷¹**184b**

Chemical Formula: C₂₂H₃₁NO₈
Molecular Weight: 437,49

To a solution of **183b** (7.65 g, 22.6 mmol) in MeCN (100 mL), were introduced successively DMAP (838 mg, 6.78 mmol), and Boc₂O (11.0 g, 56.5 mmol). The yellow reaction mixture was stirred overnight at room temperature then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (7:1) as eluent to afford (S)-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-4-methyl succinate **184b** (9.55 g, 21.8 mmol, 96% yield).

Appearance: off-white solid, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 7:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.76-3.30 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.69 (s, 3H; OCH₃), 5.17 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 5.52 (ABX pattern, 1H; CHN), 7.34 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

**Table 1 Crystal data and structure refinement for 184b.**

| | |
|--|--|
| Identification code | 184b |
| Empirical formula | $C_{22}H_{31}NO_8$ |
| Formula weight | 437.48 |
| Temperature/K | 115 |
| Crystal system | monoclinic |
| Space group | $P2_1$ |
| a/Å | 5.7644(6) |
| b/Å | 19.0543(15) |
| c/Å | 10.9384(9) |
| $\alpha/^\circ$ | 90 |
| $\beta/^\circ$ | 103.0334(18) |
| $\gamma/^\circ$ | 90 |
| Volume/Å ³ | 1170.49(18) |
| Z | 2 |
| $\rho_{\text{calc}}/\text{cm}^3$ | 1.241 |
| μ/mm^{-1} | 0.094 |
| F(000) | 468.0 |
| Crystal size/mm ³ | 0.35 × 0.2 × 0.2 |
| Radiation | MoK α ($\lambda = 0.71073$) |
| 2 θ range for data collection/ $^\circ$ | 7.256 to 55.054 |
| Index ranges | $-7 \leq h \leq 7, -24 \leq k \leq 24, -14 \leq l \leq 13$ |

| | |
|--|--|
| Reflections collected | 19332 |
| Independent reflections | 5396 [$R_{\text{int}} = 0.0276$, $R_{\text{sigma}} = 0.0267$] |
| Data/restraints/parameters | 5396/1/287 |
| Goodness-of-fit on F^2 | 1.044 |
| Final R indexes [$I \geq 2\sigma(I)$] | $R_1 = 0.0306$, $wR_2 = 0.0683$ |
| Final R indexes [all data] | $R_1 = 0.0354$, $wR_2 = 0.0703$ |
| Largest diff. peak/hole / e \AA^{-3} | 0.18/-0.18 |
| Flack parameter | -0.1(2) |

Table 1 Bond Lengths for 184b.

| Atom | Atom | Length/ \AA | Atom | Atom | Length/ \AA |
|------|------|----------------------|------|------|----------------------|
| O1 | C1 | 1.337(2) | C2 | C3 | 1.523(2) |
| O1 | C6 | 1.460(2) | C3 | C4 | 1.503(2) |
| O2 | C1 | 1.198(2) | C6 | C7 | 1.501(3) |
| O3 | C4 | 1.342(2) | C7 | C8 | 1.390(3) |
| O3 | C5 | 1.444(2) | C7 | C12 | 1.381(3) |
| O4 | C4 | 1.195(2) | C8 | C9 | 1.377(3) |
| O5 | C13 | 1.200(2) | C9 | C10 | 1.374(5) |
| O6 | C13 | 1.318(2) | C10 | C11 | 1.374(4) |
| O6 | C14 | 1.488(2) | C11 | C12 | 1.387(3) |
| O7 | C18 | 1.202(2) | C14 | C15 | 1.507(3) |
| O8 | C18 | 1.317(2) | C14 | C16 | 1.510(3) |
| O8 | C19 | 1.482(2) | C14 | C17 | 1.516(3) |
| N1 | C2 | 1.472(2) | C19 | C20 | 1.515(3) |
| N1 | C13 | 1.405(2) | C19 | C21 | 1.512(3) |
| N1 | C18 | 1.408(2) | C19 | C22 | 1.518(3) |
| C1 | C2 | 1.514(2) | | | |

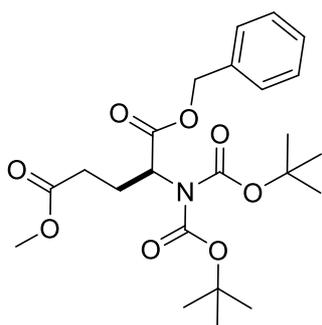
Table 2 Bond Angles for 184b.

| Atom | Atom | Atom | Angle/° | Atom | Atom | Atom | Angle/° |
|------|------|------|------------|------|------|------|------------|
| C1 | O1 | C6 | 116.80(14) | C10 | C9 | C8 | 120.2(2) |
| C4 | O3 | C5 | 115.49(14) | C9 | C10 | C11 | 120.2(2) |
| C13 | O6 | C14 | 119.86(15) | C10 | C11 | C12 | 120.1(3) |
| C18 | O8 | C19 | 119.96(14) | C7 | C12 | C11 | 119.9(2) |
| C13 | N1 | C2 | 116.20(13) | O5 | C13 | O6 | 126.38(16) |
| C13 | N1 | C18 | 128.97(14) | O5 | C13 | N1 | 121.12(16) |
| C18 | N1 | C2 | 114.83(13) | O6 | C13 | N1 | 112.42(15) |
| O1 | C1 | C2 | 111.66(14) | O6 | C14 | C15 | 110.22(16) |
| O2 | C1 | O1 | 125.33(17) | O6 | C14 | C16 | 109.34(17) |
| O2 | C1 | C2 | 122.94(16) | O6 | C14 | C17 | 101.80(16) |
| N1 | C2 | C1 | 111.93(14) | C15 | C14 | C16 | 112.8(2) |
| N1 | C2 | C3 | 111.05(14) | C15 | C14 | C17 | 110.18(18) |
| C1 | C2 | C3 | 112.09(14) | C16 | C14 | C17 | 112.0(2) |
| C4 | C3 | C2 | 113.62(14) | O7 | C18 | O8 | 127.20(16) |
| O3 | C4 | C3 | 109.78(14) | O7 | C18 | N1 | 119.73(15) |
| O4 | C4 | O3 | 123.92(16) | O8 | C18 | N1 | 113.01(14) |
| O4 | C4 | C3 | 126.24(17) | O8 | C19 | C20 | 109.51(15) |
| O1 | C6 | C7 | 110.66(14) | O8 | C19 | C21 | 109.94(15) |
| C8 | C7 | C6 | 120.82(19) | O8 | C19 | C22 | 101.61(14) |
| C12 | C7 | C6 | 119.67(18) | C20 | C19 | C22 | 111.20(16) |
| C12 | C7 | C8 | 119.5(2) | C21 | C19 | C20 | 113.29(18) |
| C9 | C8 | C7 | 120.1(2) | C21 | C19 | C22 | 110.66(17) |

Table 3 Torsion Angles for 184b.

| A | B | C | D | Angle/° | A | B | C | D | Angle/° |
|----|----|----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|---------|
| O1 | C1 | C2 | N1 | 37.04(19) | C8 | C9 | C10 | C11 | 0.2(4) |
| O1 | C1 | C2 | C3 | 162.58(14) | C9 | C10 | C11 | C12 | -1.0(4) |
| O1 | C6 | C7 | C8 | -83.4(2) | C10 | C11 | C12 | C7 | 0.7(4) |
| O1 | C6 | C7 | C12 | 97.5(2) | C12 | C7 | C8 | C9 | -1.4(3) |

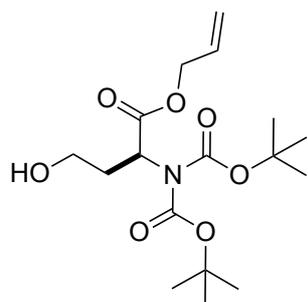
| | | | | | | | | | |
|----|----|-----|-----|-------------|-----|----|-----|-----|-------------|
| O2 | C1 | C2 | N1 | -145.95(18) | C13 | O6 | C14 | C15 | -63.7(2) |
| O2 | C1 | C2 | C3 | -20.4(2) | C13 | O6 | C14 | C16 | 60.8(2) |
| N1 | C2 | C3 | C4 | -162.05(14) | C13 | O6 | C14 | C17 | 179.43(18) |
| C1 | O1 | C6 | C7 | 96.55(18) | C13 | N1 | C2 | C1 | -128.22(16) |
| C1 | C2 | C3 | C4 | 71.93(18) | C13 | N1 | C2 | C3 | 105.67(17) |
| C2 | N1 | C13 | O5 | 14.9(3) | C13 | N1 | C18 | O7 | -172.17(17) |
| C2 | N1 | C13 | O6 | -162.12(15) | C13 | N1 | C18 | O8 | 10.4(2) |
| C2 | N1 | C18 | O7 | 8.9(2) | C14 | O6 | C13 | O5 | 7.2(3) |
| C2 | N1 | C18 | O8 | -168.53(14) | C14 | O6 | C13 | N1 | -175.97(15) |
| C2 | C3 | C4 | O3 | -161.14(14) | C18 | O8 | C19 | C20 | -65.5(2) |
| C2 | C3 | C4 | O4 | 21.6(3) | C18 | O8 | C19 | C21 | 59.6(2) |
| C5 | O3 | C4 | O4 | 3.3(3) | C18 | O8 | C19 | C22 | 176.86(15) |
| C5 | O3 | C4 | C3 | -173.99(16) | C18 | N1 | C2 | C1 | 50.89(19) |
| C6 | O1 | C1 | O2 | -1.6(3) | C18 | N1 | C2 | C3 | -75.22(18) |
| C6 | O1 | C1 | C2 | 175.32(14) | C18 | N1 | C13 | O5 | -164.10(18) |
| C6 | C7 | C8 | C9 | 179.44(19) | C18 | N1 | C13 | O6 | 18.9(3) |
| C6 | C7 | C12 | C11 | 179.7(2) | C19 | O8 | C18 | O7 | 4.8(3) |
| C7 | C8 | C9 | C10 | 1.1(4) | C19 | O8 | C18 | N1 | -178.03(14) |
| C8 | C7 | C12 | C11 | 0.5(3) | | | | | |

(S)-2-[Bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-5-methyl glutarate 294**294**Chemical Formula: C₂₃H₃₃NO₈

Molecular Weight: 451,52

Using a similar procedure as for **184b**, **293** (2.41 g, 6.86 mmol) was reacted with Boc₂O (17.1 g, 78.3 mmol), and DMAP (1.15 g, 9.4 mmol) in 140 mL MeCN to afford (S)-2-[bis(*t*-butyloxy carbonyl)amino]-1-benzyl-5-methyl glutarate **294** (2.64 g, 5.85 mmol, 85% yield).

Appearance: off-white solid, **R_f**: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

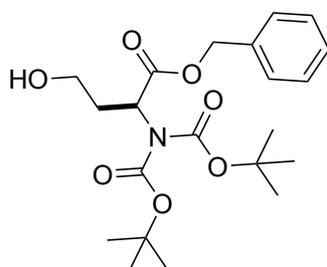
(S)-Allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-hydroxybutanoate 185a⁷¹**185a**

Chemical Formula: C₁₇H₂₉NO₇
Molecular Weight: 359,42

To a solution of **184a** (20.40 g, 52.66 mmol) in Et₂O (620 mL), was introduced DIBAL in toluene (1.6M, 70.2 mL, 84.3 mmol) at -78 °C. The reaction mixture was stirred at -78 °C for 1h and let warm up to 0°C and hydrolyzed with 100 mL water. The reaction mixture was then filtrated over celite and the residue was washed with Et₂O. The filtrate was concentrated under reduced pressure to obtain a yellow oil that was dissolved in 450 mL of a water/THF mixture (1:4). At 0 °C NaBH₄ (2.1 g, 55.4 mmol) was added in one portion and the mixture was stirred for 30 minutes then the reaction mixture was extracted with 3*200 mL EtOAc. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (7:2) as eluent to afford (S)-Allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-hydroxybutanoate **185a** (15.1 g, 46.16 mmol, 88% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 7:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.51 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.06-2.44 (ABX pattern, 2H; CH₂), 2.50 (brs, 1H; CH₂OH), 3.69 (m, 2H; CH₂), 4.65 (dt, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.04 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.25 (dq, ³J_{cis} = 10.6 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.35 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.92 (ddt, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ³J_{cis} = 10.6 Hz, ³J = 5.5 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

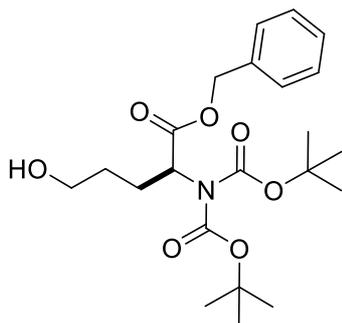
(S)-Benzyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-hydroxybutanoate 185b⁷¹**185b**

Chemical Formula: C₂₁H₃₁NO₇
Molecular Weight: 409,48

To a solution of **184b** (9.55 g, 21.8 mmol) in Et₂O (250 mL), was introduced DIBAL in toluene (1.6M, 29 mL, 34.8 mmol) at -78 °C. The reaction mixture was stirred at -78 °C for 1h and let warm up to 0°C and hydrolyzed with 45 mL water. The reaction mixture was then filtrated over celite and the residue was washed with Et₂O. The filtrate was concentrated under reduced pressure to obtain a yellow oil that was dissolved in 200 mL of a water/THF mixture (1:4). At 0 °C NaBH₄ (960 mg, 25.2 mmol) was added in one portion and the mixture was stirred for 30 minutes then the reaction mixture was extracted with 3*150 mL EtOAc. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (7:1 to 3:1) as eluent to afford (S)-benzyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-hydroxybutanoate **185b** (7.14 g, 17.4 mmol, 80% yield).

Appearance: yellow oil, *R*_f: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 7:3)

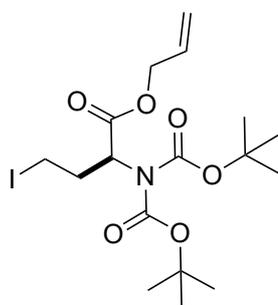
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.04-2.42 (ABX pattern, 2H; CH₂), 2.52 (brs, 1H; CH₂OH), 3.66 (m, 2H; CH₂OH), 5.02 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.16 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.32 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-5-hydroxypentanoate 295**295**Chemical Formula: C₂₂H₃₃NO₇

Molecular Weight: 423,51

Using a similar procedure as for **185b**, **294** (2.64 g, 5.85 mmol) was reacted with DIBAL (5.8 mL, 9.3 mmol) in 66 mL Et₂O then with NaBH₄ (257 mg, 6.8 mmol) in 55 mL of a water/dioxane mixture (1:4) to afford (S)-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-5-hydroxypentanoate **295** (1.88 g, 4.44 mmol, 76% yield).

Appearance: colorless oil, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/EtOAc 7:3)

(S)-Allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-iodobutanoate 186a⁷¹**186a**Chemical Formula: C₁₇H₂₈INO₆

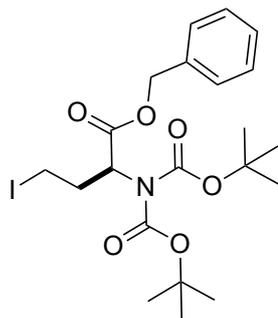
Molecular Weight: 469,32

In a first flask was prepared a solution of **185a** (9.00 g, 25.10 mmol) and imidazole (4.06 g, 59.7 mmol) in dry THF (145 mL).

In a second flask was prepared under argon a solution of PPh₃ (10.6 g, 40.4 mmol) in dry THF 90 mL and I₂ (10.35 g, 40.8 mmol) was added; then the previous solution was transferred in the second flask and the reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature. The reaction mixture is cooled to 0°C and hydrolyzed with 100 mL brine and extracted with 3*100 mL CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (9:1 to 8:2) as eluent to afford (S)-allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-iodobutanoate **186a** (10.68 g, 22.75 mmol, 91% yield).

Appearance: colorless oil, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/EtOAc 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.50 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.42-2.72 (ABXY₂ pattern, 2H; CH₂), 3.21-3.31 (ABXY₂ pattern, 2H; CH₂l), 4.64 (dt, ³J = 5.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.04 (ABXY₂ pattern, 1H; CHN), 5.25 (dq, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.35 (dq, ³J_{trans} = 17.3 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.92 (ddt, ³J_{trans} = 17.3 Hz, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ³J = 5.5 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

(S)-Benzyl-2-[bis(t-butyloxycarbonyl)amino]-4-iodobutanoate 186b⁷¹**186b**

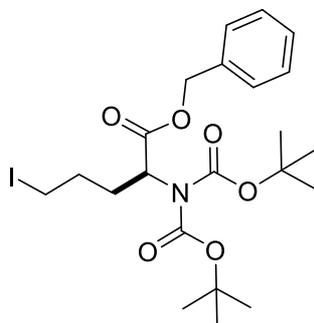
Chemical Formula: C₂₁H₃₀INO₆
Molecular Weight: 519,38

In a first flask was prepared a solution of **185b** (8.00 g, 19.5 mmol) and imidazole (3.17 g, 46.5 mmol) in dry THF (110 mL).

In a second flask was prepared under argon a solution of PPh₃ (8.2 g, 31.3 mmol) in dry THF 75 mL and I₂ (8.03 g, 31.6 mmol) was added; then the previous solution was transferred in the second flask and the reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature. The reaction mixture is cooled to 0°C and hydrolyzed with 100 mL brine and extracted with 3*100 mL CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (9:1 to 8:2) as eluent to afford (S)-benzyl-2-[bis(t-butyloxycarbonyl)amino]-4-iodobutanoate **186b** (8.67 g, 16.7 mmol, 85% yield).

Appearance: yellow oil, *R*_f: 0.75 (petroleum ether/EtOAc 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 18H; C(CH₃)₃), 2.44-2.73 (ABXY₂ pattern, 2H; CH₂), 3.21-3.31 (ABXY₂, 2H; CH₂l), 5.06 (ABXY₂ pattern, 1H; CHN), 5.18 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.35 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

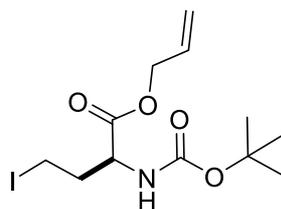
(S)-Benzyl-2-[bis(t-butyloxycarbonyl)amino]-5-iodopentanoate 296**296**

Chemical Formula: C₂₂H₃₂INO₆
Molecular Weight: 533,40

Using a similar procedure as for **186b**, **295** (1.88 g, 4.44 mmol) was reacted with imidazole (720 mg, 10.6 mmol), PPh₃ (1.87 g, 7.15 mmol), and I₂ (1.83 g, 7.22 mmol) in 42 mL THF to afford (S)-benzyl-2-[bis(t-butyloxy carbonyl)amino]-5-iodopentanoate **296** (1.56 g, 2.92 mmol, 66% yield).

Appearance: yellow oil, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 7:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.83-2.33 (ABXY₂ + ABXY₂, 4H; CH₂), 3.24 (m, 2H; CH₂l), 4.92 (ABXY₂ pattern, 1H; CHN), 5.18 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.35 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-Allyl-2-(t-butyloxycarbonyl)amino-4-iodobutanoate 107a⁷¹**107a**

Chemical Formula: C₁₂H₂₀INO₄
Molecular Weight: 369,20

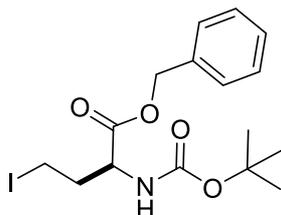
To a solution of **186a** (10.67 g, 22.7 mmol) in 130 mL MeCN, were successively added CeCl₃·7H₂O (8.46 g, 22.7 mmol) and NaI (3.40 g, 22.7 mmol). The mixture was stirred overnight at room temperature then

hydrolyzed with 100 mL water and extracted with 3*50 mL CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (8:2) as eluent to afford (S)-allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-iodobutanoate **107a** (7.21 g, 19.5 mmol, 86% yield).

Appearance: yellow oil, **R_f**: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 5:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.22-2.43 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.20 (t, ³J = 7.5 Hz, 2H; CH₂l), 4.38 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.67 (dt, ³J = 5.8 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.09 (m, 1H; NH), 5.30 (dq, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.37 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.93 (tdd, ³J = 5.8 Hz, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ³J_{trans} = 17.2 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

(S)-Benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-iodobutanoate **107b**⁷¹

**107b**Chemical Formula: C₁₆H₂₂INO₄

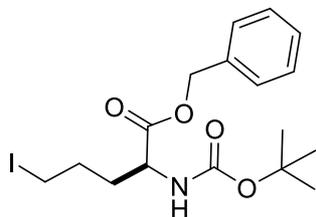
Molecular Weight: 419,26

To a solution of **186b** (11.0 g, 21.3 mmol) in 125 mL MeCN, were successively added CeCl₃·7H₂O (7.92 g, 21.3 mmol) and NaI (3.19 g, 21.3 mmol). The mixture was stirred overnight at room temperature then hydrolyzed with 100 mL water and extracted with 3*50 mL CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (9:1 to 8:2) as eluent to afford (S)-benzyl-2-[(*t*-butyloxy carbonyl)amino]-4-iodobutanoate **107b** (8.30 g, 19.8 mmol, 93% yield).

Appearance: yellow oil, **R_f**: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 4:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.21-2.42 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.15 (m, 2H; CH₂l), 4.39 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.12 (m, 1H; NH), 5.20 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.37 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-5-iodopentanoate **297**

**297**Chemical Formula: C₁₇H₂₄INO₄

Molecular Weight: 433,29

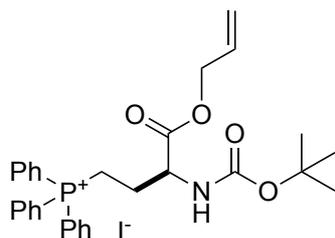
Using a similar procedure as for **107b**, **296** (1.56 g, 3.0 mmol) was reacted with CeCl₃·7H₂O (1.12 g, 3.0 mmol) and NaI (450 mg, 3.0 mmol) in 17 mL MeCN to afford (S)-benzyl-2-(*t*-butyloxy carbonyl)amino-5-iodopentanoate **297** (1.10 g, 2.5 mmol, 84% yield).

