



HAL
open science

Vers des inhibiteurs fluorés de la cathepsine S pour l'imagerie non invasive de la plaque instable

Justine Beuscart

► **To cite this version:**

Justine Beuscart. Vers des inhibiteurs fluorés de la cathepsine S pour l'imagerie non invasive de la plaque instable. Chimie. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2023. Français. NNT : 2023TOU30366 . tel-04650858

HAL Id: tel-04650858

<https://theses.hal.science/tel-04650858>

Submitted on 17 Jul 2024

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

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



THÈSE

**En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier**

**Présentée et soutenue par
Justine BEUSCART**

Le 16 octobre 2023

**Vers des Inhibiteurs Fluorés de la Cathepsine S pour l'imagerie
non invasive de la plaque instable**

Ecole doctorale : **SDM - SCIENCES DE LA MATIERE - Toulouse**

Spécialité : **Chimie-Biologie-Santé**

Unité de recherche :

LHFA - Laboratoire Hétérochimie Fondamentale et Appliquée

Thèse dirigée par

Emmanuel GRAS et Olivier LAIREZ

Jury

Mme Renata Marcia DE FIGUEIREDO, Rapporteur

Mme Delphine JOSEPH, Rapporteur

M. Philippe BELMONT, Examineur

M. Christophe COUDRET, Examineur

M. Emmanuel GRAS, Directeur de thèse

M. Olivier LAIREZ, Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé principalement au Laboratoire d'Hétérochimie fondamentale Appliquée, sous la direction conjointe d'Emmanuel Gras, Chargé de Recherche au CNRS, et d'Olivier Lairez Professeur du CHU de Toulouse.

Ainsi, je remercie Emmanuel de m'avoir donné l'opportunité, de faire ma thèse, à l'issu de mon stage de Master 2, au sein de son équipe. Je retiens essentiellement, toute l'aide que tu m'as apporté, tes corrections et de tes conseils, en particulier ceux que j'ai eu du mal à suivre. Mais également, ton enthousiasme pour notre projet et toutes les discussions que nous avons pu avoir sur la chimie organique en général. Celles-ci ont été essentielles dans l'évolution de mon travail que ce soit à la paillasse, dans l'analyse de résultats obtenus ainsi que dans la rédaction de ce manuscrit. Je garderais en tête qu'il n'y a pas de mauvaises idées, mais qu'il faut les tester. Car il est vrai qu'il y a celles qui fonctionnent sur papier et d'autres dans le ballon.

Merci donc pour ces quatre années aussi riches en émotion qu'en apprentissage, pour la confiance que tu as sue m'accorder, confiance, qui me fait personnellement parfois tant défaut. Même en connaissant les difficultés rencontrées, si on me demandait de résigner je le ferais sans hésiter. Je pense que cela est due en grande partie grâce à toi et ta patience.

Je tiens à remercier Oliver Lairez et Murielle Laffargue pour leur bienveillance lors de nos différents entretiens.

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Renata Marcia de Figueiredo, chercheur CNRS au pôle Chimie Balard Recherche, à Delphine Joseph, Professeure des universités à l'Université Paris Saclay, ainsi qu'à Philippe Belmont, Professeur des universités à l'Université Paris cité, et à Christophe Coudret, directeur de recherche CNRS au laboratoire Softmat, pour m'avoir fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail.

Je tiens également à remercier le Professeure Montserrat Gomez, directrice du laboratoire d'hétérochimie fondamentale appliquée pour son accueil chaleureux ainsi que tous les membres du laboratoire qui ont su tout mettre en œuvre pour favoriser notre arrivée dans les meilleures conditions, et l'ensemble des services de l'Institut de Chimie de Toulouse qui rendent le travail tellement plus simple !

Je remercie Mathieu Lepage et Mathieu Danel pour leur aide continue et leur grande disponibilité. J'ai une pensée particulière pour tous mes voisins de paillasse, Nicolas Jean-Bart, Louis Cambeih, Nabil Cherkaoui. Vous avez tous, à votre façon, contribué à faire de ces années des moments mémorables. J'ai une pensée également pour Roberto De Almeida, voisin carioca d'une année, pour sa bonne humeur et son travail, ayant initié la voie de synthèse des sulfinamides. Bref, je me souviendrai longtemps de tous les membres de l'équipe [K]iss, qui ont tous su maintenir un état d'esprit continuellement studieux mais toujours dans la bonne humeur

Enfin, je remercie mes parents et mes sœurs ainsi que Clément, la personne qui partage ma vie pour leur soutien indéfectible dans les bons comme dans les mauvais moments.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS 3

Liste des abréviations et des acronymes..... 9

INTRODUCTION GENERALE..... 11

CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES..... 15

I/ Maladie cardiovasculaire : L'athérosclérose 17

 1. Définition 17

 2. Épidémiologie..... 17

 3. Pathophysiologie 18

 3.1 Artère saine 18

 3.2 Athérosclérose et plaque d'athérome 19

 3.2.1 Athérogénèse et initiation de la plaque 19

 3.2.2 La progression 21

 3.2.3 Les complications 22

 4. Facteurs de risque majeur 23

 4.1 La calcification 23

 4.2 L'inflammation 24

 5. La cathepsine S : Son rôle 25

II/ La cathepsine S 26

III/ Les sondes pour l'imagerie nucléaire des Cathepsines. 28

 1. Les sondes radiomarquées 28

 1.1 Radiomarquage à l'iode-125 28

 1.2 Radiomarquage au carbone-11 et -14 31

 1.3 Radiomarquage avec un centre métallique 33

 1.4 Radiomarquage au Fluor-18 35

IV/ Inhibiteurs de la cathepsine S 36

 1. Inhibiteur réversible 37

 1.1 Les aldéhydes 37

 1.2 Les nitriles 38

 2. Inhibiteurs irréversibles 39

 2.1 Les aminovinylsulfones 39

V/ Aminovinylsulfone : Approches synthétiques 40

 3. À partir d'aldéhyde 41

 3.1 Réaction d'oléfination 41

3.1.1	Réaction de Wittig	41
3.1.2	Réaction d'HWE	43
3.2	Méthodes d'accès aux aldéhydes α -aminé chiraux	45
3.2.1	Réduction à partir des acides aminés chiraux	45
a)	Via un anhydride	46
b)	Via un chlorure d'acyle	46
c)	Via un ester	47
d)	Via un acyl-pyrazole	49
e)	Via un acyl imidazole	50
f)	Via un amide de Weinreb	51
3.2.2	Oxydation ménagée d'alcool	53
a)	Oxydations par des réactifs à base de chrome	53
b)	Oxydations par des dérivés du soufre	54
c)	Dess-Martin Periodane	57
d)	TEMPO/NaOCl	58
3.2.3	Clivage oxydant de diol	63
3.2.4	Par fonctionnalisation en alpha d'un aldéhyde	64
a)	Hydroxylation asymétrique	64
b)	Hydrazynation asymétrique	66
2.	A partir d'alcène	67
3.	A partir d'époxyde	69

CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE DU LHSV, INHIBITEUR DE LA CATHEPSINE S –

OPTIMISATION DE L'APPROCHE VIA UN EPOXYDE TERMINAL 73

I/ Introduction 75

II/ Synthèse de la morpholeucine 75

1.	Estérification de la leucine	75
2.	Introduction de la carbamoyl morpholine	76
3.	Hydrogénolyse	77

III/ Synthèse de la vinylsulfone 78

1.	Reproduction des travaux de Pericàs	78
1.1	Chaîne carbonée – accès à l'époxy alcool	79
1.1.1	Synthèse de l'ester carboxylique α - β insaturé	79
1.1.2	Synthèse de l'alcool allylique	80
1.1.3	Synthèse racémique de l'époxyalcool	81
1.2	Introduction de l'azote	82
1.2.1	Ouverture de l'époxyde par des amines primaires	82

1.2.2 Synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5phenylpentan3-yl carbamate) par hydrogénation catalytique	84
2. Variation synthétique et optimisation : l'azoture comme forme protégée de l'amine. 87	
2.1 Introduction de l'azote.....	88
2.1.1 Ouverture de l'époxyde par des azotures.....	88
2.1.2 Synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5phenylpentan3-yl carbamate) par réduction de l'azoture.	95
2.2 Introduction du soufre	95
2.2.1 Synthèse de l'époxyde terminal.....	96
2.2.2 Synthèse du sulfite cyclique	97
2.2.3 Synthèse du thioéther	99
2.3 Aménagement fonctionnel.....	101
2.3.1 Synthèse de l'hydroxyvinylsulfone	101
2.3.2 Synthèse de l'azidovinylsulfone	102
2.3.3 Synthèse de l'aminovinylsulfone	103
3. Approche asymétrique	105
3.1 Étape clé : Époxydation Sharpless.....	105
3.2 Étape clé : Époxydation par organocatalyse	107
3.2.1 Bibliographie généralité	107
3.2.2 Résultat	109
3.3 Synthèse asymétrique de la vinylsulfone	110
IV/ Synthèse du LHVS	111
1. Synthèse LHVS via ligation de Staudinger « traceless ».....	111
1.1 Ligation de Staudinger « traceless ».....	111
1.2 Résultat	114
1.2.1 Synthèse du phosphinoester.....	114
1.2.2 Synthèse du LHVS	115
2. Synthèse LHVS via couplage peptidique	115
2.1 Synthèse liaison peptidique	115
2.2 Résultat	116
CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE DU LHVS, INHIBITEUR DE LA CATHEPSINE S – A PARTIR D'UNE ALLYLAMINE CHIRALE.....	119
I/ Rappels bibliographiques	121
1. Synthèse de vinylsulfone à partir d'un alcène	121
1.1 Par addition de chlorure de sulfonyle	121
1.2 Par décomposition de sulfonylhydrazine	123

1.3	Par addition de sel d'aryldiazonium en présence de DABSO	123
1.4	Par addition de sulfinate de sodium.....	124
1.4.1	A partir d'alcène	124
a)	L'iode hypervalent (III)	124
b)	Le diiode	125
c)	Le N-Iodosuccinimide.....	125
1.4.2	A partir d'acides cinnamiques	126
1.4.3	A partir de nitrostyrène	127
2.	Le tert-butane sulfinamide.....	128
2.1	Application en synthèse asymétrique : addition nucléophile d'organométallique	131
2.1.1	Addition d'organolithien et d'organomagnésien	131
2.1.2	Addition d'organozincique.....	135
2.2	Déprotection de l'auxiliaire chiral.....	136
II/	Résultats personnels.....	136
1.	Introduction	136
2.	Synthèse de l'amine allylique.....	136
2.1	Synthèse de la sulfinylimine.....	136
2.2	Synthèse de la 5-phenyl-3-sulfinamide-1-en.....	137
2.3	Synthèse de l'amine allylique	138
2.4	Protection Boc de l'amine allylique	140
3.	Synthèse de l'aminovinylsulfone	140
3.1	Iode hypervalent (III).....	140
3.2	Diiodo(I ₂).....	141
3.3	Couplage NIS.....	141
3.4	Déprotection amine	145
	Conclusion	146
	CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	147
	Partie Expérimentale.....	155
	Chapitre 2 :.....	159
	Chapitre 3 :.....	172
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	177

Liste des abréviations et des acronymes

BOP : benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium

bp : point d'ébullition

Cat : Cathepsine

CatS : Cathepsine S

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CDI : carbonyl diimidazole

Ces : cellules endothéliales

DABSO : 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane bis(sulfur dioxide)

DCC : N,N'-dicyclohexylcarbodiimide

DCM : dichlorométhane

DET : diéthyle tartrate

DIPEA (ou i-Pr₂NEt) : diisopropyléthylamine

DMAP : 4-diméthylaminopyridine

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthyle sulfoxyde

e.d. : excès diastéréomérique

e.e. : excès énantiomérique

GAGs : protéoglycanes à glycosaminoglycanes

HPLC : chromatographie liquide haute pression

HWE : Horner-Wadsworth-Emmons

i-Pr : isopropyle

i-PrOH : isopropanol

IR : infrarouge

LDL : protéines de basse densité

LEE : lamina élastique externe

LEI : lamina élastique interne

LHVS : morpholino Leucine Homophenyl Vinyl Sulfone

m-CPBA : acide métachloroperoxybenzoïque

Me : méthyle

MS : spectrométrie de masse

n.d. : non déterminé(e)

Liste des Abréviations

NIS : N-Iodosuccinimide

PCC : chlorochromate de pyridinium

PDC : dichromate de pyridinium

Pd/C : palladium sur charbon

Ph : phényle

py : pyridine

RMN : résonance magnétique nucléaire

ROS : dérivés réactifs de l'oxygène

S_N: substitution nucléophile

T_{amb} : température ambiante

TBAI : Tetra-n-butylammonium iodide

TBHP : Hydroperoxyde de tert-butyle

t-BuLi : *tert*-butane lithium

TEMPO : 2,2,6,6-tetraméthyl-1-pipéridinyloxy, radical libre

THF : tétrahydrofurane

INTRODUCTION GENERALE

Le sujet de thèse qui m'a été confié porte sur la synthèse d'un inhibiteur de la Cathepsine S dans la perspective de la création d'une bibliothèque d'analogues fluorés de ce dernier en vue du développement d'un nouvel outil moléculaire pour l'imagerie TEP pouvant en particulier conduire à une imagerie de la plaque athéromateuse instable.

Notre choix s'est porté sur un composé pseudopeptidique, la morpholino leucine homophenyl vinyl sulfone (LHVS), dont les propriétés d'affinité et de sélectivité apparaissent parfaitement appropriées pour le développement d'un tel outil d'imagerie moléculaire. De plus, sa structure représentée ci-dessous nous semblait permettre l'introduction de fragments fluorés de manière relativement simple et efficace, et autorisait également la synthèse des précurseurs de radiofluoration iodés ou borés correspondants.

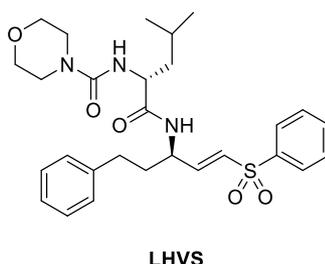


Figure IG-1 : Structure du LVHS – pseudopeptide inhibiteur de la Cathepsine S.

L'intitulé de ce manuscrit indique que les approches synthétiques sur lesquelles nous nous sommes basées n'ont pas permis d'accéder de manière satisfaisante à ce composé et n'ont pas permis de constituer la bibliothèque désirée. Néanmoins, en revisitant les résultats issus de la littérature, nous avons pu mettre en œuvre deux voies de synthèse différentes permettant d'accéder au LHVS et autorisant l'introduction de fragments fluorés de manière simple et raisonnablement convergente.

Ce manuscrit décrira ainsi l'ensemble des travaux réalisés au cours de cette thèse qui ont été effectués dans trois laboratoires successifs (ITAV, LCC et enfin LHFA) tout en étant par ailleurs impactés par la crise sanitaire liée à la COVID-19.

Dans un premier chapitre, nous contextualiserons les travaux réalisés à travers une présentation de l'athérosclérose nous permettant d'introduire l'intérêt de cibler la Cathepsine S (CatS) pour visualiser les atteintes pathologiques liées à cette maladie.

Une présentation de cette enzyme, au sein de la classe des protéases à cystéines poursuivra cette mise en contexte et conduira à une présentation des quelques sondes décrites pour l'imagerie de la CatS, et de ses inhibiteurs qui mettra en avant l'importance du squelette aminovinylsulfone pour l'inhibition de ces enzymes. Ce chapitre développera alors les stratégies de synthèse de ce squelette en s'appuyant sur une présentation détaillée des réactions d'oléfination s'appuyant sur des dérivés phosphorés d'une part et les méthodes d'accès à des aldéhydes α -aminés chiraux précurseurs de cette approche historique. Enfin ce chapitre se conclura par la présentation de deux autres approches du même squelette via des intermédiaires alcènes et époxydes.

Le second chapitre sera consacré à la première approche que nous avons pu mettre en œuvre pour accéder au LHVS. En préambule, nous y décrivons la synthèse du fragment morpholino-leucine. Puis la stratégie d'accès au motif aminovinylsulfone (E)-3-amine-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pent-1-en, reprenant des travaux antérieurs de Pericàs sera présentée, illustrant les difficultés liées à cette approche et les réalisations obtenues par modification des réactions mises en œuvre pour conduire à une approche efficace tant du point de vue du rendement global que du contrôle de la stéréochimie. Nous illustrerons en particulier la possibilité de maintenir une fonctionnalité, réputée sensible et dangereuse, sur une partie significative du schéma synthétique sans observer de phénomène incontrôlé. Nous montrerons également la validité d'une approche d'organocatalyse comparativement à l'approche traditionnelle par catalyse organométallique, impliquant des métaux de transitions.

La description d'une autre approche synthétique s'appuyant cette fois-ci sur l'emploi d'une allyle amine chirale sera l'objet du troisième chapitre de ce manuscrit. Nous y montrerons en particulier que l'emploi d'une allylamine chirale représente une approche encore plus convergente et donc parfaitement adaptée à la synthèse de la bibliothèque de composés que nous ciblions initialement. Nous y décrivons l'accès rapide aux deux énantiomères d'allyle amines requis pour la synthèse asymétrique d'analogues du LHVS, en s'appuyant sur l'emploi d'auxiliaires chiraux tels que la copule d'Ellman.

Enfin, une conclusion générale illustrera les résultats majeurs obtenus lors de cette thèse et ouvrant à présent sur les perspectives offertes par les efforts d'optimisation d'approches synthétiques qui reste un point de passage difficilement contournable pour promouvoir des études pharmacologiques conduisant à

l'identification du composé le plus adapté pour la poursuite d'étude de nouvelles sondes moléculaires pour l'imagerie TEP.

Le manuscrit s'achèvera alors par une présentation des conditions expérimentales ayant conduit à l'ensemble des composés décrits dans ce manuscrit ainsi que leurs caractérisations.

CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I/ Maladie cardiovasculaire : L'athérosclérose

1. Définition

L'athérosclérose est la forme la plus répandue de maladie cardiovasculaire et l'une des principales causes de décès dans le monde représentant en 2021, 85% des décès dus aux maladies cardiovasculaires soit 17,5 millions de morts. Elle a été définie en 1958 par l'OMS comme « une association variable de remaniements de l'intima des grosses et moyennes artères, consistant en une accumulation segmentaire de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires, le tout accompagné de modifications de la média ». Elle est aujourd'hui définie comme une maladie chronique inflammatoire des parois artérielles qui se caractérise par l'accumulation de lipides et de matière fibreuse sous forme de plaques d'athérome sur la paroi interne de l'artère (l'intima). Elles ont une progression lente et peuvent notamment réduire de plus de 50% le flux sanguin et conduire en cas de rupture à la formation d'un caillot sanguin à des complications graves comme l'infarctus du myocarde (IM) ou des accidents vasculaires cérébraux (AVC).

2. Épidémiologie

Les maladies cardiovasculaires sont reconnues pour être le plus souvent liées à des lésions athérosclérotiques, en particulier des artères coronaires. Si les maladies cardiovasculaires ont pendant longtemps été perçues comme le mal de l'homme blanc, fumeur, dans la force de l'âge présentant des syndromes d'hypertension et d'hypercholestérolémie, les traitements de ces derniers et la diminution du tabagisme ont conduit à une évolution de la population touchée par les maladies cardiovasculaires.¹ En effet, les maladies cardiovasculaires ne sont plus l'apanage du monde industriel et des pays développés, en grande partie du fait de nouvelles habitudes alimentaires moins saines, qui conduisent à divers événements liés à l'athérosclérose indiqués ci-dessus (IM, AVC, cardiomyopathie ischémique...). Ainsi l'augmentation de la mortalité due à des maladies cardiovasculaires est en constante augmentation en Europe de l'Est et en Asie. On peut noter que l'incidence des maladies cardiovasculaires touche aussi bien les femmes que les hommes, ces derniers représentant 50,6% des décès dus aux maladies cardiovasculaires aux USA en 2015. Cela a incité l'organisation mondiale de la santé à promouvoir en 2016 un programme intitulé « Global Hearts » ciblant en particulier les pays en développement

pour réduire la menace associée aux maladies cardiovasculaires.² Cette prévalence incite tout naturellement à explorer toutes les possibilités d'identifier de la manière la plus précoce possible les signes avant-coureurs du développement de ces maladies. Pour ce faire, une compréhension de ce développement s'avère nécessaire et une description de la pathophysiologie est donc requise.

3. Pathophysiologie

3.1 Artère saine

Les artères sont des vaisseaux sanguins qui transportent le sang le plus souvent oxygéné, à l'exception des artères pulmonaires, en provenance du cœur vers les autres organes vitaux. Les parois de l'ensemble des artères présentent une structure et une composition semblable. On peut en effet dénombrer 3 couches distinctes concentriques, nommément l'intima, la media et l'adventice, qui délimitent l'espace intérieur où circule le sang nommé la lumière. (Figure I-1).

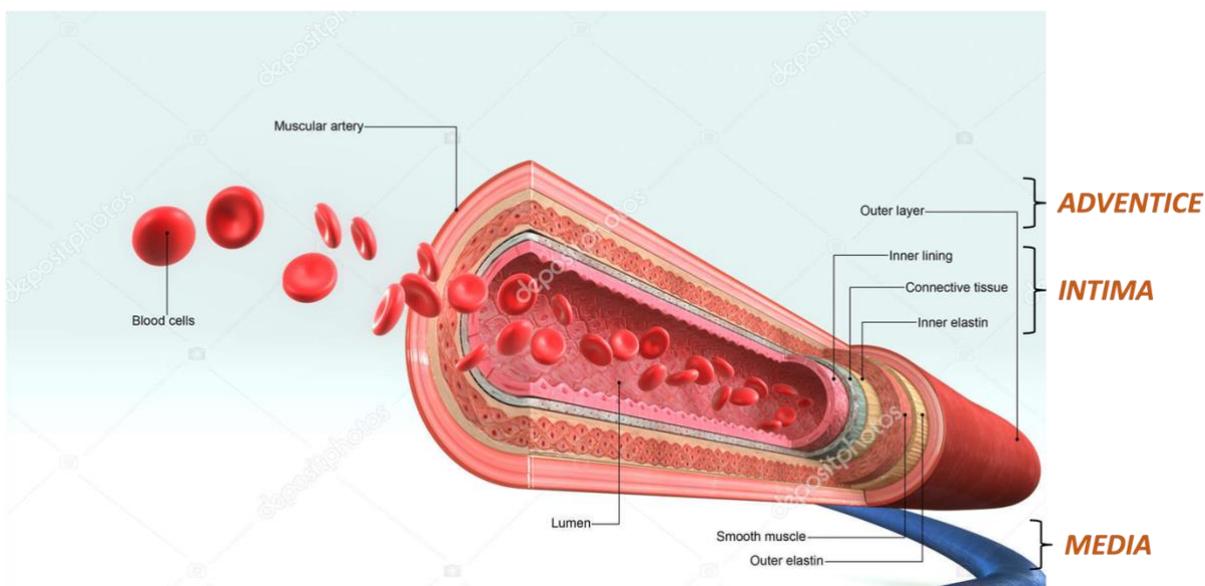


Figure I-1 : Structure et composition d'une artère. Image libre de droit (Licence Dépositphoto)

La première couche, la plus interne est l'intima. Elle est composée d'une monocouche de cellules endothéliales (CEs) en contact donc avec le flux sanguin. Celle-ci repose sur une matrice extracellulaire appelé ici lame basale où l'on retrouve majoritairement des composés acellulaires : des protéines dont du collagène de type IV, et des glycoprotéines. Parmi ces glycoprotéines, la plus répandue est la laminine qui possède des sites de liaisons spécifiques aux intégrines, aux protéoglycanes à glycosaminoglycanes (GAGs) et au collagène IV. C'est à ce niveau de la paroi que se développent les futures plaques d'athéromes. Enfin une couche de tissu élastique

composée d'élastine appelée lamina élastique interne (LEI) la sépare de la couche suivante.

Cette deuxième couche intermédiaire est le média. Elle est constituée d'un empilement d'unité lamellaire de cellules musculaires lisses et d'une matrice extracellulaire où l'on retrouve des fibres de collagènes et d'élastine. Elle s'étend de la LEI jusqu'à une seconde couche de tissu élastique appelée lamina élastique externe (LEE) qui la sépare cette fois-ci de la dernière couche de la paroi artérielle.

Cette dernière couche externe de la paroi est l'adventice. C'est un agencement de cellules (fibroblastes et adipocytes) et à nouveau de fibres d'élastines et de collagènes. Elle assure l'ancrage des artères au sein des tissus parcourus.

3.2 Athérosclérose et plaque d'athérome

L'athérosclérose est une maladie complexe dont on peut distinguer 3 grands stades : L'initiation, la progression ou croissance et les complications.

3.2.1 Athérogénèse et initiation de la plaque

Dans les artères, on retrouve des zones où la pression sanguine est plus forte et d'autres où l'écoulement sanguin est turbulent. Celles-ci sont plus sensibles au développement de plaque d'athérome. En effet la tension pariétale accrue peut créer des microlésions et rendre les jonctions des cellules épithéliales moins compactes et donc plus perméables, favorisant le passage et l'accumulation au sein de l'intima de certaines lipoprotéines plasmatiques dont des protéines de basse densité (LDL), comme décrit par Schenke et Carew en 1989, et des dérivés riches en triglycérides. Concernant l'élément initiateur, l'hypothèse la plus répandue est celle de l'oxydation de ces LDLs qui peut avoir lieu grâce aux espèces réactifs de l'oxygène (ROS) présents dans l'intima à la suite de la réduction du dioxygène. On retrouve notamment des radicaux hydroxyles produits entre autres par les réactions de Fenton qui sont une oxydation du Fe (II) en Fe(III) par le peroxyde d'hydrogène issu du métabolisme cellulaire ainsi qu'une réduction du Fe(III) en Fe(II).^{1,2,3}(Schéma **I-1**).