Appearance: yellow oil, **R_f**: 0.5 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.83 (m, 4H; CH₂CH₂), 3.15 (m, 2H; CH₂l), 4.37 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.04 (m, 1H; NH), 5.18 (m, 2H; CH₂Ph), 7.36 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

Synthesis of amino acid Wittig and Wittig-Horner-Emmons reagents

(S)-Allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-(triphenylphosphonium-iodide)butanoate **187**⁷¹

**187**

Chemical Formula: C₃₀H₃₅INO₄P
Molecular Weight: 631,49

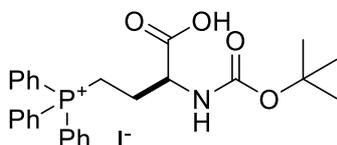
A mixture of **107a** (5.43 g, 14.71 mmol) and PPh₃ (8.87 g, 33.8 mmol) was heated at 80 °C for 2 hours. The yellow solution was diluted with 25 mL toluene at 80 °C then let cool down to room temperature and 140 mL Et₂O were added and a precipitate appeared. After filtration the residue was purified by column chromatography on silica gel using acetone as eluent to afford (*S*)-allyl-2-(*t*-butyloxy carbonyl)amino-4-(triphenylphosphonium-iodide)butanoate **187** (8.05 g, 12.75 mmol, 87% yield).

Appearance: off-white solid, *R_f*: 0.6 (petroleum ether/Acetone 3:7)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.34 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.22 (m, 2H; CH₂), 3.62-3.92 (m, 2H; CH₂P), 4.38 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.54 overlapping signals (t, ³J = 5.8 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 4.54 overlapping signals (m, 1H; NH), 5.12 (dq, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ²J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.22 (dq, ³J_{trans} = 17.1 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ²J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.81 (ddt, ³J_{trans} = 17.1 Hz, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ³J = 5.8 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 6.30 (m, 1H; NH), 7.66 (m, 15H; PPh₃) ppm.

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ = +25.2 (s) ppm

(S)-2-[(*t*-Butyloxycarbonyl)amino]-4-(triphenylphosphonium-iodide)butanoic acid **108**⁷¹

**108**

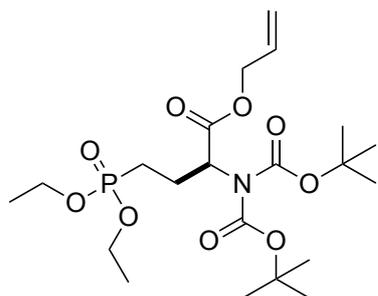
Chemical Formula: C₂₇H₃₁INO₄P
Molecular Weight: 591,43

To a solution of **187** (8.05 g, 12.7 mmol) in dry THF (120 mL) were successively added 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (250 mg, 630 μmol) and Pd₂dba₃ (292 mg, 320 μmol). After 5 minutes stirring diethylamine (2.76 mL, 26.7 mmol) was added, and the mixture was stirred 16 hours at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture acetone/methanol (1:1) as eluent to afford (*S*)-2-[(*t*-butyloxy carbonyl)amino]-4-(triphenylphosphonium-iodide)butanoic acid **108** (6.28 g, 10.6 mmol, 83% yield).

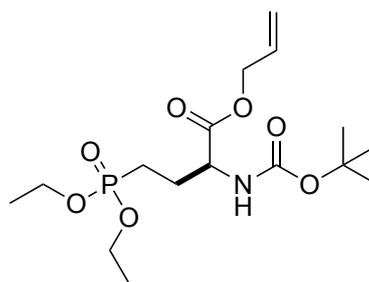
Appearance: white solid, *R_f*: 0.5 (Acetone/methanol 1:1), *m.p.* = 152 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.43 (m, 2H; CH₂CH₂P), 3.30 (m, 2H; CH₂CH₂P), 4.16 (m, 1H; CHN), 6.37 (m, 1H; NH), 7.60 (m, 15H; PPh₃) ppm.

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ = +24.3 (s) ppm.

(S)-Allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-(diethylphosphonatol)butanoate **188a and (S)-allyl-2-(*t*-butyloxy carbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoate **189******188a**

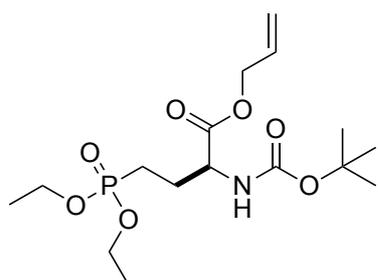
Chemical Formula: C₂₁H₃₈NO₉P
Molecular Weight: 479,51

**189**

Chemical Formula: C₁₆H₃₀NO₇P
Molecular Weight: 379,39

A solution of **186a** (920 mg, 1.96 mmol) in P(OEt)₃ (2 mL, 12.4 mmol) was heated to 130 °C overnight under argon. After concentration under heating and reduced pressure, the residue was purified by column chromatography on silica gel using Et₂O as eluent to afford (S)-allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoate **189** and (S)-allyl-2-[bis(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-(diethyl phosphonato)butanoate **188a** as a 58:42 mixture (530 mg, 1.4 mmol, 71% yield).

Appearance: colorless oil, *R_f*: 0.2-0.35 (Et₂O)

(S)-Allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoate **189****189**

Chemical Formula: C₁₆H₃₀NO₇P
Molecular Weight: 379,39

Using a similar procedure as for **186a**, the mixture of **188a** and **189** (1.64 g, 3.7 mmol) was reacted with CeCl₃·7H₂O (1.38 g, 3.7 mmol) and NaI (555 mg, 3.7 mmol) in 21 mL MeCN to afford the (S)-allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoate **189** (1.3 g, 3.2 mmol, 86%).

Appearance: yellowish oil, *R_f*: 0.3 (Et₂O)

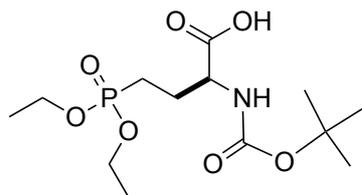
[α]_D²⁰ = +9.0 (c 1, CHCl₃);

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.25 (t, ³J = 7.0 Hz, 6H; OCH₂CH₃), 1.37 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.63-2.15 (m, 4H; CH₂CH₂P), 4.02 (m, 4H; OCH₂CH₃), 4.29 (m, 1H; CHN), 4.57 (dt, ³J = 5.8 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.19 (dq, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ²J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.27 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ²J = 1.3 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.40 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H; NH), 5.84 (ddt, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ³J_{cis} = 10.5 Hz, ³J = 5.8 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 16.4 (d, ³J_{C-P} = 6.3 Hz, OCH₂CH₃), 21.8 (d, ¹J_{C-P} = 142.5 Hz, PCH₂), 25.9 (d, ²J_{C-P} = 4.5 Hz, PCH₂CH₂), 28.3 (C(CH₃)₃), 53.6 (d, ³J_{C-P} = 17.3 Hz, CHN), 61.7 (d, ²J_{C-P} = 6.4 Hz, OCH₂CH₃), 66.1 (OCH₂CH=CH₂), 80.1 (C(CH₃)₃), 119.0 (OCH₂CH=CH₂), 131.4 (OCH₂CH=CH₂), 155.4 (NCOO), 171.6 (COO) ppm.

³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ = +30.7 (s) ppm.

HRMS calcd. for C₁₆H₃₀NO₇PNa [M+Na]⁺: 402.16521; found: 402.16518.

(S)-2-(*t*-Butyloxycarbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoic acid 190**190**

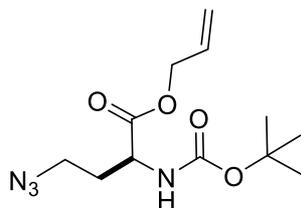
Chemical Formula: C₁₃H₂₆NO₇P
 Molecular Weight: 339,32

To a solution of **189** (1.15 g, 3.03 mmol) in 31 mL of a dioxane/water mixture (8:2), was added a NaOH aqueous solution (1 M, 9 mL). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature then acidified with KHSO₄ 1 M to pH = 3, and extracted with 3*20 mL CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure to afford (*S*)-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-(diethylphosphonato)butanoic acid **190** (650 mg, 1.91 mmol, 63.2% yield).

Appearance: yellowish oil

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.32 (td, ³J = 7.0 Hz, ⁴J_{H-P} = 2.2 Hz, 6H; OCH₂CH₃), 1.43 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.67-2.18 (m, 4H; CH₂CH₂P), 4.12 (m, 4H; OCH₂CH₃), 4.32 (m, 1H; CHN), 5.38 (d, ³J = 7.4 Hz, 1H; NH) ppm.

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ = +32.6 (s) ppm.

Synthesis of azido aminoacids**(S)-Allyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-azidobutanoate 290a¹⁸⁹****290a**

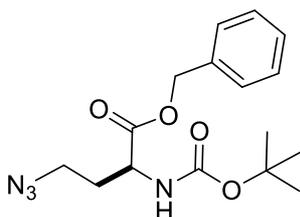
Chemical Formula: C₁₂H₂₀N₄O₄
 Molecular Weight: 284,32

To a solution of **107a** (1.00 g, 2.61 mmol) in 17 mL DMF, was added NaN₃ (507 mg, 7.81 mmol), and the mixture was stirred at 40 °C overnight. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure at 40 °C, the residue was dissolved in Et₂O, washed with water then with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (4:1) as eluent afford (*S*)-Allyl-2-(*t*-butyloxy carbonyl) amino-4-azidobutanoate **290a** (730 mg, 2.56 mmol, 98% yield).

Appearance: yellow oil, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.90-2.21 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.44 (d, ³J = 6.7 Hz; 2H; N₃CH₂), 4.43 (ABX pattern, 1H; CNH), 4.68 (dt, ³J = 5.8 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 2H; OCH₂CH=CH₂), 5.17 (brs, 1H; NH), 5.30 (dq, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.37 (dq, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂), 5.94 (ddt, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ³J = 5.8 Hz, 1H; OCH₂CH=CH₂) ppm.

HRMS calcd. for C₁₂H₂₀N₄O₄Na [M+Na]⁺: 307.13768; found: 307.13805.

(S)-Benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-azidobutanoate 290b¹⁸⁹**290b**

Chemical Formula: C₁₆H₂₂N₄O₄
 Molecular Weight: 334,38

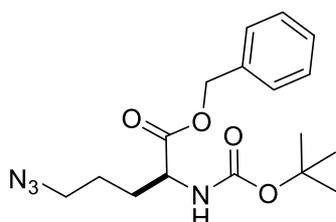
To a solution of **107b** (3.50 g, 8.35 mmol) in 55 mL DMF, was added NaN₃ (1.63 g, 25.0 mmol), and the mixture was stirred at 40 °C overnight. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure

at 40 °C, the residue was dissolved in Et₂O, washed with water then with brine, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (4:1) as eluent to afford (*S*)-benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-4-azidobutanoate **290b** (2.74 g, 8.19 mmol, 98% yield).

Appearance: yellow oil, *R*_f: 0.75 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.93-2.10 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.35 (t, ³J = 6.7 Hz, 2H; CH₂N₃), 4.43 (ABX pattern, 1H; CNH), 5.16 (brs, 1H; NHBoc), 5.19 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.34 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(*S*)-Benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-5-azidopentanoate **298**



298

Chemical Formula: C₁₇H₂₄N₄O₄

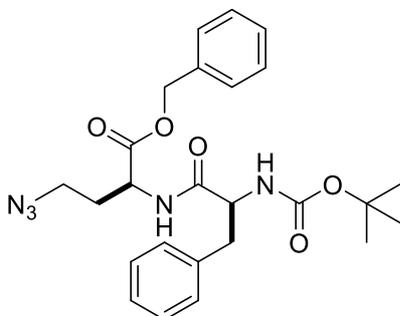
Molecular Weight: 348,40

Using a similar procedure as for **290b**, **297** (500 mg, 1.15 mmol) was reacted with NaN₃ (168 mg, 2.57 mmol) in 6 mL DMF to afford (*S*)-benzyl-2-(*t*-butyloxycarbonyl)amino-5-azidopentanoate **298** (393 mg, 1.13 mmol, 98% yield).

Appearance: colorless oil, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 4:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.37 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.52 (m, 2H; CH₂CH₂N₃), 1.64-1.84 (ABX pattern, 2H; CH₂CHN), 3.21 (m, 2H; CH₂N₃), 4.29 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.00 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H; NHBoc), 5.13 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 7.29 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(*S,S*)-Azidodipeptide **300**



300

Chemical Formula: C₂₅H₃₁N₅O₅

Molecular Weight: 481,55

To a solution of **290b** (190 mg, 0.57 mmol) in 1 mL CH₂Cl₂, was added 1 mL TFA and the mixture was stirred for 30 min. After removal of the volatiles, the residue was dissolved in 3 mL dry DMF and DIPEA (120 μL, 0.7 mmol) were added. In a second flask a solution of Boc-Phe-OH (152 mg, 0.57 mmol) in 5 mL dry DMF was prepared, HBTU (261 mg, 0.69 mmol) and DIPEA (130 μL, 0.76 mmol) were successively added. After 15 min stirring, the activated acid was cannulated over the amine and the mixture was stirred for another 3h. The reaction mixture was then diluted with 10 mL CH₂Cl₂ and 10 mL H₂O, the organic phase was washed with aqueous HCl 0.01 M, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (4:1) as eluent to afford (*S,S*)-azidodipeptide **300** (235 mg, 0.49 mmol, 85% yield).

Appearance: white powder, *R*_f: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H; C(CH₃)₃), 1.93-2.10 (ABX pattern, 2H; CH₂), 3.08 (m, 2H; CH₂ Phe), 3.25 (m, 2H; CH₂N₃), 4.38 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.65 (td, ³J = 7.2 Hz, ³J = 5.0 Hz, 1H; CHN_{Phe}), 5.02 (brs, 1H; NHBoc), 5.19 (AB pattern, 2H; CH₂ Bn), 6.62 (brs, 1H; NHCO), 7.23 (m, 5H; H_{arom} Bn), 7.38 (m, 5H; H_{arom} Phe) ppm.

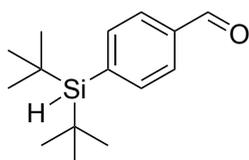
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 28.3 (C(CH₃)₃), 31.4 (CH₂CH₂N₃), 38.0 (CH₂ Phe), 47.4 (CH₂N₃), 50.2 (CHCH₂CH₂N₃), 55.9 (CHN_{Phe}), 67.5 (CH₂ Bn), 80.4 (C(CH₃)₃), 127.1 (C_m Phe), 128.4 (C_o Bn), 128.65 (C_{arom}),

128.68 (C_{arom}), 128.71 (C_{arom}), 129.3 ($C_{\text{o Phe}}$), 135.0 ($C_{\text{i Bn}}$), 136.4 ($C_{\text{i Phe}}$), 155.4 (NCO_2), 170.9 (CO_2Bn), 171.2 ($\text{C(O)N}_{\text{Phe}}$) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 504.22174; found: 504.22136.

Synthesis of unsaturated silylated aminoacids

4-Hydro(di-*t*-butyl)silylbenzaldehyde **195a**.



195a

Chemical Formula: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{OSi}$
Molecular Weight: 248,44

t-BuLi in hexane (1.84M, 11 mL, 20.2 mmol) was added dropwise at -78°C under argon to a solution of 4-bromobenzaldehyde diethylacetal **191** (2 mL, 10 mmol) in 20 mL of dry THF in a Schlenk tube. After 30 min, di-*t*-butylchlorosilane (1.8 mL, 11.4 mmol) was added. The mixture was stirred 2h at -78°C and then let warm up to room temperature overnight. After addition of HCl 1M until pH = 3 and stirring at room temperature for 1 h, the reaction mixture was extracted with 3 x 50 mL of CH_2Cl_2 . The organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (19:1) as eluent to afford 4-[hydro(di-*t*-butyl)silyl]benzaldehyde **195a** (2.2 g, 8.83 mmol, 88% yield).

Appearance: white solid, **m.p.** 60-61°C; **R_f**: 0.58 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

FTIR (cm^{-1}): 2959-2856 (CH, CHO), 2105 (SiH), 1701 (C=O), 1592 (C=C), 1466, 1207, 793, 686

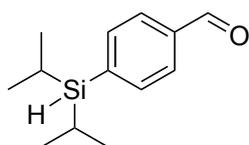
¹H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.05 (s, 18H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.92 (s, 1H; SiH), 7.76 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 7.83 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 10.03 (s, 1H; CHO) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 19.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 128.5 (C_{arom}), 136.4 (C_{arom}), 136.7 (C_{arom}), 144.6 (C_{arom}), 192.7 (CHO) ppm.

²⁹Si NMR (99 MHz, CDCl_3): δ = +12.9 ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{OSiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 271.14833; found: 271.14940.

4-Hydro(di-*i*-propyl)silylbenzaldehyde **195b**.



195b

Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{OSi}$
Molecular Weight: 220,39

t-BuLi in hexane (2.23M, 1.8 mL, 4 mmol) was added dropwise at -78°C under argon to a solution of 4-bromobenzaldehyde diethylacetal **191** (0.5 mL, 2 mmol) in 5 mL of dry THF in a Schlenk tube. After 30 min, chloro(di-*i*-propyl)silane (2 mL, 2.2 mmol) was added. The mixture was stirred for 2h at -78°C and then let warm up to room temperature overnight. The mixture was acidified to pH = 3 with HCl 1M and stirred at room temperature for 1h. The reaction mixture was extracted with 3 x 30 mL of CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (9:1) as eluent to afford The 4-hydro(di-*i*-propyl)silylbenzaldehyde **195b** (365 mg, 1.37 mmol, 69% yield).

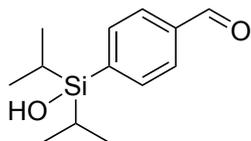
Appearance: colorless liquid **R_f**: 0.40 (petroleum ether/Et₂O 19:1)

FTIR (cm^{-1}): 2944-2864 (CH, CHO), 2107 (SiH), 1702 (C=O), 783

¹H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.00 (d, 3J = 7.4 Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.08 (d, 3J = 7.4 Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.24 (hept d, 3J = 7.4 Hz, 3J = 3.3 Hz, 2H; 2 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.00 (t, 3J = 3.3 Hz, 1H; SiH), 7.70 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 7.84 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 10.03 (s, 1H; CHO) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ = 10.8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 128.6 (C_{arom}), 136.1 (C_{arom}), 136.9 (C_{arom}), 143.4 (C_{arom}), 192.7 (CHO) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{OSi}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 221.13562; found: 221.13478.

4-Hydroxy(di-*i*-propyl)silylbenzaldehyde 195c.**195c**

Chemical Formula: C₁₃H₂₀O₂Si
Molecular Weight: 236,39

t-BuLi in hexane (1.7M, 5.9 mL, 10 mmol) was added dropwise at -78°C under argon to a solution of 4-bromobenzaldehyde diethylacetal **191** (1.0 mL, 5 mmol) in 5 mL of dry THF in a Schlenk tube. After 30 min, the mixture was cannulated over a solution of dichloro(di-*i*-propyl)silane (1.2 mL, 6.6 mmol) in 5 mL of dry THF. The mixture was stirred 2h at -78°C then let warm up to room temperature overnight. The reaction mixture was quenched with 10 mL of water and extracted with 3 x 30 mL of CH₂Cl₂, the organic phases were then gathered, dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on column using petroleum ether/EtOAc (6:4) as eluent, to afford the 4-hydroxy(di-*t*-butyl)silylbenzaldehyde **195c** (1.07 g, 4.52 mmol, 91% yield).

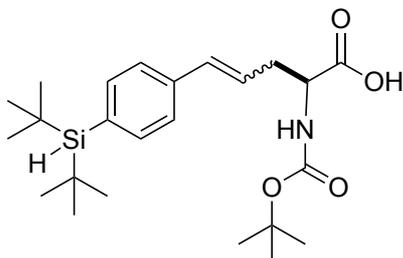
Appearance: pale yellow liquid, **R_f**: 0.60 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

FTIR (cm⁻¹): 3442 (OH), 2946-2864 (CH, CHO), 1683 (C=O), 810

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.90 (d, ³J = 7.2 Hz, 6H; CH(CH₃)₂), 0.99 (d, ³J = 7.2 Hz, 6H; CH(CH₃)₂), 1.17 (hept, ³J = 7.4 Hz, 2H; CH(CH₃)₂), 2.16 (brs, 1H; SiOH), 7.67 (d, ³J = 7.8 Hz, 2H; ArH), 7.88 (d, ³J = 7.8 Hz, 2H; ArH), 9.95 (s, 1H; CHO) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 12.4 (CH(CH₃)₂), 16.8 (CH(CH₃)₂), 17.1 (CH(CH₃)₂), 128.6 (C_{arom}), 134.6 (C_{arom}), 136.8 (C_{arom}), 144.2 (C_{arom}), 192.8 (CHO) ppm.

HRMS calcd. for C₁₃H₂₁O₂Si [M-H]⁻: 235.11598; found: 235.11528.

(2S)-2-(*t*-Butoxycarbonyl)amino-5-[4-(di-*t*-butylhydrosilyl)phenyl]pent-4-enoique acid (*Z,E*)-196a.**(Z,E)-196a**

Chemical Formula: C₂₄H₃₉NO₄Si
Molecular Weight: 433,66

Mixture (Z,E): Aldehyde **195a** (500 mg, 2.0 mmol) and K₃PO₄ (1,08 g, 5.1 mmol) previously dried by heating under vacuum, were added to a solution of phosphonium salt **108** (500 mg, 0.85 mmol) in chlorobenzene (6.5 mL). The reaction mixture was stirred for 16h at 90°C, then hydrolyzed with distilled water (5 mL) and extracted with diethyl ether (3 x 5 mL). The resulting aqueous phase was acidified with KHSO₄ (1M) to pH = 3 and extracted with ethyl acetate (3 x 5 mL). The organic phase was then dried over MgSO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using petroleum ether/EtOAc (8:2 + 1% AcOH) as eluent, to afford the silylated amino acid (*Z,E*)-**196a** (330 mg, 0.76 mmol, 90% yield) as a (*Z/E*) mixture in the ratio 3:7.

Appearance: colorless solid **R_f**: 0.39 (petroleum ether/EtOAc 8:2 + 1% AcOH)

[α]_D²⁰ = +17.1 (c 0.2, CHCl₃);

FTIR (cm⁻¹): 3346 (OH), 2981-2881 (CH), 2105 (SiH), 1714 (C=O), 1400, 1356, 1160

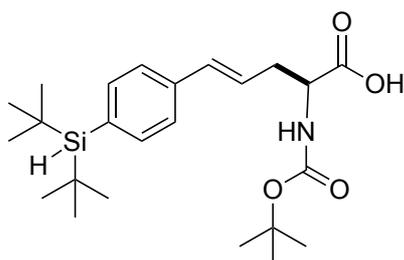
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.05 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.61-2.99 (m, 2H; CH₂), 3.86 (s, 0.6H; SiH), 3.87 (s, 0.4H; SiH), 4.26 (brs, 0.4H; CHN), 4.49 (brs, 0.6H; CHN), 5.09-5.13 (m, 1H; NH), 5.65 (m, 0.3H; ArCH=CH), 6.15-6.19 (m, 0.7H; ArCH=CH), 6.49 (d, ³J = 16 Hz, 0.7H; ArCH=CH), 6.58 (d, ³J = 11.5 Hz, 0.3H; ArCH=CH), 7.22-7.55 (m, 4H; ArH), 11.03 (s, 1H; CO₂H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 19.1 (C(CH₃)₃ trans), 19.2 (C(CH₃)₃ cis), 28.4 (C(CH₃)₃), 29.0 (C(CH₃)₃ trans), 29.1 (C(CH₃)₃ cis), 36.0 (CH₂ trans), 36.2 (CH₂ cis), 53.2 (CHN trans), 53.4 (CHN cis), 80.5 (OC(CH₃)₃), 124.0 (CH=), 125.6 (C_{arom} trans), 125.9 (CH=), 128.0 (C_{arom} cis), 134.4 (CH=), 135.1 (C_{arom}), 135.9 (C_{arom} cis), 136.2 (C_{arom} trans), 137.4 (C_{arom}), 155.7 (NCO₂), 176.7 (CO₂H cis), 176.9 (CO₂H trans) ppm.

²⁹Si NMR (99 MHz, CDCl₃): δ = +12.7 (s; trans), +12.8 (s; cis) ppm.

HRMS calcd. for C₂₄H₃₈NO₄Si [M-H]⁻: 432.25646; found: 432.25790.

(2*S*,4*E*)-*Isomer*: The isomerization of the *Z,E* mixture (*Z,E*)-**196a** (275 mg, 0.63 mmol) was performed by heating under argon for 15h with diphenyldisulfide (27.7 mg, 0.127 mmol) in THF (10 mL). After cooling and removing the solvent, the crude product was purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (7:3) + 1% AcOH as eluent to afford (*E*)-**196a** (270 mg, 0.62 mmol, 98% yield).

**(E)-196a**Chemical Formula: C₂₄H₃₉NO₄Si

Molecular Weight: 433,66

Appearance: colorless solid, m.p. 60-61°C, *R*_f: 0.46 (petroleum ether/EtOAc 7:3 + 1% AcOH)

[α]_D²⁰ = +19 (c 0.2, CHCl₃)

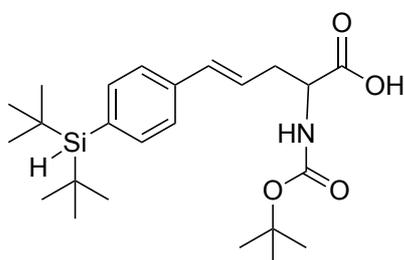
FTIR (cm⁻¹): 3368 (OH), 2929-2855 (CH), 2096 (SiH), 1715 (C=O), 1501 (CC), 1248 (C-O), 1104, 796, 669

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.04 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.67-2.77 (m, 2H; CH₂), 3.86 (s, 1H; SiH), 4.50 (m, 1H; CHN), 5.15 (brs, 1H; NH), 6.15-6.18 (m, 1H; ArCH=CH), 6.49 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H; ArCH=CH), 7.32 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 7.52 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 10.76 (brs, 1H; CO₂H) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 19.0 (C(CH₃)₃), 28.3 (C(CH₃)₃), 28.9 (C(CH₃)₃), 35.9 (CH₂), 53.1 (CHN), 80.4 (OC(CH₃)₃), 123.9 (CH=), 125.5 (C_{arom}), 134.3 (CH=), 134.9 (C_{arom}), 136.0 (C_{arom}), 137.3 (C_{arom}), 155.5 (NCO₂), 176.8 (CO₂H) ppm.

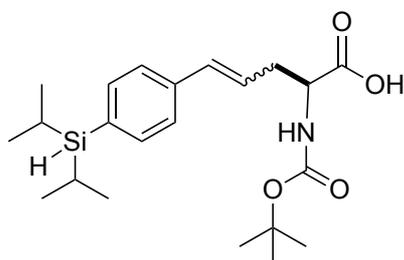
²⁹Si NMR (99 MHz, CDCl₃): δ = +12.7 (s) ppm.

(±)-(4*E*)-*Isomer*. The racemic silylated amino acid (±)-(*E*)-**196a** was synthesized from (±)-amino acid Wittig reagent (±)-**108**, previously prepared from (±)-aspartic acid, according to the procedure described above.

**(±)-(E)-196a**Chemical Formula: C₂₄H₃₉NO₄Si

Molecular Weight: 433,66

(2*S*)-2-(*t*-Butoxycarbonyl)amino-5-[4-hydro(di-*i*-propyl)silylphenyl] pent-4-enoique acid (*Z,E*)-196b.

**(Z/E)-196b**Chemical Formula: C₂₂H₃₅NO₄Si

Molecular Weight: 405,61

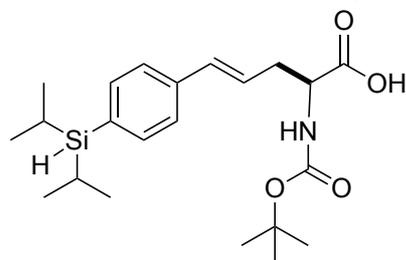
Aldehyde **195b** (240 mg, 1.09 mmol) and K₃PO₄ (600 mg, 2.83 mmol) previously dried by heating under vacuum, were added to a solution of phosphonium salt **108** (260 mg, 0.44 mmol) in dry dioxane (5 mL). The reaction mixture was heated at 80°C under stirring for 12h. After cooling and filtration on a celite pad, the residue was washed with CH₂Cl₂ (10 mL). The filtrate was concentrated under reduced pressure. The crude product was then purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/EtOAc (9:1) + 1% AcOH as eluent, to afford the amino acid (*Z,E*)-**196b** (158 mg, 0.39 mmol, 89% yield) as a *Z,E* mixture in 3:7 ratio.

Appearance: Colorless solid, *R*_f: 0.23 (petroleum ether/EtOAc 9:1 + 1% AcOH)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.98 (d, ³J = 7.2 Hz, 4.2H; CH(CH₃)₂ trans), 1.00 (d, ³J = 7.1 Hz, 1.8H; CH(CH₃)₂ cis), 1.06 (d, ³J = 7.2 Hz, 4.2H; CH(CH₃)₂ trans), 1.07 (d, ³J = 7.1 Hz, 1.8H; CH(CH₃)₂ cis), 1.21 (m, 2H; CH(CH₃)₂

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 0.99 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.06 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.24 (d, $^3J = 7.3$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, 2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.43 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.70-2.78 (m, 2H; CH_2), 3.93 (t, $^3J = 3.2$ Hz, 1H; SiH), 4.49 (brs, 1H; CHN), 5.07 (d, $^3J = 6.0$ Hz, 1H; NH), 6.17 (m, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.5 (d, $^3J = 16$ Hz, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 7.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H; ArH), 7.47 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 2H; ArH), 9.26 (brs, 1H; CO_2H) ppm.

(2S,4E)-Isomer: The isomerization of the *Z,E* mixture (*Z,E*)-**196b** (172 mg, 0.42 mmol) was achieved according to the procedure described above, with diphenyldisulfide (9.2 mg, 42 μmol) in THF (3.3 mL), to afford 147 mg of (*E*)-**196b** (0.36 mmol, 86% yield).

**(E)-196b**

Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Si}$
Molecular Weight: 405,61

Appearance: Colorless solid, R_f : 0.23 (petroleum ether/EtOAc (9:1) + 1% AcOH)

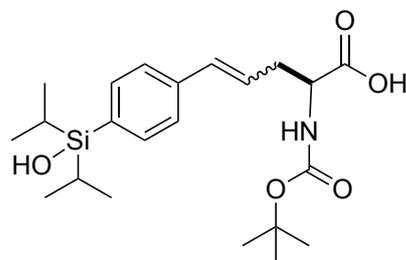
$[\alpha]_D^{20} = +9.6$ (c 4.1, CH_2Cl_2)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 0.99 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.06 (d, $^3J = 7.4$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.24 (d, $^3J = 7.3$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, 2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.43 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.70-2.78 (m, 2H; CH_2), 3.93 (t, $^3J = 3.2$ Hz, 1H; SiH), 4.49 (brs, 1H; CHN), 5.07 (d, $^3J = 6.0$ Hz, 1H; NH), 6.17 (m, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.5 (d, $^3J = 16$ Hz, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 7.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H; ArH), 7.47 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 2H; ArH), 9.26 (brs, 1H; CO_2H) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ = 10.7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.5 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 35.8 (CH_2), 53.1 (CHN), 80.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 123.9 ($\text{CH}=\text{}$), 125.6 (C_{arom}), 133.7 ($\text{CH}=\text{}$), 134.3 (C_{arom}), 135.7 (C_{arom}), 137.5 (C_{arom}), 155.6 (NCO_2), 176.5 (CO_2H) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{SiNa}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 428.22276; found: 428.22214.

(2S)-2-(*t*-Butoxycarbonyl)amino-5-[4-(hydroxy-di-*i*-propylsilyl) phenyl]pent-4-enoic acid (*Z,E*)-196c.

**(Z,E)-196c**

Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_5\text{Si}$
Molecular Weight: 421,61

This amino acid was prepared using the same procedure described above for (*Z,E*)-**196a**. The reaction of aldehyde **195c** (850 mg, 3.6 mmol) with the phosphonium salt **108** (1.55 g, 2.6 mmol) and K_3PO_4 (3.4 g, 15.8 mmol) in chlorobenzene (24 mL) lead after purification by column chromatography to the amino acid (*Z,E*)-**196c** as a *Z,E* mixture in 3:7 ratio (750 mg, 80% chemical purity by ^1H NMR, 1.42 mmol, 55% yield).

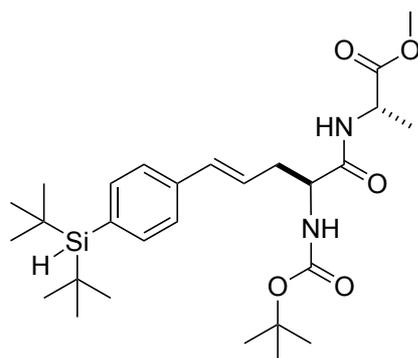
For analytical purpose a sample (100 mg) was purified using reverse phase HPLC.

Appearance: colorless product, R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 1:1 + 1% AcOH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3CN): δ = 0.92 (d, $^3J = 7.1$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.00 (d, $^3J = 7.1$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.15 (m, 2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.38 (s, 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.77 (m, 2H; CH_2), 4.19 (m, 1H; CHN), 5.63 (m, 2H; $\text{ArCH}=\text{CH}$, NH), 6.56 (d, $^3J = 11.8$ Hz, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 7.29 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 2H; ArH), 7.52 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 2H; ArH) ppm.

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3CN): δ = 12.9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 16.9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 17.2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 28.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.8 ($\text{CH}=\text{}$), 128.3 (C_{arom}), 132.0 ($\text{CH}=\text{}$), 134.8 (C_{arom}), 135.6 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}) ppm. 5C not observed

HRMS calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_5\text{SiNa}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 444.21767; found: 444.21698.

(S,S)-di-*t*-Butylhydrosilylated dipeptide (*E*)-207a**(*E*)-207a**

Chemical Formula: C₂₈H₄₆N₂O₅Si
Molecular Weight: 518,77

DIPEA (0.95 mL, 5.5 mmol) was added to a solution of methyl L-alanine.HCl **206** (460 mg, 3.3 mmol) in dry DMF (14 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature. Meanwhile in another flask, HATU (1 g, 2.63 mmol) and DIPEA (0.95 mL, 5.5 mmol) were successively added to a solution of (*E*)-**196a** (950 mg, 2.2 mmol) in dry DMF (22 mL) at 0°C under argon. This reaction mixture was stirred for 10 min and the methyl L-alanine (prepared in the first flask) was added to the mixture. After 4h stirring at room temperature, the solvent was removed under vacuum and the residue was purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/Et₂O (1:1) as eluent to afford the silylated dipeptide (*E*)-**207a** (850 mg, 1.64 mmol, 75% yield)

Appearance: Colorless foam, *R_f*: 0.30 (petroleum ether/Et₂O 1:1)

[α]_D²⁰ = +13.3 (c 0.6, CHCl₃)

FTIR (neat): 3302 (NH), 2929-2855 (CH), 2095 (SiH), 1747 (C=O), 1658 (C=O), 1596 (C=C), 1525 (C=C), 1364 (CC), 1248 (C-O), 1160 (C-O), 797, 668

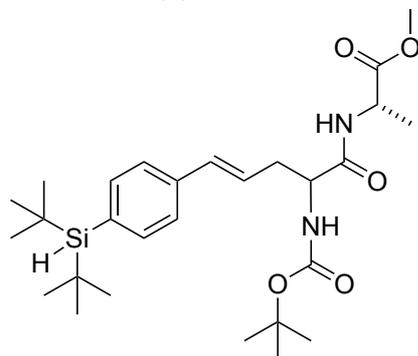
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.03 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.41 (d, ³J = 8.5 Hz, 3H; CH₃), 1.42 (s, 9H; C(CH₃)₃), 2.67 (m, 2H; CH₂), 3.70 (s, 3H; OCH₃), 3.84 (s, 1H; SiH), 4.24 (m, 1H; CHN), 4.56-4.61 (m, 1H; CHN), 5.08 (m, 1H; NH), 6.16-6.23 (m, 1H; ArCH=CH), 6.48 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H; ArCH=CH), 6.68 (d, ³J = 7.0 Hz, 1H; NCH(CH₃)), 7.31 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 7.50 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H; ArH) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 18.4 (CHCH₃), 19.0 (C(CH₃)₃), 28.3 (C(CH₃)₃), 28.9 (C(CH₃)₃), 36.1 (CH₂), 48.0 (CHN), 52.4 (OCH₃), 54.1 (NCH(CH₃)), 80.3 (OC(CH₃)₃), 124.6 (ArCH=CH), 125.4 (C_{arom}), 134.0 (ArCH=CH), 134.9 (C_{arom}), 136.0 (C_{arom}), 137.3 (C_{arom}), 155.5 (NCO₂), 170.9 (CON), 173.0 (CO₂CH₃) ppm.

²⁹Si NMR (99 MHz, CDCl₃): δ = +12.7 (s) ppm.

HRMS calcd. for C₂₈H₄₆N₂O₅Si [M+Na]⁺: 541.30682; found: 541.30724.

(*R,S+S,S*)-(di-*t*-Butyl)hydrosilylated dipeptide: The epimeric mixture of the silylated dipeptide (*E*)-**207a'** was prepared from (±)-(*E*)-**196a** and methyl L-alanine **206** using the same procedure as described above. The epimeric mixture (*E*)-**207a'** was obtained in 81% yield.

**(*E*)-207a'**

Chemical Formula: C₂₈H₄₆N₂O₅Si
Molecular Weight: 518,77

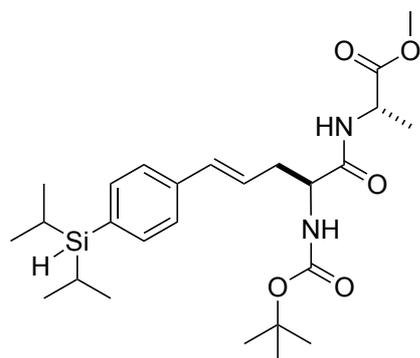
Appearance: colorless oil, *R_f*: 0.4, (petroleum ether/ EtOAc 7:3)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.03 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.39 (d, ³J = 8.5 Hz, 3H; CH₃), 1.42 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.65-2.69 (m, 2H; CH₂), 3.70 (s, 1.33H; OCH₃), 3.74 (s, 1.67H; OCH₃), 3.84 (s, 1H; SiH), 4.26 (brs, 1H; CHN), 4.56-4.61 (m, 1H; NCH(CH₃)), 5.03-5.06 (brs, 1H; NH), 6.16-6.22 (m, 1H; ArCH=CH), 6.47 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H; ArCH=CH), 6.66-6.69 (m, 1H; NHCH(CH₃)), 7.31 (d, ³J = 7.5 Hz, 2H; ArH), 7.52 (d, ³J = 7.5 Hz, 2H; ArH)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 18.2 (CH₃), 18.4 (CH₃), 19.0 (C(CH₃)₃), 28.2 (OC(CH₃)₃), 28.9 (C(CH₃)₃), 36.1 (CH₂), 48.0 (CHN), 48.1 (CHN), 52.4 (OCH₃), 54.2 (NCH(CH₃)), 80.5 (OC(CH₃)₃), 124.7 (ArCH=CH), 125.3 (C_{arom}), 134.1 (ArCH=CH), 134.9 (C_{arom}), 136.0 (C_{arom}), 137.3 (C_{arom}), 155.5 (NCO₂), 170.9 (CON), 173.0 (CO₂CH₃), 173.1 (CO₂CH₃) ppm.

^{29}Si NMR (99 MHz, CDCl_3): $\delta = +12.7$ (s) ppm.

(S,S)-Hydro(di-*i*-propyl)silylated dipeptide (*E*)-207b.



(*E*)-207b

Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$
Molecular Weight: 490,72

This dipeptide was prepared using the same procedure described above for (*E*)-207a, starting from the L-amino acid (*E*)-196b (40 mg, 0.100 mmol). DIPEA (90 μL , 0.55 mmol), HATU (46 mg, 0.12 mmol) and methyl L-alaninate.HCl 206 (22 mg, 0.15 mmol) were added to (*E*)-196b in DMF (1.5 mL) to afford the dipeptide (*E*)-207b (46 mg, 0.093 mmol, 93% yield).

Appearance: colorless solid. R_f : 0.31 (petroleum ether/ Et_2O 1:1)

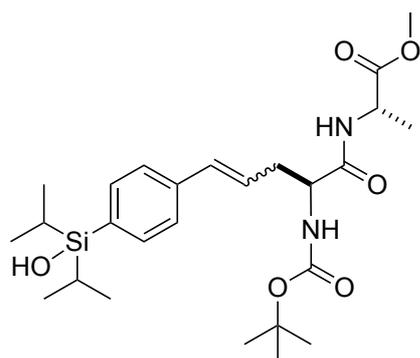
$[\alpha]_D^{20} = +7.9$ (c 0.9, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): $\delta = 0.98$ (d, $^3J = 7.3$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.05 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.20 (hept d, $^3J = 7.3$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, 2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.40 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 3H; CHCH_3), 1.41 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.67 (m, 2H; CH_2), 3.70 (s, 3H; OCH_3), 3.92 (t, $^3J = 3.2$ Hz, 1H; SiH), 4.24 (brs, 1H; CHN), 4.57 (m, 1H; $\text{NCH}(\text{CH}_3)$), 5.13 (brs, 1H; NH), 6.15-6.19 (m, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.48 (d, $^3J = 15.6$ Hz, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.70 (brs, 1H; NHCHCH_3), 7.32 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 2H; ArH), 7.44 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 2H; ArH) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): $\delta = 10.9$ ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.4 (CHCH_3), 18.8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 28.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 36.3 (CH_2), 48.2 (CHN), 52.5 (OCH_3), 53.5 (NCHCH_3), 80.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 124.9 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 125.6 (C_{arom}), 133.6 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 134.1 (C_{arom}), 135.8 (C_{arom}), 137.7 (C_{arom}), 155.6 (NCO_2), 171.1 (CON), 173.1 (CO_2CH_3) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 491.29358; found: 491.29469.

(*E,Z*)-(S,S)-Hydroxy(di-*i*-propyl)silylated dipeptide (*Z,E*)-207c.



(*Z,E*)-207c

Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$
Molecular Weight: 506,72

This dipeptide was prepared using the same procedure as described above for (*E*)-207a, from the L-amino acid (*Z,E*)-196c (270 mg, 0.64 mmol). The reaction of (*Z,E*)-196c with DIPEA (0.56 mL, 3.2 mmol), HBTU (291 mg, 0.77 mmol) and methyl L-alaninate.HCl (135 mg, 0.96 mmol) in DMF (10 mL) led to the dipeptide (*Z,E*)-207c as an isomeric mixture in 55:45 ratio (122 mg, 0.24 mmol, 38% yield).