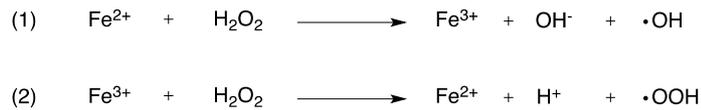


Schéma I-1 : Réactions de Fenton

Ces LDL-oxydés seraient à l'origine d'une réponse inflammatoire et de la formation de cellules spumeuses, lesquelles semblent promouvoir l'activation des cellules endothéliales. Toutefois ce mécanisme reste pour l'heure encore très peu compris. D'autres mécanismes ont récemment été proposés mettant en cause les LDL natives et leur agrégation. Celles-ci provoqueraient alors l'expression de molécules d'adhésion de monocytes ainsi que de protéines chimiotactiques qui vont favoriser leurs liaisons et leurs transmigrations dans l'intima où ils seront différenciés en macrophages. Il s'agit d'un élément très important du développement de la plaque. En effet l'absorption par ces macrophages de LDL-oxydés par le récepteur scavenger ou de LDLs agrégées par phagocytose vont entraîner la formation des cellules dites spumeuses fortement chargées en cholestérol libre ou estérifié. Leur accumulation dans l'intima de la paroi artérielle constitue le premier stade visible à l'œil nu de l'athérosclérose : les stries lipidiques. Le plus souvent ces cellules meurent par apoptose ou nécrose pour former un noyau composé de cholestérol et de débris cellulaires.^{1,2,3} (Figure I-2)

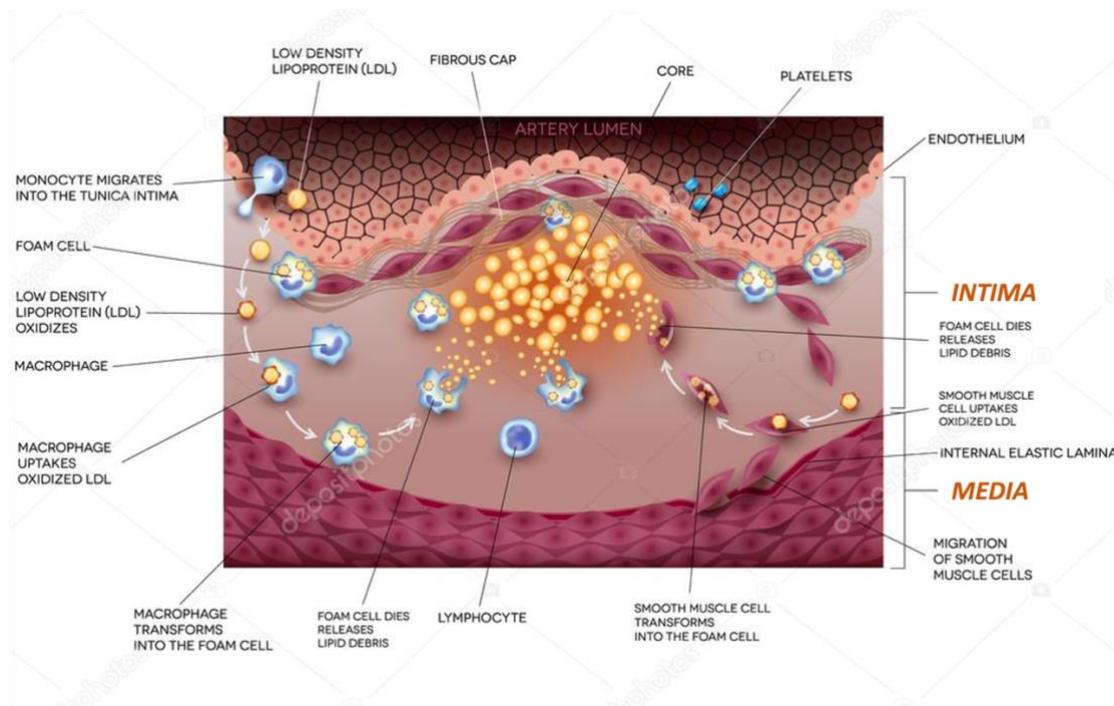


Figure I-2 : Étapes de la formation de la plaque d'athérome Image libre de droit (Licence Dépositphoto)

3.2.2 *La progression*

Dans la continuité de l'initiation, l'accumulation de lipides et de cellules spumeuses s'accroît. D'autres leucocytes vont également pénétrer dans la lésion notamment différents lymphocytes qui pourront avoir une incidence positive ou négative sur l'évolution de la maladie par la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires ou par la production d'interférons gamma qui tendent à augmenter la croissance et l'instabilité de la plaque. L'immunité innée et adaptative est, en outre, responsable de l'inflammation chronique qui représente un facteur de risque important de l'athérosclérose.

L'étape suivante correspond à la migration des cellules musculaires lisses de la couche média vers l'intima, et à leur prolifération qui est une conséquence de leur changement d'un phénotype différencié contractile à un phénotype différencié sécrétoire. Elles vont, petit à petit, entourer le noyau lipidique et produire une matrice extracellulaire composé de collagène, d'élastine, de protéoglycane et de glycosaminoglycane qui aboutit à la formation d'une chape fibreuse. Newman *et al.* ont récemment publié les résultats d'expériences suggérant qu'une partie des protéines de la matrice extracellulaire est également synthétisée par des cellules endothéliales et des macrophages après une transition mésenchymal.⁴ (Figure **I-2**)

Après des études visant à connaître la lignée dont sont issues les cellules qui composent la lésion, il a été démontré qu'une partie des cellules spumeuses étaient issues d'une différenciation des cellules musculaires lisses en cellules semblables à des macrophages. Ces cellules vont être responsables de deux effets notoires dans la croissance de la plaque. Le premier est l'accumulation, comme décrit précédemment, après avoir absorbé des lipides et participé à la génération de débris dans le noyau. Le second est la suppression ou la diminution de l'efférocytose, un mécanisme d'élimination de ces débris issus de la mort cellulaire, qui va déclencher une nécrose et une inflammation secondaire.^{5,6}

Une autre différenciation des cellules musculaires lisses au sein de la plaque est observée, celle des cellules de type chondrocyte et précurseurs ostéochondrogéniques, semblables à ceux présents dans les os. Ils vont alors produire des dépôts minéraux de calcium et de phosphate ce qui va conduire à la future calcification de la plaque.

3.2.3 Les complications

Grâce à des mécanismes de compensation au sein des parois artérielles, l'athérosclérose est souvent asymptomatique pendant très longtemps. Lorsque ceux-ci ne sont plus en mesure de compenser, la largeur de la lumière peut diminuer, ce qui réduit à son tour le flux sanguin. Lorsque la demande en oxygène dans le myocarde augmente, comme c'est le cas lors d'un exercice physique, cette baisse peut entraîner des symptômes d'angine de poitrine.³

Cependant, l'infarctus du myocarde ou l'accident vasculaire cérébral, qui se produisent respectivement lorsqu'un caillot bloque totalement la lumière d'une artère coronaire ou se détache et bouche une artère cérébrale, sont les accidents les plus funestes. La rupture de la plaque dite "vulnérable" ou l'érosion de la plaque sont les deux mécanismes qui rendent compte aujourd'hui de ces différents événements.¹

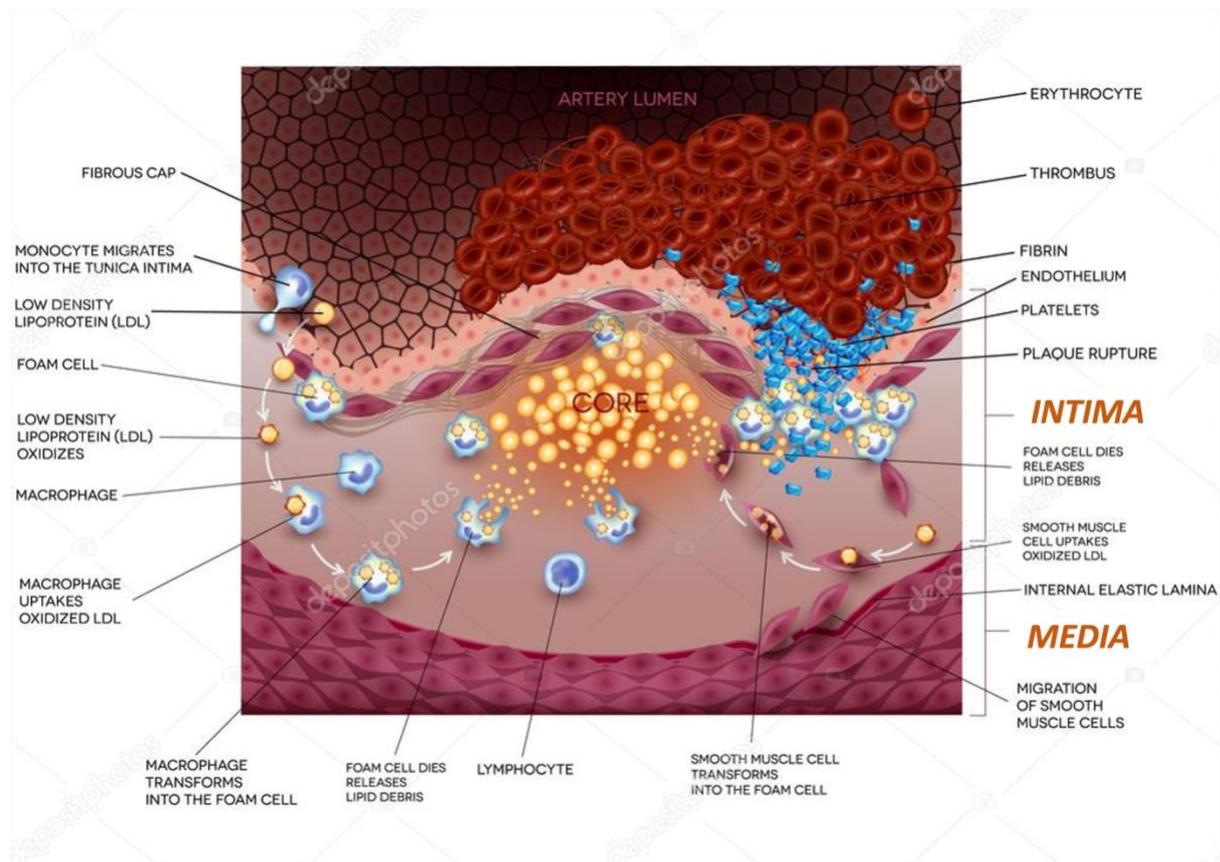


Figure I-3 : Rupture de la plaque d'athérome et formation d'un caillot. Image libre de droit (Licence Dépositphoto)

Une plaque est dite "vulnérable" si elle comporte un noyau lipidique important et un revêtement fibreux très fin de l'ordre d'une dizaine de micromètres d'épaisseur. Elles sont plus susceptibles de se rompre. En exposant les composants thrombogènes de la paroi, notamment les facteurs tissulaires présents à fortes concentrations dans la

plaque, cette rupture va entraîner une thrombose en déclenchant la formation d'un caillot. D'une part, en activant le système de coagulation qui, d'un point de vue moléculaire, va transformer le fibrinogène en fibrine lorsque le flux sanguin est lent d'autre part en activant l'agrégation plaquettaire qui se produira lorsqu'il y a un flux sanguin rapide (Figure I-3).²

Les traitements mis en place pour lutter contre l'hypertension, l'hypercholestérolémie ainsi que le sevrage tabagique rendent les plaques moins inflammatoires et donc moins susceptibles de se rompre comme évoqué plus haut. L'érosion de la plaque d'athérome est devenue un autre processus conduisant également à une thrombose. La morphologie des plaques mises en causes semble différente avec peu de leucocytes inflammatoires et de lipides et une chape fibreuse plus dense en matrice extracellulaire.¹ Dans ce cas une discontinuité de la monocouche de cellules endothéliales de l'intima est observée. Elle pourrait impliquer leur mort cellulaire soit par apoptose soit par anoïkose, cas dans lequel l'apoptose se produit après le détachement de cellules adhérentes de leur matrice extracellulaire. (Figure I-2)

4. Facteurs de risque majeur

De nombreux facteurs de risques ont été établis parmi eux, la dyslipidémie, l'hypertension, le diabète, le tabagisme, l'obésité, le syndrome métabolique, le vieillissement, la ménopause certains facteurs génétiques et certaines maladies auto-immunes inflammatoires chroniques. Ici, nous nous concentrerons sur deux principaux facteurs de risque de rupture de la plaque : l'inflammation et la calcification.⁷

4.1 La calcification

La calcification de la plaque d'athérome est un processus complexe à la fois actif et passif. Un tissu calcifié organisé est produit par le processus actif de biominéralisation cellulaire décrit ci-dessus comme l'altération du phénotype des cellules musculaires lisses. En effet les cellules ostéoblastiques sont capables de produire des vésicules matricielles, qui peuvent accumuler du calcium et du phosphate et induire la formation de cristaux. Le processus passif est lui indépendant de l'activité cellulaire ; il est la conséquence d'un dépôt de calcium et de phosphate grâce à leur affinité avec le collagène et l'élastine avec lesquels une neutralisation de charge est observée.⁸

Dans un premier temps, on observe donc des dépôts épars dans le noyau nécrotique ou au sein même de la chappe fibreuse. On parle alors de microcalcification. Celle-ci est associée à un risque plus élevé de rupture de la plaque et de thrombose. Vengrenyuk *et al.* avance une première explication liée à un lien biomécanique, telle qu'une forte augmentation du niveau de stress local qui déstabilise la plaque. Les microcalcifications peuvent donc être associées à une plaque dite « jeune » et instable mais d'autres processus au cours de la croissance de la plaque comme la destruction localisée de collagène au sein de la chappe fibreuse peuvent également déstabiliser la plaque d'athérome en induisant de la microcalcification.^{9,10,11}

Cependant avec le temps, elles peuvent fusionner pour former de plus grands agrégats, plus denses qui s'organisent le plus souvent à proximité du noyau sous forme de feuilletts. On parle alors de macrocalcification. Cette fois-ci, elle est associée avec une diminution du risque de thrombose et une augmentation de la stabilité de la plaque. On peut confirmer ce type de lésion au sein de la plaque à un stade avancé par différents types d'imagerie dont la TEP grâce au Na¹⁸F. Son absorption dans les artères indique qu'il existe un processus actif de calcification et de mort cellulaire.¹²

4.2 L'inflammation

Historiquement depuis l'apparition du terme de plaque d'athérome proposé par Albrecht von Haller en 1755, différentes théories sur l'athérogénèse se sont succédées. Même si pendant près d'un siècle la théorie lipidique a éclipsé les autres, déjà en 1856 Rudolf Virchow parlait d'endartérite déformante pour mettre en avant l'aspect inflammatoire de la maladie en se focalisant sur les transformations subies par l'intima¹³.

En effet l'inflammation est un facteur de risque, Libby *et al.* ayant démontré un lien entre l'inflammation systémique et l'augmentation de l'inflammation locale au niveau des plaques d'athéromes. Les artères affectées par l'athérosclérose chez le lapin se montrent sensibles à l'administration par voie intraveineuse d'endotoxines, stimulant les mécanismes de l'inflammation. En effet cela a déclenché une surproduction de cytokines pro-inflammatoires au sein de la plaque. Par ailleurs, une partie des facteurs de risque traditionnels et ceux découverts récemment partagent le même mécanisme de promotion de l'inflammation.

Le rôle de l'inflammation est établi aux différents stades de l'évolution de la maladie. Elle est d'ailleurs essentiellement associée à l'hyperlipidémie. La modification

de la fonction endothéliale est initialement provoquée par la libération de cytokines pro-inflammatoires. Celles-ci peuvent induire l'élévation du calcium cytosolique par exemple qui va endommager les jonctions endothéliales, et favoriser le passage vers l'intima. De plus, elles sont responsables de la sécrétion de chimiokines et de molécules d'adhésion au niveau de l'endothélium ce qui facilite la migration des monocytes et plus tard des leucocytes.^{14,7}

Par la suite, elles sont impliquées dans la prolifération des cellules spumeuses en promouvant l'expression des récepteurs capables de reconnaître les LDL-ox et favorisant l'augmentation de l'oxydation cellulaire.¹⁴

Enfin, l'inflammation va déstabiliser la plaque et augmenter le risque de rupture en favorisant la mort des cellules spumeuses et des cellules musculaires lisses ainsi que la dégradation de la matrice extracellulaire. La mort des cellules spumeuses provoque l'augmentation de la composante lipidique du noyau nécrotique et celle des cellules musculaires lisses provoque l'amincissement de la chape fibreuse. La mort cellulaire est également potentialisée par la diminution de la matrice extracellulaire après l'augmentation de la sécrétion de protéases telles que les cathepsines.^{2,14}

Le rôle des cathepsines dans l'évolution et la déstabilisation de la plaque d'athérome a donc été l'objet de nombreuses études.

5. La cathepsine S : Son rôle

Sukhova *et al.* ont observé dès la fin des années 1990, l'expression de la cathepsine S dans les lésions athéromateuses humaines contrairement aux segments sains qui n'en contiennent pas.¹⁵

De manière intéressante, cette surexpression de la cathepsine S fut identifiée au sein des cellules spumeuses présentes dès les premiers stades de la maladie. Ainsi la membrane basale sous-endothéliale des stries lipidiques contient une quantité importante de cathepsine S.¹⁶ Sukhova *et al.* ont utilisé un modèle *in vitro* de cellules traitées avec une faible concentration de 8 mol/L de LHVS, un inhibiteur spécifique de la cathepsine S dans ces circonstances, pour évaluer leur effet sur la transmigration des monocytes. Ils ont ainsi pu observer une réduction significative de la migration des monocytes dans l'intima. Ce résultat fut confirmé sur une lignée cellulaire privée de Cathepsine S.^{16,17}

Dans les lésions athéromateuses plus avancées, la Cathépsine S est localisée dans les cellules musculaires lisses de la chape fibreuse et les macrophages au niveau

des zones présentant une fragmentation de l'élastine. La migration et le passage des cellules musculaires lisses à travers la lame élastique interne sont tous deux associés à la cathepsine S. Dans un second temps elle contribue avec d'autres protéines à la destruction de la matrice extracellulaire de la chape fibreuse qui peut conduire à la rupture de la plaque.¹⁸

Les résultats de l'altération génétique et de l'inhibition moléculaire de l'activité de la cathepsine S sont similaires, suggérant l'implication de l'inhibition de la cathepsine S dans la préservation de l'élastine et la diminution de la calcification vasculaire. En effet, la dégradation de l'élastine peut entraîner des fragments bioactifs appelés élastokines, qui accélèrent le développement de l'athérosclérose et provoquent une calcification artérielle. Une diminution de l'activité de la cathepsine S réduit ainsi la taille des plaques d'athérome.^{19,20}

II/ La cathepsine S

Les cathepsines sont des protéases dont le nom dérive du grec kathepsin (digérer). Elles se distinguent par la constitution de leur site actif, certaines étant des protéases à sérines (Cathepsines A et G), protéases à aspartate (Cathepsine D et E), métalloprotéases à zinc (Cathepsine B2). Néanmoins une grande partie des cathepsines (11 représentants) sont des protéases à cystéine au même titre que la papaïne et les caspases. Comme ces dernières, elles présentent de nombreuses activités biologiques, physiologiques et pathologiques. Elles sont généralement actives dans un environnement acide (pH 4-5) et légèrement réducteur. Une grande partie des Cathepsines se retrouve dans la plupart des tissus humains. Les Cathepsines K, W et S se distinguent par leur expression plus restreinte à quelques tissus. La cathepsine S se distingue également par sa plus grande stabilité que ses consœurs à des pH neutres voir légèrement basiques. Cela lui permet de conserver une activité extracellulaire et hors des lysosomes, expliquant son rôle important dans divers microenvironnements pathologiques. Cela contraste significativement avec les autres cathepsines dont l'activité optimale à pH légèrement acide est irréversiblement perdue à pH neutre. Le site actif de la cathepsine S se situe au sein d'une fente séparant les deux domaines de l'enzyme comme illustré (Figure I-4).



Figure I-4 : Structure cristalline de la cathepsine S avec un inhibiteur non peptidique²¹ (pdb2HXZ)

Le mécanisme d'action de la Cathepsine S implique une triade catalytique composée de la cystéine 25, de l'histidine 164 et de l'asparagine 184. Classiquement la cystéine 25 attaque le carbonyle de la liaison peptidique avec une déprotonation concomitante par l'histidine 164, elle-même activée par l'asparagine 184 comme illustré schéma I-2. (Schéma I-2)

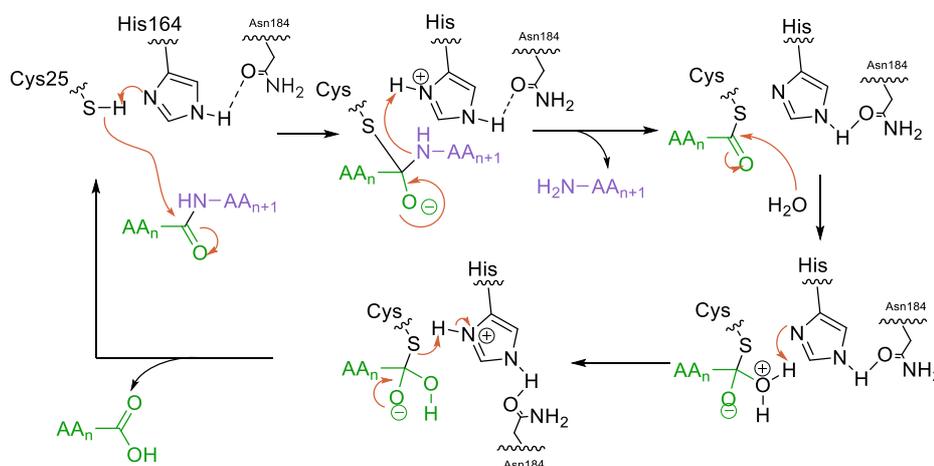


Schéma I-2 : Mécanisme d'action de la cathepsine S, triade catalytique Cys25, His164, Asn184.

La protonation de l'amine de l'oxyanion conduit à la libération de la partie C-terminale de la protéine initiale. La poursuite du cycle implique la libération de la cystéine 25 par action d'une molécule d'eau à nouveau avec l'assistance de l'histidine 164, conduisant in fine à la libération du fragment N terminal de la protéine initiale.

En plus de son rôle dans le développement de la plaque athéromateuse, la cathepsine S est également impliquée dans divers processus pathologiques tels que

des maladies auto-immunes à fort caractère inflammatoire comme l'arthrite rhumatoïde et la néphrite lupique, les inflammations allergiques et l'asthme, la fibrose kystique, le diabète, la médiation de la douleur et divers cancers.²² Cela a donc naturellement conduit au développement de sondes permettant de la détecter par diverses méthodes d'imagerie. Nous nous intéresserons ici plus particulièrement aux techniques d'imagerie nucléaires qui permettent de conduire les investigations *in vivo* sans aucune limite de pénétration.

III/Les sondes pour l'imagerie nucléaire des Cathepsines.

1. Les sondes radiomarquées

Le marquage d'une enzyme ou d'un récepteur en imagerie nucléaire s'appuie le plus souvent sur le radio-marquage d'un composé qui, après injection dans le corps à l'étude, suit une biodistribution sanguine et s'attache à sa cible (enzyme ou récepteur). De ce fait, le marquage s'appuie de manière régulière sur l'emploi d'inhibiteurs des enzymes ciblés ou d'agonistes ou antoagonistes des récepteurs. Nous allons ci-dessous présenter les principales molécules élaborées pour réaliser *in vivo* l'imagerie des cathepsines en générale et de la cathepsine S en particulier. Divers radio-isotopes peuvent, pour cela, être utilisés et nous verrons ci-dessous des exemples dans lesquels le marquage isotopique se fait soit par la création d'une liaison covalente, soit par coordination d'un métal radioactif.

1.1 Radiomarquage à l'iode-125

C'est au début des années 1980, que l'on commence à observer les premières sondes radiomarquées à l'iode-125 ciblant les cathepsines à cystéine. *Doherty et al.* ont décrit la synthèse d'un tétrapeptide contenant un groupement chloromethylcétone [¹²⁵I] **1a**, (Figure **I-5**) qui a permis d'identifier une protéase de 31,5 kDa isolée d' ilots de Langerhans du rat par immunoprécipitation et électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du laurylsulfate de sodium (SDS-PAGE) comme étant la Cathepsine B.^{23,24} Cependant celui-ci n'était pas très spécifique puisqu'il pouvait également réagir avec le site actif des protéases à serine. *Doherty et al.* ont également montré que leur traceur interagissait avec la trypsine²⁴. (Figure **I-5**).

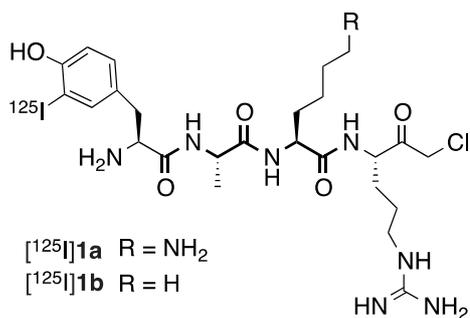


Figure I-5 : 1^{ère} Sondes marquées à ¹²⁵I d'un térapeptide avec un motif chlorométhylcétone 1^{ère} Doherty et al.

Quelques années plus tard, pour pallier le manque de sélectivité *Mason et al.* ont mis au point une diazocétone marquée à l'iode-125, [¹²⁵I]**2a**, (Figure I-6). Celle-ci est un inhibiteur sélectif de la cathepsine L et B et elle a pu être produite avec une activité molaire de 222MBq/μmol.^{23,25} Ce traceur a, entre autre, été utilisé pour déceler la présence de cathepsine B et L dans des cellules NIH3T3 modifiées par le virus Kirsten par SDS-PAGE ainsi que dans différents tissus humains *post mortem* notamment issu du cœur, des muscles squelettiques, des reins, du pancréas, et de la rate.²⁶ Une seconde sonde fut mise au point par *Mason et al.*, [¹²⁵I]**2b**, (Figure I-6) où deux modifications furent apportées : le groupe Z fut remplacé par un groupe Fmoc et une seconde substitution par un iode fut réalisée en ortho du groupe hydroxyle de la chaîne latérale de la tyrosine. Cette transformation annihilait le caractère inhibiteur envers la cathepsine S.