Appearance: colorless solid, R_f : 0.31 (petroleum ether/ EtOAc 1:1)

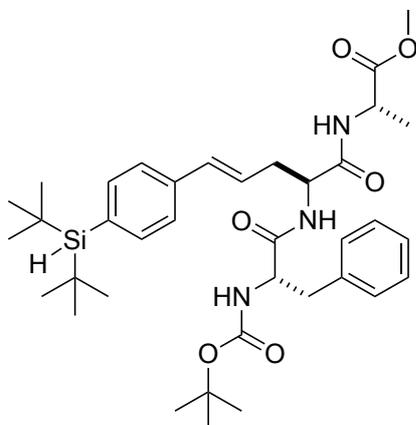
$[\alpha]_D^{20} = +4.8$ (c 0.8, CHCl_3)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.80$ (d, $^3J = 4.2$ Hz, 2.6H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.82 (d, $^3J = 4.2$ Hz, 3.2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.88 (d, $^3J = 3.6$ Hz, 2.7H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.90 (d, $^3J = 3.6$ Hz, 3.2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.05 (m, 2H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.27 (m, 12H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, CHCH_3), 2.65 (m, 2H; CH_2), 3.56 (m, 3H; OCH_3), 4.08 (brs, 1H; CHN), 4.41 (m, 1H; NCHCH_3), 4.88 (brs, 1H; SiOH), 5.49 (m, 0.5H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.04 (m, 0.5H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.30-6.54 (m, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 7.10 (m, 1H; ArH), 7.18 (m, 1H; ArH), 7.35 (m, 2H; ArH) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): $\delta = 12.4$ ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 16.9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 17.2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.4 (CHCH_3), 21.3 (CHCH_3), 28.2 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 31.4 (CH_2), 48.1 (CHN), 52.5 (OCH_3), 60.4 (NCHCH_3), 125.5 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 127.9 (C_{arom}), 134.1 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 134.4 (C_{arom}), 171.0 (CON), 173.1 (CO_2CH_3) ppm. 4C not observed

HRMS calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 507.28849; found: 507.28969.

(*S,S*)-(di-*t*-Butyl)hydrosilylated tripeptide **210**.



210

Chemical Formula: $\text{C}_{37}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$
Molecular Weight: 665,95

A solution of (*S,S*)-di-*t*-butylhydrosilylated dipeptide (*E*)-**207a** (70 mg, 0.135 mmol) in HCl (1M in EtOAc, 3 mL) was stirred at room temperature under argon for 12h. After removal of solvent under vacuum, the residue was dissolved in dry DMF (1 mL) under argon and DIPEA (60 μL , 0.340 mmol) was added. The mixture was stirred for 1h. Meanwhile, a solution of (*S*)-Boc-Phe-OH **209** (36.1 mg, 0.136 mmol) in dry DMF (2 mL) was reacted with HATU (62.1 mg, 0.163 mmol) and DIPEA (60 μL , 0.340 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 10 min and was then added to the activated dipeptide solution. The reaction mixture was stirred for 2h and subsequently treated with KHSO_4 (1M) and extracted with CH_2Cl_2 . The organic phases were gathered, dried over MgSO_4 and then filtrated and the solvent removed under vacuum. The residue was purified by chromatography on silica gel using a mixture EtOAc/petroleum ether (1:1) as eluent to afford the silylated tripeptide **210** (65 mg, 97.6 μmol , 72% yield).

Appearance: white foam, R_f : 0.30 (EtOAc/petroleum ether 1:1)

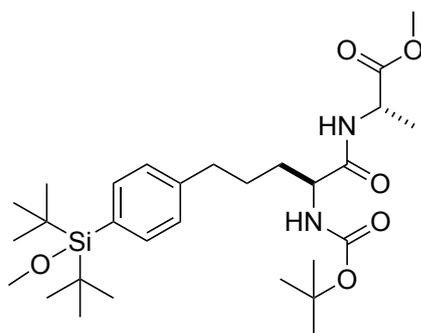
$[\alpha]_D^{20} = -3.4$ (c 1, CHCl_3)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.02$ (s, 18H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.30 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.38 (d, $^3J = 7.2$ Hz, 3H; CHCH_3), 2.53-2.72 (m, 2H; CH_2), 3.06 (m, 2H; PhCH_2), 3.69 (s, 3H; OCH_3), 3.83 (s, 1H; SiH), 4.30-4.42 (m, 1H; CHN), 4.44-4.63 (m, 2H; CHN overlapping signals), 4.95 (brs, 1H; NH), 5.99-6.20 (m, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.32 (d, $^3J = 15.9$ Hz, 1H; $\text{ArCH}=\text{CH}$), 6.58 (brs, 1H; NH), 6.84 (brs, 1H; NH), 7.13-7.31 (m, 7H; ArH), 7.49 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H; ArH) ppm.

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 18.1$ (CHCH_3), 19.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 35.7 (CH_2), 38.1 (PhCH_2), 48.4 (CHN), 52.5 (CHN), 52.6 (OCH_3), 55.9 (CHN), 80.6 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 124.3 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 125.5 (C_{arom}), 127.3 (C_{arom}), 128.9 (C_{arom}), 129.4 (C_{arom}), 134.3 ($\text{ArCH}=\text{CH}$), 135.1 (C_{arom}), 136.2 (C_{arom}), 136.4 (C_{arom}), 137.3 (C_{arom}), 155.8 (NCO_2), 170.2 (CON), 171.3 (CON), 173.0 (CO_2CH_3) ppm. 2C not observed

^{29}Si NMR (59 MHz, CDCl_3): $\delta = +12.7$ ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 666.39329; found: 666.39188.

(S,S)-di-*t*-Butylmethoxysilylated saturated dipeptide 211a.**211a**

Chemical Formula: C₂₉H₅₀N₂O₆Si
Molecular Weight: 550,81

In an autoclave, to a solution of silylated dipeptide **207a** (250 mg, 0.48 mmol) in dry MeOH (2 mL), was added under argon Pd/C 10% (29 mg, 27 μmol). After stirring overnight under H₂ (10 bar), the reaction mixture was filtrated over celite and the solvent was removed under vacuum. The residue was purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/acetone (8:2) as eluent, to afford quantitatively the saturated methoxysilylated dipeptide **211a** (265 mg, 0.48 mmol, quantitative).

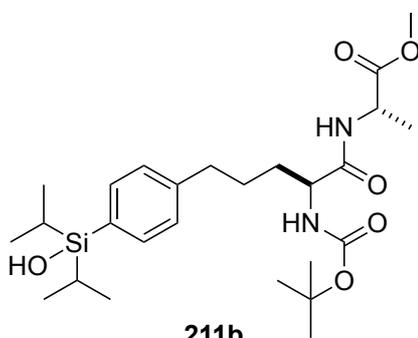
Appearance: white solid, **R_f**: 0.32 (petroleum ether/acetone 8:2)

[α]_D²⁰ = -4.8 (c 0.5, CH₂Cl₂)

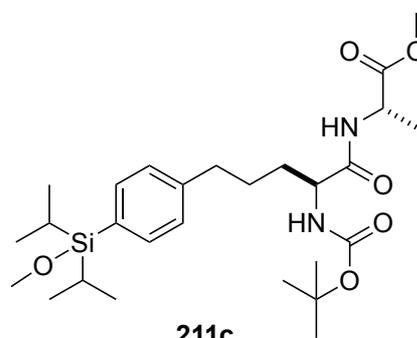
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.97 (s, 18H; C(CH₃)₃), 1.32 (d, ³J = 7.3 Hz, 3H; CHCH₃), 1.37 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 1.62-1.83 (m, 4H; (CH₂)₂), 2.55-2.58 (m, 2H; ArCH₂), 3.65-3.66 (m, 6H; OCH₃ overlapping signals), 4.03 (brs, 1H; CHN), 4.51 (p, ³J = 7.5 Hz, 1H; CHCH₃), 4.88 (brs, 1H; NH), 6.41 (d, ³J = 7.5 Hz, 1H; NH), 7.09 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H; ArH), 7.44 (d, ³J = 8 Hz, 2H; ArH) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 18.5 (CHCH₃), 21.0 (C(CH₃)₃), 27.2 (CH₂CHN), 28.5 (C(CH₃)₃), 28.6 (C(CH₃)₃), 32.3 (PhCH₂CH₂), 35.7 (PhCH₂), 48.2 (CHN), 52.6 (OCH₃), 53.2 (CHN), 54.5 (SiOCH₃), 80.3 (OC(CH₃)₃), 127.6 (C_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 142.7 (C_{arom}), 159.5 (NCO₂), 171.7 (NCO), 173.2 (CO₂CH₃) ppm. 1C not observed

HRMS calcd. for C₂₉H₅₁N₂O₆Si [M+H]⁺: 551.35109; found: 551.35067.

(S,S)-Hydroxy- and methoxy(di-*i*-propyl)silylated saturated dipeptide 211b and 211c.**211b**

Chemical Formula: C₂₆H₄₄N₂O₆Si
Molecular Weight: 508,73

**211c**

Chemical Formula: C₂₇H₄₆N₂O₆Si
Molecular Weight: 522,76

These dipeptides were obtained using the same procedure described above for **211a**. Pd/C 10% (15 mg, 13 μmol) was added to the enantiopure (*E/Z*)-isomeric mixture peptide **207c** (92 mg, 0.18 mmol) in dry MeOH (1.8 mL) and the mixture was stirred under H₂ (10 bar) overnight. After filtration over celite and removing the solvent under vacuum, a mixture of saturated dipeptide **211b** and **211c** was obtained in a 2:3 ratio (79 mg, 0.15 mmol, 85%).

Appearance: colorless foam, **R_f**: 0.50 (petroleum ether/EtOAc 1:1)

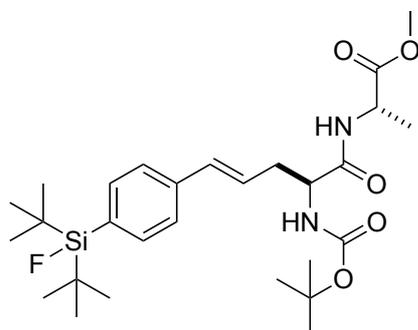
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ = 1.04 (m, 12H; CH(CH₃)₂), 1.26 (m, 2H; CHCH₃), 1.39 (d, ³J = 7.3 Hz, 3H; CHCH₃), 1.44 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 1.70-1.90 (m, 4H; (CH₂)₂), 2.64 (m, 2H; PhCH₂), 3.6 (s, 2H; OCH₃), 3.72 (s, 3H; OCH₃), 4.15 (brs, 1H; CHN), 4.57 (m, 1H; NCHCH₃), 5.13 (brs, 1H; NH), 6.77 (brs, 1H; NH), 7.17 (m, 2H; ArH), 7.46 (m, 2H; ArH) ppm.

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ = 12.0 (CH(CH₃)₂), 12.5 (CH(CH₃)₂), 17.0 (CH(CH₃)₂), 17.2, CH(CH₃)₂, 17.3 (CH(CH₃)₂), 17.5 (CH(CH₃)₂), 18.2 (CHCH₃), 27.1 (CH₂CHN), 32.1 (PhCH₂CH₂), 32.3 (PhCH₂CH₂), 35.5 (PhCH₂), 35.6 (PhCH₂), 48.0 (CHN), 52.0 (OCH₃), 52.4 (SiOCH₃), 52.5 (CHN), 54.3 (CHN), 80.1 (OC(CH₃)₃),

127.8 (C_{arom}), 131.1 (C_{arom}), 134.3 (C_{arom}), 134.8 (C_{arom}), 142.9 (C_{arom}), 155.7 (NCO_2), 171.7 (NCO), 173.1 (CO_2CH_3), 173.2 (CO_2CH_3) ppm.

HRMS calcd. for $C_{26}H_{44}N_2O_6SiNa$ (silanol **211b**) $[M+Na]^+$: 531.28608; found: 531.28686; and calcd. for $C_{27}H_{46}N_2O_6SiNa$ (siloxane **211c**) $[M+Na]^+$: 545.30229; found: 545.302680.

(2S,4E)-2-(*t*-Butoxycarbonylamino)-5-[4-(di-*t*-butylfluorosilyl)phenyl]-4-pentenoic acid (*E*)-212c.



212c

Chemical Formula: $C_{28}H_{45}FN_2O_5Si$
Molecular Weight: 536,76

KF (36.8 mg, 0.63 mmol), K2.2.2 (94 mg, 0.251 mmol) and acetic acid (80 μ L, 1.4 mmol) were added successively under argon to a solution of (*S,S*)-di-*t*-butylhydrosilylated dipeptide (*E*)-**207a** (130 mg, 0.251 mmol) in dry THF (6.5 mL). The reaction mixture was heated to reflux of THF for 24h. After cooling, the solvent was evaporated under vacuum and the residue was purified by chromatography on silica gel using a mixture petroleum ether/ Et_2O (1:1) as eluent, to afford the fluorinated dipeptide **212c** (130 mg, 0.242 mmol, 96%).

Appearance: colorless foam. R_f : 0.25 (petroleum ether/ Et_2O 1:1);

$[\alpha]_D^{20} = +8.5$ (c 1.9, $CHCl_3$);

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1.04$ (s, 18 H; $SiC(CH_3)_3$), 1.39 (d, $^3J(H,H) = 7.0$ Hz, 3 H; $CHCH_3$), 1.41 (s, 9 H; $OC(CH_3)_3$), 2.62-2.71 (m, 2 H; CH_2), 3.70 (s, 3 H; OCH_3), 4.26 (m, 1 H; CHN), 4.55-4.61 (m, 1 H; $NCHCH_3$), 5.11 (d, $^3J(H,H) = 7.0$ Hz, 1 H; NH), 6.18-6.24 (m, 1 H; $ArCH=CH$), 6.48 (d, $^3J(H,H) = 15.5$ Hz, 1 H; $ArCH=CH$), 6.71 (br d, $^3J(H,H) = 7.0$ Hz, 1 H; NH), 7.34 (d, $^3J(H,H) = 8.0$ Hz, 2 H; ArH), 7.53 ppm (d, $^3J(H,H) = 8.0$ Hz, 2 H; ArH);

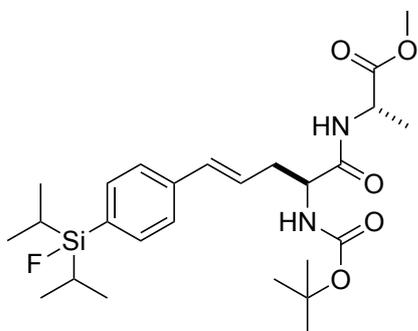
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 18.3$ ($CHCH_3$), 20.2 (d, $^2J(C,F) = 12.5$ Hz; $C(CH_3)_3$), 27.3 ($C(CH_3)_3$), 28.2 ($OC(CH_3)_3$), 36.2 (CH_2), 48.1 (CHN), 52.4 (OCH_3), 53.7 (CHN), 80.3 ($OC(CH_3)_3$), 125.2 ($ArCH=CH$), 125.5 (C_{arom}), 132.9 (C_{arom}), 133.8 ($ArCH=CH$), 134.2 (C_{arom}), 138.0 (C_{arom}), 155.6 (NCO_2), 170.9 (CON), 173.0 (CO_2CH_3);

^{19}F NMR (470 MHz, $CDCl_3$): $\delta = -188.9$ (s, 0.95F, $^{28/30}Si-F$), -188.9 ppm (d, 0.05F, $^1J(Si,F) = 298$ Hz, $^{29}Si-F$);

^{29}Si NMR (99 MHz, $CDCl_3$): $\delta = +13.9$ (d, $^1J(Si,F) = 297$ Hz)

HRMS calcd. for $C_{28}H_{45}FN_2O_5SiNa$ $[M+Na]^+$: 559.29740; found: 559.29540.

(2S,4E)-2-(*t*-Butoxycarbonylamino)-5-[4-fluoro-(di-*i*-propyl)fluorosilyl]phenyl]-4-pentenoic acid 212d



212d

Chemical Formula: $C_{26}H_{41}FN_2O_5Si$
Molecular Weight: 508,71

TBAF 1M in THF (0.2 mL, 200 μ mol) was added under argon to a solution of (*E*)-**207b** (35 mg, 86 μ mol) in dry THF (2 mL). After 20 min under stirring the solvent was removed under vacuum and the residue was purified by chromatography on silica gel using petroleum ether/ $EtOAc$ 9:1 + 1% $AcOH$ as eluent to afford the compound **212d** (28.7 mg, 68 μ mol, 79% yield).

Appearance: colorless foam R_f : 0.25 (petroleum ether/Et₂O 1:1)

$[\alpha]_D^{20} = +11.4$ (c 0.5, CH₂Cl₂)

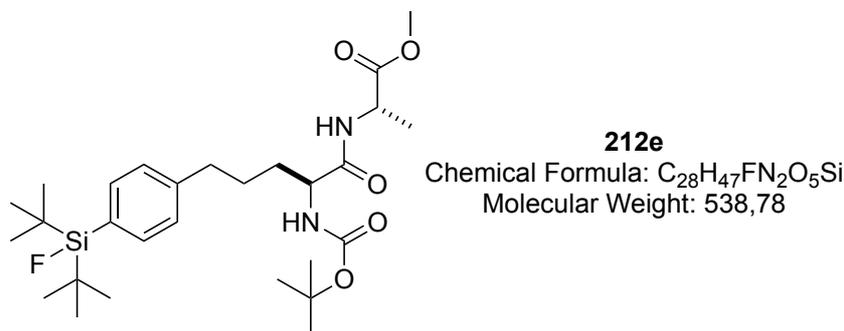
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.93$ (d, ³J(H,H) = 7.5 Hz, 6 H; CH(CH₃)₂), 1.00 (d, ³J(H,H) = 7.5 Hz, 6 H; CH(CH₃)₂), 1.18 (m, 2 H; CH(CH₃)₂), 1.33 (d, ³J(H,H) = 7.25 Hz, 3 H, CH(CH₃)), 1.34 (s, 9 H; OC(CH₃)₃), 2.60 (m, 2 H; CH₂), 3.63 (s, 3 H, OCH₃), 4.20 (brs, 1 H; CHN), 4.51 (m, 1 H; NCH(CH₃)), 5.08 (brs, 1 H; NH), 6.17 (m, 1 H; ArCH=CH), 6.42 (d, ³J(H,H) = 16.0 Hz, 1 H; ArCH=CH), 6.70 (brs, 1 H; NH), 7.29 (d, ³J(H,H) = 8.0 Hz, 2 H; ArH), 7.41 ppm (d, ³J(H,H) = 8.0 Hz, 2 H; ArH) ppm

¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): $\delta = 11.2$ (d, ²J(C,F) = 13.7 Hz; CH(CH₃)₂), 15.6 (d, ³J(C,F) = 19 Hz; CH(CH₃)₂), 17.3 (CHCH₃), 27.3 (OC(CH₃)₃), 35.2 (CH₂), 47.1 (CHN), 51.4 (OCH₃), 53.1 (CHN), 79.3 (OC(CH₃)₃), 124.4 (ArCH=CH), 124.7 (C_{arom}), 130.9 (C_{arom}), 132.7 (ArCH=CH), 133.1 (C_{arom}), 137.4 (C_{arom}), 155.6 (NCO₂), 170.0 (CON), 172.0 ppm (CO₂CH₃) ppm

¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃): $\delta = -187.2$ (s, 0.95F, ^{28/30}Si-F), -187.2 (d, 0.05F, ¹J(Si,F) = 294 Hz, ²⁹Si-F) ppm

HRMS calcd. for C₂₆H₄₁FN₂O₅SiNa [M+Na]⁺: 531.26610; found: 531.26647.

(2S)-2-(*t*-Butoxycarbonylamino)-5-[4-(*di-t*-butylfluorosilyl)phenyl]-4-pentanoic acid **212e.**



In an autoclave a solution of **212a** (82 mg, 0.153 mmol) in 1.5 mL MeOH is prepared and Pd/C 10% (15 mg, 15 μ mol) are added. The autoclave is purged with hydrogen, filled with 10 bar H₂, and the reaction is stirred for 16h. The reaction mixture is then filtered over Celite[®] and the solution is concentrated under reduced pressure to afford pure fluorinated dipeptide **212e** (82 mg, 0.153 mmol, 99.9% yield).

Appearance: colorless foam, R_f : 0.3 (petroleum ether/acetone 8:2)

$[\alpha]_D^{20} = +5.8$ (c 1, CH₂Cl₂)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.05$ (s, 18 H; C(CH₃)₃), 1.40 (d, ³J(H,H) = 7.5 Hz, 3 H; CHCH₃), 1.44 (s, 9 H; OC(CH₃)₃), 1.69-1.71 (m, 4 H, (CH₂)₂ overlapping signals), 2.63-2.65 (m, 2 H; ArCH₂), 3.73 (s, 3 H; OCH₃), 4.10 (brs, 1 H; CHN), 4.57 (q, ³J(H,H) = 7.5 Hz, 1H; NCHCH₃), 4.95 (brs, 1 H; NH), 6.48 (d, ³J(H,H) = 7.5 Hz, 1 H; NHCHCH₃), 7.17 (d, ³J(H,H) = 7.8 Hz, 2 H; ArH), 7.50 (d, ³J(H,H) = 8.1 Hz, 2 H; ArH) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 18.4$ (CHCH₃), 20.3 (d, ²J(C,F) = 12.8 Hz; C(CH₃)₃), 27.0 (ArCH₂CH₂CH₂), 27.4 (C(CH₃)₃), 28.3 (C(CH₃)₃), 32.1 (ArCH₂CH₂), 35.5 (ArCH₂), 48.0 (CHN), 52.4 (OCH₃), 57.1 (CHN), 80.3 (OC(CH₃)₃), 127.7 (ArCH=CH), 130.6 (C_{arom}), 134.2 (ArCH=CH), 143.5 (C_{arom}), 159.5 (NCO₂), 171.5 (CON), 173.2 (CO₂CH₃) ppm.

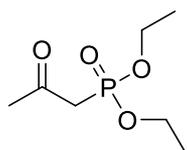
¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃): $\delta = -189.0$ (s, 0.95F, ^{28/30}Si-F), -189.0 (d, 0.05F, ¹J_{F-Si} = 296 Hz, ²⁹Si-F) ppm.

²⁹Si NMR (59 MHz, CDCl₃): $\delta = +14.0$ (d, ¹J_{Si-F} = 296 Hz) ppm.

HRMS calcd. for C₂₈H₄₈FN₂O₅Si [M+H]⁺: calcd 539.33110; found: 539.33081

Synthesis of terminal alkynes with Ohira-Bestmann reagent

Diethyl(-2-oxopropyl)phosphonate **317**.²⁰⁶

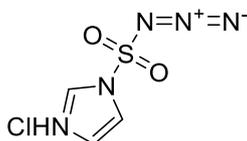
**317**Chemical Formula: C₇H₁₅O₄P

Molecular Weight: 194,17

To a stirred suspension of KI (10.65 g, 64.2 mmol) in 50 mL of an acetone/acetonitrile 1:1 mixture, was added chloroacetone (5.3 mL, 64.3 mmol) at room temperature. The mixture was stirred at room temperature for 1 h, then triethylphosphite (10 mL, 58.3 mmol) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was then filtrated over Celite and concentrated under reduced pressure, giving crude diethyl(2-oxopropyl)phosphonate **317** (10.97 g, 56.5 mmol, 97%).

Appearance: Colorless liquid

1H-Imidazole-1-sulfonylazide, hydrochloride **315**.²⁰⁵

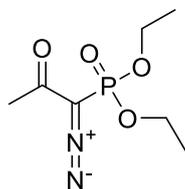
**315**Chemical Formula: C₃H₄ClN₅O₂S

Molecular Weight: 209,61

To a stirred suspension of NaN₃ (1.3 g, 20 mmol) in 20 mL acetonitrile, was added at 0°C Sulfuryl chloride (1.62 mL, 20 mmol). The mixture was stirred at room temperature overnight, then imidazole (2.6 g, 38 mmol) was added portion wise at 0°C. The mixture was stirred at room temperature for 3h. The thick mixture was diluted with 40 mL EtOAc, washed with 2*40 mL H₂O, 2*40 mL saturated NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtrated, and concentrated under reduced pressure. The oily residue was dissolved in 400 mL Et₂O and HCl_g was bubbled in the solution to complete precipitation. The white solid was isolated by filtration and washed with Et₂O, giving crude 1H-Imidazole-1-sulfonylazide hydrochloride **315** (2.96 g, 14.2 mmol, 71%).

Appearance: White solid.

Diethyl(1-diazo-2-oxopropyl)phosphonate **311b**.²⁰⁶

**311b**Chemical Formula: C₇H₁₃N₂O₄P

Molecular Weight: 220,16

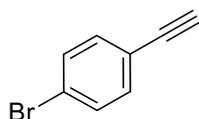
To a solution of **317** (2.2 g, 11.3 mmol) in 22 mL triethylamine, was added portion wise at room temperature, **315** (2.6 g, 12.4 mmol), the reaction was stirred overnight at room temperature, then concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with Et₂O, filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. Finally, the residue was purified by chromatography on silica gel, using a mixture petroleum ether/EtOAc as eluent (1:1 → 0:1) to obtain pure diethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonate **311b** (1.46 g, 7.5 mmol, 66 %).

Appearance: pale yellow oil, *R_f*: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 1:1)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.32 (td, ³J = 7.1 Hz, ⁴J_{H-P} = 1 Hz, 6H; OCH₂CH₃), 2.21 (s, 3H; CH₃), 4.14 (dt, ³J_{H-P} = 8.5 Hz, ³J = 7.1 Hz, 4H; OCH₂OCH₃) ppm.

^{31}P NMR (202 MHz, CDCl_3): $\delta = +11.0$ (s) ppm.

1-Bromo-4-ethynylbenzene 308a.



308a

Chemical Formula: $\text{C}_8\text{H}_5\text{Br}$

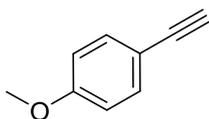
Molecular Weight: 181,03

To a solution of 4-bromobenzaldehyde (1 g, 5.4 mmol) and **311b** (1.67 g, 8.6 mmol) in 22 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (1.87 g, 13.5 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, and extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with petroleum ether, to afford pure 1-bromo-4-ethynylbenzene 308a (850 mg, 4.7 mmol, 87%).

Appearance: off-white flakes, R_f : 0.7 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.05$ (s, 1H; CCH), 7.27 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H; CH_{arom}), 7.39 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H; CH_{arom}) ppm.

4-Ethynylanisol 308b.²⁰⁶



308b

Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$

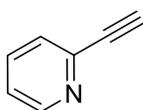
Molecular Weight: 132,16

To a solution of anisaldehyde (1 g, 7.3 mmol) and **311b** (2.3 g, 11.8 mmol) in 30 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (2.6 g, 18.5 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, and extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with petroleum ether, to afford pure 4-ethynylanisol **308b** (860 mg, 6.5 mmol, 89%).

Appearance: yellow flakes, R_f : 0.5 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.02$ (s, 1H; CCH), 3.83 (s, 3H; OCH_3), 6.86 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H; CH_o), 7.45 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H; CH_m) ppm.

2-Ethynyl-pyridine 308c.



308c

Chemical Formula: $\text{C}_7\text{H}_5\text{N}$

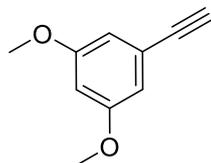
Molecular Weight: 103,12

To a solution of 2-formylpyridine (155 mg, 1.45 mmol) and **311b** (450 mg, 2.31 mmol) in 6 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (500 mg, 3.62 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with a petroleum ether/ Et_2O mixture (1:1), to afford 2-ethynyl-pyridine **308c** (142 mg, 1.23 mmol, 82%). Chemical purity 95%

Appearance: brown powder, R_f : 0.4 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.23 (s, 1H; CCH), 7.26 (ddd, 3J = 7.7 Hz, 3J = 4.9 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H; CH^5), 7.49 (ddd, 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.3 Hz, 5J = 1.1 Hz, 1H; CH^3), 7.67 (ddd, 3J = 7.7 Hz, 3J = 7.7 Hz, 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.8 Hz, 1H; CH^4), 8.61 (ddd, 3J = 4.9 Hz, 4J = 1.8 Hz, 5J = 1.1 Hz, 1H; CH^6) ppm.

1,3-Dimethoxy-5-ethynyl-benzene 308d.



308d

Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$

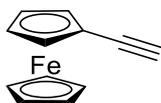
Molecular Weight: 162,19

To a solution of 3,5-dimethoxybenzaldehyde (200 mg, 1.20 mmol) and **311b** (374 mg, 1.93 mmol) in 5 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (416 mg, 3.01 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with a petroleum ether/ Et_2O mixture (9:1), to afford 1,3-dimethoxy-5-ethynyl-benzene **308d** (190 mg, 1.17 mmol, 97%).

Appearance: yellow flakes, R_f : 0.5 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.96 (s, 1H; CCH), 3.70 (s, 6H; OCH_3), 6.39 (t, 4J = 2.3 Hz; 1H), 6.57 (d, 4J = 2.3 Hz; 2H) ppm.

Ethynylferrocene 308e.



308e

Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Fe}$

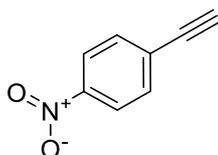
Molecular Weight: 210.06

To a solution of formylferrocene (272 mg, 1.27 mmol) and **311b** (395 mg, 2.03 mmol) in 5 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (440 mg, 3.18 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with petroleum ether, to afford ethynylferrocene **308e** (24 mg, 0.11 mmol, 9%).

Appearance: red powder, R_f : 0.6 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.71 (s, 1H; CCH), 4.07 (dd, 3J = 2.0 Hz, 4J = 2.0 Hz; 2H), 4.12 (s, 5H; Cp), 4.25 (t, 3J = 2.0 Hz, 4J = 2.0 Hz; 2H) ppm.

4-Ethynyl-nitrobenzene 308f.



308f

Chemical Formula: $\text{C}_8\text{H}_5\text{NO}_2$

Molecular Weight: 147,13

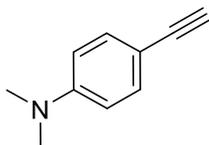
To a solution of 4-nitrobenzaldehyde (250 mg, 1.65 mmol) and **311b** (513 mg, 2.65 mmol) in 7 mL of dry MeOH, was added K_2CO_3 (570 mg, 4.13 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure.

The residue was purified by silica plug, eluted with a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1), to afford pure 4-ethynyl-nitrobenzene **308f** (232 mg, 1.58 mmol, 96%).

Appearance: yellow flakes, *R_f*: 0.3 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.37 (s, 1H; CCH), 7.66 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_m), 8.27 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_o) ppm.

4-Ethynyl-*N,N*-dimethylaniline **308g**.



308g

Chemical Formula: C₁₀H₁₁N

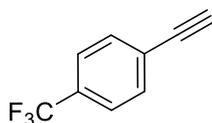
Molecular Weight: 145,21

To a solution of 4-dimethylaminobenzaldehyde (150 mg, 1 mmol) and **311b** (312 mg, 1.6 mmol) in 4 mL of dry MeOH, was added K₂CO₃ (350 mg, 2.6 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, then treated with NaOH 1M to pH > 10 and extracted with 3*10 mL CH₂Cl₂, the organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel, using a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1) as eluent, to afford pure 4-ethynyl-*N,N*-dimethylaniline **308g** (26 mg, 0.18 mmol, 18%).

Appearance: brown powder, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.00 (s overlapping signal, 1H; CCH), 3.00 (s overlapping signal, 6H; N(CH₃)₂), 6.64 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_o), 7.39 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_m) ppm.

1-Trifluoromethyl-4-ethynyl-benzene **308h**.



308h

Chemical Formula: C₉H₅F₃

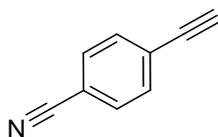
Molecular Weight: 170,13

To a solution of 4-trifluoromethylbenzaldehyde (222 mg, 1.28 mmol) and **311b** (396 mg, 2.04 mmol) in 5 mL of dry MeOH, was added K₂CO₃ (440 mg, 3.19 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH₂Cl₂, the organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica plug, eluted with petroleum ether, to afford 1-trifluoromethyl-4-ethynyl-benzene **308h** (50 mg, 0.29 mmol, 23%).

Appearance: yellow oil, *R_f*: 0.7 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.36 (s, 1H; CCH), 6.74 (d, ³J = 5.1 Hz, 1H; H_{arom}), 7.05 (d, ³J = 5.1 Hz, 2H; H_{arom}) ppm.

4-Ethynyl-benzonitrile **308i**.



308i

Chemical Formula: C₉H₅N

Molecular Weight: 127,15

To a solution of 4-formylbenzonitrile (130 mg, 0.99 mmol) and **311b** (308 mg, 1.59 mmol) in 4 mL of dry MeOH, was added K₂CO₃ (342 mg, 2.48 mmol) in one portion and the mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was diluted with HCl_{aq} 1M, extracted with 3*10 mL CH₂Cl₂, the organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure.

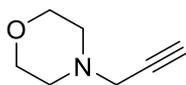
The residue was purified by silica plug, eluted with a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1), to afford pure 4-ethynyl-benzonitrile **308i** (103 mg, 0.81 mmol, 82%).

Appearance: off-white flakes, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.23 (s, 1H; CCH), 7.53 (m, 4H; CH_{arom}) ppm.

Synthesis of propargylamines

N-Propargylmorpholine **348a**.

**348a**

Chemical Formula: C₇H₁₁NO

Molecular Weight: 125,17

To a solution of morpholine (0.47 mL, 5.5 mmol) and Cs₂CO₃ (3.23 g, 9.9 mmol) in 16 mL of acetone, was added dropwise propargyle bromide (0.5 mL, 4.96 mmol, 80% in toluene) and the mixture was heated to reflux overnight. The reaction mixture was filtered over celite. The filtrate was diluted with Et₂O then washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel, using petroleum ether/EtOAc mixture (6:4) as eluent, to afford pure *N*-propargylmorpholine **348a** (500 mg, 4.0 mmol, 80%).

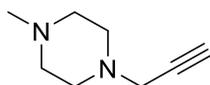
Alternative synthesis:

To a solution of morpholine (1 mL, 11.6 mmol) in 10 mL of dry MeOH, were added successively at 0°C, K₂CO₃ (1.28 g, 9.3 mmol) and propargyle bromide (1.26 mL, 11.3 mmol, 80% in toluene) and the mixture stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was filtered over Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the residue was suspended in 10 mL CH₂Cl₂ and filtered over Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the oily residue was distilled under reduced pressure (60 °C, 16 mbar) to obtain pure *N*-propargylmorpholine **348a** (490 mg, 3.91 mmol, 35%).

Appearance: colorless liquid, *R_f*: 0.7 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.29 (t, ⁴J = 2.5, 1H; CCH), 2.60 (m, 4H; O(CH₂CH₂)₂N), 3.32 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 2H; CH₂CC), 3.77 (m, 4H; O(CH₂CH₂)₂N) ppm.

N-Propargyl-*N*-methyl-morpholine **348b**.

**348b**

Chemical Formula: C₈H₁₄N₂

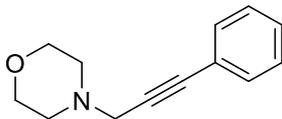
Molecular Weight: 138,21

To a solution of *N*-methylpiperazine (2.6 mL, 23.4 mmol) in 20 mL of dry MeOH, were added successively at 0°C, K₂CO₃ (2.43 g, 17.6 mmol) and propargyle bromide (2.5 mL, 23.0 mmol, 80% in toluene) and the mixture stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was filtered over Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the residue was suspended in 10 mL CH₂Cl₂ and filtered over Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the oily residue was distilled under reduced pressure (90 °C, 9 mbar) to obtain pure *N*-propargylmorpholine **348b** (1.91 g, 13.8 mmol, 60%).

Appearance: colorless liquid

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.18$ (t, $^4J = 2.5$ Hz, 1H; CCH), 2.23 (s, 3H; NCH_3), 2.42 (brs, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 2.55 (brs, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 3.23 (d, $^4J = 2.5$ Hz; 2H; CH_2CC) ppm.

N-(3-Phenylpropynyl)morpholine **321**.

**321**Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$

Molecular Weight: 201,27

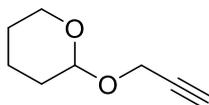
To a solution of phenylpropionic acid (400 mg, 2.74 mmol) and paraformaldehyde (82.2 mg, 2.74 mmol) in 11 mL of dry acetonitrile was added morpholine (0.22 mL, 2.6 mmol) and the mixture was heated to reflux overnight. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, the residue was taken up in aqueous HCl 1M, washed with EtOAc, basified with saturated aqueous Na_2CO_3 , and extracted with Et_2O . The ethereal phase was filtered, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford pure *N*-(3-phenylpropynyl)morpholine **321** (400 mg, 1.99 mmol, 76%).

Appearance: colorless liquid.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.59$ (brs, 4H; $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 3.45 (s; 2H; CH_2) 3.71 (brs, 4H; $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 7.23 (m, 3H; H_{arom}), 7.37 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

Other terminal alkynes

1-Tetrahydropyranyl propargyl ether **308n**

**308n**Chemical Formula: $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_2$

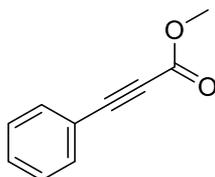
Molecular Weight: 140,18

To neat dihydropyran (6.52 mL, 71.5 mmol), paratolylsulfonic acid (40 mg, 0.2 mmol) was added. The mixture was stirred for 10 min then propargyl alcohol (4 mL, 68.7 mmol) was added dropwise at 0°C . The reaction mixture was stirred at room temperature overnight then NaHCO_3 (433 mg, 5.15 mmol) was added and the mixture was stirred for 1h at room temperature. The mixture was then filtered over Celite, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by distillation under reduced pressure (100°C , 10 mbar) to afford tetrahydropyranyl propargyl ether **308n** (7.41 g, 52.9 mmol, 77%).

Appearance: colorless liquid.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.46$ -1.95 (m, 6H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.42 (t, $^4J = 2.4$ Hz, 1H; CCH), 3.48-3.62 (m, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.78-3.96 (m, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.26 (ABX pattern, 2H; OCH_2CCH), 4.83 (ABX pattern, 1H; OCHO) ppm.

Methyl phenylpropiolate **319**.

**319**Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$

Molecular Weight: 160,17

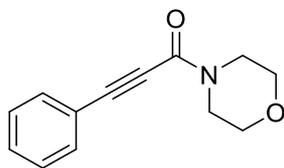
To a solution of phenylpropionic acid (500 mg, 3.42 mmol) in 3 mL of methanol, was added thionyl chloride (0.35 mL, 4.8 mmol) at -10°C , the mixture was then stirred at room temperature for 2h. The mixture was then diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , extracted with CH_2Cl_2 , the organic phases

were gathered, washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford pure phenylpropionic methyl ester **319** (507 mg, 3.17 mmol, 93%).

Appearance: colorless liquid.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.77$ (s, 3H; OCH_3), 7.30 (m, 2H; H_{arom}), 7.39 (m, 1H; H_{arom}), 7.52 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

4-Phenylpropiolylmorpholine **320**.

**320**

Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_2$

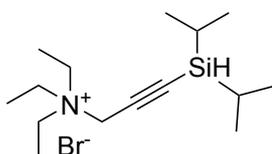
Molecular Weight: 215,25

To a solution of phenylpropionic acid (500 mg, 3.42 mmol) in 3 mL CH_2Cl_2 , was added thionyl chloride (0.35 mL, 4.8 mmol) at -10°C , the reaction mixture was let warm up to room temperature for 2h then morpholine was added dropwise. The mixture was then stirred at room temperature overnight. The mixture was then diluted washed with saturated aqueous NaHCO_3 , washed with aqueous HCl (1M), dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/ EtOAc mixture (7:3 \rightarrow 1:1) to afford pure phenylpropiolylmorpholine **320** (230 mg, 1.07 mmol, 31%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.6 (petroleum ether/ EtOAc 1:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.63$ (s, 4H; $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)\text{N}$), 3.69 (m, 2H; NCH_2), 3.78 (m, 2H; NCH_2), 7.33 (m, 3H; H_{arom}), 7.47 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

1-Methyltriethylammonium-2-diisopropylsilane-acetylene **346a**.

**346a**

Chemical Formula: $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{BrNSi}$

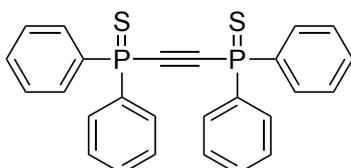
Molecular Weight: 334,42

To a solution of **345a** (940 mg, 4.03 mmol) in 10 mL CHCl_3 , was added NEt_3 (1.1 mL, 8.1 mmol), the reaction mixture was heated to reflux for 4h. Once cooled to room temperature, the reaction mixture was diluted in 100 mL Et_2O . The white precipitate was isolated by filtration and dried under high vacuum to afford 1-methyltriethylammonium-2-diisopropylsilane-acetylene **346a** (1.150 g, 3.44 mmol, 85%).

Appearance: white powder

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.99$ (s, 12H; $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.40 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 9H; $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 3.60 (q, $^3J = 7.3$ Hz, 6H; $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 3.66 (brs, 1H; SiH), 4.50 (s, 2H; CH_2CC) ppm. 2H not observed.

Bis(diphenylthiophosphino)acetylene **358d**.

**358d**

Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{P}_2\text{S}_2$

Molecular Weight: 458,51

To a solution of bis(diphenylphosphino)acetylene (500 mg, 1.27 mmol) in 12.7 mL distilled toluene, sulphur (1.02 g, 31.7 mmol) was added, the reaction mixture was then heated to reflux overnight. Once cooled to room temperature, the mixture was filtered over Celite, concentrated under reduced pressure, taken up in minimum acetone, filtered over Celite again and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford partially contaminated with sulphur, bis(diphenylthiophosphino)acetylene **358d** (730 mg, 1.27 mmol, quant).

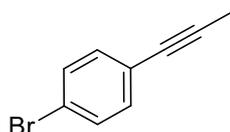
Appearance: off white solid.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.41$ (m, 12H; H_{arom}), 7.82 (m, 8H; H_{arom}) ppm.

$^{31}\text{P NMR}$ (121 MHz, CDCl_3): $\delta = 21.6$ (s) ppm.

Synthesis of internal alkynes *via* deprotonation

4-(Prop-1-ynyl)bromobenzene **322a**.



322a

Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_7\text{Br}$

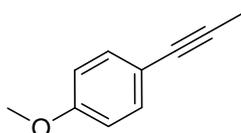
Molecular Weight: 195,06

To a solution of 4-ethynyl-bromobenzene **308a** (120 mg, 0.66 mmol) in 2.7 mL distilled THF, LDA (0.33 mL, 0.66 mmol, 2 M in THF) was added at -78°C . The mixture was stirred at -30°C for 30 min then MeI (33 μL , 1 mmol) was added. The mixture was let warm up to room temperature overnight then filtered over Celite, the filtrate was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel using a petroleum ether/ Et_2O mixture (9:1) to afford pure 4-(prop-1-ynyl)bromobenzene **322a** (110 mg, 0.55 mmol, 83%).

Appearance: yellow oil, R_f : 0.7 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.94$ (s, 3H; CCCH_3), 7.15 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H; CH_{arom}), 7.32 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2H; CH_{arom}) ppm.

4-(Prop-1-ynyl)anisole **322b**.