Ce même motif diazocétone se retrouve dans la sonde d'activité (APB) BIL-DMK, [¹²⁵I]**3**, (Figure I-6) mise au point par *Falgueyret et al.* qui est un bon inhibiteur des cathepsines K, S et L et dans une moindre mesure de la cathepsine B.^{23,27} Celle-ci fut également utilisée en 2011, pour identifier les cathepsine S dans un échantillon sanguin *in vitro* et par la suite pour déterminer la proportion de cathepsine S active et la concentration inhibitrice médiane (IC-50) d'un nitrile dipeptide jouant le rôle d'inhibiteur compétitif proche de l'odanacatib dans un échantillon sanguin de singe *ex vivo*.²⁸

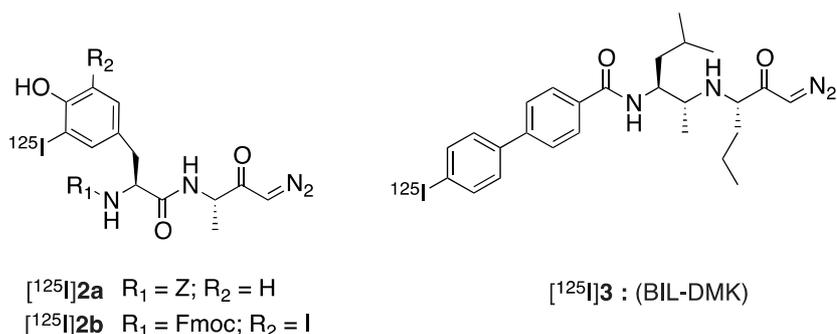


Figure I-6 : Sondes marquées à ^{125}I avec un motif diazocétone développé par Mason et al et Falguyret et al.

Bogyo *et al.* ont travaillé sur d'autres types inhibiteurs irréversibles des cathepsines qui ont aussi mené à des sondes radiomarquées à l'iode-125. On retrouve des dérivés d'époxysuccinyle JPM-565 inhibiteur non sélectif des cathepsines L, B et S et CA074 quant à lui sélectif des cathepsines B ainsi qu'un dipeptide vinyle sulfone LHVS inhibiteur sélectif des cathepsines S.²⁹ Leurs structures ont dû être légèrement modifiées pour faciliter l'introduction de l'iode radioactif. Pour LHVS et JPM-565, par l'ajout d'un groupement hydroxyle en *para* sur le phényle $[^{125}\text{I}]\mathbf{4}$, $[^{125}\text{I}]\mathbf{5}$ (Figure I-7) et pour CA074 par le remplacement de la chaîne propyle par un 2-(4-hydroxyphényl)éthyle résidu $[^{125}\text{I}]\mathbf{6}$ (Figure I-7). Ce changement entraîne une perte de l'activité inhibitrice mais pas de perte de sélectivité vis-à-vis des cathepsines B. Les sondes $[^{125}\text{I}]\mathbf{5}$ et $[^{125}\text{I}]\mathbf{6}$ ont été testé pour connaître le taux de cathepsines actives dans des homogénats de différents tissus néoplasiques.^{23,29}

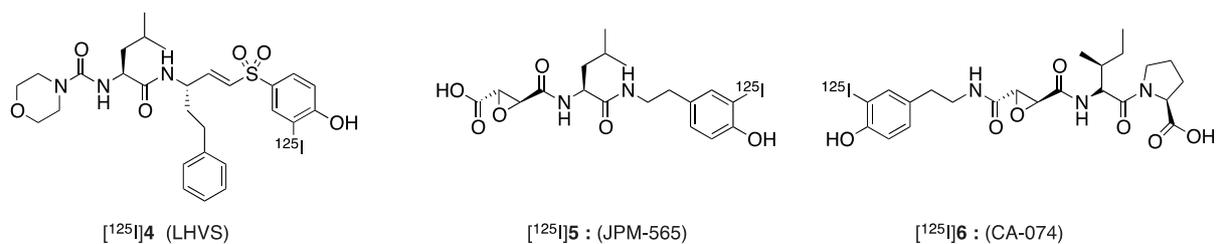


Figure I-7 : Sondes LHVS, JPM-565, CA-074 marquées à ^{125}I

Un autre radiotracer ciblant la cathepsine B fut mis au point à partir d'un dipeptide Phe-Lys contenant le motif acyloxyméthyl cétones (AOMK) $[^{125}\text{I}]\mathbf{7a}$ et $\mathbf{7b}$ (Figure I-8). Edem *et al.* ont montré leur efficacité à cibler les cathepsines B par radio-SDS-PAGE.³⁰ Ils ont été tous les deux testés dans des études de biodistribution *ex vivo* sur des souris immunodéficientes portant des xénogreffes tumorales dérivées de la lignée cellulaire de cancer du sein humaine MDA-MB-231. $[^{125}\text{I}]\mathbf{7b}$ a un pouvoir inhibiteur plus important que $[^{125}\text{I}]\mathbf{7a}$. Son absorption hépatique est quant à elle 5 fois inférieure grâce au caractère hydrophile que lui donne les 3 unités de linker PEG.^{23,30}

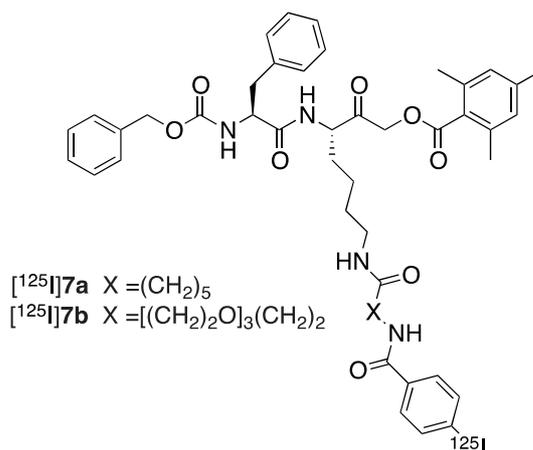


Figure I-8 : Sondes marquées à ^{125}I d'un dipeptide Phe-Lys avec un motif AOMK par Edem et al.

1.2 Radiomarquage au carbone-11 et -14

Récemment Laube *et al.* ont publié leurs résultats sur une sonde marquée au carbone-11 à partir d'un précurseur phénolique $[^{11}\text{C}]\mathbf{8}$. (Figure I-9).³¹ En effet le marquage au carbone-11 dont la $\frac{1}{2}$ vie est courte (20.4 min) peut permettre des études d'imagerie répétée selon le paradigme du test/repos. De plus, il entraîne très peu ou pas de changement structural de l'inhibiteur étudié. L'étude des propriétés radiopharmacologiques est également réalisée par TEP-dynamique. Elles sont très similaires à son homologue fluoré avec notamment une durée de persistance dans le sang importante due à une biotransformation semblable. Bien que cela limite leur utilisation pour une future application en imagerie TEP, l'absorption de $[^{11}\text{C}]\mathbf{8}$ dans la région de la tumeur en présence de $\mathbf{8}$ non marqué est plus faible sur toute la durée de l'expérience que lorsqu'il est administré seul ce qui indique d'après Laube *et al.* que l'absorption au niveau de la tumeur est au moins partiellement dû à la présence de cathepsine à cystéine. De plus l'influence pharmacologique de $\mathbf{8}$ sur l'absorption dans le tissu musculaire est bien moins significative ce qui est également une autre raison de penser que l'absorption de $[^{11}\text{C}]\mathbf{8}$ au niveau de la tumeur à lieu grâce aux cathepsines.^{23,31}

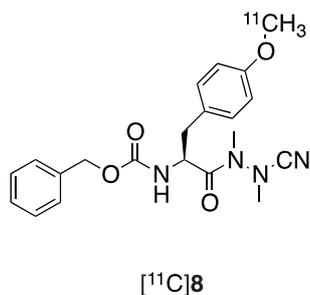


Figure I-9 : Sonde marquée au ^{11}C à partir d'un précurseur phénolique par Laube et al.

Ciblant cette fois-ci la visualisation de la cathepsine K dans l'activité osseuse, un second radiotracer avec un inhibiteur non peptidique dérivé du chimiotype 2-cyanopyridine a été mis au point par *Rodnick et al.* avec un marquage au Carbone-11 [^{11}C]**9a** et **9b** (Figure I-10). Cet isotope fut préféré au ^{18}F qui peut conduire en cas de défluoration à la production de fluorure qui se fixerait lui aussi sur les os et donnerait donc un signal non différentiable de celui de la sonde ayant marqué la cathepsine K.³² L'évaluation radiopharmacologique a été menée par TEP-dynamique chez le rat. Elle a montré une accumulation d'activité dans les régions distales de l'ulna et du fémur ainsi que dans la région proximale du tibia. Celles-ci correspondent au remodelage osseux sous l'influence des cathepsines K. La fixation de [^{11}C]**9b** dans ces régions est 2 à 3 fois supérieure par rapport à celle du tissu musculaire et peut être diminuée par une pré-injection non-radioactive. Des résultats similaires ont été montrés pour la sonde [^{11}C]**9a**. Ainsi *Rodnick et al.* ont mis au point 2 traceurs adaptés pour l'imagerie de la cathepsine K *in vivo*.^{23,32}

Une autre étude menée par *Bennacef et al.* a donné des conclusions similaires avec une sonde dérivée d'un inhibiteur nitrile dipeptidique [^{11}C]**10**. (Figure I-10).³³

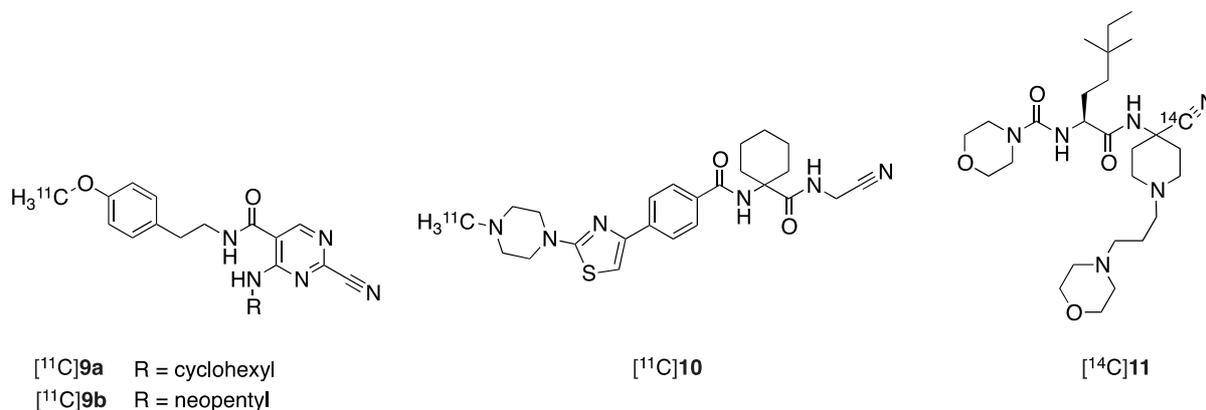


Figure I-10 : Sondes marquées au ^{11}C avec un motif nitrile

Le marquage au carbone 14 est très utilisé pour les investigations métaboliques *in vitro* mais aussi pour découvrir les propriétés ADME des futurs médicaments. Les radiotraceurs marqués au carbone-14 sont fréquemment utilisés en autoradiographie et pour des études de biodistribution chez le petit animal.²³ Un exemple ci-dessus avec le dipeptide nitrile [^{14}C]**11**, (Figure I-10) dérivé radiomarké du BI-1915, inhibiteur spécifique de la cathepsine S mis au point par Boehringer Ingelheim.³⁴ *Lateli et al.* ont décrit une activité spécifique de 1,8 MBq/ μmol .³⁵ Il est à noter qu'un marquage ^{11}C de ce composé semblerait assez facilement réalisable par une réaction de Strecker. Néanmoins la demi-vie courte du ^{11}C (20 minutes) et la nécessité de préparer du cyanure marqué ^{11}C rend cette approche peu attrayante.

1.3 Radiomarquage avec un centre métallique

Un grand nombre de radionucléides sont métalliques, et certains s'avèrent particulièrement utiles en imagerie TEP, comme par exemple le cuivre-64 et le gallium-68.³⁶

Le premier radiotracer métallique pour l'imagerie TEP ciblant les cathepsines a été décrit en 2011 par *Ren et al.* Il s'agit d'une acyloxymethylcétone marquée au cuivre-64.³⁷ Il fut obtenu d'après la structure de GB123 **12**. (Figure I-11), une sonde fluorescente qui permet de visualiser les cathepsines B et L en imagerie optique.³⁸ Le remplacement du fluorophore Cy5 par le macrocycle chélatant DOTA permet alors la chélation du cuivre et l'obtention de [⁶⁴Cu]**13**-Z-FK(DOTA)-AOMK. (Figure I-11).

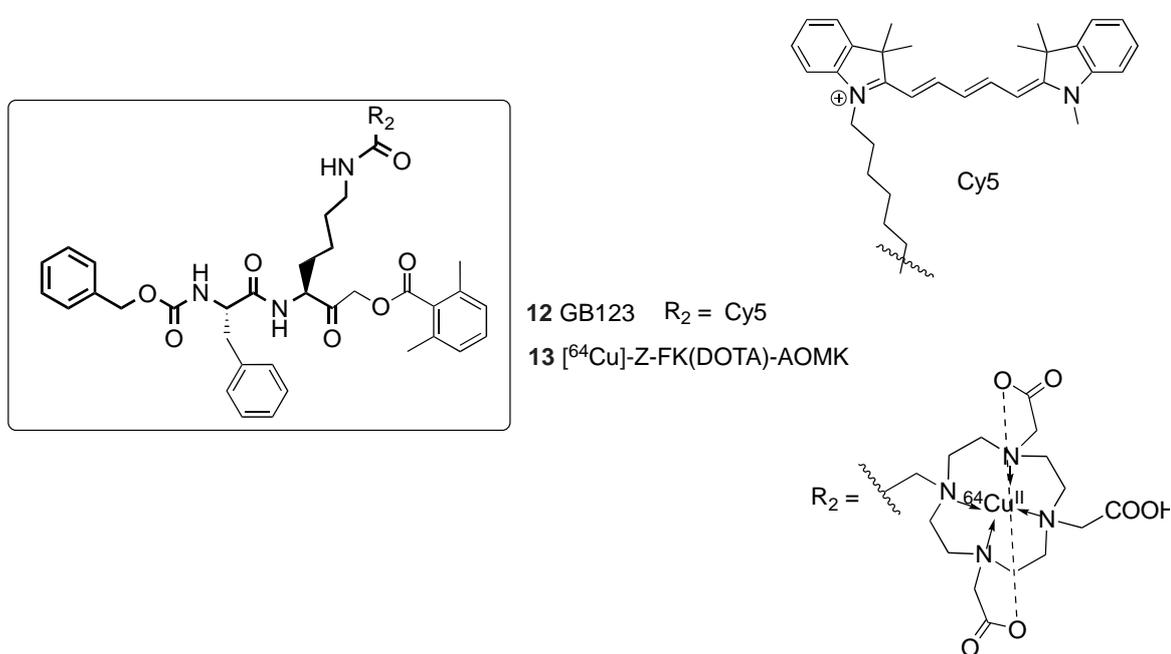


Figure I-11 : 1^{er} radiotracer métallique avec un motif acyloxymethylcétone par Ren et al.

Enfin, pour accéder à une sonde multimodale, comportant donc à la fois le marquage au cuivre-64 et le groupement fluorophore, le groupement protecteur Z (carboxybenzoyl) est remplacé par une phenylalanine portant le groupe chélatant DOTA qui se retrouve alors en position N-Terminale au lieu d'être sur la chaîne latérale de la Lysine, laquelle porte le fragment fluorophore comme illustré par [⁶⁴Cu]-GB170 **14**. (Figure I-12).

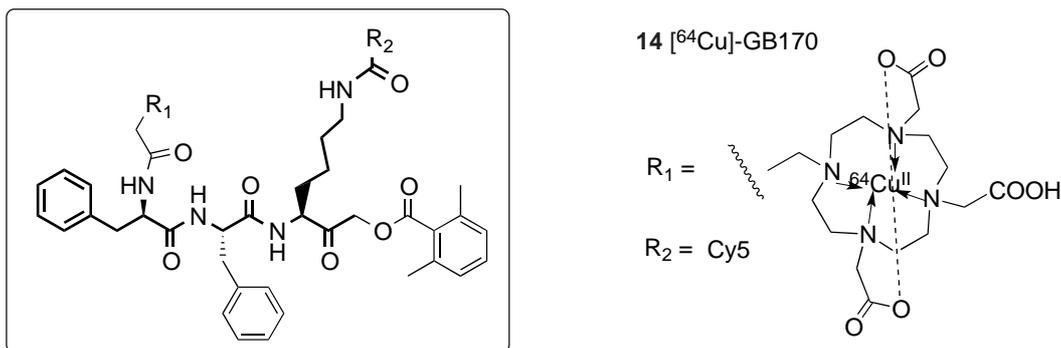


Figure I-12 : Sonde multimodale ^{64}Cu -GB170 par Ren et al.

Ces radiotraceurs sont obtenus avec une grande pureté radiochimique et une activité molaire entre 1.1 et 17.8 GBq/ μmol . La biodistribution est étudiée sur des souris portant des tumeurs greffées par voie sous-cutanée dérivées de la lignée cellulaire de cancer du sein humain MDA-MB-435 et de la lignée de myéloblastome murin C2C12/Ras transformée par oncogénèse. L'absorption 24h après l'injection de ^{64}Cu **14** est significativement plus élevée dans la tumeur C2C12/Ras ce qui corrobore une activité plus importante des cathepsines au sein de cette lignée cellulaire par rapport à celle de MDA-MB-435. La différence d'absorption est aussi repérée par les ratios tissu musculaire/tumeurs. En effet le radiotraceur a une faible absorption dans les tissus non-cancéreux excepté dans le foie et le rein. Ceci est lié à la décoordination du cuivre, illustrant dès lors l'atout de l'introduction d'un radioisotope par liaison covalente. D'après Ren et al. ^{64}Cu -GB123 ne serait donc pas optimale pour une application *in vivo*. Le taux d'absorption dans la tumeur C2C12/Ras de la sonde bimodale ^{64}Cu -GB170 **14** est à fois plus élevé et rapide que la première sonde ^{64}Cu -GB123 **12** avec un ratio tissu musculaire/tumeur de 13, 24h après l'injection. Cela peut s'expliquer par le caractère amphiphile conféré par le fluorophore Cy5 au radiotraceur. Les études de micro-TEP ont confirmé ces résultats.^{23,37}

Toujours à partir de la structure de GB123 **12** (Figure I-11), Withana et al. ont élaboré une nouvelle sonde bimodale BMV101-**15** (Figure I-13), pour l'imagerie optique et l'imagerie TEP. Celle-ci possède le même fluorophore proche infrarouge (NIRF) Cy5. Le marquage isotopique également métallique (^{64}Cu et ^{68}Ga) se fait également par un macrocycle chélatant de type NOTA.^{39,40} Elle cible les cathepsines B,S et L avec des résultats similaires à **12**. Son activité en imagerie a ensuite été testée sur un modèle de fibrose pulmonaire induite par la bléomycine. Le choix du cuivre-64 fut privilégié pour son temps de demi-vie (12,7 h) qui permet un suivi jusqu'à 24h après l'injection. Withana et al. observent une accumulation significative dans les poumons

des souris traité à la bléomycine par rapport aux souris témoins, confirmée par les ratios poumons/foie et poumon/tissu musculaire lors des études de biodistribution. L'analyse par SDS-PAGE du tissu pulmonaire a montré une augmentation des cathepsines actives principalement des cathepsines B et S.

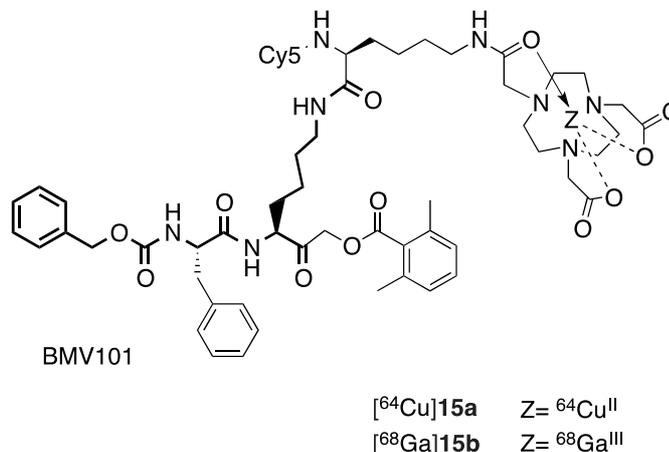


Figure I-13 : Sonde BMV101 marquée au ⁶⁴Cu et ⁶⁸Ga par Withana et al.

Par la suite, la sonde **BMV101-15b** (Figure I-13), a été utilisée pour une première étude d'imagerie chez l'homme. Dans ce cas, un marquage de la sonde au gallium-68 est préféré du fait de sa plus grande accessibilité et de son emploi courant pour des essais d'imagerie clinique.³⁹ L'efficacité de celle-ci fut testée sur le modèle discuté précédemment avec des résultats très similaires dont une augmentation du signal au niveau des poumons. Cependant sa courte demi-vie (68 min) impose une imagerie dans les heures qui suivent l'injection (2,5 heures). L'absorption dans les poumons des patients IPF était 3 fois plus importante avec des ratios poumon/ tissu musculaire élevé comparé au groupe de témoin. Toutefois les ratios signal/bruit sont faibles (<1), avec un maintien dans le flux sanguin important probablement du fait d'une forte activité des cathepsines dans le foie liée à une forte hydrophobie du composé.

1.4 Radiomarquage au Fluor-18

La première radiosynthèse d'une sonde marquée au Fluor-18 pour l'imagerie TEP ciblant les cathepsines remonte à 2013 par Löser *et al.* Un dérivé du chimiotype nitrile azapeptide [¹⁸F]16 (Figure I-14), ciblant les cathépsines L, S, K et B pour visualiser les cathepsines associées aux tumeurs.⁴¹ La présence des cathepsines dans le tissu néoplasique fut confirmée par immunohistochimie. La biodistribution *ex vivo* de [¹⁸F]16 fut étudiée ainsi que sa stabilité et sa pharmacocinétique *in vivo* chez la souris et le rat. Son élimination du sang est lente du fait de la formation de métabolites avec le glutathion, lesquels sont retenus dans les érythrocytes. Ainsi

approximativement 35% de la dose injectée était toujours détectable 1 heure après l'injection malgré cette biotransformation rapide. On observe une certaine accumulation au niveau de la tumeur car 2h après l'injection, le ratio tumeur/muscle déterminé par tomographie par émission de positons (TEP) dynamique est de plus de 3.^{23,41} La réactivité spécifique de ces dérivés en fait donc des marqueurs peu exploitables *in vivo* pour l'imagerie des cathepsines, et une sélectivité plus importante pour la Cathepsine S apparaît hautement désirable, et nécessite donc le développement de nouvelles sondes pour l'imagerie spécifique de de cette enzyme.

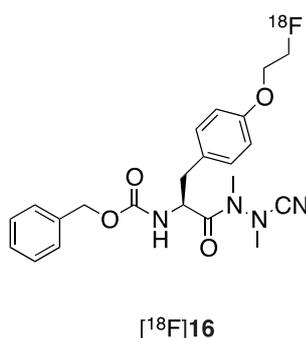


Figure I-14 : Sonde radiomarquée au ¹⁸F avec un motif nitrile azapeptide par Löser et al.

Ainsi en conclusion parmi les différents marquages possibles ce dernier au Fluor-18 nous semble le plus approprié pour la finalité de nos travaux ainsi que leurs futures applications au vu de son temps de demi-vie, et de sa désintégration.

IV/ Inhibiteurs de la cathepsine S

Avec les années, un certain nombre de types d'inhibiteurs endogènes et exogènes de la cathepsine S, ont été identifiés. Nous nous focaliserons ici sur les inhibiteurs synthétiques. Du fait du mécanisme d'action de la cathepsine S, les inhibiteurs compétitifs (*i.e.* interagissant avec le site actif de l'enzyme) auront des propriétés électrophiles permettant l'addition du thiol de la cystéine. En fonction de la nature de la liaison créée, l'inhibition pourra être réversible (cas d'une liaison sensible à l'hydrolyse), ou irréversible dans les cas où la réaction inverse n'est pas opérative dans les conditions du vivant, et donc que la liaison inhibiteur-enzyme est formée de manière irréversible.

On peut observer dans leurs structures des séquences peptidiques dérivées des substrats physiologiques de l'enzyme qui facilitent leurs reconnaissances et leurs positionnements au sein du site actif de l'enzyme permettant à la fonction électrophile d'interagir avec la triade catalytique. (Figure I-15).

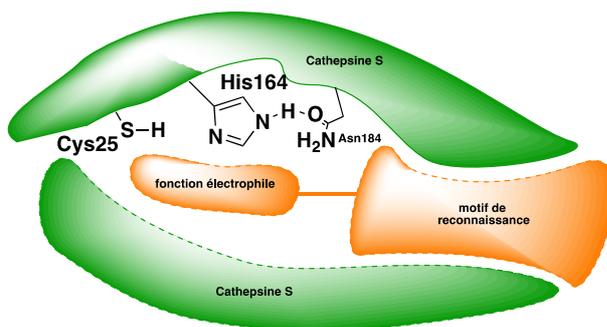


Figure I-15 : Représentation schématique du positionnement de l'inhibiteur dans la Cathepsine S

1. Inhibiteur réversible

1.1 Les aldéhydes

Des aldéhydes peptidiques comme les leupeptines, les chymostatines, l'antipaïne, l'élastinane ou la β -MAPI ont été isolés à partir de cultures de souches de Streptomyces et identifiés comme des inhibiteurs des protéases à cystéine et à sérine.