322b

Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}$

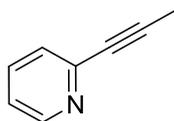
Molecular Weight: 146,19

To a solution of 4-ethynyl-anisole **308b** (100 mg, 0.76 mmol) in 3 mL distilled THF, BuLi (0.30 mL, 0.76 mmol, 2.5 M in hexane) was added at -78°C . The mixture was stirred at -78°C for 30 min then MeI (71 μL , 1.1 mmol) was added. The mixture was let warm up to room temperature overnight then filtered over Celite, the filtrate was concentrated under reduced pressure and afforded pure 4-(prop-1-ynyl)anisole **322b** (110 mg, 0.76 mmol, 99%).

Appearance: yellow oil

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.95$ (s, 3H; CCCH_3), 3.72 (s, 3H; OCH_3), 6.74 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H; CH_o), 7.24 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H; CH_p) ppm.

2-(Prop-1-ynyl)pyridine **322c**.



322c

Chemical Formula: $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$

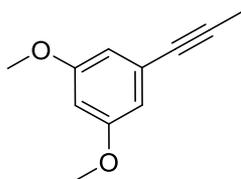
Molecular Weight: 117,15

According to a similar procedure, of 2-ethynylpyridine **308c** (100 mg, 0.97 mmol) was reacted successively with BuLi (0.39 mL, 0.97 mmol, 2.5 M in hexane) and Mel (70 μ L, 1.1 mmol) in 4 mL THF. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1) to afford pure 2-(prop-1-ynyl)pyridine **322c** (94 mg, 0.80 mmol, 82%).

Appearance: brown powder, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.01 (s, 3H; CCCH₃), 7.10 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1H; CH⁵), 7.28 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, ⁵J = 1.1 Hz, 1H; CH³), 7.53 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1H; CH⁴), 8.46 (ddd, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, ⁵J = 1.1 Hz, 1H; CH⁶) ppm.

1,3-Dimethoxy-5-(prop-1-ynyl)benzene **322d**.



322d

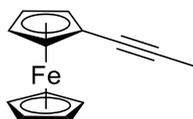
Chemical Formula: C₁₁H₁₂O₂
Molecular Weight: 176,22

According to a similar procedure, 1,3-dimethoxy-5-ethynylbenzene **308d** (178 mg, 1.1 mmol) was reacted successively with BuLi (0.44 mL, 1.1 mmol, 2.5 M in hexane) and Mel (75 μ L, 1.21 mmol) in 4.4 mL THF. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1) to afford pure 1,3-dimethoxy-5-(prop-1-ynyl)-benzene **322d** (176 mg, 1 mmol, 91%).

Appearance: yellow flakes, *R_f*: 0.6 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.97 (s, 3H; CCCH₃), 3.70 (s, 6H; OCH₃), 6.33 (t, ⁴J = 2.3 Hz, 1H; H_{arom}), 6.49 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 2H; H_{arom}) ppm.

Propynylferrocene **322e**.



322e

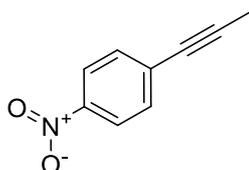
Chemical Formula: C₁₃H₁₂Fe
Molecular Weight: 224,08

According to a similar procedure, ethynylferrocene **308e** (24 mg, 114 μ mol) was reacted successively with BuLi (46 μ L, 115 μ mol, 2.5 M in hexane) and Mel (11 μ L, 1.21 mmol) in 0.5 mL THF to afford pure propynylferrocene **322e** (22 mg, 98 μ mol, 86%).

Appearance: red powder

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.86 (s, 3H; CCCH₃), 4.05 (dd, ³J = 1.9 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 2H; H_{arom}), 4.12 (s, 5H; Cp), 4.27 (dd, ³J = 1.9 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 2H; H_{arom}) ppm.

4-(Prop-1-ynyl)nitrobenzene **322f**.



322f

Chemical Formula: C₉H₇NO₂
Molecular Weight: 161,16

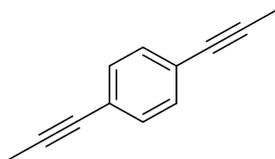
According to a similar procedure, 4-ethynlnitrobenzene **308f** (100 mg, 0.68 mmol) was reacted successively with BuLi (0.27 mL, 0.68 mmol, 2.5 M in hexane) and Mel (64 μ L, 1.05 mmol) in 2.8 mL THF.

The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1) to afford pure 1-nitro-4-(prop-1-ynyl)-benzene **322f** (108 mg, 0.67 mmol, 99%).

Appearance: yellow flakes, *R_f*: 0.4 (petroleum ether/Et₂O 9:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.16 (s, 3H; CCCH₃), 7.57 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_m), 8.11 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H; CH_o) ppm.

1,4-Dipropynylbenzene **322g**.

**322g**Chemical Formula: C₁₂H₁₀

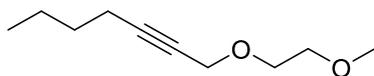
Molecular Weight: 154,21

According to a similar procedure, 1,4-diethynylbenzene (200 mg, 1.59 mmol) was reacted successively with BuLi (1.3 mL, 3.25 mmol, 2.5 M in hexane) and MeI (247 μL, 4 mmol) in 6 mL THF. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (9:1) to afford pure 1,4-dipropynylbenzene **322g** (242 mg, 1.57 mmol, 99%).

Appearance: white solid, *R_f*: 0.8 (petroleum ether/Et₂O 19:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.97 (s, 6H; CCCH₃), 7.20 (s, 4H; H_{arom}) ppm.

1-(Methoxyethoxy)-2-heptyne **322h**.

**322h**Chemical Formula: C₁₀H₁₈O₂

Molecular Weight: 170,25

According to a similar procedure, hexyne (0.3 mL, 2.61 mmol) was reacted successively with BuLi (1.04 mL, 2.61 mmol, 2.5 M in hexane) and MEMCl (0.33 mL, 2.9 mmol) in 10 mL THF. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether to afford pure 1-(methoxyethoxy)-2-heptyne **322h** (399 mg, 2.35 mmol, 89%).

Appearance: colorless liquid *R_f*: 0.6 (petroleum ether)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 0.85 (m, 3H; CH₃), 1.28-1.41 (m, 2H; CH₃CH₂CH₂), 1.41-1.51 (m, 2H; CH₃CH₂CH₂), 2.16 (m, 2H; CCCH₂), 3.33 (s, 3H; OCH₃), 3.51 (s, 2H; OCH₂CH₂O), 3.61 (s, 2H; OCH₂CH₂O), 4.13 (s, 2H; CCCH₂O) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 13.5 (CH₃), 18.4 (CH₂CH₃), 21.8 (CH₂CH₂CH₃), 30.6 (CH₂CH₂CC), 58.9 (OCH₃), 68.6 (CCCH₂O), 71.7 (OCH₂CH₂O), 75.6 (OCH₂CH₂O), 87.0 (CCCH₂O) ppm. 1C missing

1-Benzyl-1-hexyne **322i**.

**322i**Chemical Formula: C₁₃H₁₆

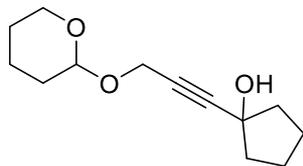
Molecular Weight: 172,27

According to a similar procedure, hexyne (0.3 mL, 2.61 mmol) was reacted successively with BuLi (1.04 mL, 2.61 mmol, 2.5 M in hexane) and benzyl bromide (0.34 mL, 2.87 mmol) in 10 mL THF. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether to afford pure 1-benzyl-1-hexyne **322i** (467 mg, 2.71 mmol, 83%).

Appearance: colorless liquid, *R_f*: 0.7 (petroleum ether)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.84 (m, 3H; CH_3), 1.51-1.62 (m, 2H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.62-1.72 (m, 4H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.36 (m, 2H; CCCH_2), 3.71 (s, 2H; CCCH_2Ph), 7.35 (m, 1H; H_{para}), 7.38-7.52 (m, 4H; H_{arom}) ppm.

Cyclopentano-1-[3-[(tetrahydropyran-2-yl)oxy]-1-propyn-1-yl] 322j.



322j

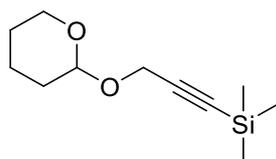
Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$
Molecular Weight: 224,30

According to a similar procedure, Tetrahydropyranyl propargyl ether (300 mg, 2.14 mmol) was reacted successively with BuLi (1.07 mL, 2.14 mmol, 2 M in cyclohexane) and cyclopentanone (190 μL , 2.14 mmol) in 7 mL THF. The reaction mixture was quenched with water and extracted with CH_2Cl_2 to afford pure cyclopentano-1-[3-[(tetrahydropyran-2-yl)oxy]-1-propyn-1-yl] **322j** (423 mg, 1.89 mmol, 88%).

Appearance: yellow oil

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.40-1.94 (m, 14H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ and $(\text{CH}_2)_4$), 3.47 (m, 1H; OCH_2CH_2), 3.78 (m, 1H; OCH_2CH_2), 4.23 (ABX pattern, 2H; OCH_2CC), 4.84 (ABX pattern, 1H; OCHO) ppm. (OH not seen)

Tetrahydropyranyl(trimethylsilyl)propargyl ether 322k.



322k

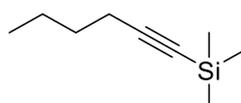
Chemical Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{Si}$
Molecular Weight: 212,36

According to a similar procedure, tetrahydropyranyl propargyl ether (160 mg, 1.14 mmol) was reacted successively with BuLi (0.72 mL, 1.80 mmol, 2.5 M in hexane) and TMSCl (160 μL , 1.26 mmol) in 2.7 mL Et_2O . The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/ Et_2O mixture (9:1) to afford pure tetrahydropyranyl propargyl ether **322k** (107 mg, 0.5 mmol, 44%).

Appearance: colorless oil, R_f : 0.8 (petroleum ether/ Et_2O 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.20 (s, 9H; $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1.50-1.95 (m, 6H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.55 (m, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.87 (m, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.29 (AB pattern, 2H; OCH_2CC), 4.84 (ABX pattern, 1H; OCHO) ppm.

1-Trimethylsilyl)hex-1-yne 301b.



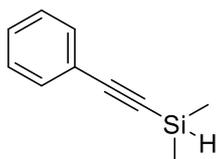
301b

Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{Si}$
Molecular Weight: 154,33

According to a similar procedure, hexyne (0.4 mL, 3.48 mmol) was reacted successively with BuLi (1.4 mL, 3.52 mmol, 2.5 M in hexane) and TMSCl (0.45 mL, 3.55 mmol) in 6.5 mL Et_2O . Volatile products were removed to afford pure 1-(trimethylsilyl)hex-1-yne **301b** (440 mg, 2.85 mmol, 82%).

Appearance: colorless liquid

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.14 (s, 9H; $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.91 (t, 3J = 7.2 Hz, 3H; CH_3), 1.34-1.56 (m, 4H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.22 (t, 3J = 7.2 Hz, 2H; CCCH_2) ppm.

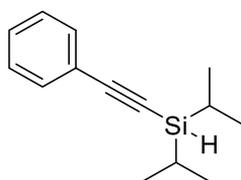
1-Phenyl-2-dimethylsilylacetylene 340a.**340a**

Chemical Formula: C₁₀H₁₂Si
Molecular Weight: 160,29

According to a similar procedure, phenylacetylene (0.4 mL, 3.64 mmol) was reacted successively with BuLi (2.3 mL, 3.68 mmol, 1.6 M in cyclohexane) and dimethylethoxysilane (0.55 mL, 4.00 mmol) in 8.4 mL Et₂O. The reaction mixture was quenched with water and extracted with CH₂Cl₂. The organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (20:1) to afford pure 1-phenyl-2-dimethylsilylacetylene **340a** (340 mg, 2.12 mmol, 58%).

Appearance: colorless liquid *R*_f: 0.8 (petroleum ether/Et₂O 20:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.19 (d, ³J = 3.8 Hz, 6H; Si(CH₃)₂), 4.14 (hept, ³J = 3.8 Hz, 1H; SiH), 7.23 (m, 3H; H_{arom}), 7.36 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

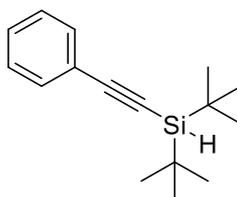
1-Phenyl-2-di-*i*-propylsilylacetylene 340b.**340b**

Chemical Formula: C₁₄H₂₀Si
Molecular Weight: 216,40

According to a similar procedure, phenylacetylene (0.5 mL, 4.55 mmol) was reacted successively with BuLi (1.84 mL, 4.60 mmol, 2.5 M in hexane) and di-*i*-propylchlorosilane (0.82 mL, 4.78 mmol) in 8.8 mL THF. Volatile products were removed to afford pure 1-phenyl-2-diisopropylsilylacetylene **340b** (1.02 g, 4.47 mmol, 94%).

Appearance: colorless liquid *R*_f: 0.8 (petroleum ether/Et₂O 20:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.95 (m, 2H; CH(CH₃)₂), 1.03 (m, 12H; CH(CH₃)₂), 3.74 (s, 1H; SiH), 7.22 (m, 3H; H_{arom}), 7.39 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

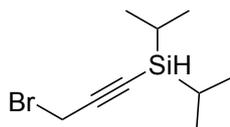
1-Phenyl-2-di-*t*-butylsilylacetylene 340c.**340c**

Chemical Formula: C₁₆H₂₄Si
Molecular Weight: 244,45

According to a similar procedure, phenylacetylene (0.25 mL, 2.28 mmol) was reacted successively with BuLi (0.92 mL, 2.30 mmol, 2.5 M in hexane) and di-*t*-butylchlorosilane (0.46 mL, 2.28 mmol) in 5.3 mL Et₂O. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (20:1) to afford pure 1-phenyl-2-di-*t*-butylsilylacetylene **360** (484 mg, 1.98 mmol, 87%).

Appearance: colorless liquid *R*_f: 0.8 (petroleum ether/Et₂O 20:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.05 (s, 18H; C(CH₃)₃), 3.66 (s, 1H; SiH), 7.25 (m, 3H; H_{arom}), 7.41 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

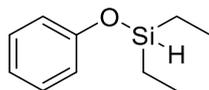
1-Bromomethyl-2-diisopropylsilylacetylene 345a.**345a**

Chemical Formula: C₉H₁₇BrSi
Molecular Weight: 233,22

According to a similar procedure, propargyl bromide (0.5 mL, 4.96 mmol) was reacted successively with LDA (2.48 mL, 4.96 mmol, 2 M in THF) and diisopropylchlorosilane (0.85 mL, 4.96 mmol) in 9.5 mL THF. The mixture was quenched with aqueous NH₄Cl and extracted with Et₂O, organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (50:1) to afford 1-bromomethyl-2-diisopropylsilylacetylene **345a** (940 mg, 4.03 mmol, 81%).

Appearance: colorless liquid *R*_f: 0.7 (petroleum ether/Et₂O 50:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.95 (m, 2H; CH(CH₃)₂), 0.99 (m, 12H; CH(CH₃)₂), 3.64 (brs, 1H; SiH), 3.86 (d, ⁵J = 1.1 Hz, 2H; CH₂Br) ppm.

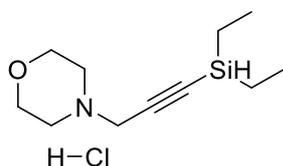
Phenoxydiethylsilane 350.**350**

Chemical Formula: C₁₀H₁₆OSi
Molecular Weight: 180,32

To a solution of [IrCODCl]₂ (77 mg, 0.11 mmol) in 13 mL distilled toluene, were added successively diethylsilane (5 mL, 38.6 mmol) and phenol (2.54 g, 27.0 mmol), the mixture is then stirred at room temperature for 2 hours. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure and the residue was filtered. The filtrate was distilled under reduced pressure (90 °C, 8 mbar), to afford phenoxydiethylsilane **350** (4.38 g, 24.31 mmol, 90%).

Appearance: colorless liquid

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.74 (m, 4H; SiCH₂CH₃), 0.96 (t, ³J = 7.2 Hz, 6H; SiCH₂CH₃), 4.68 (p, ³J = 2.3 Hz, 1H; SiH), 6.75 (m, 1H; H_{arom}), 6.84 (m, 2H; H_{arom}), 7.17 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

N-(Propargyl-2-diethylsilyl)morpholine hydrochloride 337c.**337c**

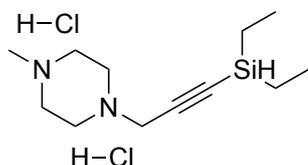
Chemical Formula: C₁₁H₂₂ClNOSi
Molecular Weight: 247,84

To a solution of **348a** (320 mg, 2.56 mmol) in 4 mL distilled THF, BuLi (1.02 mL, 2.56 mmol, 2.5 M in hexane) was added dropwise at 0°C, and after 30 min a solution of phenoxy silane **350** (507 mg, 2.81 mmol) in 4.5 mL distilled THF was added, the reaction mixture is then let warm up overnight. The reaction mixture was quenched with water, extracted with CH₂Cl₂, the organic phases were gathered, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in Et₂O and gaseous HCl was carefully bubbled in the solution, once the precipitate started to redissolve, HCl inlet was removed and the acidic solution was diluted with Et₂O and full precipitation was observed. The product was isolated by filtration over celite and the residue was recovered in acetone. Volatile products were removed under high vacuum to afford *N*-(propargyl-2-diethylsilyl) morpholine hydrochloride **337c** (270 mg, 1.09 mmol, 43%).

Appearance: white powder

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): δ = 0.79 (qd, 3J = 7.2 Hz, 4J = 3.2 Hz, 4H; SiCH_2CH_3), 1.09 (t, 3J = 7.2 Hz, 6H; SiCH_2CH_3), 3.26 (t, 3J = 12.5 Hz, 4H; $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 3.80 (t, 3J = 12.5 Hz, 4H; $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 3.99 (pt, 3J = 3.2 Hz, 5J = 1.1 Hz, 1H; SiH), 4.24 (d, 5J = 1.1 Hz, 2H; CCCH_2) ppm.

***N*-(Propargyl-2-diethylsilyl)-*N*-methylpiperazine dihydrochloride 337d.**



337d

Chemical Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NOSi}$
Molecular Weight: 247,84

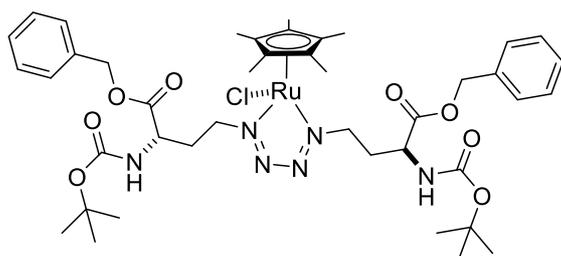
To a solution of **348b** (445 mg, 3.22 mmol) in 4.5 mL distilled THF, BuLi (1.29 mL, 3.22 mmol, 2.5 M in hexane) was added dropwise at 0°C , and after 30 min a solution of phenoxysilane **350** (507 mg, 2.81 mmol) in 6.2 mL distilled THF was added, the reaction mixture is then let warm up overnight. The reaction mixture was quenched with water, extracted with CH_2Cl_2 , the organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in Et_2O and gaseous HCl was bubbled in the solution to complete precipitation, bubbling was maintained for the same time. The product was isolated by filtration over celite and the residue was recovered in methanol. Volatile products were removed under high vacuum to afford *N*-(propargyl-2-diethylsilyl)-*N*-methyl piperazine dihydrochloride **337d** (596 mg, 2.01 mmol, 62%).

Appearance: white powder

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): δ = 0.79 (qd, 3J = 7.7 Hz, 4J = 3.2 Hz, 4H; SiCH_2CH_3), 1.09 (t, 3J = 7.7 Hz, 6H; SiCH_2CH_3), 3.72 (brs, 8H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}$), 3.99 (pt, 3J = 3.2 Hz, 5J = 1.1 Hz, 1H; SiH), 4.29 (brs, 2H; CCCH_2) ppm.

Synthesis of triazoles

Tetraazadiene ruthenium complex 304.



304

Chemical Formula: $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{ClN}_6\text{O}_8\text{Ru}$
Molecular Weight: 912,49

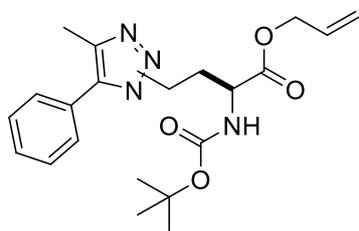
To a solution of **300** (104 mg, 0.48 mmol) and $\text{Ru}(\text{COD})\text{Cp}^*\text{Cl}$ (3.4 mg, 0.01 mmol) in 2 mL distilled toluene was added under Argon a solution of **287b** (150 mg, 0.45 mmol) in 1 mL distilled toluene, the mixture was then heated to 40°C overnight. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/ EtOAc mixture (8:2 \rightarrow 6:4) to afford a sample of tetraazadiene ruthenium complex **304**.

Appearance: green solid. R_f : 0.3 (petroleum ether/ EtOAc 8:2)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 1.36 (s, 9H; OCCH_3), 1.38 (s, 9H; OCCH_3), 1.62 (s, 15H; $(\text{CCH}_3)_5$), 2.32 (m, 1H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_4$), 2.42 (m, 1H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_4$), 2.55 (m, 1H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_4$), 2.80 (m, 1H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_4$), 4.18 (m, 1H; CHN), 4.36 (m, 5H; CHN and $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_2)_2$ overlapping), 5.09 (m, 5H; NH and CH_2Ph overlapping), 5.30 (d, J = 8.2 Hz, 1H; NH), 7.27 (m, 10H; H_{arom}) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ = 9.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_5$), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.6 (CH_2Ph), 31.9 (CH_2Ph), 52.2 (CHN), 63.5, 63.7, 67.2, 67.3, 79.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 99.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_5$), 128.22 (C_{arom}), 128.24 (C_{arom}), 128.3 (C_{arom}), 128.4 (C_{arom}), 128.5 (C_{arom}), 128.6 (C_{arom}), 135.2 (C_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 171.8 (CO_2) ppm. 2C not observed.