Comme illustré dans le schéma ci-dessous, le lien covalent formé avec l'enzyme produit un hémithioacétal tétraédrique ; la nature hydrolysable de ces hémithioacétals **17** font de ces aldéhydes peptidiques des inhibiteurs réversibles. (Schéma I-3)

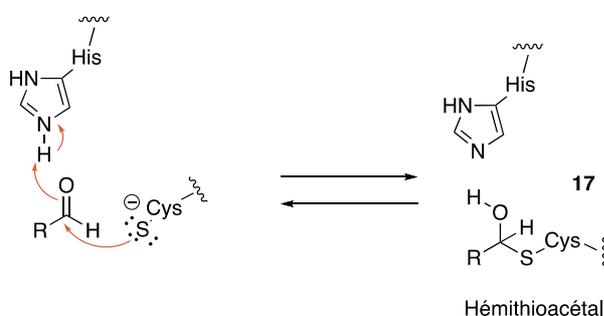


Schéma I-3 : Mécanisme de la formation d'hémithioacétal

Katunuma *et al.* ont publié en 1999 une série d'inhibiteurs CLIK de la cathepsine L et B. L'inhibiteur **18** qui possède une fonction aldéhyde s'est avéré spécifique de la cathepsine S à 100 nM *in vitro*. Un autre inhibiteur utilisé fréquemment pour l'inhibition spécifique de la cathepsine est le ZFL-COCHO **19** ; lui présente un K_i de 0,2 nM vis-à-vis de la cathepsine S.⁴² (Figure I-16)

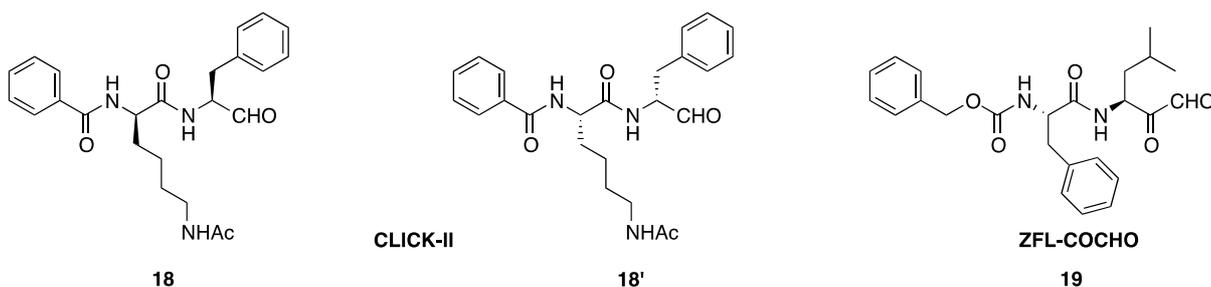


Figure I-16 : Exemples d'inhibiteurs réversible de la Cat S avec une fonction aldéhyde

1.2 Les nitriles

Les inhibiteurs contenant un groupe nitrile ont été largement reconnus comme covalents et réversibles. Le résidu nitrile piège le soufre et forme une liaison thioimide **20** qui peut par la suite s'hydrolyser libérant l'enzyme à nouveau.⁴³(Schéma I-4)

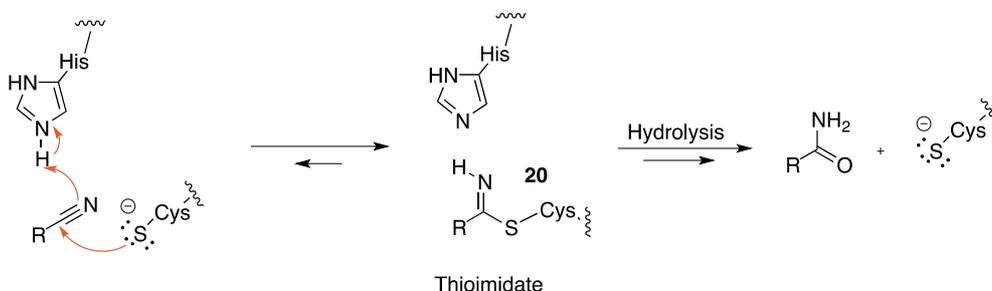


Schéma I-4 : Mécanisme de la formation du thioimide

L'odanacatib (MK-0674) **21** est l'un des premiers inhibiteurs de cette catégorie à avoir été en phase II des essais cliniques, cependant il n'était pas spécifique aux protéases à cystéine mais inhibait également les protéases à sérine. Ce fut toute fois un point de départ pour le développement d'un grand nombre d'inhibiteurs dont le L-873724 **22** et **23**. Encore récemment Lemke *et al.* ont publié une série de nouveaux analogues de N-sulfonyl dipeptide nitriles dont le **24** qui possède une constante d'affinité de 35,5 nM pour la cathepsine S trente fois supérieure à celle pour les autres cathepsines.⁴⁴ Des inhibiteurs spécifiques de la cathepsine S comportant une fonction nitrile ont également été développés par Boehringer Ingelheim et ont montré des activités au niveau nanomolaire avec une IC₅₀ de 7nM pour BI-1124 **25** et de 17nM pour BI-1915 **26**. (Figure I-17)

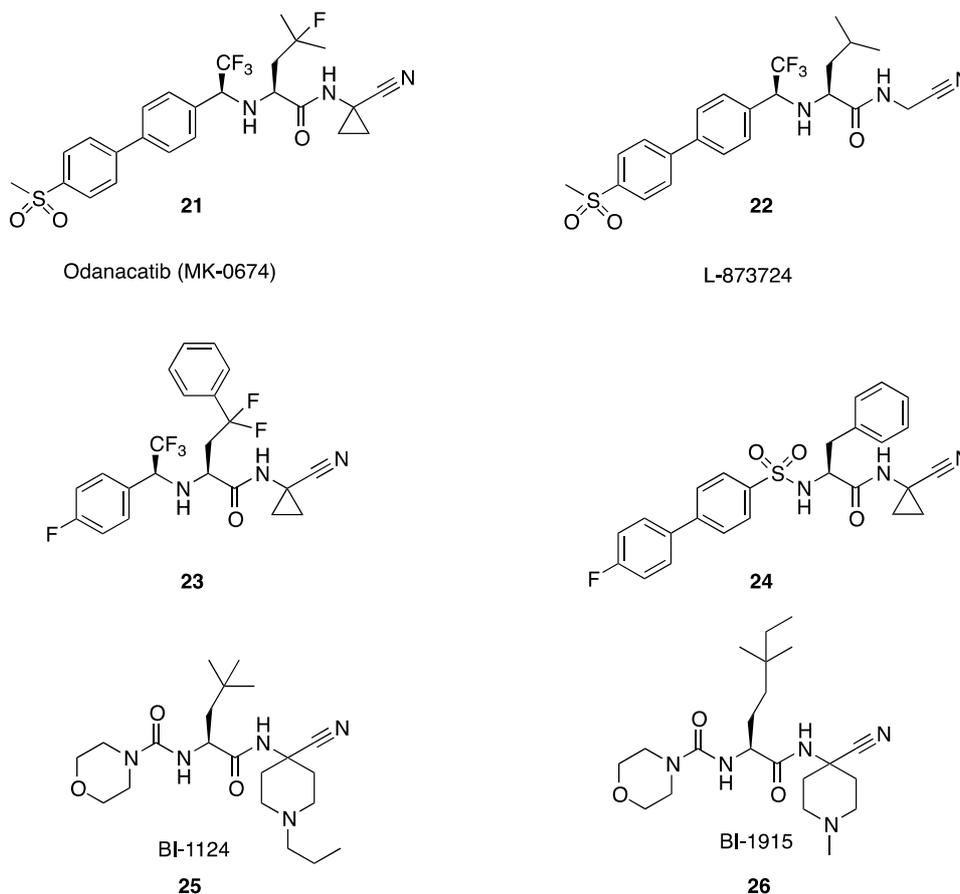


Figure I-17 : Exemples d'inhibiteurs réversible de la Cat S avec une fonction nitrile

2. Inhibiteurs irréversibles

Si divers inhibiteurs irréversibles ont montré une certaine efficacité sur diverses protéases à cystéines parmi lesquelles on peut lister les halométhyl cétones, les diazométhyl cétones et les époxy succinates,⁴³ il n'apparaît pas d'inhibiteur spécifique de la cathepsine S comportant ces fonctionnalités, et c'est dans la catégorie des aminovinylsulfones que l'on trouve un des inhibiteurs de référence, sélectif de la Cathepsine S, le LHVS.

2.1 Les aminovinylsulfones

Les accepteurs de Michaël représentent une autre fonction électrophile pouvant réagir avec la cystéine 25 de la Cathepsine S. Parmi les diverses structures envisageables, les vinylsulfones présentent des atouts importants. En effet, elles comportent une insaturation polarisée mais relativement inerte et le groupement sulfone apte à interagir au sein du site actif par liaison hydrogène.⁴⁵

La réactivité au sein du site actif est une réaction de Michaël entre le soufre de la cystéine 25 de la Cathepsine S et l'insaturation de la sulfone **27**, laquelle interagit

avec l'imidazolium issu de la protonation de l'histidine 164 pour conduire au produit de Michael attendu **28**.⁴⁶ (Schéma I-5)

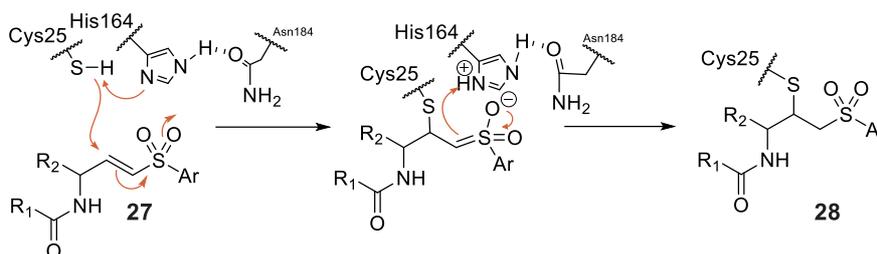


Schéma I-5 : Mécanisme de l'addition de Michaël entre la cystéine et la vinylsulfone

Le LHVS **A** (Leucine Homophenyl VinylSulfone) appartient à cette famille d'inhibiteur à squelette aminovinylsulfone et comporte comme fragment de reconnaissance une leucine (L) modifiée associée au fragment aminé d'une homophénylalanine (H) présentant une terminaison vinylsulfone (VS). (Figure I-17)

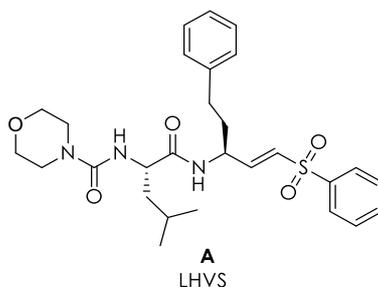


Figure I-17 : Structure du LHVS

La structure du LHVS présente de nombreuses possibilités d'introduction d'un fragment fluoré. Nous nous sommes donc intéressés aux diverses approches synthétiques et aux compatibilités des méthodes avec la formation d'analogues fluorés et la possibilité de préparer des précurseurs de radiomarquage au fluor-18. Cela nous a conduit à explorer en détails l'ensemble des aspects synthétiques avec une attention particulière au contrôle stéréochimique.

V/ Aminovinylsulfone : Approches synthétiques

Comme nous venons de le constater le motif aminovinylsulfone est important pour la synthèse du LHVS, inhibiteur pouvant conduire à des sondes pour l'imagerie de la plaque instable. Il apparaît dès lors essentiel d'explorer les approches synthétiques disponibles pour accéder à ce squelette de manière stéréocontrôlée. On distingue trois voies de synthèse connues. La première et la principale par une réaction d'Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) à partir d'un aminoaldéhyde. La seconde par fonctionnalisation après ouverture d'un époxyde terminal. Enfin la

dernière possibilité par une réaction de métathèse croisée à partir d'un alcène. (Schéma I-6)

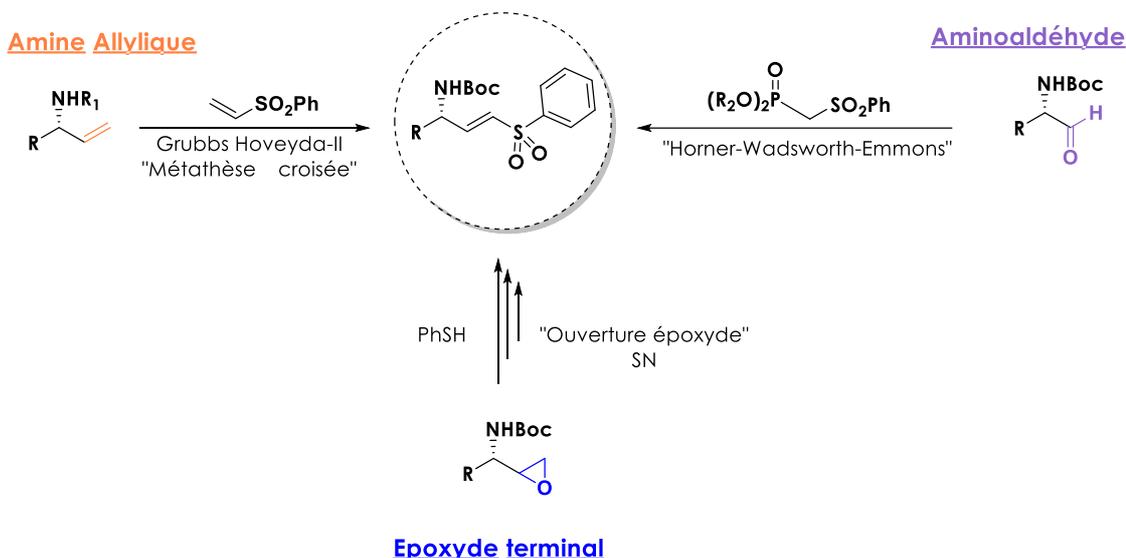


Schéma I-6 : Différentes voies de synthèses identifiées du motif aminovinylsulfone

Nous allons dans un premier temps détailler de manière approfondie les approches conduisant à des amino-aldéhydes substrats de la réaction d'HWE.

3. À partir d'aldéhyde

3.1 Réaction d'oléfination

3.1.1 Réaction de Wittig

La réaction d'oléfination correspond à la formation d'une double liaison carbone-carbone. Elle a depuis toujours suscité l'intérêt des chimistes organiciens⁴⁷. En effet l'introduction régio et stéréosélective d'une double liaison conduit à une molécule plus complexe et représente un défi et une source de diversité potentielle⁴⁸. La première réaction d'oléfination entre un carbonyle et un sel quaternaire de phosphonium réagissant via un intermédiaire d'ylure de phosphore fut publiée par Wittig en 1954. Elle a été décrite entre la benzophénone **29** et l'ylure de phosphore méthylenetriphenylphosphorane **30**. (Schéma I-7)⁴⁹

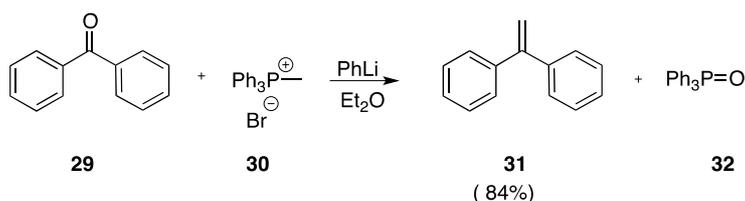


Schéma 1-7 : 1^{ère} Réaction d'oléfination entre une cétone et un sel de phosphonium

Un grand nombre d'études se sont intéressées à ces réactions pour déterminer leurs mécanismes et ainsi expliquer les différentes stéréosélectivités observées.

Les différents mécanismes envisagés depuis ces premiers travaux ont été présentés de manière extensive par Byrne et Gilheany.⁵⁰ Je ne mentionnerai ici que ceux dont les intermédiaires ont été isolés ou observés par spectroscopie.

Dans un premier temps, Wittig et Schöllkopf ont proposé comme mécanisme le passage par un intermédiaire zwitterionique type « bétaine » **35** lors de l'addition de l'ylure de phosphore sur le carbonyle avant sa cyclisation conduisant à l'oxaphosphetane **36**, celui-ci s'éliminant pour donner l'alcène désiré **37** ainsi que de l'oxyde de phosphine **38** (Schéma I-8).⁵¹

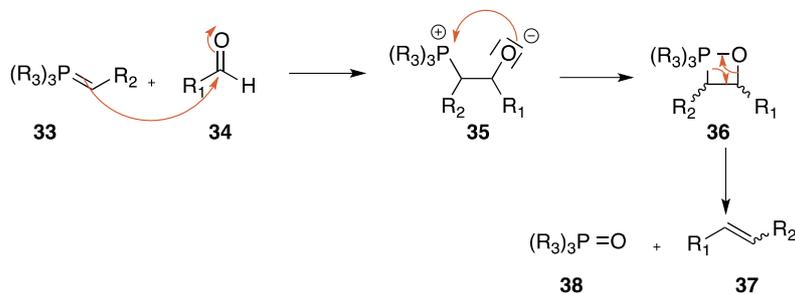


Schéma I-8 : Mécanisme proposé par Wittig et Schöllkopf

En effet, différentes observations expérimentales, telles que la formation d'adduits stables entre la forme ouverte **35** et les sels d'halogénures de lithium ainsi que celle de sels de beta-hydroxyphosphonium (-HPS) par traitement acide à basse température soutenaient l'implication du premier intermédiaire.^{52,53}

Aujourd'hui, le modèle admis pour la réaction, sans sels de lithium, est celui proposé par Vedejs dans les années 1980 dans lequel l'intermédiaire réactionnel est l'oxaphosphetane **36** issu d'une cycloaddition [2+2] suivi de l'élimination stéréospécifique syn de l'oxyde de phosphine **38**. (Schéma I-9). L'oxaphosphetane **36** est publié pour la première fois en 1973 par Vedejs et son équipe comme étant le seul intermédiaire observable en RMN du ³¹P lors de réaction classique entre un ylure de

phosphore non stabilisé et un aldéhyde ou une cétone.⁵⁴ Cet intermédiaire fut étudié par la suite pour différents substrats et identifié comme intermédiaire principal.

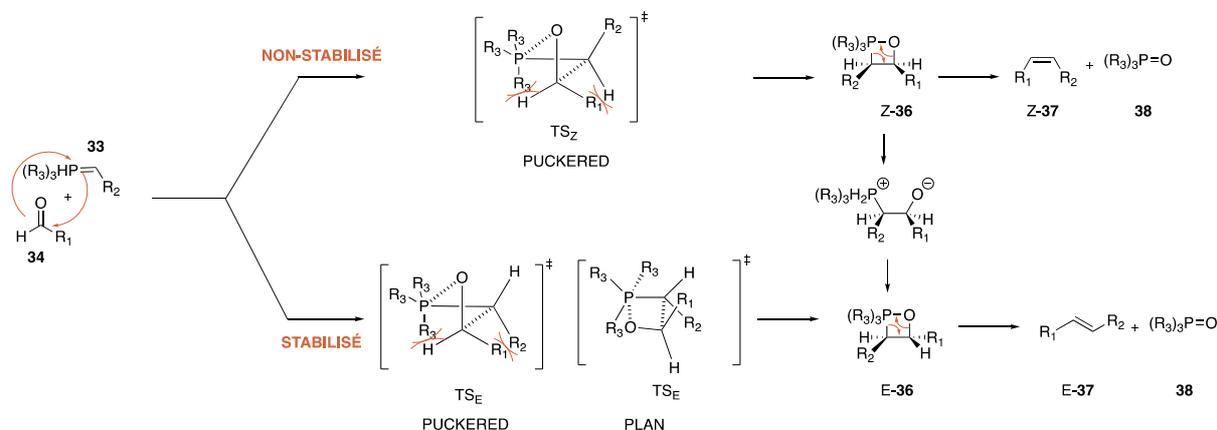


Schéma I-9 : Mécanisme aujourd'hui admis proposé par Vedejs et al.

La réaction se déroule sous contrôle cinétique, le ratio Z/E de l'alcène dépendant de l'addition initiale. Ainsi, les différents substituants se disposent pour limiter les interactions stériques et électroniques lors de l'état de transition. Les ylures de phosphore non-stabilisés vont ainsi favoriser l'obtention de l'oxaphosphétane syn conduisant à l'alcène Z alors que les ylures de phosphore stabilisés par un groupement électroattracteur favoriseront quant à eux l'obtention de l'oxaphosphétane anti conduisant à l'alcène E. Ces deux situations représentant des cas « extrêmes », il est bien entendu possible d'obtenir un mélange des deux isomères. (Schéma I-9).^{54,55}

3.1.2 Réaction d'HWE

À la suite des premiers travaux de Wittig, Horner a adapté cette réaction en modifiant l'espèce phosphoré mise en jeu. Il publie en 1958 la réaction d'oléfination entre la benzophénone et l'oxyde de méthyl diphenylphosphine. L'intermédiaire réactionnel obtenu après déprotonation à l'amidure de sodium est alors le carbanion d'oxyde de phosphine au lieu de l'ylure de phosphonium.^{56,57}

La réaction fut par la suite étudiée par Wadsworth et Emmons qui en ont établi certaines limites. Une nouvelle modification fait suite à leurs conclusions : l'oxyde d'alkyl ou d'aryl phosphine sera alors remplacé par un phosphonate, réactif des plus couramment utilisé aujourd'hui pour la synthèse sélective de doubles liaisons. Ils publient alors la réaction d'oléfination entre la cyclohexanone et le triéthylphosphonoacétate **39**. L'intermédiaire réactionnel est cette fois-ci le carbanion de phosphonate stabilisé. La réaction est connue sous le nom de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) (Schéma I-10).⁵⁸

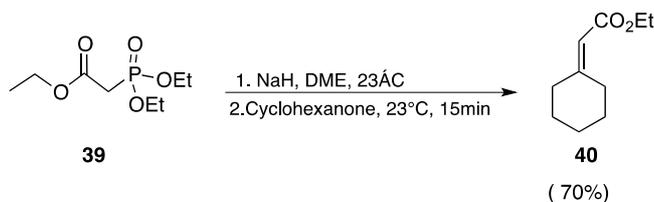


Schéma 1-10 : Réaction de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE)

Le mécanisme de la réaction est similaire à celui de Wittig, la déprotonation du phosphonate **41** par l'hydrure de sodium ou un alcoolate permet d'obtenir un anion de type énolate qui va s'additionner sur le carbonyle donnant la encore un intermédiaire oxaphosphetane **Z-43** ou **E-43** avant de s'éliminer pour donner respectivement l'alcène **Z-44** ou **E-44**. La stéréochimie est alors majoritairement E. (Schéma I-11).

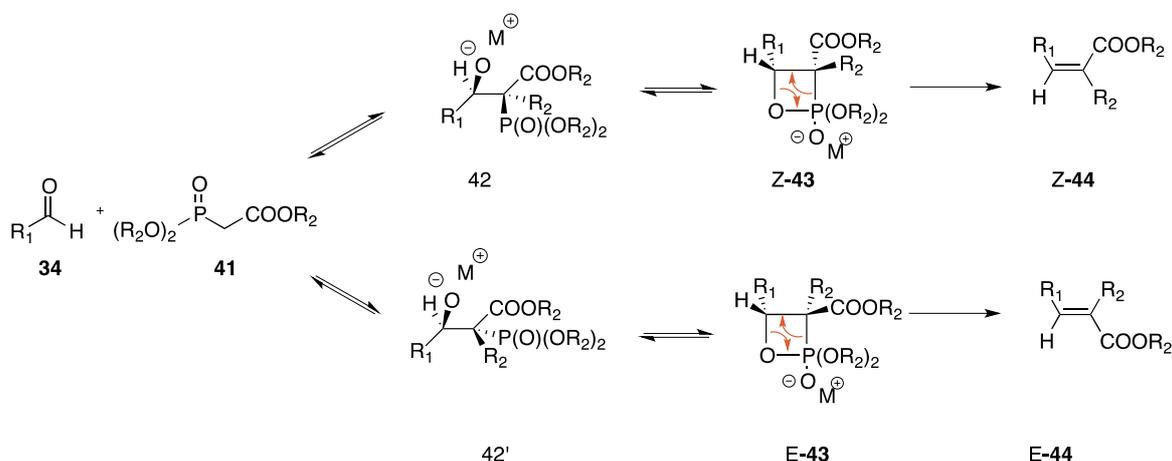


Schéma I-11 : Mécanisme de la réaction d'Horner-Wadsworth-Emmons (HWE)

Corey *et al.* ont montré que l'élimination n'a lieu qu'en présence d'un groupement électroattracteur qui stabilise le carbanion. En effet les beta-hydroxyphosphonate **45** et **46** sont stables en présence d'un groupement alkyle ou d'un hydrogène. (Figure I-18).⁵⁹

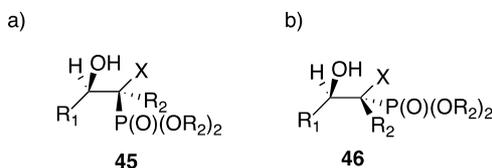


Figure I-18 : Représentation des beta-hydroxyphosphonate

Cette voie de synthèse est donc pour tous les avantages décrits précédemment la plus fréquemment rencontrée dans la littérature pour la synthèse d'inhibiteur possédant un motif aminovinylsulfone **49** à partir des dialkyl((phenylsulfonyl)methyl)phosphonates **48** et d'aldéhyde α -aminé chiraux **47**, dont nous allons maintenant détailler les différentes voie d'accès. (Schéma I-12).

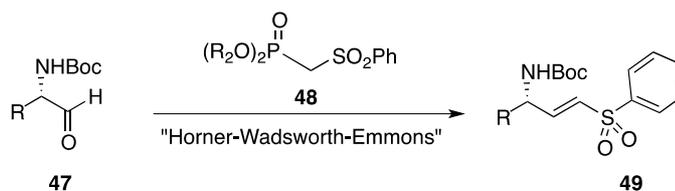


Schéma I-12 : Synthèse d'aminovinylsulfone par réaction d'HWE

3.2 Méthodes d'accès aux aldéhydes α -aminé chiraux

On retrouve diverses voies de synthèse des aldéhydes α -aminés chiraux à partir des acides α -aminés chiraux correspondants. La première correspond à une réduction à basse température des acides aminés activés sous forme d'ester, d'acyl ou d'amide de Weinreb. La seconde est réalisée par une réduction complète de l'acide aminé en alcool terminal avant un réoxydation contrôlée en aldéhyde. Une troisième voie de synthèse à vue le jour plus récemment en organocatalyse celle-ci consiste en une α -fonctionnalisation d'aldéhyde.^{60,61} (Schéma I-13) Ces diverses approches sont présentées ci-dessous dans un ordre chronologique.