(S)-Allyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(methylphenyl-1,2,3-triazol-1-yl)butanoate 323a.



323a

Chemical Formula: $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$

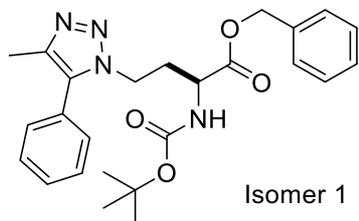
Molecular Weight: 400,48

In a microwave tube were introduced, **290a** (85 mg, 300 μmol) and Phenylpropyne (80 mg, 688 μmol), and glycerol 1 mL. The reaction vessel was then irradiated with micro waves to 150 $^\circ\text{C}$ for 30 min. The mixture is then diluted with 3 mL H_2O and extracted with 3*5 mL CH_2Cl_2 , organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4) to afford pure product as a single isomer **323a** (18 mg, 45 μmol , 15%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

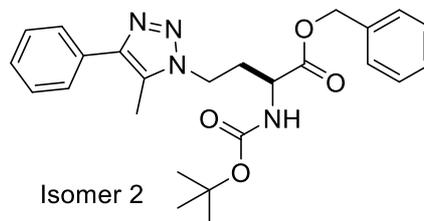
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.42 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.81-2.17 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.04 (s, 3H; CCH_3), 3.40 (t, $^3J = 6.7$ Hz, 2H; NCH_2), 4.37 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.63 (dt, $^3J = 5.8$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.19 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H; NH), 5.25 (dq, $^3J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.33 (dq, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.91 (ddt, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz, $^3J = 5.8$ Hz, 1H; $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.98 (s, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(methylphenyl-1,2,3-triazol-1-yl)butanoate 323b.



323b-1

Isomer 1



323b-2

Isomer 2

Chemical Formula: $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4$

Molecular Weight: 450,54

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (100 mg, 0.3 mmol) and phenylpropyne (80 mg, 0.79 mmol), were reacted in 1 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4 \rightarrow 4:6), pure product **323b** was isolated as an isomer mixture (115 mg, 0.26 mmol, 87%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

HRMS calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 509.25786; found: 509.25846. (as isomer mixture)

Isomer 1: 323b-1 (isomeric ratio 55:45):

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.31 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.05-2.37 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.20 (s, 3H; CCH_3), 4.21 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.22 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 2H; NCH_2), 5.01 (AB pattern, 2H, CH_2Ph), 5.05 (brs, 1H; NH), 7.17-7.30 (m, 8H; H_{arom}), 7.33-7.42 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 10.7 (CCH_3), 28.2 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.2 (NCH_2CH_2), 44.8 (NCH_2CH_2) 51.7 (CHN), 67.5 (CH_2Ph), 80.5 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 129.1 ($\text{C}_{\text{triazole Phe}}$), 135.0 ($\text{C}_{\text{quat Bn}}$), 144.4 ($\text{C}_{\text{triazole-CH}_3}$), 155.1 (CON), 171.2 (CO_2) ppm.

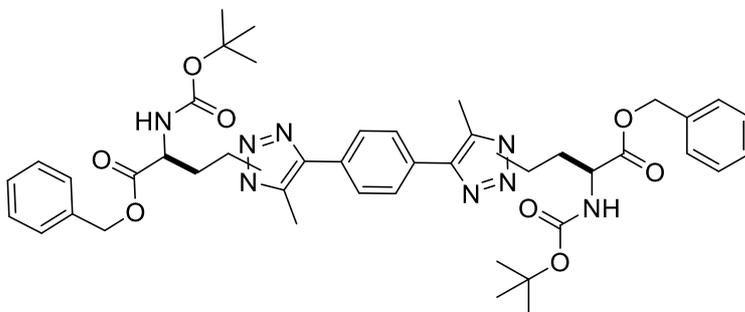
Isomer 2: 323b-2 (isomeric ratio 55/45):

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.36 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.23-2.53 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.31 (s, 3H; CCH_3), 4.24 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.28 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; NCH_2), 5.04 (s, 2H, CH_2Ph), 5.25 (brs, 1H; NH), 7.17-7.30 (m, 6H; H_{arom}), 7.33-7.42 (m, 2H; H_{arom}), 7.57-7.62 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 8.9 (CCH_3), 28.2 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.5 (NCH_2CH_2), 44.2 (NCH_2CH_2) 51.9 (CHN), 67.6 (CH_2Ph), 80.1 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 134.4 ($\text{C}_{\text{triazole Phe}}$), 135.1 ($\text{C}_{\text{quat Bn}}$), 141.4 ($\text{C}_{\text{triazole-CH}_3}$), 155.1 (CON), 171.2 (CO_2) ppm.

C_{arom} not attributed: 126.9, 127.2, 127.4, 127.7, 128.3, 128.46, 128.50, 128.53, 128.6, 128.7, 129.1, 129.3, 129.4, 131.6,

(2S,2'S)-Dibenzyl-4,4'-(1,4-phenylene)bis(methyl-1,2,3-triazolediyl)bis[2-(*t*-butoxycarbonyl)amino]butanoate 323d.



323d

Chemical Formula: $\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{N}_8\text{O}_8$
Molecular Weight: 822,96

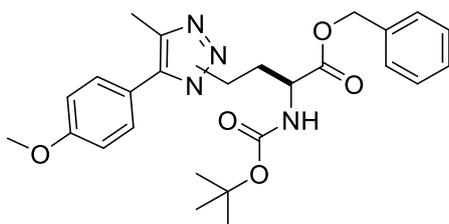
Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (300 mg, 0.9 mmol) and **322g** (42 mg, 0.27 mmol), were reacted in 3 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4) then acetone, pure product was isolated as an isomer mixture **323d** (40 mg, 49 μmol , 18%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

Isomeric ratio 1/0.58/0.64:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.32 (s, 18H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.35 (s, 10.9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.36 (s, 11.7H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.99 (s, 3.9H; $(\text{CCH}_3)_2$), 2.01 (s, 4.1H; $(\text{CCH}_3)_2$), 2.18 (s, 3H; CCH_3), 2.29 (s, 3H; CCH_3), 1.75-2.52 (m, 9H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.28 (t, 3J = 6.7 Hz, 4H; NCH_2), 4.19 (t, 3J = 6.7 Hz, 3.1H; NCH_2), 4.26 (t, 3J = 7.3 Hz, 2.7H; NCH_2), 4.18-4.42 (m, 4.5H; CHN), 4.95-5.15 (m, 3.5H; NH), 5.00 (AB pattern, 2.6H; OCH_2Ph), 5.03 (s, 1.4H; OCH_2Ph), 5.10 (AB pattern, 4H; OCH_2Ph), 5.21 (s, 1.4H; OCH_2Ph), 7.20-7.30 (m, 32H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(methyl(4-methoxyphenyl)-1,2,3-triazol-1-yl)butanoate 323f.



323f

Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$
Molecular Weight: 480,57

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (100 mg, 0.3 mmol) and **322b** (66 mg, 0.45 mmol), were reacted in 1 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum

ether/EtOAc mixture (6:4 → 4:6), pure product was isolated as an isomer mixture **323f** (27 mg, 56 μmol, 19%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

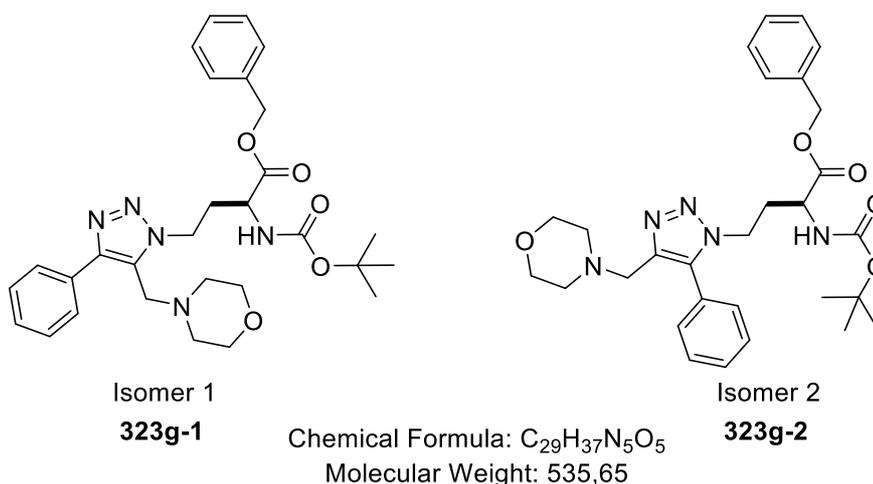
Isomer 1 (isomeric ratio 55/45):

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.32 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.05-2.37 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.19 (s, 3H; CCH_3), 3.78 (s, 3H; CH_3), 4.20 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; NCH_2), 4.35 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.99 (AB pattern, 2H, CH_2Ph), 5.24 (brs, 1H; NH), 6.93 (d, 3J = 8.8 Hz, 2H; $H_{\text{anisol ortho}}$), 7.52 (d, 3J = 8.8 Hz, 2H; $H_{\text{anisol meta}}$), 7.21-7.32 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

Isomer 2 (isomeric ratio 55/45):

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.36 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.23-2.51 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.28 (s, 3H; CCH_3), 3.77 (s, 3H; OCH_3), 4.22 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.27 (t, 3J = 7.3 Hz, 2H; NCH_2), 5.04 (s, 2H, CH_2Ph), 5.24 (brs, 1H; NH), 6.90 (d, 3J = 8.8 Hz, 2H; $H_{\text{anisol ortho}}$), 7.11 (d, 3J = 8.8 Hz, 2H; $H_{\text{anisol meta}}$), 7.21-7.32 (m, 5H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(morpholinomethyl)phenyl-1,2,3-triazol-1-ylbutanoate **323g.**



Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (155 mg, 0.46 mmol) and alkyne **321** (140 mg, 0.70 mmol), were reacted in 1.5 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4 → 3:7), the two isomers were separated: isomer 1 **323g-1** (29 mg, 54 μmol, 12%), isomer 2 **323g-2** (46 mg, 86 μmol, 19%).

Regioisomeric ratio 4:6

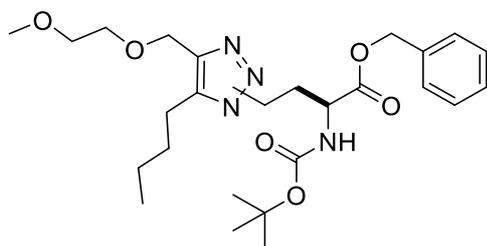
Isomer 1: 323g-1

Appearance: colorless oil. R_f : 0.3 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

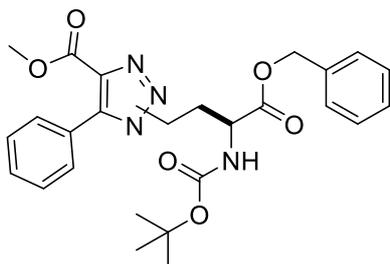
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.46 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.32-2.58 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.37-2.44 (m, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$), 3.61-3.68 (m, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$), 3.70 (s, 2H, CCH_2N), 4.50 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.55 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; NCH_2CH_2), 5.14 (s, 2H, CH_2Ph), 5.49 (brs, 1H, NH), 7.37 (m, 5H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 7.40-7.49 (m, 3H, $H_{\text{arom-Ph}}$), 7.56-7.70 (m, 2H, $H_{\text{arom-Ph}}$) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 28.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.8 (NCH_2CH_2), 44.9 (NCH_2CH_2), 50.7 (NCH_2C), 52.8 (CHN), 53.3 ($\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)\text{N}$), 67.0 ($\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)\text{N}$), 67.7 (CH_2Ph), 80.6 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 127.1 (C_{arom}), 128.4 (C_{arom}), 128.7 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 129.2 (C_{arom}), 129.7 (C_{arom}), 129.8 (C_{arom}), 135.2 (C_{arom}), 136.6 ($\text{C}_{\text{triazole}}$), 141.7 ($\text{C}_{\text{triazole}}$), 155.3 (CON), 171.4 (CO_2Bn) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 536.28675; found: 536.28480.

Isomer: 2 323g-2**Appearance:** colorless oil. R_f : 0.3 (petroleum ether/EtOAc 6:4) $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.41(s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.26-2.46 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.42-2.49 (m, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$), 3.54 (s, 2H, CCH_2N), 3.64-3.71 (m, 4H; $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$), 4.34 (ABX pattern, 1H; CHN) 4.34 (t, 3J = 7.5 Hz, 2H; NCH_2CH_2), 5.11 (AB pattern, 2H, CH_2Ph), 5.15 (brs, 1H, NH), 7.30-7.44 (m, 7H, H_{arom}), 7.46-7.55 (m, 3H, $\text{H}_{\text{arom-Ph}}$) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 28.5 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.9 (NCH_2CH_2), 45.5 (NCH_2CH_2), 50.7 (NCH_2C), 51.0 (CHN), 53.6 ($\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)\text{N}$), 66.6 ($\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)\text{N}$), 67.8 (CH_2Ph), 80.6 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 128.3 ($\text{C}_{\text{arom-Phe}}$), 128.4 ($\text{C}_{\text{arom-Phe}}$), 128.7 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.85 (C_{arom}), 128.90 (C_{arom}), 129.2 ($\text{C}_{\text{triazole-CH}_2}$), 129.3 ($\text{C}_{\text{arom-Bn}}$), 135.2 (C_{arom}) ppm. 3C missing.**HRMS** calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 536.28675; found: 536.28542.**(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(butyl(methoxyethoxymethyl)-1,2,3-triazolyl)butanoate 323h.****323h**Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6$
Molecular Weight: 504,63

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (150 mg, 0.45 mmol) and alkyne **322h** (115 mg, 0.67 mmol), were reacted in 1.5 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (8:2 \rightarrow 6:4), only one isomer could be isolated **323h** (54 mg, 107 μmol , 24%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.7 (petroleum ether/EtOAc 6:4) $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 0.94 (t, 3J = 7.3 Hz, 3H; CH_2CH_3), 1.29-1.54 (m, 4H; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$) 1.45 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.89-2.19 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 2.15 (tt, 3J = 7.1 Hz, 4J = 2.2 Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}$), 3.57-3.70 (m, 6H; $\text{CCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$), 4.20 (t, 3J = 2.2 Hz, 2H; NCH_2), 4.45 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.16 (brs, 1H; NH), 5.17 (AB pattern, 2H; CH_2Ph), 7.37 (m, 5H, H_{arom}) ppm.**(S)-Methyl 1-(4-(benzyloxy)-3-(*t*-butoxycarbonyl)amino-oxobutyl)-phenyl-1,2,3-triazole-carboxylate 323n.****323n**Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6$
Molecular Weight: 494,55

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (500 mg, 1.50 mmol) and **319** (360 mg, 2.25 mmol), were reacted in 5 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4 \rightarrow 0:1) the two isomers could be isolated: isomer 1 **323n-1** (265 mg, 0.54 mmol, 36%), isomer 2 **323n-2** (281 mg, 0.57 mmol, 38%).

Isomer 1: 323n-1**Appearance:** colorless oil. R_f : 0.31 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.47 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.32-2.66 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 3.84 (s, 3H; OCH_3), 4.50 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.84 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2H; NCH_2), 5.13 (AB pattern, 2H, CH_2Ph), 5.34 (brs, 1H; NH), 7.37 (m, 5H; H_{arom}), 7.45 (m, 3H; H_{arom}), 7.70 (m, 2H; H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 28.3 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.8 (NCH_2CH_2), 47.7 (NCH_2CH_2), 52.5 (CHN), 65.4 (CO_2CH_3), 67.6 (CH_2Ph), 80.3 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 127.0 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 128.1 (C_{arom}), 128.4 (C_{arom}), 128.56 (C_{arom}), 128.64 (C_{arom}), 129.1 (C_{arom}), 129.4 (C_{arom}), 140.9 ($\text{C}_{\text{triazole-Phe}}$) 150.4 (CON), 159.5 (CO_2CH_3), 171.3 (CO_2Bn) ppm. 1C missing

HRMS calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 495.22381; found: 495.22465.

Isomer 2: 323n-2

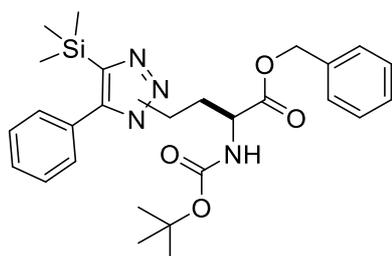
Appearance: colorless oil. R_f : 0.24 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.31 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.06-2.44 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 3.77 (s, 3H; OCH_3), 4.22 (ABX pattern, 1H; CHN, overlapping, $^3J = 7.5$ Hz, 2H; NCH_2), 4.99 (AB pattern, 2H, CH_2Ph , overlapping, brs, 1H; NH), 7.24 (m, 7H; H_{arom}), 7.43 (m, 3H; H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 28.2 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 32.6 (NCH_2CH_2), 45.0 (NCH_2CH_2), 51.3 (CHN), 52.0 (CO_2CH_3), 67.6 (CH_2Ph), 80.3 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 125.6 (C_{arom}), 128.4 (C_{arom}), 128.61 (C_{arom}), 128.66 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 129.6 (C_{arom}), 130.3 (C_{arom}), 134.9 (C_{arom}), 136.6 ($\text{C}_{\text{triazole-CO}_2\text{CH}_3}$), 141.4 ($\text{C}_{\text{triazole-Phe}}$) 155.2 (CON), 161.3 (CO_2CH_3), 171.0 (CO_2Bn) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 517.20576; found: 517.20612.

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonyl)amino-4-(phenyl(trimethylsilyl)-1,2,3-triazoly)butanoate 323r.



323r

Chemical Formula: $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$

Molecular Weight: 508,69

In a microwave tube were introduced, **290b** (135 mg, 0.40 mmol), Phenyl-trimethylsilylacetylene (0.12 mL, 0.61 mmol), and 1 mL glycerol. The reaction vessel was then irradiated with micro waves to 150 °C for 30 min. The mixture is then diluted with 3 mL H_2O and extracted with 3*5 mL CH_2Cl_2 , organic phases were gathered, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (8:2 \rightarrow 6:4) to afford pure product as an isomer mixture **323r** (160 mg, 0.35 mmol, 78%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

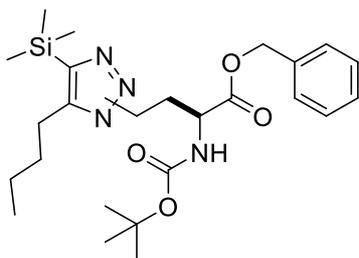
Major isomer (isomeric ratio 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.11 (s, 9H; $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1.36 (s, 9H; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 2.10-2.43 (ABX pattern, 2H; NCH_2CH_2), 4.21 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 2H; NCH_2), 4.27 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.04 (s, 2H, CH_2Ph), 5.15 (brs, 1H; NH), 7.20-7.48 (m, 10H; H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = -0.8 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 29.2 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 33.5 (NCH_2CH_2), 45.0 (NCH_2CH_2) 52.4 (CHN), 68.3 (CH_2Ph), 81.1 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 129.20 (C_{arom}), 129.23 (C_{arom}), 129.3 (C_{arom}), 129.4 (C_{arom}), 129.6 (C_{arom}), 129.7 (C_{arom}), 130.5 (C_{arom}), 130.7 (C_{arom}), 144.4 ($\text{C}_{\text{triazole-Phe}}$), 145.6 ($\text{C}_{\text{triazole-TMS}}$), 156.3 (CON), 172.2 (CO_2) ppm.

HRMS calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 509.25786; found: 509.25846.

$[\alpha]_D^{20} = +18.0$ (c 3, CH_2Cl_2) (as 9:1 isomeric mixture).

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-4-(butyl(trimethylsilyl)-1,2,3-triazolyl)butanoate 323s**323s**

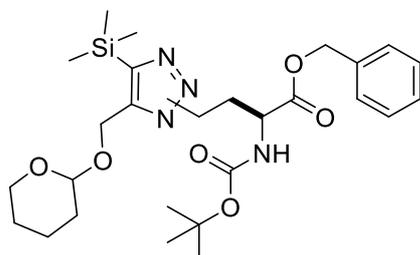
Chemical Formula: C₂₅H₄₀N₄O₄Si
Molecular Weight: 488,70

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (135 mg, 0.4 mmol) and **301b** (94 mg, 0.6 mmol), were reacted in 1 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (8:2 → 6:4), the product **323s** was isolated as an inseparable isomer mixture (85 mg, 0.17 mmol, 41%).

Appearance: colorless oil. *R_f*: 0.7 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

Major isomer (isomeric ratio 9:1):

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.35 (s, 9H; Si(CH₃)₃), 0.96 (t, ³J = 7.1 Hz, 3H; CH₂CH₃), 1.29-1.43 (m, 4H; CH₃CH₂CH₂) 1.45 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.27-2.58 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 2.64 (m, 2H; CH₂CH₂C), 4.29 (t, ³J = 7.5 Hz, 2H; NCH₂), 4.42 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.15 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 5.31 (brs, 1H; NH) 7.37 (m, 5H, H_{arom}) ppm.

(2S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-4-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]methyl)-(trimethylsilyl)-1,2,3-triazolyl)butanoate 323t**323t**

Chemical Formula: C₂₇H₄₂N₄O₆Si
Molecular Weight: 546,74

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (135 mg, 0.4 mmol) and alkyne **322k** (128 mg, 0.6 mmol), were reacted in 1 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (8:2 → 6:4), the product **323t** was isolated as an inseparable diastereoisomers and regioisomers mixture (130 mg, 0.24 mmol, 59%).