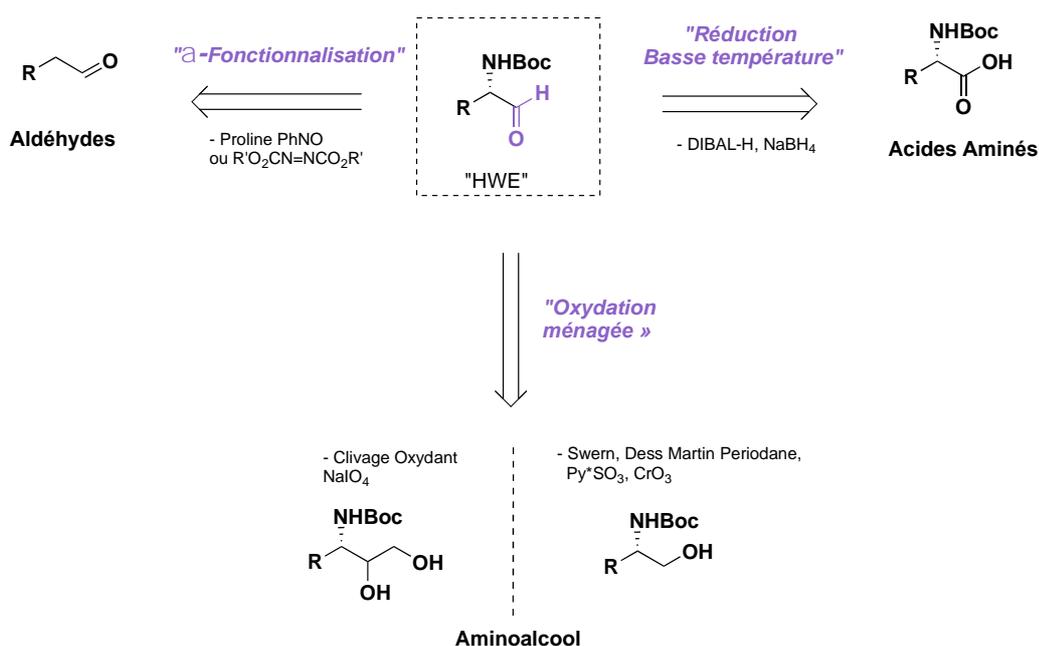


Schéma I-13 : Voies rétrosynthétiques des aminoaldéhydes chiraux décrites dans la littérature

3.2.1 Réduction à partir des acides aminés chiraux

Les premiers travaux correspondent à la synthèse d'aldéhydes α -aminés à partir des acides α -aminés par réduction du groupement carboxylate à basse température. Un grand nombre de dérivés carboxyliques ainsi que de groupements protecteurs ont été testés. Le principal enjeu de ces réactions est d'éviter

l'épimérisation du centre stéréogène particulièrement labile en milieu acide et basique.

a) Via un anhydride

Yamada avait décrit en 1972, la réduction des anhydrides mixtes **51** en aldéhydes **52** par hydrogénation catalysée au Pd/C. Le meilleur rendement obtenu pour la réduction de la N-acétyl-L-alanine **50** est de 81% après 10h de réaction à 0°C en présence de chloroformiate d'éthyle et de triéthylamine. On retrouve l'alcool terminal **53** en produit secondaire dans de faibles proportions. Toutefois, des problèmes de reproductibilité des rendements sont apparents et une racémisation quasi-totale du produit est observée avec une pureté optique obtenue se limitant à 10%, illustrant dès lors la forte propension de ces aldéhydes à l'épimérisation.⁶² (Schéma I-14)

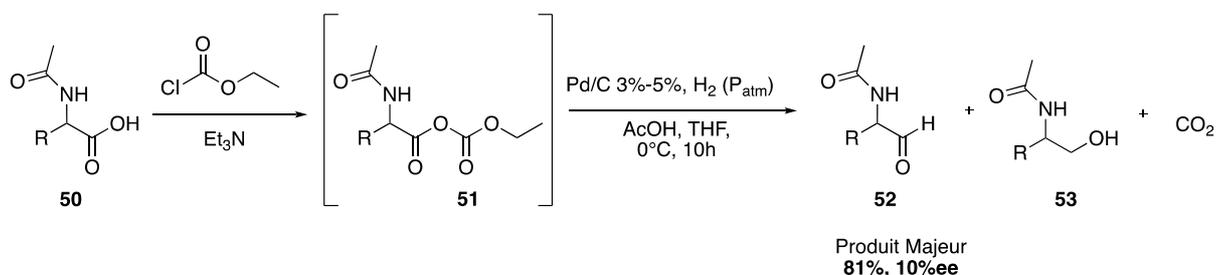


Schéma I-14 : Réduction d'anhydrides mixtes par hydrogénation catalysée au Pd/C Yamada et al.

b) Via un chlorure d'acyle

Antérieurement, et selon un mode similaire, a été décrite la réduction de Rosenmund-Zetsche catalysée par le catalyseur de Lindlar de chlorures d'acyle **54** obtenus après protection d'acides α-aminés par un phthaloyle. Les différents aldéhydes **55** sont obtenus avec de bons rendements et un pouvoir rotatoire inchangé. Toutefois la déprotection nécessite l'utilisation d'hydrate d'hydrazine qui peut poser un problème avec la fonction aldéhyde qui est alors protégée sous forme d'acétal. (Schéma I-15)^{63,64}

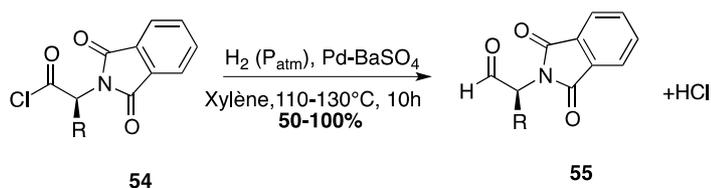
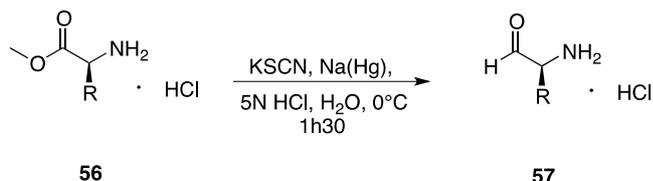


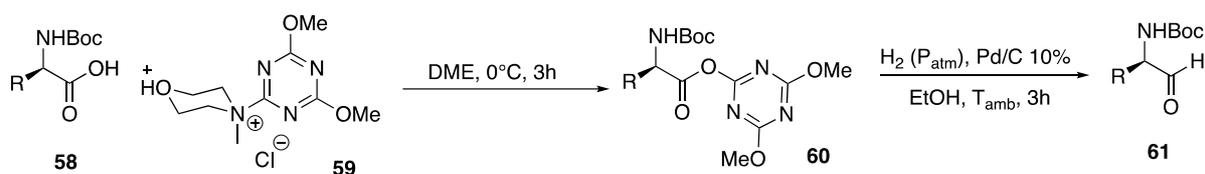
Schéma I-15 : Réduction de Rosenmund-Zetsche de chlorure d'acyle

c) Via un ester

L'une des premières méthodes utilisées pour synthétiser des aldéhydes α -aminés chiraux est la réduction d'ester méthylique par un amalgame de sodium en milieu acide, décrite simultanément par Neuberg et Fischer en 1908 à partir de la glycine. Elle fut par la suite appliquée à de nombreux acides α -aminés notamment par Akabori, Bullerwell et Lawson.^{65,66} (Schéma I-16). Le contrôle du centre chiral n'est cependant pas rapporté, et l'emploi d'amalgame de sodium reste délicat.

**Schéma I-16 : Réduction d'ester méthylique à l'amalgame de sodium par Neuberg et Fischer**

Le choix judicieux du substituent de l'ester a plus récemment permis d'adapter les méthodes d'hydrogénation, précédemment présentées pour la réduction d'anhydride et de chlorure d'acyle, à la réduction d'ester. L'acide α -aminé est transformé en ester de 4,6-diméthoxy[1,3,5]triazine **60** par substitution nucléophile sur **59**. L'hydrogénation de l'ester **60** en présence de palladium sur charbon (10%) dans l'éthanol conduit ensuite à l'aldéhyde **61** (Schéma I-17). La mesure des pouvoirs rotatoires semble indiquer une absence de racémisation de l'aldéhyde. Néanmoins il apparaît qu'un contrôle précis du temps de réaction est requis pour éviter la surréduction de l'aldéhyde en alcool primaire.⁶⁷

**Schéma I-17 : Réduction de l'ester de 4,6-diméthoxy[1,3,5]triazine par hydrogénation catalysée au Pd/C**

Zakharkin a décrit dans les années soixante, la réduction d'acide carboxylique par l'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAL-H) dans le n-hexane ou le toluène à -70°C avec de bons rendements.⁶⁸ Cette méthode fut employée en 1975 par Ito pour la synthèse d'aldéhydes α -aminés **63** à partir des acides α -aminés protégés par un groupement carbobenzyle **62**. Les produits sont obtenus avec des rendements moyens entre 21 et 68%. (Schéma I-18) Ils s'avèrent cependant difficiles à purifier car la réduction n'est pas sélective et conduit à un mélange de l'aldéhyde et de l'alcool ;

solution de le THF à 1,5M dans l'eau doit être contrôlée pour éviter toute épimérisation.⁷² (Schéma I-20)

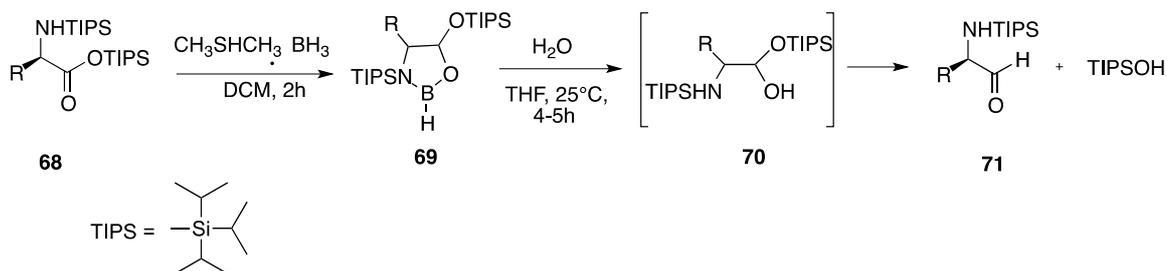


Schéma I-20 : Hydrolyse d'oxazaborolidine

d) Via un acyl-pyrazole

Dans les années 60 Ried et Pfaender ont décrit une méthode d'accès aux aldéhydes chiraux à partir des acides aminés protégés par une fonction tosylo par réduction au LiAlH_4 des N-acyl 3,5-diméthylpyrazoles correspondants.⁷³

Cette méthode fut reprise en 1977 par Umeza et son équipe pour la synthèse d'analogue de la Bestatin, un inhibiteur de l'aminopeptidase B produit par les bactéries actinomycètes. Une fois les acides α -aminés protégés par un groupement Cbz **72**, les N-acyl 3,5-Diméthylpyrazoles **74** sont obtenus après 16h dans le chloroforme à 0°C en présence de DCC et de 3,5-diméthylpyrazole. Les rendements pour l'ensemble des acides α -aminés sont compris entre 60 et 94%. Une précédente tentative avec du pyrazole simple a également été tentée avec la phenylalanine et a obtenu un bon rendement de 83%. Ensuite, la réduction à lieu à -20°C dans le THF pendant une 1h, les aldéhydes α -aminés **75** sont utilisés directement après extraction.^{74,75} (Schéma I-21) La suite de la synthèse à partir de la phenylalanine conduit à l'AHPA, un intermédiaire de synthèse de la Bestatin qui permet de conclure à l'absence d'épimérisation avec l'obtention d'un produit décrit comme similaire au produit naturel avec la même rotation optique $[\alpha]_D^{22}$ de $+27.7^\circ$ (c 1.0, 1N HCl) contre $27,9^\circ$ dans la littérature dans laquelle le produit est issu d'une héli-synthèse.

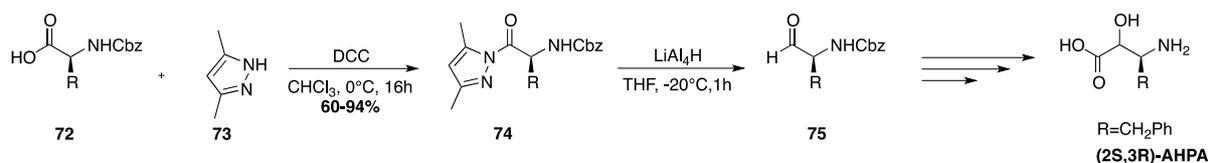


Schéma I-21 : Réduction d'acyle-pyrazole par LiAlH_4 Umeza et al.

e) Via un acyl imidazole

Une des premières méthodes décrite pour la synthèse d'aldéhyde α -aminé via un acyl imidazole est la réduction par LiAlH_4 à -20°C pendant 40 minutes dans le THF par Shimizu en 1972. Cependant le produit obtenu présente une pureté optique très faible de l'ordre de de 8%.^{76,77}

L'utilisation d'un réducteur alternatif tel que le DIBAL-H fut décrit par Strammer en 1979. Les aldéhydes sont obtenus par réduction d'acyl-imidazole au DIBAL-H à -40°C dans le toluène ou le THF. Une nouvelle fois en raison de la purification sur colonne la pureté optique des produits est dans le meilleur des cas seulement de 60%.⁷⁶

Cette méthode a été cependant optimisée en 2015 par Brainbauer.⁶⁰ (Schéma I-22) Il s'est en particulier avéré que la qualité des réactifs utilisés est primordiale, notamment le carbonyl diimidazole (CDI) qui doit être recristallisé dans le THF sec. De plus, un traitement rapide de la réaction, évitant les milieux trop acides ou basiques est également nécessaire pour éviter l'épimérisation. Pour cela, l'emploi d'une solution d'acide tartrique permet d'être 10 fois plus rapide qu'avec un sel de Rochelle classiquement utilisé. Elle conduit aux aldéhydes **77** avec d'excellent excès énantiomériques supérieurs à 97% calculé en GC ou HPLC chirale et de très bons rendements.

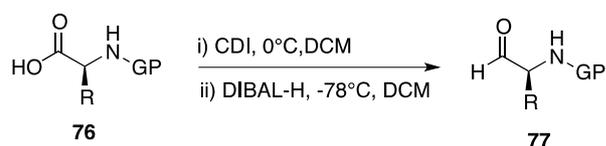


Schéma I-22 : Réduction d'acyl imidazole au DIBAL-H Brainbauer et al.

De manière intéressante, les produits sont obtenus avec une bonne pureté sans purification supplémentaire. Cette méthode reste néanmoins moins efficace pour certains substrats tels que la phénylglycine pour laquelle l'ee n'est que de 82%.⁶⁰

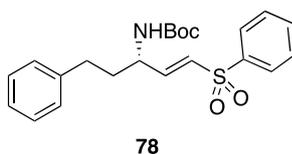


Figure I-19

Récemment Zhang et son équipe l'ont mise en oeuvre pour accéder à l' amino vinyl sulfone **78** (Figure I-19), là encore par HWE avec l'aldéhyde **81** obtenu à partir

de l'homophénylalanine protégée **79**. Cet aldéhyde est ici synthétisé par la réduction au DIBAL-H de l'intermédiaire acyl-imidazole **80** à -78°C dans le DCM.⁷⁸ (Schéma I-23)

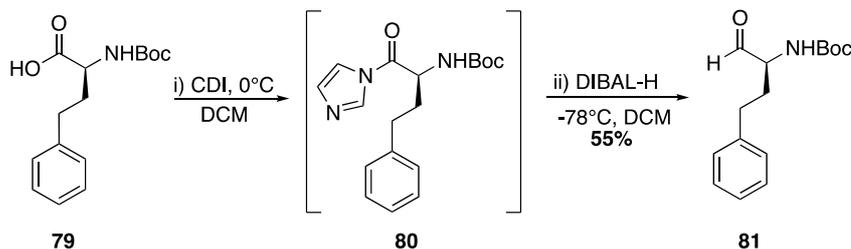
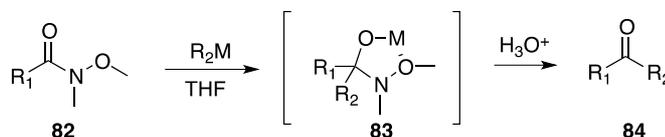


Schéma I-23 : Synthèse de l'aldéhyde à partir de l'homophénylalanine protégée Zhang et al.

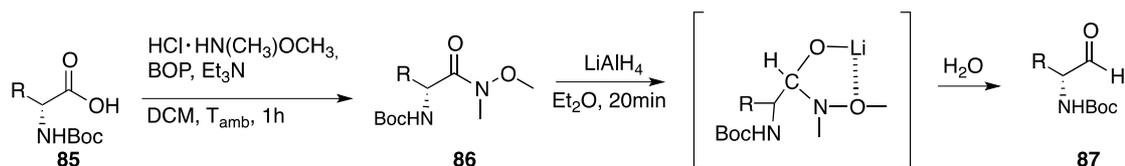
f) Via un amide de Weinreb

Weinreb décrit en 1981 que de même que la synthèse de cétone peut être effectuée par l'addition d'organomagnésien ou d'organolithien sur des N-méthoxy-N-méthyl amides **82**, des aldéhydes peuvent être obtenus par réduction de ces amides par un hydrure. La stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique **83** par chélation du métal permet d'éviter la sur-addition et l'obtention d'alcool tertiaire dans un cas et la sur-réduction en alcool primaire dans l'autre⁷⁹ (Schéma I-24)



Schema I-24 : Synthèse de cétone par addition d'organomagnésien sur des N-méthoxy-N-méthyl amides Weinreb et al.

Sur la base de ces travaux, Fehrentz et Castro ont adapté cette réaction à la synthèse d' α -(*tert*-Butoxycarbonylamino)-aldéhydes **87**. Les acides α -aminés une fois protégés d'un groupement Boc **85** sont transformés en amide de Weinreb **86** à l'aide du chlorhydrate d'O-N-diméthylhydroxylamine en présence de triéthylamine et d'un agent de couplage le benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP). Enfin ces amides sont réduits en aldéhyde par action du LAH. (Schéma I-25) Les différents produits sont obtenus sans purification supplémentaire avec très peu d'impuretés, de bon rendement supérieur à 70% et montrent une rotation optique non nulle.⁸⁰



R= chaîne latérale aa

Schéma I-25 : Synthèse d'α-(tert-Butoxycarbonylamino)-aldéhydes via une amide de Weinreb par Fehrentz et Castro

Comme vu précédemment, Palmer et son équipe publient en 1995 un certain nombre d'analogues d'un nouveau type d'inhibiteurs pseudopeptidiques des protéases à cystéine comportant une fonction vinylsulfone comme accepteur de Michael dont le LHVS **A** (Figure I-20).

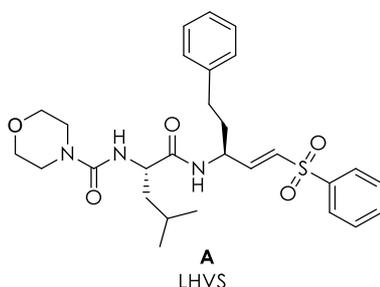
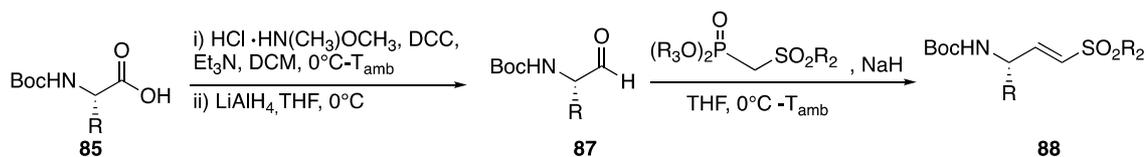


Figure I-20 : Représentation de la Morpholioleucine homophényl vinylsulfone (LHVS)

L'α-amino-vinylsulfone est alors obtenue à partir des acides α-aminés chiraux commerciaux. Cette approche, qui est encore la plus décrite à ce jour, s'appuie sur l'obtention d'α-(tert-Butoxycarbonylamino)-aldéhydes **87** décrit par Fehrentz et Castro⁸⁰. Le couplage avec l'amine de Weinreb se fait toutefois en présence de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et non du BOP. L'aldéhyde est alors transformé par oléfination d'Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) en vinyl sulfone **88** en réagissant avec le diethyl((phenylsulfonyl)méthyl) phosphonate avant d'être déprotégée pour conduire aux sels d'ammonium. (Schéma I-26)⁴⁵



R= chaîne latérale aa

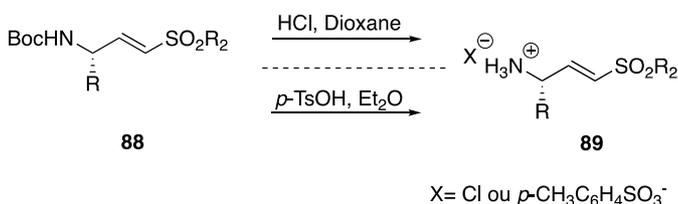


Schéma I-26 : Synthèse d'aminovinylsulfone par réaction d'HWE par par Fehrentz et Castro

L'équipe de Verdoes a ainsi exploitée en 2021 l'approche synthétique de Palmer pour préparer à partir de l'homophénylalanine, l'aminovinyl sulfone **89** dérivant de **90** en introduisant une fonction azoture sur le fragment aromatique de la phénylvinylsulfone.⁸¹ (Figure I-21)

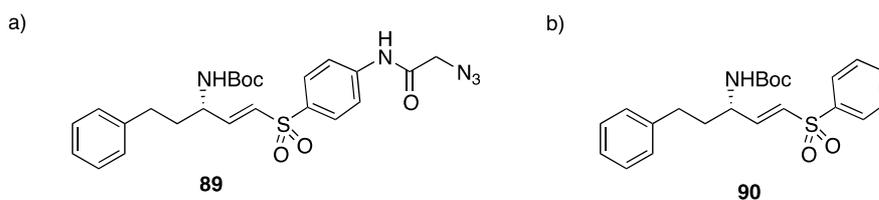


Figure I-21 : Aminovinylsulfone synthétisée par Verdoes et al. en 2021

3.2.2 Oxydation ménagée d'alcool

Une fois l'acide aminé réduit, le plus souvent par un dérivé de bore l'emploi d'une large gamme de méthodes d'oxydation est envisageable pour l'oxydation en aldéhyde.

a) Oxydations par des réactifs à base de chrome

L'oxydation de Collins par un complexe de trioxyde de chrome et de pyridine dans le DCM permet l'oxydation sélective des alcools primaires **92** en aldéhydes **93**.⁸² Une contrainte majeure de cette approche est la nécessité de conditions anhydres pour éviter la sur-oxydation (délicat car le complexe est particulièrement hygroscopique). De plus cette réaction engendre des dérivés pyrophoriques. Ce problème peut être contourné par la préparation *in situ* du complexe en solution dans le DCM par l'addition de trioxyde de chrome sur deux équivalents de pyridine.⁸³ Rittle et son équipe ont utilisé ces conditions pour la synthèse de la Statin en 1982. Un excès

énantiomérique supérieur à 99,5% pour l'aldéhyde a été mesuré après dérivation par une méthode chromatographique utilisant un éluant chiral.⁸⁴ (Schéma I-27)

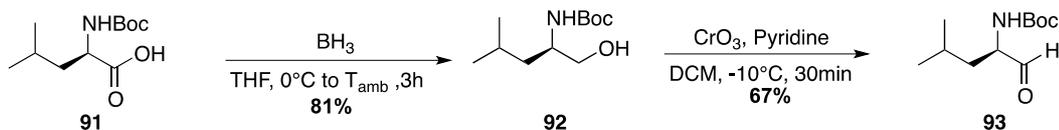


Schéma I-27 : Oxydation de Collins à partir de la leucine protégée Rittle et al..

Luly élargira son utilisation à la synthèse d'aldéhyde α -aminés **95**, utilisés directement comme réactif dans une réaction d'oléfinatation de Wittig, mais avec des rendements variables.⁷⁰ (Schéma I-28)

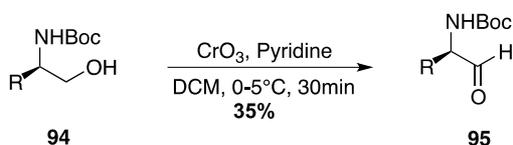


Schéma I-28 : Application de l'oxydation de Collins à la synthèse d'acide α -aminés par Luly et al.

L'emploi de chlorochromate de pyridinium (PCC) développé par Corey et Suggs, en 1975, de par son caractère légèrement acide est limité lors de l'emploi avec des substrats sensibles. Le dichromate de pyridinium (PDC) ou réactif de Cornforth s'avère plus compatible comme démontré par Corey et Schmitt,⁸⁵ et par Kanellis. Dans ce dernier cas, il a en particulier été montré que le groupement protecteur n'est pas affecté par le traitement au PDC.⁸⁶(Schéma I-29)

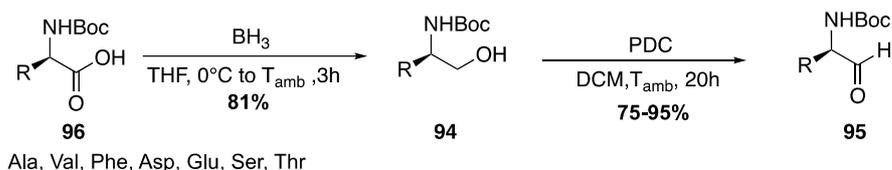


Schéma I-29 : Oxydation au dichromate de pyridinium par Corey et Schmitt

b) Oxydations par des dérivés du soufre

- Oxyde de sulfure

Le complexe trioxyde de soufre -pyridine (oxydation de Parikh-Doering) permet également de synthétiser des aldéhydes α -aminés. Celui-ci est utilisé en présence de DMSO dans le DCM.⁸⁷ Il a été mis en œuvre par Hamada et Shaoiri pour accéder à un grand nombre d'acides α -aminés protégés avec des rendements bons à excellents et en observant peu de racémisation des produits.⁸⁸ (Schéma I-30)

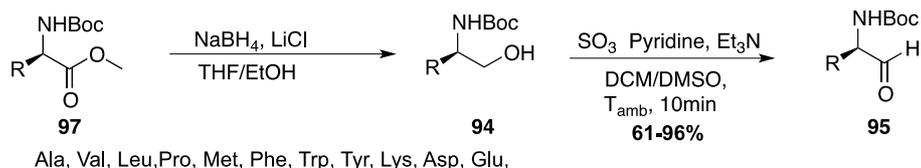


Schéma I-30 : Oxydation de Parick-Doering par le complexe de trioxyde de soufre-pyridine par Hamada et Shaohi.

- Swern Oxydation

Une des oxydations ménagées les plus couramment utilisée est celle décrite par Swern en 1978. L'activation du DMSO par le chlorure d'oxalyle à basse température entre -50°C et -60°C mène à deux intermédiaires **100** et **101**. (Figure I-22)

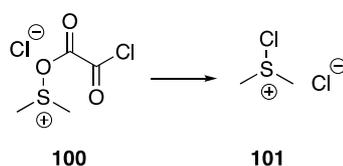


Figure I-22 : Intermédiaire de l'activation du DMSO par le chlorure d'oxalyle

L'intermédiaire **101** est le même que celui décrit auparavant par Corey et Kim via une réaction de N-chlorosuccinimide avec le sulfure de diméthyle ; celle-ci est toute fois moins utilisée car Me_2S est très volatil et nauséabond.^{89,90} Luly a appliqué cette méthode avec succès pour la synthèse de différents aldéhydes α -aminés.⁷⁰ (Schéma I-31)

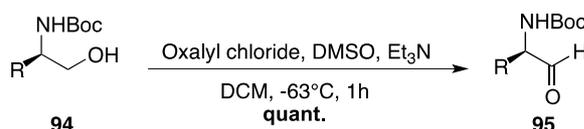


Schéma I-31 : Application de l'oxydation de Swern à la synthèse d'acide α -aminés par Luly et al.

Cette approche fut également utilisée par Verdoes *et al.* pour la synthèse d'autres vinylsulfone **102** et **103**, où le groupement phényle de la chaîne latérale du fragment homophénylalanine est substitué par un éther portant la fonction azoture. (Figure I-23).

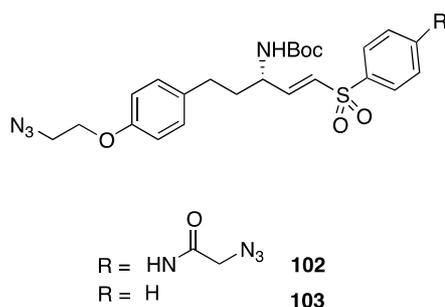


Figure I-23 : Aminovinylsulfone synthétisée par Verdoes et al. en 2021

Cette nouvelle synthèse est réalisée à partir de la Boc-L-Homotyrosine **104** (Schéma I-32). La réduction de l'acide en alcool primaire **105** est effectuée par le borane. Après protection deux fonctions alcools en éther de *tert*-butyldiméthylsilyle une déprotection sélective du phénol au (TBAF) permet d'obtenir l' α -aminoalcool protégé **106**. La chaîne azoture d'éthyle est introduite au niveau du phénol par alkylation avec l'azoture B. La vinyl sulfone **110** est toujours obtenue par HWE à partir de l'intermédiaire α -aminoaldéhyde **109** obtenu par oxydation ménagée de l'alcool **108** dans les conditions de Swern.⁸¹

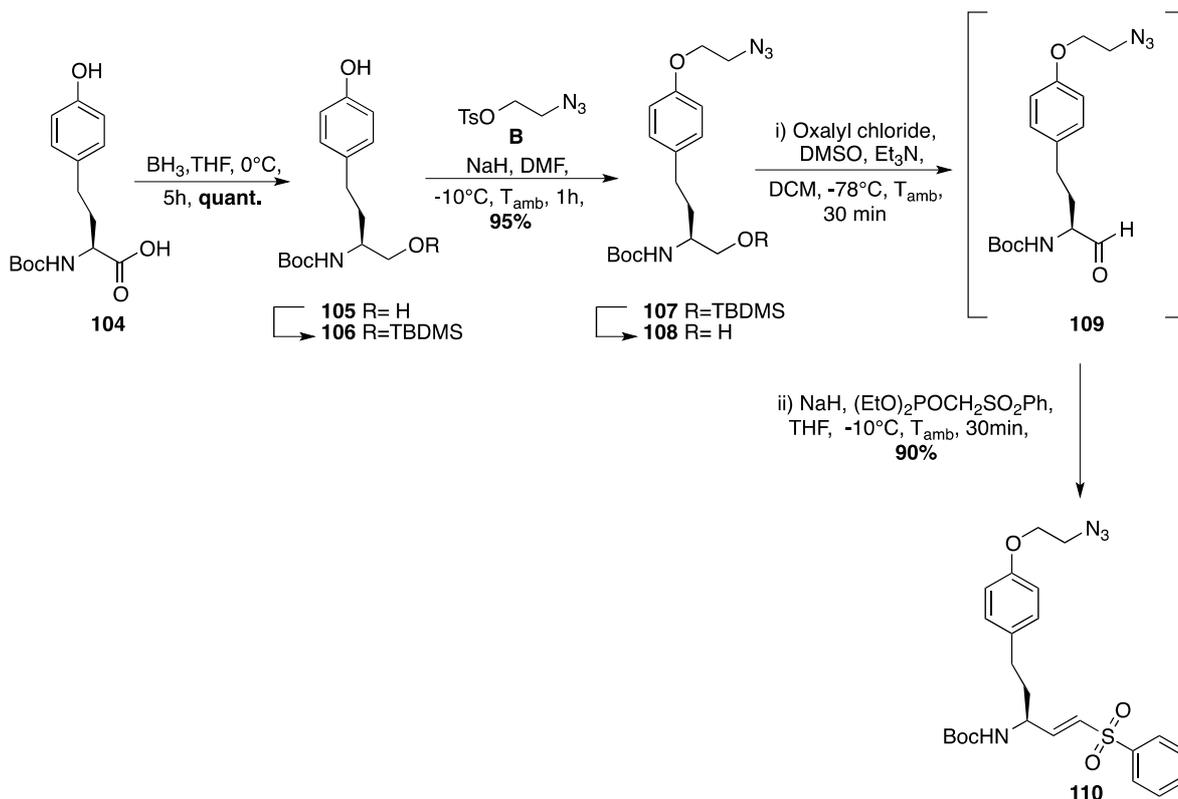


Schéma I-32 : Voie de synthèse d'aminovinylsulfone fonctionnalisée à partir de la Boc-L-Homotyrosine par Verdoes et al.

c) Dess-Martin Periodane

Une autre méthode d'oxydation ménagée d'alcool en aldéhyde s'appuie sur l'emploi d'une espèce hypervalente de l'iode, le réactif de Dess-Martin. Dess et Martin décrivent la synthèse d'un periodane triacétate **113** en 1983. (Schéma I-33) par oxydation de l'acide ortho-iodo benzoïque par du perbromate en milieu sulfurique suivie d'une acétylation à chaud.⁹¹

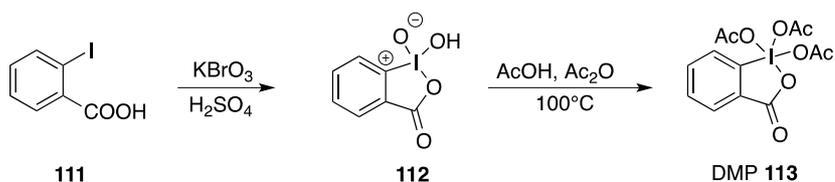


Schéma I-33 : Synthèse du Dess-Martin Periodane (DMP)

Ce réactif permet la synthèse d'aldéhydes à partir d'alcools primaires dans des conditions douces. La réaction a lieu dans le DCM à température ambiante pendant 10 min avec une quantité catalytique d'acide ou un léger excès de l'alcool. Les aldéhydes sont obtenus avec de très bon rendements compris entre 83% et 99%. Le Dess-Martin Periodane (DMP) **113** permet notamment de s'affranchir de l'utilisation de métaux lourds et toxiques.⁹¹ (Schéma I-34)

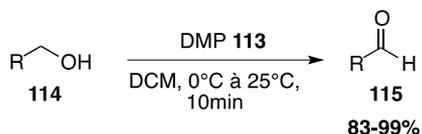


Schéma I-34 : Synthèse d'aldéhyde par oxydation au DMP

Pour la synthèse d'un aldéhyde α -aminé, le DMP fut utilisé pour la synthèse de N-Fmoc phenylglycinal **117** (Schéma I-35) par Myers et son équipe dans une comparaison de différents protocoles conduisant à de très bons rendements (supérieurs à 95%) furent obtenus avec moins d'1% d'épimérisation observée. Le DMP s'est avéré être le réactif de choix par rapport à l'oxydation de Swern et l'oxydation TEMPO (*vide infra*).⁹²



Schéma I-35 : Synthèse de Fmoc-phenylglycinal par Myers *et al.*

Récemment ce protocole fut mis en place respectivement par Ogungbe (Schéma I-36) et Bhattacharya (Schéma I-37) pour la synthèse d'aldéhydes α -aminés en vue de l'obtention des aminovinylsulfones par réaction d'oléfination de HWE.^{78,93}

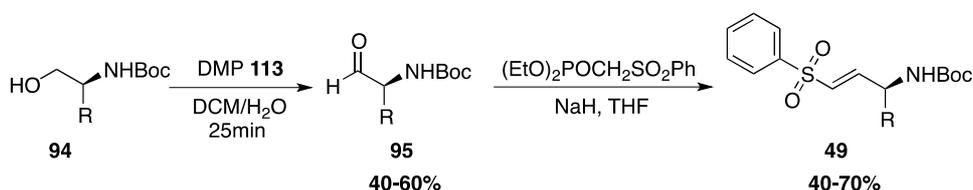


Schéma I-36 : Synthèse d'aldéhyde α -aminé par Ogungbe *et al.*

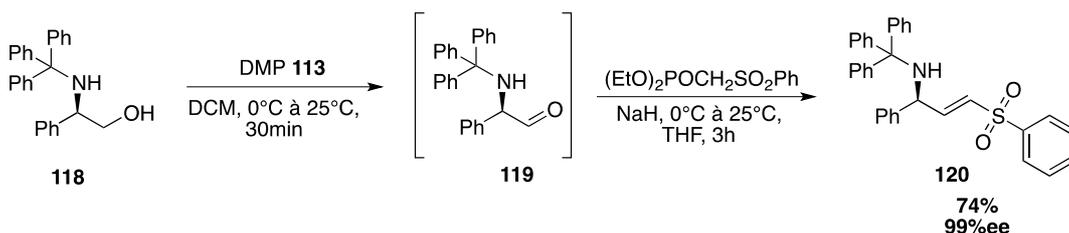


Schéma I-37 : Synthèse d'aldéhyde α -aminé par Bhattacharya *al.*

La protection de l'amine par un groupement trityle s'est avérée la plus appropriée pour limiter les problèmes d'isomérisation de la double liaison qui sont observés après la réaction d'oléfination lors de la synthèse du vinyl phosphonate en présence de groupements protecteurs Boc et Benzyle.

d) TEMPO/NaOCl

La dernière approche d'oxydation ménagée utilisée dans la synthèse d'aldéhydes α -aminés est celle employant des sels de N-oxoammonium.

Golubev *et al.* ont observé en 1965 la synthèse de l'acétaldéhyde **122** par oxydation de l'excès d'éthanol **121** par le sel d'oxoammonium **123** (Schéma I-38).⁹⁴

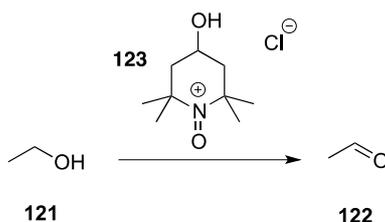


Schéma I-38 : Synthèse de l'acétaldéhyde par oxydation au chlorure d'oxoammonium Golubev et al.

Cella *et al.* ont, quant à eux, mis en évidence la synthèse catalytique de différents acides carboxyliques et d'aldéhydes par oxydation d'alcool primaire dont deux exemples sont reportés ci-dessous, à partir du benzylalcool **124** et du pentanol **126** (Schéma I-39).

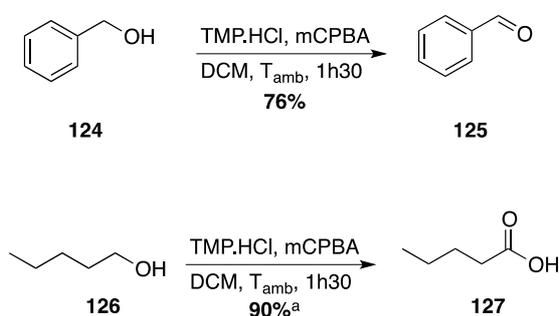


Schéma I-39 : Synthèse catalytique d'acide carboxylique et d'aldéhyde au TMP.HCl par Cella et al.

En effet il est possible d'utiliser le sel d'oxoammonium **130** en quantité catalytique, obtenu *in situ* par double oxydation de l'amine 2,2,6,6-tetraméthylpiperidine (TMP) **128** en présence du mCPBA via le radical stable TEMPO **129**. (Schéma I-40).⁹⁵

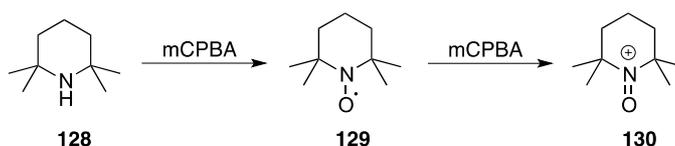


Schéma I-40 : Oxydation au mCPBA de l'amine TMP

Le principal inconvénient de la méthode précédemment décrite est l'utilisation d'un peracide en tant qu'oxydant secondaire qui n'est pas compatible avec un grand nombre de fonctions chimiques.

Une avancée notable dans l'oxydation ménagée d'alcool primaire par des oxoammoniums a été développée par Anelli *et al.* en 1987. Celle-ci permet la synthèse contrôlée d'aldéhydes et d'acides carboxyliques dans des conditions douces de réaction. L'hypochlorite de sodium est alors utilisé comme oxydant secondaire en quantité stœchiométrique en présence de bicarbonate de sodium, de bromure de

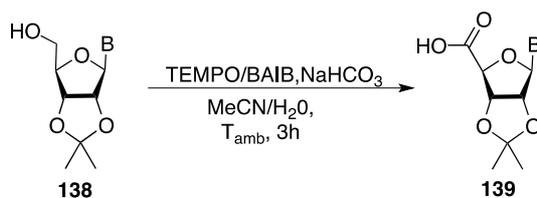


Schéma I-44 : Oxydation ménagée par TEMPO avec Phi(OAc)_2 en oxydant secondaire par Epp et Wildanski

Le mécanisme suivant a été proposé en accord avec les résultats expérimentaux : la première étape du cycle catalytique consiste en l'oxydation du radical stable TEMPO **129** en sel d'oxoammonium **130** par l'oxydant secondaire introduit en quantité stœchiométrique. Celui-ci va oxyder l'alcool en aldéhyde correspondant lors de la 2^{ème} étape en se réduisant en hydroxylamine **132** via l'intermédiaire **131** laquelle peut être reoxydée par l'oxydant secondaire bouclant ainsi le cycle catalytique. (Schéma I-45).

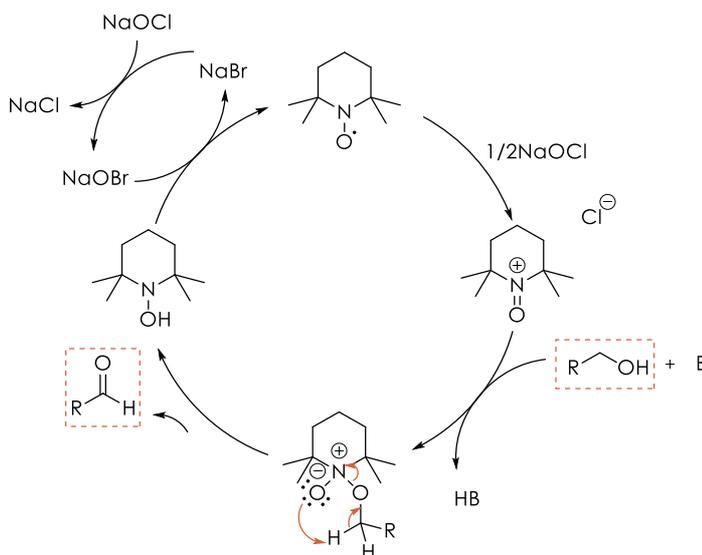


Schéma I-45 : Cycle catalytique de l'oxydation ménagée par TEMPO

Morton *et al.* ont décrit une application de ces conditions à partir d' α -aminoalcools chiraux **140** dans un mélange de solvant (Toluène, Acétate d'éthyle, Eau) en présence de TEMPO, d'hypochlorite de sodium saturé en carbonate de sodium et de bromure de sodium, à 0°C pendant une heure. De bons rendements sont obtenus (entre 51 et 96%) avec une agitation vigoureuse (>1000rpm), mais ils tendent à diminuer avec une agitation plus faible (200rpm) et la formation de l'acide due à la suroxydation est observée en quantité non négligeable. Ils n'observent toutefois pas de racémisation. En fonction des substrats, de très bon excès

énantiomériques supérieurs à 95% sont mesurés par HPLC, RMN ou par mesure de la pureté optique des composés obtenus.⁹⁹ (Schéma I-46)

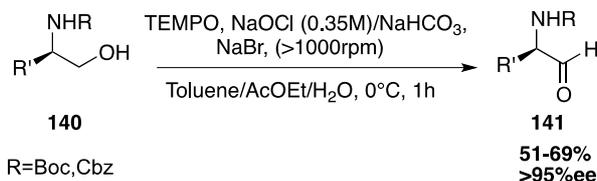


Schéma I-46 : Synthèse d'aldéhyde α -aminé par oxydation ménagée au TEMPO par Morton et al.

Quelques années plus tard d'autres exemples à partir d'aminodiols protégés **142** ont été décrits par Prokopowicz et son équipe qui décrivent également de bons rendements et des excès énantiomériques supérieur à 82% dans la plupart des cas. (Schéma I-47) De plus il est à noter que ceux-ci sont systématiquement supérieurs à ceux obtenus après une oxydation de Swern.¹⁰⁰

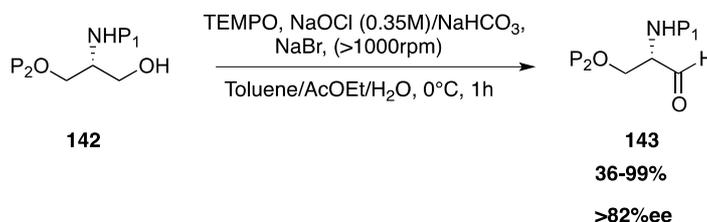


Schéma I-47 : Synthèse d'aldéhyde α -aminé par oxydation ménagée au TEMPO par Prokopowicz et al.

Enfin, comme évoqué précédemment, au cours de la comparaison entre différentes méthodes d'oxydation douce effectuée par Myers, l'oxydation par TEMPO a permis d'obtenir de très bons excès énantiomériques de 95% et de 90% pour la synthèse de la N-Fmoc phenylglycinal **145** et son dérivé portant un groupe méthoxy en para **145'**. Ils sont supérieurs à ceux obtenus après une oxydation de Swern mais néanmoins inférieurs à ceux obtenus après une oxydation au DMP.⁹² (Schéma I-48)

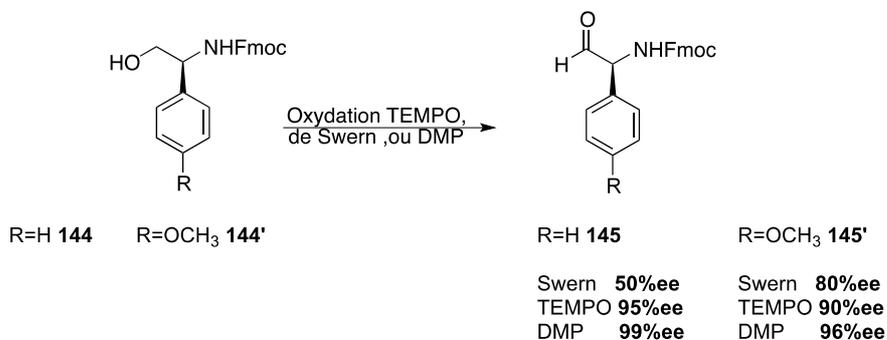


Schéma I-48 : Comparaison d'oxydation douce par Myers et al.

3.2.3 Clivage oxydant de diol

Parmi les différentes méthodes connues pour la synthèse d'aldéhyde on retrouve le clivage oxydant à partir d'un diol. La réaction est rapportée pour la première fois sur du glycol en 1928 par Malaprade. Le diol vicinal **146** est alors oxydé par l'acide périodique ou un sel de périodate permettant l'obtention des groupements carbonyles correspondant ¹⁰¹ (Schéma I-49)



Schéma I-49 : Synthèse d'aldéhydes par clivage oxydant à partir d'un diol à l'acide périodique ou son sel de sodium par Malaprade et al.

C'est une réaction analogue à l'oxydation de Criegee décrite en 1931 sur l'éthylène glycol **149** qui utilise un oxydant plus doux le tétraacétate de plomb mais qui doit être réalisé en milieu anhydre au risque d'hydrolyser ce dernier.¹⁰² (Schéma I-50)

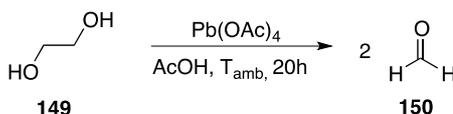


Schéma I-50 : Oxydation de Criegee au tétraacétate de plomb

Le mécanisme proposé dans la littérature est le suivant : deux attaques successives des doublets électroniques des oxygènes sur l'iode pour former un intermédiaire cyclique à cinq chaînons **154** lorsque celui-ci est possible après transfert de proton. (Schéma I-51)

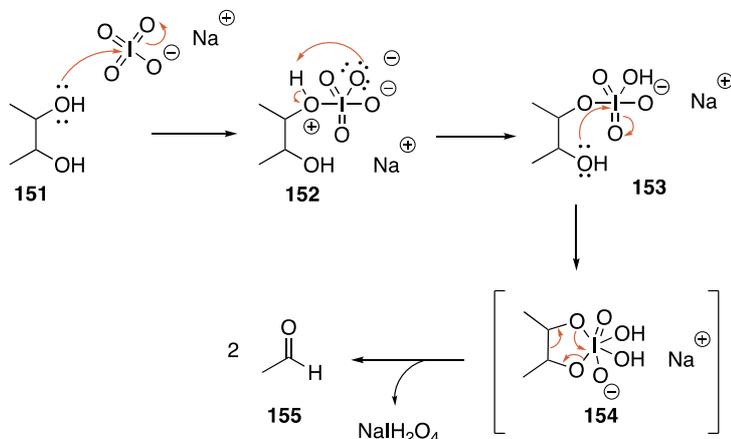


Schéma I-51 : Mécanisme clivage oxydant à partir d'un diol au sel de périodate de sodium

Un exemple pour la synthèse de l'aldéhyde **155** est évoqué dans la littérature par Ogung *et al.* à partir de l'aldéhyde diol protégé d'un groupement Boc correspondant **156**.⁷⁸ (Schéma I-52)

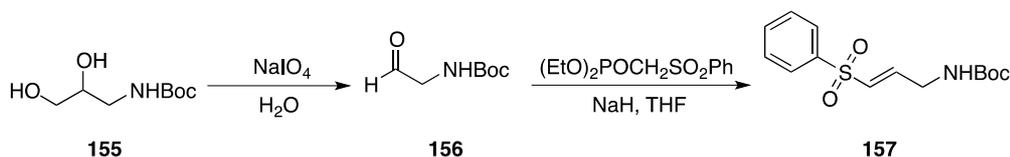


Schéma I-52 : Synthèse d'aldéhyde par clivage oxydant par Ogung *et al.*

3.2.4 Par fonctionnalisation en alpha d'un aldéhyde

a) Hydroxylation asymétrique

Les travaux d'Evans et son équipe transposent pour la synthèse de sulfones, une voie de synthèse de composés carbonylés fonctionnalisés en position γ , développée en 2003 par Zhong, MacMillan et Hayashi. On retrouve une première étape d' α -aminooxylation asymétrique à partir d'aldéhydes **158** par organocatalyse à la proline. L'enchaînement sans purification avec une réaction d'oléfination d'HWE conduit alors à la vinylsulfone **159**.

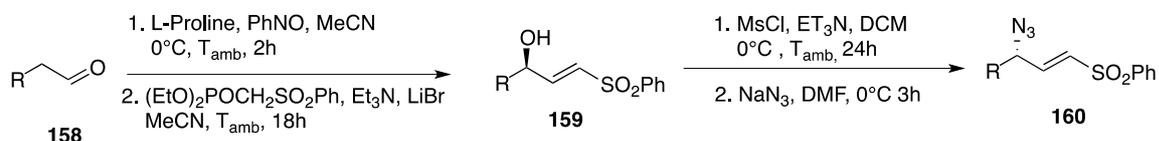


Schéma I-53 : Synthèse d'azidovinylsulfone par α -hydroxylation asymétrique d'un aldéhyde par Evans *et al.*

La *trans*- γ -hydroxy-vinylsulfone **159** est obtenue directement après un premier essai concluant avec un rendement faible (11%) mais un très bon excès énantiomérique de 96% déterminé par HPLC chirale. (Schéma I-53) De manière particulièrement attrayante, la réduction de la liaison N-O semble avoir lieu pendant la réaction en milieu basique avec le phosphonate de sulfonyle introduit en excès (2 éq).