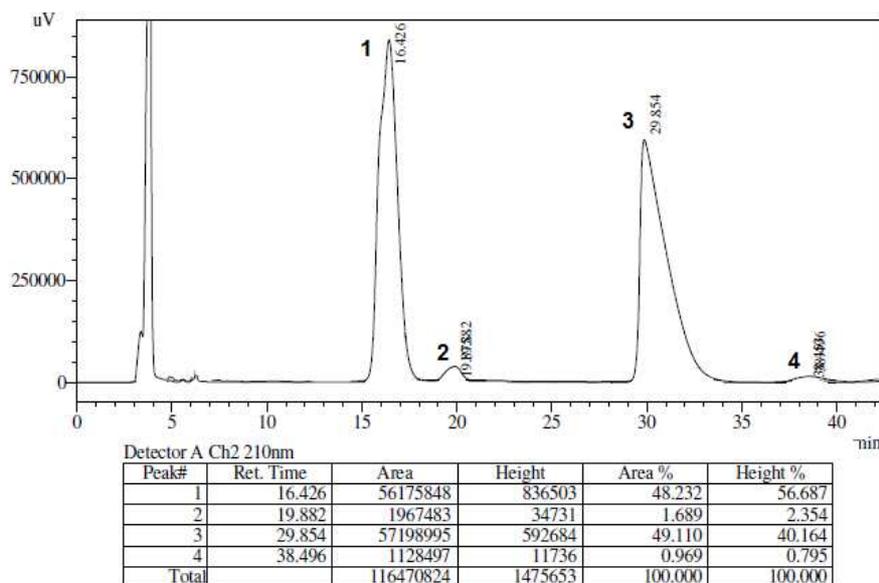
Appearance: colorless oil. *R_f*: 0.6 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.36 (s, 9H; Si(CH₃)₃), 1.44 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 1.50-1.82 (m, 6H; OCH₂CH₂CH₂CH₂), 2.40-2.80 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 3.65-3.77 (m, 2H; OCH₂CH₂), 4.39 (ABX pattern, 1H; O₂CHCH₂), 4.47 (t, ³J = 7.5 Hz; NCH₂, overlapping, t, ³J = 6.8 Hz; NCH₂, total 2H), 4.57 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.71 (AB pattern, 1.1H; OCH₂C), 4.76 (AB pattern, 0.9H; OCH₂C), 5.13 (m, 2H, CH₂Ph), 5.43 (brs, 0.55H, NH), 5.53 (brs, 0.45H, NH), 7.34 (m, 5H, H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = -0.7 (Si(CH₃)₃), 19.6 & 19.9, 25.3, 30.4 & 30.7, (OCH₂CH₂CH₂CH₂), 28.5 (OC(CH₃)₃), 32.7 & 32.8 (NCH₂CH₂), 45.1 (NCH₂CH₂), 51.8 & 51.9 (CHN), 57.00 & 57.06 (OCH₂C), 63.3 (OCH₂CH₂), 67.5 & 67.6 (CH₂Ph), 80.5 (OC(CH₃)₃), 98.2 & 98.7 (O₂CH), 128.46 & 128.50 (C_{arom}), 128.61 & 128.63 (C_{arom}), 128.75 (C_{arom}), 135.1 (C_{arom}), 138.7 (C_{triazole-CH₂}), 145.4 (C_{triazole-TMS}), 155.8 (CON), 171.6 & 171.7 (CO₂Bn) ppm.

HRMS calcd. for C₂₇H₄₂N₄O₆SiNa [M+Na]⁺: 569.27658; found: 569.27606.

$[\alpha]_D^{20} = +2.6$ (c 3, CH₂Cl₂) (as isomeric mixture).

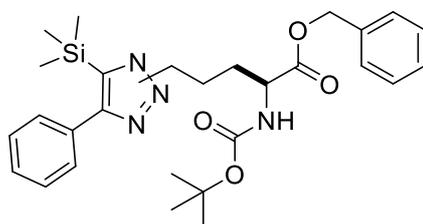


Chiral HPLC chromatogram:

Regioisomers: **1** and **2** (ratio = 96:4), **3** and **4** (ratio = 98:2)

Diastereoisomers: **1** and **3** (ratio = 59:41), **2** and **4** (ratio = 75:25)

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-5-[phenyl(trimethylsilyl)-1,2,3-triazolyl]pentanoate **323u**



323u

Chemical Formula: C₂₈H₃₈N₄O₄Si

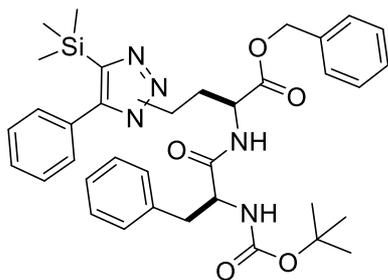
Molecular Weight: 522,72

Using a similar procedure as for **323a**, the δ -azido aminoacid **298** (110 mg, 0.31 mmol) and Phenyltrimethylsilylacetylene (88 mg, 0.51 mmol), were reacted in 1 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4 \rightarrow 0:1), pure product **323u** was isolated as an isomer mixture (75 mg, 0.14 mmol, 45%).

Appearance: colorless oil. R_f : 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

Major isomer (isomer ratio: **12/1**)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.14 (s, 9H; Si(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 1.50-1.63 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂), 1.72-1.89 (m, 2H; NCH₂CH₂), 4.15 (t, ³J = 6.7 Hz, 2H; NCH₂), 4.26 (ABX pattern, 1H; CHN), 5.03 (brs, 1H; NH), 5.14 (s, 2H, CH₂Ph), 7.19-7.24 (m, 2H; H_{arom}), 7.30-7.39 (m, 5H; H_{arom}), 7.44-7.52 (m, 3H; H_{arom}) ppm.

(S)-Benzyl 2-((S)-2-(*t*-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanamido)-4-(phenyl(trimethylsilyl)-1,2,3-triazol-1-yl)butanoate 323v**323v**

Chemical Formula: C₃₆H₄₅N₅O₅Si
Molecular Weight: 655,87

Using a similar procedure as for **323a**, the γ -azidodipeptide **300** (80 mg, 166 μ mol) and phenyltrimethylsilylacetylene (58 mg, 332 μ mol), were reacted in 0.5 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4 \rightarrow 0:1), pure product **323v** was isolated as an isomeric mixture (12:1) (40 mg, 61 μ mol, 37%).

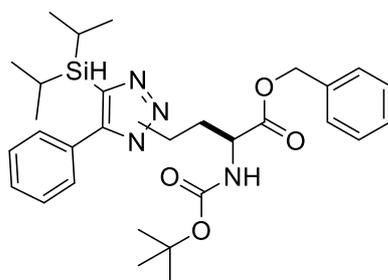
Appearance: colorless oil. **R_f:** 0.4 (petroleum ether/EtOAc 6:4)

Major isomer (isomeric ratio: 12:1)

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ = 0.06 (s, 9H; Si(CH₃)₃), 1.23 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.02-2.25 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 2.79 (AB pattern, 2H; CH₂Ph_{Phe}), 4.12 (t, ³J = 7.4 Hz, 2H; NCH₂), 4.16 (m, 1H; CHN_{Phe}), 4.27 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.96 (s, 2H, CH₂Ph), 5.33 (brs, 1H; NH), 7.04 (brs, 1H, CONH), 7.08-7.20 (m, 5H; H_{arom}), 7.22-7.31 (m, 7H; H_{arom}), 7.38-7.44 (m, 3H; H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ = -0.7 (Si(CH₃)₃) 28.6 (OC(CH₃)₃), 32.5 (NCH₂CH₂), 38.7 (CCH₂Ph) 45.1 (NCH₂CH₂) 51.1 (CHN_{Phe}), 56.6 (CHN), 67.9 (OCH₂Ph), 80.1 (OC(CH₃)₃) 127.6 (C_{arom}), 129.2 (C_{arom}), 129.31 (C_{arom}), 129.36 (C_{arom}), 129.60 (C_{arom}), 129.63 (C_{arom}), 129.7 (C_{arom}), 130.4 (C_{arom}), 130.5 (C_{arom}), 131.1 (C_{arom}), 136.9 (C_{arom}), 138.5 (C_{arom}), 144.8 (C_{triazole}), 145.0 (C_{triazole}), 156.4 (OCON), 171.8, 172.7 ppm.

HRMS calcd. for C₃₆H₄₅N₅O₅SiNa [M+Na]⁺: 678.30822; found: 678.30806.

(S)-Benzyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-4-((diisopropylsilyl)-phenyl-1,2,3-triazol-1-yl)butanoate 341**341**

Chemical Formula: C₃₀H₄₂N₄O₄Si
Molecular Weight: 550,78

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (535 mg, 1.6 mmol) and alkyne **340b** (520 mg, 2.4 mmol), were reacted in 4 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/Et₂O mixture (8:2 \rightarrow 1:1), the product was isolated as an isomer mixture **341** (436 mg, 0.79 mmol, 49%).

Regioisomeric ratio 9:1

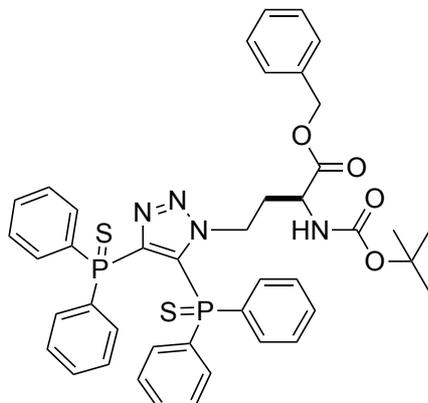
Major isomer: Appearance: colorless oil. **R_f:** 0.6 (petroleum ether/Et₂O 1:1)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.91 (d, ³J = 4.0 Hz, 6H; CH(CH₃)₂), 0.93 (d, ³J = 4.0 Hz, 6H; CH(CH₃)₂), 1.13 (m, 2H; CH(CH₃)₂), 1.31 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 2.10-2.41 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 3.74 (t, ³J = 3.2 Hz, 1H; SiH) 4.21 (t, ³J = 7.3 Hz, 2H; NCH₂CH₂), 4.24 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.99 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 5.10 (brs, 1H; NH), 7.25 (m, 7H; H_{arom}), 7.38 (m, 3H; H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 10.62 (CH(CH₃)₂), 10.67 (CH(CH₃)₂), 18.57 (CH(CH₃)₂), 18.62 (CH(CH₃)₂), 28.2 (OC(CH₃)₃), 32.5 (NCH₂CH₂), 44.2 (d, J_{C-P} = 8.3 Hz; NCH₂CH₂), 51.5 (CHN), 67.4 (CH₂Ph), 80.2 (OC(CH₃)₃), 128.1 (C_{arom}), 128.3 (C_{arom}), 128.5 (C_{arom}), 128.6 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.9 (C_{arom}), 129.5 (C_{arom}), 129.9 (C_{arom}), 135.1 (C_{triazole}), 139.6 (C_{triazole}), 155.4 (CON), 171.2 (CO₂Bn) ppm.

$[\alpha]_D^{20} = +20.6$ (c 2, CH₂Cl₂) (as isomeric mixture).

(S)-Benzyl 4-(4,5-bis(diphenylthiophosphino)-1,2,3-triazol-1-yl)-2-(t-butoxycarbonylamino)butanoate 360



360

Chemical Formula: C₄₂H₄₂N₄O₄P₂S₂
Molecular Weight: 792,89

Using a similar procedure as for **323a**, **290b** (210 mg, 0.63 mmol) and alkyne **358d** (432 mg, 0.95 mmol), were reacted in 2 mL glycerol. After purification by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc mixture (6:4), pure product was isolated **360** (441 mg, 0.56 mmol, 88%).

Appearance: white solid. **R_f**: 0.3 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

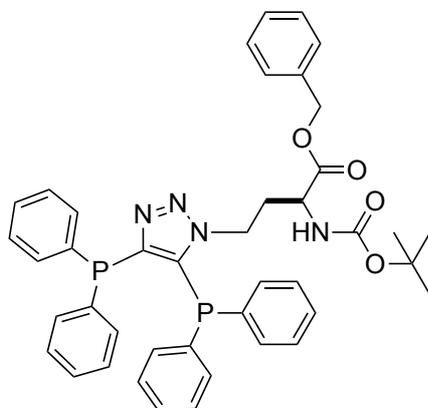
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.36 (s, 9H; O(CCH₃)₃), 1.92-2.33 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 4.19 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.32-4.64 (, ³J = 7.3 Hz, 2H; NCH₂CH₂), 4.96 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 5.01 (brs, 1H; NH), 7.12 (m, 4H; H_{arom}), 7.30 (m, 11H; H_{arom}), 7.38 (m, 2H; H_{arom}), 7.52 (m, 4H; H_{arom}), 7.62 (m; 4H; H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.4 (OC(CH₃)₃), 31.9 (NCH₂CH₂), 48.2 (NCH₂CH₂), 51.2 (CHN), 67.4 (CH₂Ph), 80.1 (OC(CH₃)₃), 126.98 (C_{Bn}), 128.31 (d, J_{C-P} = 2.5 Hz; C_{PPh}), 128.40 (d, J_{C-P} = 3 Hz; C_{PPh}), 128.42 (d, J_{C-P} = 7.2 Hz; C_{PPh}), 128.53 (d, J_{C-P} = 8.2 Hz; C_{PPh}), 128.62 (C_{Bn}), 128.83 (C_{Bn}), 129.70 (C_{Bn}), 130.05 (C_{Bn}), 131.52 (d, J_{C-P} = 3 Hz; C_{PPh}), 132.02 (dd, J_{C-P} = 11 Hz, J_{C-P} = 1.7 Hz; C_{PPh}), 132.41 (d, J_{C-P} = 3.3 Hz; C_{PPh}), 132.46 (d, J_{C-P} = 3.4 Hz; C_{PPh}), 132.73 (d, J_{C-P} = 3.1 Hz; C_{PPh}), 132.94 (d, J_{C-P} = 11.6 Hz; C_{PPh}), 133.2 (d, J_{C-P} = 11.7 Hz; C_{PPh}), 135.12 (d, J_{C-P} = 26 Hz; C_{PPh}), 136.22 (d, J_{C-P} = 26 Hz; C_{PPh}), 135.10 (C_{quat-Bn}), 144.74 (d, J_{C-P} = 12.6 Hz; C_{triazole}), 146.2 (d, J_{C-P} = 12.8 Hz; C_{triazole}), 155.2 (CON), 171.2 (CO₂Bn) ppm.

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ = 30.4 (d, ³J_{P-P} = 2 Hz, 1 P), 32.9 (d, ³J_{P-P} = 2 Hz, 1 P) ppm.

HRMS calcd. for C₄₂H₄₂N₄O₄P₂S₂Na [M+Na]⁺: 815.20149; found: 815.19993.

(S)-Benzyl 4-(4,5-bis(diphenylthiophosphino)-1,2,3-triazol-1-yl)-2-(t-butoxycarbonylamino) butanoate 359



359

Chemical Formula: C₄₂H₄₂N₄O₄P₂
Molecular Weight: 728,77

To a solution of **360** (50 mg, 63 μ mol) in 1.3 mL toluene, was added HMPT (0.1 mL, 570 μ mol) under inert atmosphere and the mixture was heated to reflux overnight. After concentration under reduced pressure, the crude product was purified by chromatography on silica gel using a petroleum ether/EtOAc

mixture (8:2), to afford pure (S)-benzyl 4-(4,5-bis(diphenylthiophosphino)-1,2,3-triazol-1-yl)-2-(t-butoxycarbonylamino) butanoate **359** (38 mg, 52 μ mol, 83%).

Appearance: white solid. **R_f:** 0.5 (petroleum ether/EtOAc 8:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.32 (s, 9H; OC(CH₃)₃), 1.79-2.25 (ABX pattern, 2H; NCH₂CH₂), 4.22 (ABX pattern, 1H; CHN), 4.34 (t, ³J = 7.3 Hz, 2H; NCH₂CH₂), 4.92 (AB pattern, 2H; CH₂Ph), 4.99 (brs, 1H; NH), 7.21 (m, 25H; H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.6 (OC(CH₃)₃), 33.0 (NCH₂CH₂), 46.6 (d, J_{C-P} = 8.3 Hz; NCH₂CH₂), 51.5 (CHN), 67.7 (CH₂Ph), 80.5 (OC(CH₃)₃), 128.35 (d, J_{C-P} = 7 Hz; C_{arom}), 128.47 (C_{arom}), 128.72 (C_{arom}), 128.80 (C_{arom}), 128.84 (C_{arom}), 128.99 (d, J_{C-P} = 6.8 Hz; C_{arom}), 129.62 (d, J_{C-P} = 5.5 Hz; C_{arom}), 132.43 (dd, J_{C-P} = 19.7 Hz, J_{C-P} = 1.5 Hz; C_{arom}), 132.54 (dd, J_{C-P} = 19.3 Hz, J_{C-P} = 1.6 Hz; C_{arom}), 133.23 (dd, J_{C-P} = 23.0 Hz, J_{C-P} = 3.6 Hz; C_{arom}), 133.26 (dd, J_{C-P} = 19.6 Hz, J_{C-P} = 3.8 Hz; C_{arom}), 134.06 (d, J_{C-P} = 19.9 Hz; C_{arom}), 135.28 (C_{arom}), 136.61 (d, J_{C-P} = 7.2 Hz, C_{arom}), 155.6 (CON), 171.5 (CO₂Bn) ppm.

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ = -36.2 (AB pattern, 2P) ppm.

HRMS calcd. for C₄₂H₄₂N₄O₄P₂Na [M+Na]⁺: 751.25735; found: 751.25818.

Hemisynthèse stéréosélective d'acides aminés hétérosubstitués sur la chaîne latérale. Application au radiofluoromarquage pour l'imagerie de peptides.

Ce travail de thèse, qui a été réalisé à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne et en collaboration avec l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégrative d'Aquitaine, porte sur la mise au point de nouvelles méthodes de synthèse d'acides aminés hétérosubstitués sur la chaîne latérale par des groupements phosphorés ou silylés, ainsi que sur leurs applications. Dans une première partie, la synthèse d'acides aminés silylés sur la chaîne latérale a été réalisée sans racémisation par réaction de Wittig entre un sel de phosphonium, dérivé d'acide L-aspartique, avec un aldéhyde aromatique porteur du groupement silylé. Ces acides aminés ont été utilisés en synthèse peptidique pour donner des di- et tripeptides silylés par réaction avec des dérivés d'alanine et de phénylalanine. Il a été montré que les acides aminés et peptides silylés pouvaient être fluorés par réaction avec des fluorures, et que dans le cas de dérivés di-*t*-butylsilylés, les composés fluorés obtenus se révèlent d'une très grande stabilité à pH physiologique. L'étude de la fluoration des peptides di-*t*-butylsilylés par $K^{18}F/K222$ a permis d'obtenir les dérivés radiomarqués avec des rendements radiochimiques et des activités molaires atteignant respectivement 39% et 410 GBq/mmol. Dans la seconde partie, la synthèse d'acides aminés et peptides hétérosubstitués ou fonctionnalisés sur la chaîne latérale, a été mise au point par cycloaddition [3+2]. Le principe de cette synthèse repose sur la réaction entre un acide aminé porteur d'un groupement azido avec un alcyne primaire ou disubstitué. Alors que la catalyse avec un sel de cuivre ou un complexe de ruthénium ne conduit pas aux produits recherchés, la cycloaddition a été mise au point sous microondes en utilisant le glycérol comme solvant. Dans ces conditions, 13 nouveaux acides aminés porteurs d'un noyau triazole en position γ , et des substituants silylés, phosphorés, amines, amides ...ont été préparés sans racémisation avec des rendements atteignant 89%. Les méthodologies mises au point dans ce travail offrent de nouvelles voies pour la synthèse de dérivés acides aminés silylés ou phosphorés utiles pour la chimie de coordination, l'hémisynthèse et pour le radiomarquage par les ions fluorure $^{18}F^-$.

Mots clés : Phosphoniums, acides aminés, silanes ; [^{18}F]-radiofluorination, triazoles, cycloaddition [3+2].

Stereoselective hemisynthesis of lateral chain heterosubstituted aminoacids. Applications in radiofluorolabeling for peptide imaging.

This thesis work, which was carried out at the Institute of Molecular Chemistry of the University of Burgundy and in collaboration with the Institute of Cognitive and Integrative Neuroscience of Aquitaine, focuses on the development of new methods of synthesis of side chain heterosubstituted amino acids by phosphorus or silyl groups, as well as on their applications. In a first part, the synthesis of side chain silylated amino acids is achieved without racemization using a key Wittig reaction between a phosphonium salt, derived from L-aspartic acid, with an aromatic aldehyde bearing the silyl group. These aminoacids have been used in peptide synthesis to give silylated di- and tripeptides by reaction with alanine and phenylalanine derivatives. It has been shown that the silylated aminoacids and peptides can be fluorinated by reaction with fluorides, and that in the case of di-*t*-butylsilyl derivatives, the fluorinated compounds obtained are found to be very stable at physiological pH. The study of the fluorination of di-*t*-butylsilyl peptides by $K^{18}F / K222$ allowed to obtain radiolabelled derivatives with radiochemical yields and molar activities reaching 39% and 410 GBq/ μ mol, respectively. In the second part, the synthesis of aminoacids and peptides heterosubstituted or functionalized on the side chain, was developed. The principle of this synthesis is based on a [3 + 2] cycloaddition between an aminoacid bearing an azido group with a primary or disubstituted alkyne. While the reaction catalyzed using a copper salt or a ruthenium complex does not lead to the desired products, the cycloaddition was developed under microwaves using glycerol as a solvent. Under these conditions, 13 new amino acids carrying a triazole ring at the γ -position, and bearing silyles, phosphines, amines, amides.. substituents were prepared without racemization and with yields up to 89%. The methodologies developed in this thesis offer new efficient ways in synthesis of silyl or phosphorus amino acid derivatives, useful for coordination chemistry, asymmetric catalysis and radiolabelling by the fluoride ion $^{18}F^-$.

Key words: Phosphoniums, aminoacids, silanes, [^{18}F]-radiofluorination, triazoles, cycloaddition [3+2]