Après optimisation, le meilleur rendement global obtenu est de 51%. Pour cela, l'oxydation en α de l'aldéhyde a lieu dans les conditions décrites par Hayashi dans l'acétonitrile à 0°C, induisant de ce fait une diminution de la vitesse de réaction. La réaction d'HWE doit quant à elle être réalisée dans les conditions de réaction plus douces de Rathke en présence de bromure de lithium et de triéthylamine. La synthèse à partir de différents aldéhydes a donné les produits souhaités avec des rendements

modérés entre 38 et 50%. Cependant malgré le risque d'épimérisation en milieu basique il est intéressant de constater que d'excellents excès énantiomérique supérieurs à 95% mesurés en HPLC chirale sont obtenus (indiquant une absence d'épimérisation). Enfin la conversion de l'alcool en mésyle suivie de la substitution par un l'azoture de sodium conduisant à **160** s'effectue sans isomérisation de la double liaison ni de perte de l'information chirale.⁶¹ (Schéma I-54)

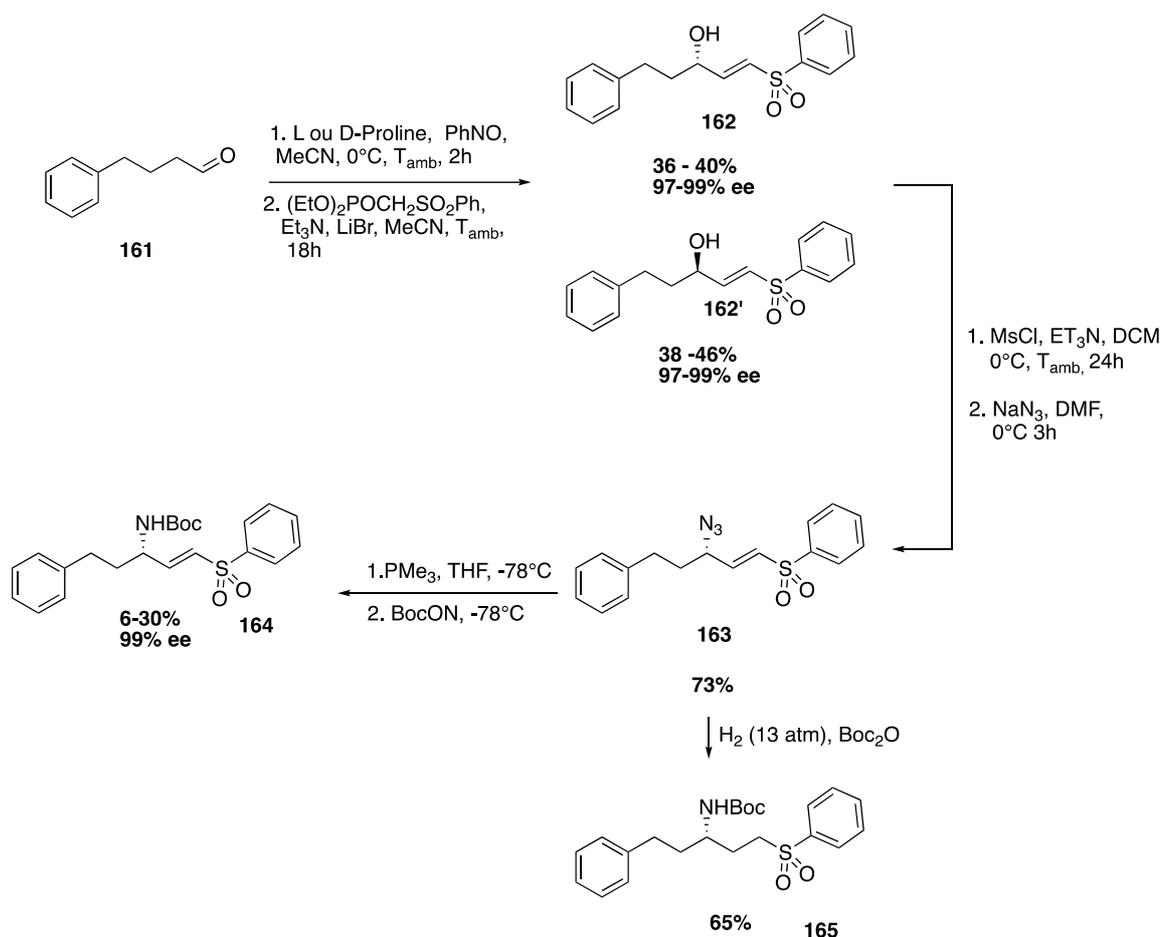


Schéma I-54 : Synthèse d'aminovinylsulfone par α -hydroxylation asymétrique d'un aldéhyde par Evans et al.

La réduction de leur trans- γ -azido vinyl sulfones **163** est envisagée dans l'optique de pouvoir coupler leur produit avec une liaison amide. La réduction classique sous atmosphère d'hydrogène n'a pas donné le produit souhaité **165**, la réduction de l'azoture étant concomitante à celle du fragment vinylsulfone. Une réduction sélective a pu être réalisée par une réduction de Staudinger-Vilarrasa **164**. Toutefois sûrement à cause de l'instabilité de l'imino-phosphorane vinyl sulfone, des problèmes de reproductibilité ont été observés et des rendements faibles ne dépassant pas les 30% ont été obtenus. D'autres méthodes comme la ligation

« traceless » de Staudinger ou l'hydrogénolyse en présence de catalyseur de Lindlar furent testées sans résultat concluant.¹⁰³ (Schéma I-54)

b) Hydrazination asymétrique

Les difficultés rencontrées lors de la réduction de l'azoture ont encouragé l'exploration d'une autre méthode alternative d'introduction de l'azote. Cela a été réalisé en remplaçant le nitrosobenzène par le diéthyl azodicarboxylate (DEAD), induisant ainsi une amination asymétrique en α d'aldéhyde par organocatalyse donnant les hydrazines **166** et **166'** avant la réaction de HWE. (Schéma I-55)

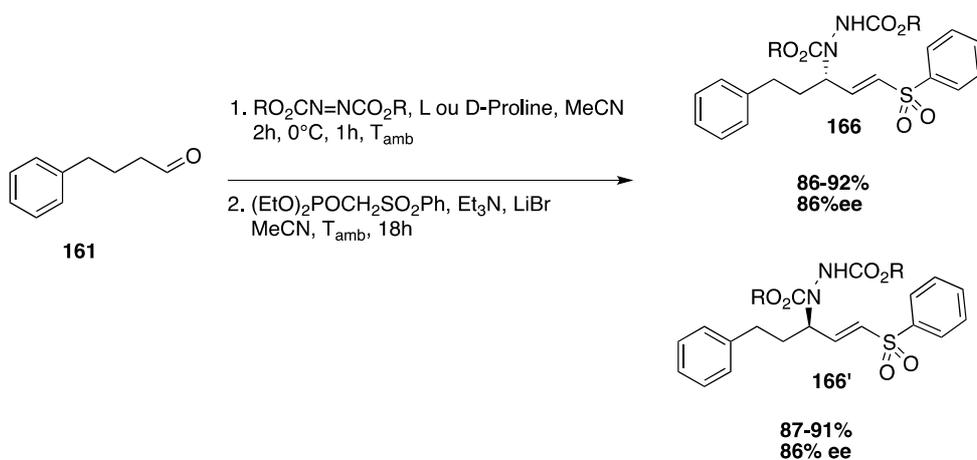


Schéma I-55 : Synthèse d'hydrazine vinylsulfone par α -hydrazination asymétrique d'un aldéhyde par Evans et al.

Le DEAD fut par la suite remplacé par le di-tert-butyl-azodicarboxylate (DBAD) pour des raisons de réactivité des groupements diethyl carbamate, sans qu'aucune différence notable dans la réactivité ne soit observé. Néanmoins au cours de cette réaction d'amination une légère diminution de la pureté optique du produit est observé par rapport à la méthode précédente, les excès énantiomériques culminant à 86%.

Une fois l'hydrazine **167** synthétisée, après déprotection des groupements Boc, la γ -amino vinylsulfone est obtenue par coupure de la liaison N-N de l'hydrazine, réalisée par une réduction au zinc. L'amine peut ensuite être protégée par un groupement Boc **90** sans perte de l'activité chirale. Ainsi par cette voie de bons rendements sont obtenus mais avec un excès énantiomérique plus faible. (Schéma I-56)

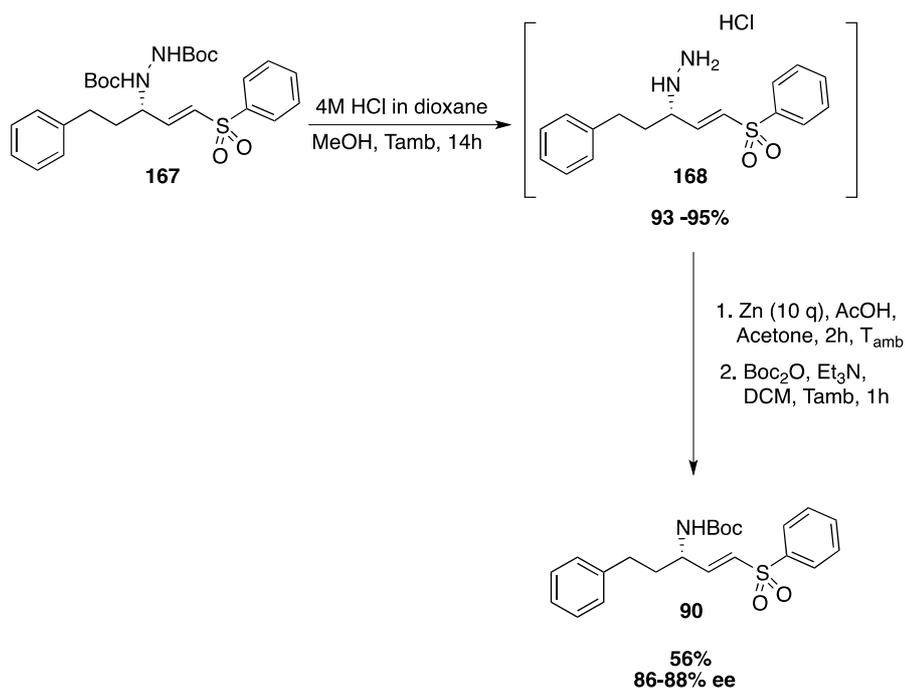


Schéma I-56 : Synthèse d'aminovinylsulfone, déprotection de l'hydrazine et coupure de la liaison N-N par Evans et al.

2. A partir d'alcène

Une recherche détaillée dans la littérature ne nous a permis de ne trouver qu'un seul exemple de synthèse d'inhibiteur de protéase à cystéine comportant une vinylsulfone obtenue par métathèse croisée. Cette synthèse fut publiée en 2008 par Ettari *et al* pour différents analogues **171** d'un inhibiteur irréversible de la falcipain-2.¹⁰⁴(Schéma I-57)

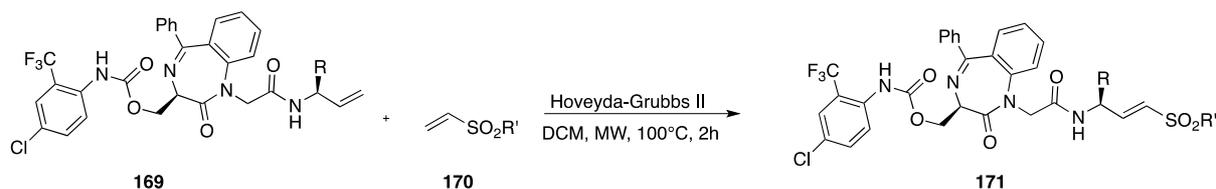


Schéma I-57 : Synthèse par métathèse croisée d'aminovinylsulfone par Ettari et al.

Le couplage à lieu entre l'alcène terminal d'un tripeptide **169** et des vinylsulfones **170** par une réaction de métathèse croisée dans le DCM par activation au micro-ondes à 100°C pendant 2h en présence du catalyseur Hoveyda-Grubbs II. (Figure I-24).

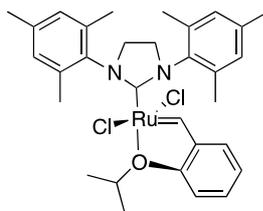


Figure I-24 : Représentation du catalyseur Hoveyda-Grubbs II

Les différents analogues sont obtenus sur une dizaine de milligrammes avec des rendements moyen entre 46 et 53% et une stéréochimie E caractéristique de cette réaction.

On peut cependant noter ici que la synthèse du tripeptide **169** nécessite le couplage de la (S)-1-Phenethylallylamine **173** une fois celle-ci déprotégée. La synthèse de cette allylamine est réalisée à partir du chlorhydrate d'ester éthylique de la L-Homophenylalanine par une réaction de Wittig en présence d'iodure de methyltriphenylphosphonium et de BuLi dans le THF. Toutefois on ne retrouve pas de suivi de la pureté optique, alors que le risque d'épimérisation n'est pas négligeable comme cela a pu être révélé dans de précédents rapports de la littérature.¹⁰⁴(Schéma I-58)

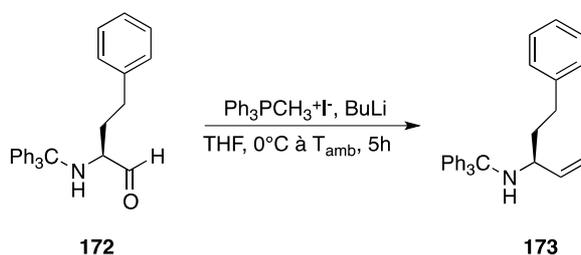


Schéma I-58 : Synthèse de la (S)-1-Phenethylallylamine par une réaction de Wittig par Ettari et al.

En effet dans une étude déjà présentée ici pour la synthèse d'aldéhydes α -aminés chiraux, Luly et al. ont étudié la pureté optique d'alcènes obtenus après une réaction de Wittig similaire en présence de methyltriphenylbromophosphine et de *n*-BuLi dans le THF.⁷⁰ (Schéma I-59)

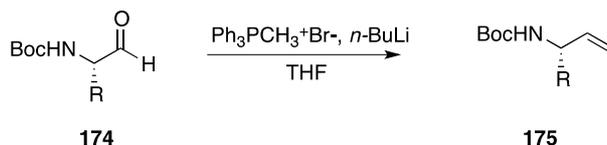


Schéma I-59 : Synthèse d'aldéhyde α -aminés chiraux par une réaction de Wittig par Luly et al.

Ils ont obtenu des résultats très variables avec des rendements allant de moins de 10% à 64% et des excès énantiomériques déterminés par RMN du proton à l'aide

de GC ou HPLC des diastéréoisomères MTPA-amide compris entre 60 et 99%.⁷⁰ (Figure I-25).

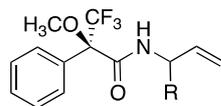


Figure I-25 : Diastéréoisomères MTPA-amide des amines allyliques

Ces travaux indiquent de plus que même après optimisation des conditions de réactions (temps, stœchiométrie, contre ion, température et ordre d'addition des réactifs) aucune solution satisfaisante n'a été mise en évidence.

Quelques années plus tard un second papier de Saari *et al.* reprend cette réaction à partir du (S)-176 et du (R)-176 Boc-Leucinal et différentes phosphines.¹⁰⁵(Schéma I-60)

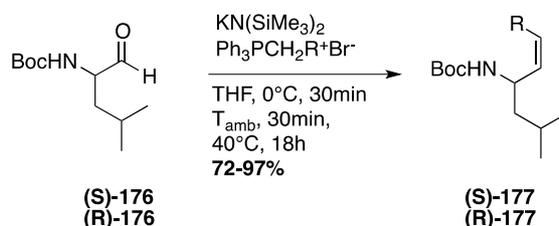


Schéma I-60 : Réaction de Wittig à partir du Boc-Leucinal par Saari *et al.*

Et là encore seuls deux analogues sont décrits après réduction de la double liaison par hydrogénation catalytique sous atmosphère de dihydrogène en présence de Pd/C avec une pureté optique supérieure à 90%. Celle-ci est déterminé par RMN du fluor des diastéréoisomères MTPA-amide. (Figure I-26).

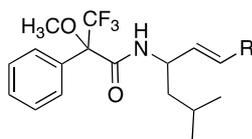


Figure I-26 : Diastéréoisomères MTPA-amide de l'amines allyliques issu de la leucine

3. A partir d'époxyde

En 2003 Péricas *et al.* décrivent une analyse rétrosynthétique des gamma-amino vinyl sulfone **49** accessible linéairement à partir de l'époxyalcool **180**.¹⁰⁶ (Schéma I-61)

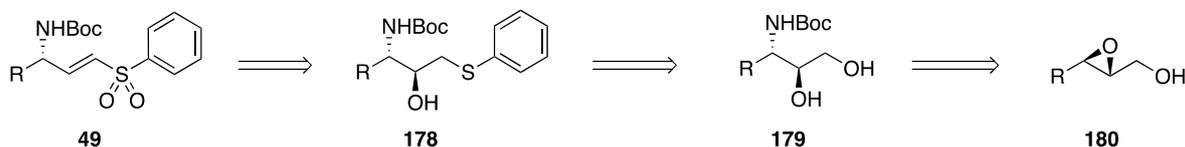
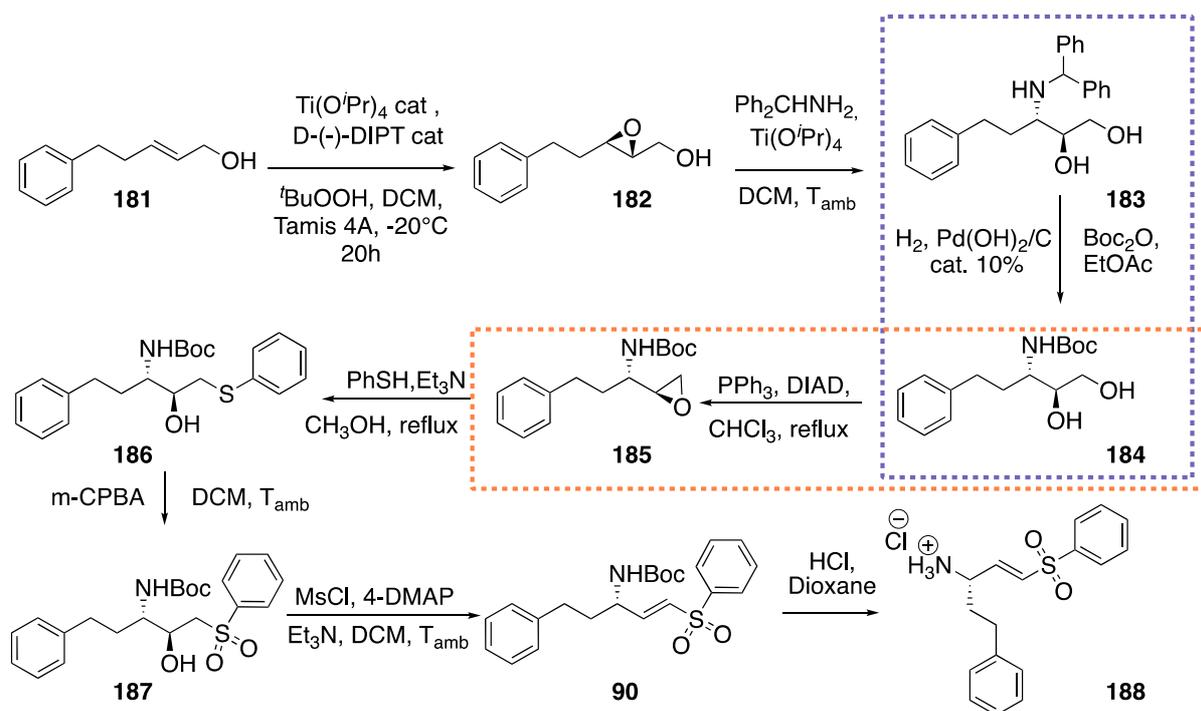


Schéma I-61 : Rétrosynthèse de l'aminovinylsulfone à partir d'un époxyalcool par Pericàs et al.

La voie de synthèse comporte 7 étapes à partir de l'époxy alcool **182**, qui permet d'éviter le risque d'épimérisation rencontré avec les aldéhydes α -aminés présentés précédemment, celui-ci étant obtenu avec de très bon excès énantiomériques supérieurs à 95% par une époxydation asymétrique de Sharpless de l'alcool allylique correspondant **181**.¹⁰⁶ (Schéma I-62)

**Schéma I-62 : Voie de synthèse de l'aminovinylsulfone décrite par Pericàs en 2003 via une époxyalcool**

Les deux étapes suivantes correspondent à une ouverture régio et stéréosélective de l'époxyde par benzhydrylamine suivi d'une transprotection conduisant à l'aminodiol **184** protégé par un groupement Boc. Ce dernier est par la suite converti en époxyde terminal **185** par une réaction de Mitsunobu en présence de triphénylphosphine et de diisopropylazodicarboxylate (DIAD) dans le chloroforme à reflux. L'ouverture de l'époxyde terminal **185** par le thiophénol dans le méthanol à reflux en milieu basique permet l'obtention de l'hydroxythioéther **186**. Enfin l'hydroxysulfone **187** est obtenue par l'oxydation du soufre avec 2 équivalents de *m*-CPBA. La double liaison est quant à elle synthétisée par déshydratation de l'hydroxysulfone **187** dans le DCM en présence de triméthylamine de chlorure de mésyle et d'une quantité catalytique de 4-DMAP. Enfin la déprotection du groupement Boc est réalisée classiquement en milieu acide pour obtenir de sel de chlorure d'ammonium **188**.¹⁰⁶ (Schéma I-62)

Néanmoins une analyse détaillée de cette synthèse permet d'identifier divers inconvénients synthétiques dans le cadre de la mise en place d'une bibliothèque de composés comme cela apparaît sur le schéma ci-dessus. Ainsi la troisième étape correspond à une étape de déprotection de l' amino diol protégé **183** en amine et de sa reprotection par un groupement Boc **184**. Celle-ci même si elle s'avère à priori efficace, elle est nécessairement chronophage sans pour autant apporter une plus value quant à la structure obtenue. De même l'étape suivante de formation de l'époxyde terminal est effectuée par une réaction de Mitsunobu qui entraîne la formation d'oxyde de triphenyl phosphine. Ce produit secondaire, dont l'élimination totale requiert divers traitements, peut impliquer une chute du rendement et une forte consommation de solvant. (Schéma **I-62**)

Il apparaît donc judicieux de s'affranchir de ces deux étapes en imaginant une variation de cette voie de synthèse.

En effet, pour accéder à des variations structurales permettant d'introduire un motif fluoré en diverses positions afin d'engager une étude structure-activité, il apparaissait essentiel de pouvoir simplifier les protocoles opératoires. C'est ce à quoi nous nous sommes attachés dans un premier temps, en cherchant à optimiser cette approche synthétique dans le contexte de la génération d'une bibliothèque d'analogues.

CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE DU LHVS, INHIBITEUR DE LA CATHEPSINE S – OPTIMISATION DE L'APPROCHE VIA UN EPOXYDE TERMINAL.

I/ Introduction

Au cours de ces premiers travaux, nous avons cherché à reproduire la voie de synthèse du motif aminovinylsulfone du LHVS en nous appuyant sur les travaux de Pericas et al. Comme nous l'avons évoqué précédemment, cette approche présente l'avantage d'éviter l'emploi d'intermédiaires de synthèse significativement épimérisables. Néanmoins elle souffre de quelques défauts en termes de réactifs employés et de génération de déchets nécessitant des purifications délicates. De plus l'énantiosélectivité rapportée bien que bonne mériterait d'être améliorée pour pouvoir conduire des tests biologiques. Nous nous sommes donc attachés à revisiter cette approche synthétique et à réaliser le couplage avec le fragment morpholeucine spécifique de la structure du LHVS. Comme nous allons le voir à présent, l'accès à ce fragment s'avère rapide et efficace, via des modifications des approches préalablement rapportées.

II/ Synthèse de la morpholeucine

La synthèse du LHVS peut être considérée comme un couplage peptidique entre deux blocs issus de la Leucine et de l'Homophénylalanine. La synthèse du premier bloc correspond à la fonctionnalisation de la Leucine.

1. Estérification de la leucine

Une synthèse énantiocontrôlée d'ester benzylique d'acide aminé évitant l'utilisation de solvants prohibés, de même que l'utilisation de solvant comme le toluène pour prévenir le risque de racémisation a été publiée en 2017 par Bolchi *et al.* Ainsi la réaction est conduite dans le cyclohexane à reflux pendant 4h avec un Dean-Stark pour éliminer l'eau produite. Le *para*-toluène sulfonate d'ester benzylique de L-leucine **191** est ainsi obtenu quantitativement à partir de la L-Leucine **189** sur 10g après l'ajout de d'acétate d'éthyle par précipitation sous la forme d'un solide blanc. (Schéma II-1)

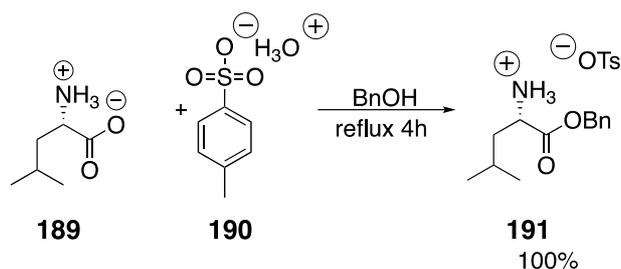


Schéma II-1 : Synthèse du para-toluène sulfonate d'ester benzylique de L-leucine

2. Introduction de la carbamoyl morpholine

L'introduction de la morpholine était auparavant réalisée via un chlorure de carbamoyl **195** synthétisé à partir de la morpholine **192** en présence de triphosgène **193** et de pyridine **194** dans le DCM à 0°C.¹⁰⁷ (Schéma II-2)

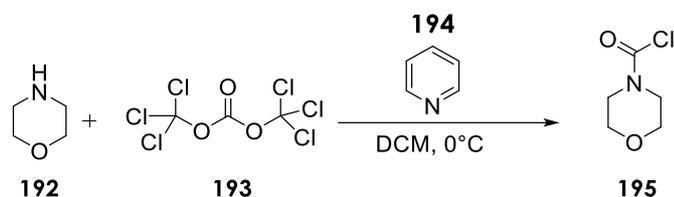


Schéma II-2 : Synthèse du chlorure de carbamoyl de morpholine en présence et de triphosgène.

Le triphosgène est une source de carbonyle, substituant solide au phosgène. Toutefois sa décomposition en phosgène sous l'action de la chaleur ou la réaction avec un nucléophile le rend tout aussi toxique, et son emploi requiert un milieu strictement anhydre.¹⁰⁸

Pour éviter l'utilisation du triphosgène, nous avons adapté le protocole publié en 2014 pour la synthèse peptidique inversée par l'équipe de Renata Figueiredo et Jean marc Campagne qui ont décrit le carbonyldiimidazole comme équivalent du phosgène.¹⁰⁹ Le principe de la réaction est décrit dans le schéma ci-dessous (Schéma II-3)

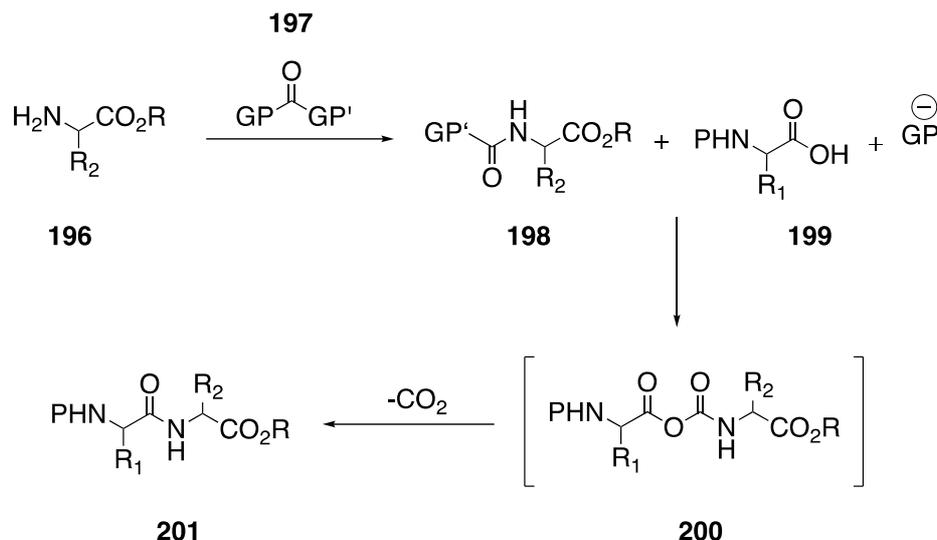


Schéma II-3 : Formation de la liaison peptidique via un α -aminoester activé.
GP= groupement partant, P = groupe protecteur de l'amine

L'urée **202** a ainsi été obtenue sur 10g avec un rendement de 66% sur deux étapes après purification sur gel de silice par flash chromatographie. (Schéma II-4)

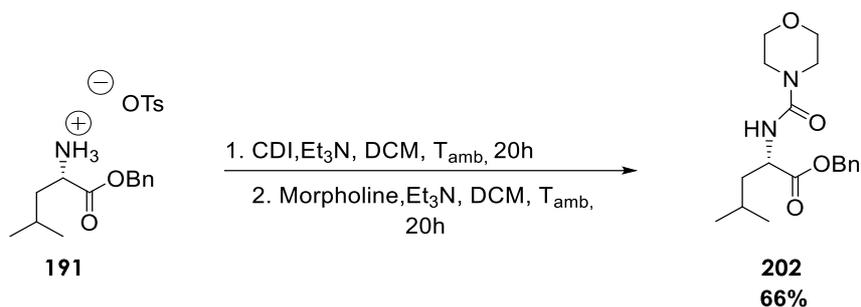


Schéma II-4 : Synthèse de l'urée via un α -aminoester activé

3. Hydrogénolyse

Enfin la N-(Morpholin-4-ylcarbonyl)-L-leucine **203** est obtenue quantitativement sur une échelle multi-grammes par hydrogénolyse de l'ester benzyle **202** dans l'éthanol en présence d'une quantité catalytique de Pd/C 10% sous atmosphère de dihydrogène, après filtration du catalyseur et concentration du milieu réactionnel sous pression réduite comme précédemment décrit par Shinozuka *et al.* en 2006.¹⁰⁷ (Schéma II-5)

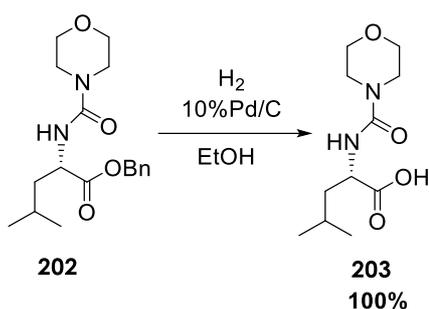


Schéma II-5 : Synthèse de la N-(Morpholin-4-ylcarbonyl)-L-leucine par hydrogénolyse de l'ester benzylique.

III/Synthèse de la vinylsulfone

1. Reproduction des travaux de Pericàs

L'approche synthétique de l'aminovinylsulfone s'appuyant sur un passage par un epoxy-alcool décrite par Pericàs représentée ci-dessous non seulement permet de s'affranchir des risques d'épimérisation des amino-aldéhydes mais permet également d'envisager diverses variations structurales, et en particulier l'introduction de fragments fluorés qui ne peuvent pas provenir d'acides aminés largement accessibles. Elle nous semblait donc adapté à notre objectif ciblant la synthèse de bibliothèques d'analogues fluorés du LHVS. L'accès à la chaîne carbonée de l'aminovinylsulfone s'effectue donc à partir d'époxyalcool dont la synthèse à large échelle peut être réalisée sans grande difficulté.¹⁰⁶ (Schéma II-6)

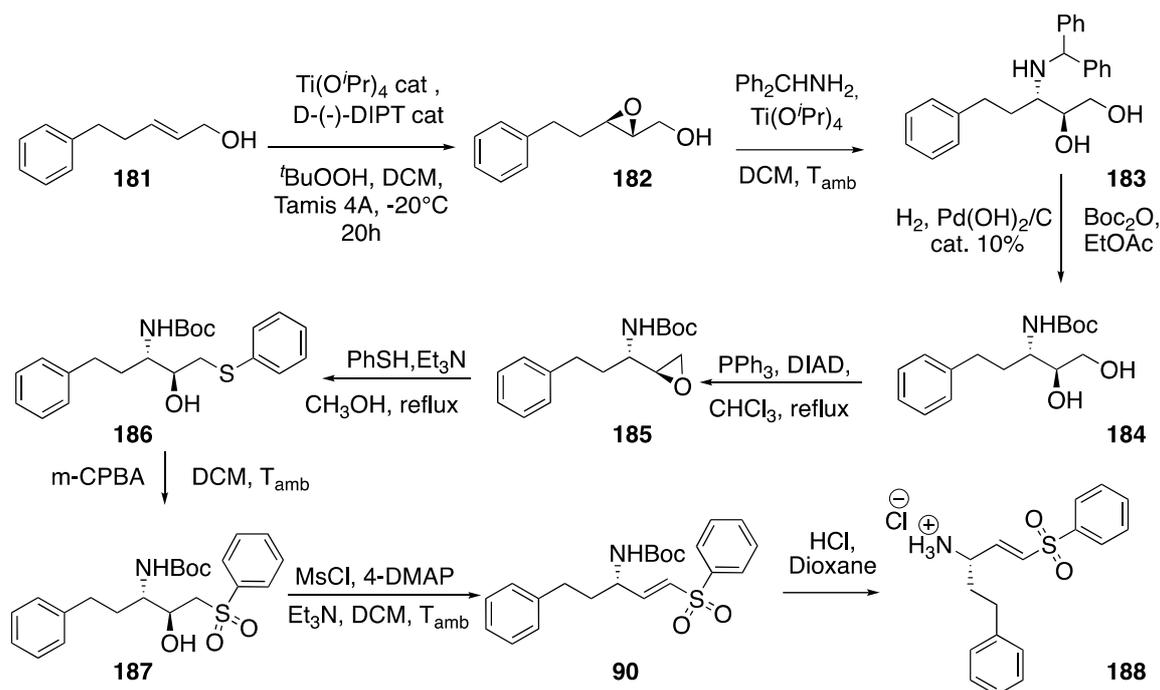


Schéma II-6 : Synthèse de l'aminovinylsulfone décrite par Pericàs en 2003 via une époxyalcool.

1.1 Chaîne carbonée – accès à l'époxy alcool.

Les époxy-alcools **204** représentent une catégorie importante d'intermédiaires en synthèse organique du fait de leur densité fonctionnelle répartie sur peu de carbones. Cela permet en effet d'envisager diverses fonctionnalisations avec de bonnes régiosélectivités et un bon contrôle de la stéréochimie. Ils sont obtenus le plus souvent à partir des alcools allyliques correspondant **205** eux-mêmes issus des aldéhydes **206**. (Schéma II-7)

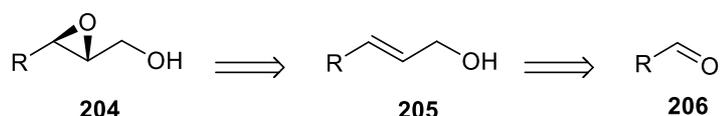


Schéma II-7 : Voie rétrosynthétique d'accès aux époxy-alcools

1.1.1 Synthèse de l'ester carboxylique α - β insaturé

La synthèse de l'ester carboxylique α - β insaturé **210** a ainsi été réalisée classiquement par une oléfination de type Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) à partir de l'aldéhyde **209** et du phosphonate **207**. La 1^{ère} étape de cette réaction HWE est la formation du carbanion stabilisé **208** du triéthylphosphonoacétate **207** en présence d'un excès d'hydruide de sodium à 0°C dans le tétrahydrofurane (THF) pendant 30 minutes. L'aldéhyde **209** est ensuite additionné goutte à goutte à 0°C dans le THF. La

réaction est laissée sous agitation 45 minutes avant d'être arrêtée à 0°C par addition d'eau pour donner après traitement et sans purification supplémentaire un unique composé. L'analyse du spectre RMN ^1H de ce produit illustre la disparition du triplet caractéristique de l'aldéhyde à 9,85 ppm, l'introduction d'un fragment ethyl correspondant à l'ester avec un quadruplet à 4,21 ppm intégrant pour deux protons et un triplet à 1.31 ppm correspondant à 3 protons. La formation d'une double liaison est confirmée par l'apparition de signaux correspondants aux protons vinyliques à 7,03 et 5,87 ppm (intégrant chacun pour un proton) qui présentent une constante de couplage de 15,7 Hz, caractéristique d'une stéréochimie E. L'éthyl 5-phenylpent-2-en-1-ol est isolé avec un rendement de 97%. (Schéma II-8) La transformation de la fonction aldéhyde en ester insaturé est également confirmée en infra-rouge par la disparition de la bande de l'aldéhyde initial à 1710 cm^{-1} et l'apparition des bandes à 1653 et 1716 cm^{-1} correspondant respectivement à l'insaturation activée et à l'ester.

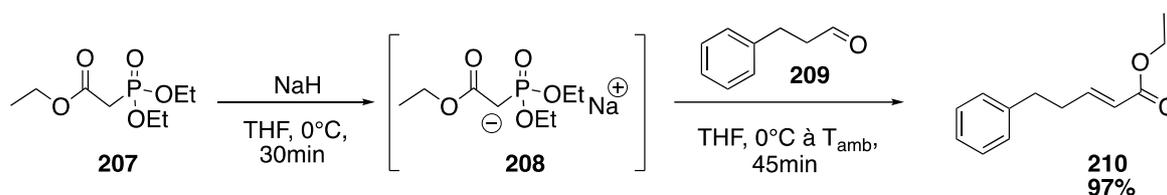


Schéma II-8 : Synthèse de l'éthyl 5-phenylpent-2-en-1-ol

1.1.2 Synthèse de l'alcool allylique

La réduction de l'ester carboxylique α,β insaturé **210** par l'hydruure de diisobutylaluminium (DIBAL-H) est ensuite réalisée à -78 °C dans le toluène pendant une journée. Le traitement de la réaction par l'ajout d'une solution aqueuse de sel de Rochelle conduit à une extraction simple des phases aqueuses. L'alcool allylique (E)-5-phenylpent-2-en-1-ol **181** est obtenu après distillation sous pression réduite avec un rendement isolé de 80%. (Schéma II-9) La réduction est confirmée par l'apparition en infrarouge de la bande à 3396 cm^{-1} correspondant à l'alcool et à la disparition de la bande ester et la variation de la bande de la double liaison qui devient enrichie en électrons induisant une augmentation du nombre d'onde correspondant (plus forte énergie de liaison). L'analyse du spectre RMN ^1H confirme la disparition du fragment éthyl et l'apparition d'un doublet de doublets à 4.1 ppm correspondant au CH_2OH , qui devient un doublet simple après ajout de D_2O , ainsi qu'une modification significative des signaux de la zone oléfinique.

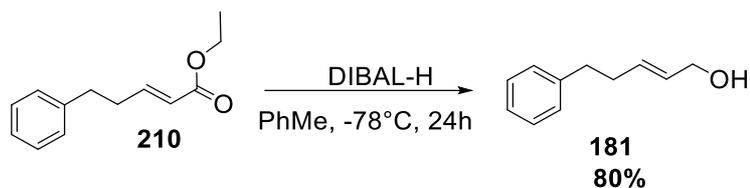


Schéma II-9 : Synthèse de l'alcool allylique (E)-5-phenylpent-2-en-1-ol

1.1.3 Synthèse racémique de l'époxyalcool

Afin de valider notre approche, nous nous sommes, dans un premier temps, concentrés sur un accès à l'époxyde **211** racémique. Cette oxydation est effectuée classiquement par l'acide métachloroperbenzoïque (m-CPBA) introduit en excès à 0°C dans le dichlorométhane (DCM). L'acide métachlorobenzoïque, sous-produit de la réaction, est filtré après refroidissement à -20°C, l'excès de m-CPBA étant pour sa part éliminé par un lavage avec une solution de thiosulfate de sodium. La formation de l'époxyde est confirmée par la disparition en RMN du ^1H du multiplet à 5.72 ppm correspondants aux protons éthyléniques. En RMN du ^{13}C les signaux à 129,6 ppm et 132,3 ppm correspondant aux carbones de la double liaison disparaissent également. On observe également l'apparition de signaux correspondants à un époxyde disubstitué avec des signaux en RMN du ^{13}C à 58,9 ppm et 55,5 ppm pour les carbones de l'époxyde, et en RMN du ^1H un multiplet entre 2.88 et 2.84 ppm ainsi qu'un triplet dédoublé à 2.99 ppm avec une constante de couplage de 2,3 Hz pour les protons de l'époxyde. L'angle dièdre entre les protons de l'époxyde trans est de l'ordre de 110-116° alors que celui de l'époxyde cis est semble-t-il plus proche de 0°. D'après l'équation de Karplus la constante de couplage de l'époxyde cis serait comprise entre 7 et 11Hz, alors que la constante de couplage de l'époxyde trans entre 2 et 6Hz, comme nous pouvons l'observer ici. La stéréospécificité attendue est donc bien vérifiée expérimentalement. Le trans-2,3-époxy-5 phenylpent-1-ol est obtenu avec un rendement isolé de 90% et peut être engagé dans la suite de la séquence réactionnelle sans purification supplémentaire. (Schéma II-10)

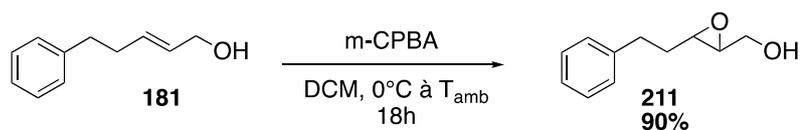


Schéma II-10 : Synthèse du trans-2,3-époxy-5 phenylpent-1-ol par oxydation au mCPBA

1.2 Introduction de l'azote

1.2.1 Ouverture de l'époxyde par des amines primaires

VOIE A :

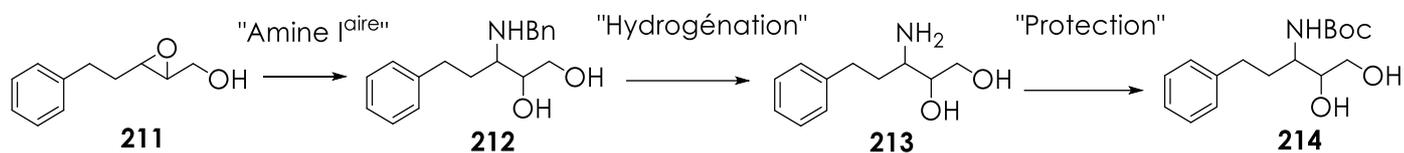


Schéma II-11 : Voie de synthèse A : Ouverture de l'époxyde du trans-2,3-époxy-5-phenylpent-1-ol par addition d'une amine primaire

Nous avons testé dans un premier temps l'ouverture de l'époxyde avec la benzhydrylamine telle que décrite par Péricas. Il y est décrit qu'en présence d'isopropylate de titane ($\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_4$) dans le DCM, seul un produit de l'ouverture en position C3 est obtenu avec 70% de rendement. Malheureusement, nous n'avons pas pu reproduire ce résultat. Dans notre cas, aucune conversion du produit de départ n'est observée même après 3 jours de réaction.¹⁰⁶ (Tableau II-1, Entrée 1)

Afin de s'affranchir d'un encombrement stérique important, nous avons reproduit les mêmes conditions réactionnelles mais en présence de benzylamine. En effet, la benzylamine conduit d'après les travaux de Canas à l'ouverture régiosélective des époxyalcools d'isopropylate de titane ($\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_4$), de très bon ratio entre les deux ouvertures C3 et C2 compris entre 94% et 100% avec majoritairement le produit de l'ouverture en C3. On peut néanmoins souligner que les rendements obtenus avec les différents substrats sont moyens et que les temps de réaction peuvent être très longs (jusqu'à 296h).¹¹⁰

Chapitre II : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – optimisation de l'approche via un époxyde terminal

Entrée	n	NH ₂ R	Δ ajout Nu	Durée	Rdt	Ratio C ₂ /C ₃
1	9		30 min	3j	/	/
2	10		5/10 min	3j	45%	40/60
3	10		2h	5j	76%	40/60

* Observé en RMN

Tableau II-1 : Résultat de l'ouverture du trans-2,3-époxy-5 phénylpent-1-ol par la benzhydramine et la benzylamine en présence de Ti(O-i-Pr)₄

Nous avons suivi le protocole décrit qui consistait en deux additions successives d'une solution de Ti(O-i-Pr)₄ et de benzylamine sur une solution de l'époxyalcool **211** dans le DCM à température ambiante (Tableau II-1). L'aminodiol **212** a ainsi été obtenu avec un rendement moyen (45%). De plus, le produit majoritaire était bien celui désiré mais le ratio observé en RMN ne semblait pas très élevé (Entrée 2 Tableau II-1). Afin d'améliorer le rendement, nous avons maintenu la réaction jusqu'à 5 jours. Cela permet après purification d'obtenir un rendement de 76% (Entrée 3 Tableau II-1). Pour essayer d'améliorer, cette fois-ci, la régiosélectivité de l'ouverture, le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 2h après l'ajout de Ti(O-i-Pr)₄, avant l'addition de l'amine, pour favoriser la formation du complexe qui dirige l'ouverture (Entrée 3 Tableau II-1). Aucune différence notable n'est toutefois observée quant au ratio C₂/C₃ – grossièrement estimé par RMN du ¹³C en fonction de l'intensité des signaux, en faisant l'hypothèse que les temps de relaxation des carbones portant les mêmes fonctionnalités sont similaires. On observe des intensités très similaires entre les signaux représentés en bleu sur le spectre qui correspondent au diol 1,2 et ceux représentés en gris sur le spectre représentant ceux du 2nd regioisomère possible le diol 1,3 notamment dans la zone des CH aromatiques. Prenons par exemple les signaux des carbones portant les fonctions alcools ; ils apparaissent respectivement pour C1

à 64,2 ppm pour le diol 1,2 et 60,3 ppm pour le diol 1,3 et pour C2 à 71,4 ppm pour le diol 1,2 et 70,5 ppm pour le diol 1,3. On retrouve un ratio similaire pour les signaux des autres carbones de la molécule.¹¹⁰ (Figure II-1)

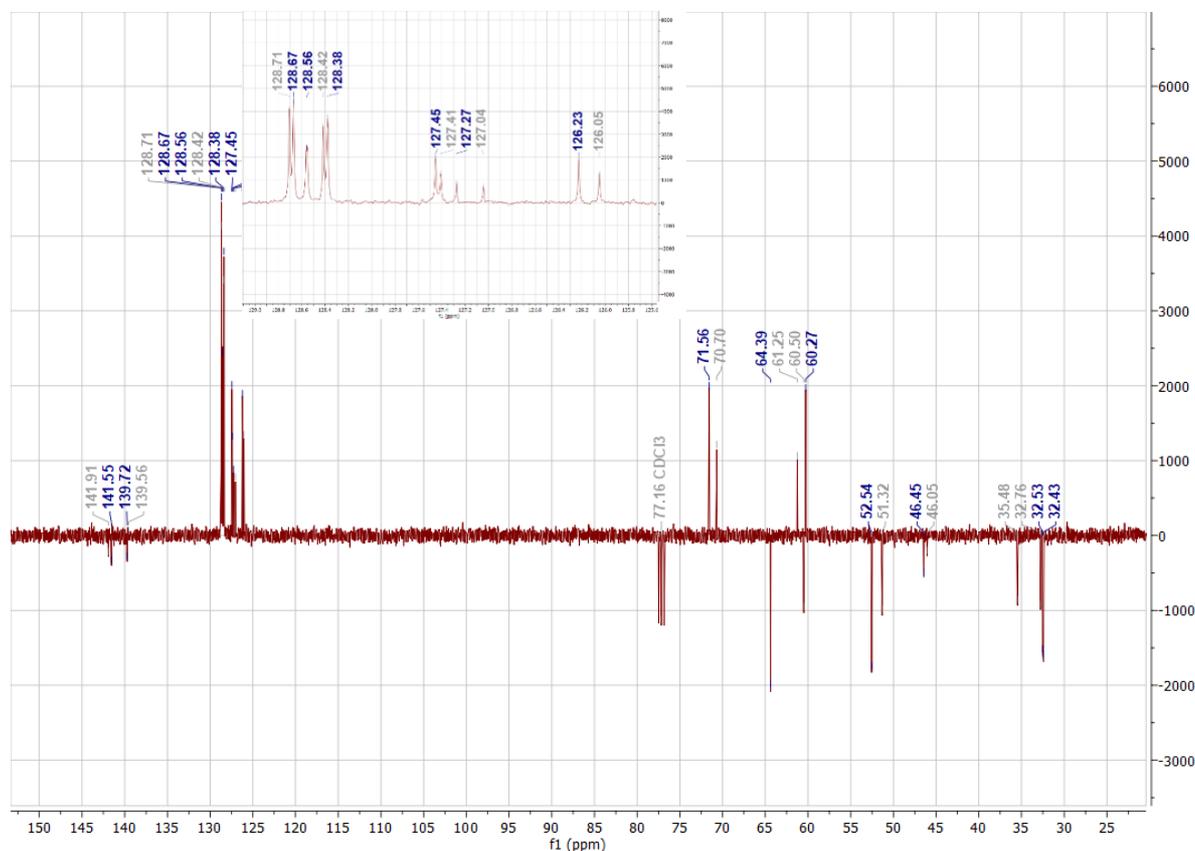


Figure II-1 : Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de la 3-(Benzylamino)-5-Phenylpentane-1,2diol et de la 2-(Benzylamino)-5-Phenylpentane-1,3diol

Cherchant à obtenir une amine primaire protégée, nous avons également tenté l'ouverture de l'époxyde en présence de phthalimide de potassium. Cela a conduit à une réaction incomplète après 5 jours de réaction et un ratio de régioisomères identique et donc non satisfaisant à cette étape de la synthèse.

1.2.2 Synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5phenylpentan3-yl carbamate) par hydrogénation catalytique

Malgré des résultats en demi-teinte quant à la régiosélectivité de l'ouverture de l'époxyde par la benzylamine, nous avons poursuivi la synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan3-yl carbamate **214** en présence du second régioisomère **214'**. (Schéma II-12)

Parmi les différentes méthodes connues de déprotection du groupement benzylique, ElAmin et Means ont décrit la déprotection par hydrogénation

catalytique à l'acide formique en présence de palladium sur charbon.¹¹¹ Nous avons donc adopté ce protocole pour l'hydrogénation catalytique de l'aminodiol **212** et **212'**. Celui-ci est directement engagé après une filtration sur célite et un traitement basique dans l'étape suivante de protection au dicarbonate de di tert-butyle dans l'acétate d'éthyle pour obtenir le produit souhaité **213** et **213'**. Malheureusement, alors que l'intégration du singulet à 1.3 ppm sur la RMN ¹H du milieu réactionnel brut réaction correspond aux neuf protons des méthyles, celle-ci ne correspond plus qu'à trois protons après purification. Nous avons donc conclu à une dégradation ou une hydrolyse du produit sur silice lors de la purification sur colonne de celui-ci avec comme éluant un mélange de DCM et de méthanol. (Schéma II-12)

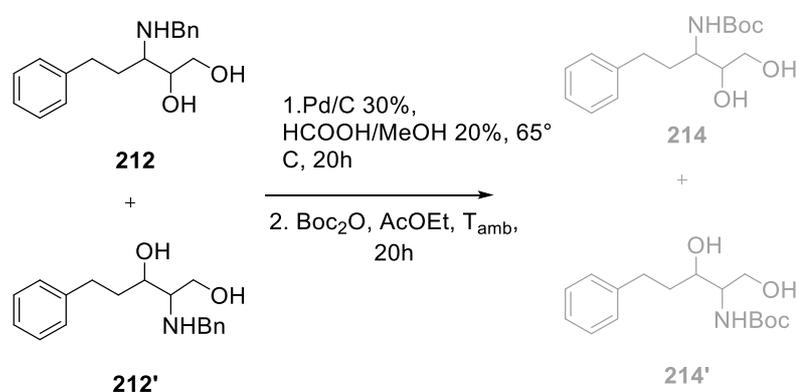


Schéma II-12 : Synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan-3-yl) carbamate par déprotection catalysée au Pd/C à l'acide formique du groupement benzylique suivi d'une protection par un groupement tert butyle.

Ainsi, l'accès au tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan-3-yl) carbamate par hydrogénolyse d'amines secondaires s'est avéré peu concluant (Schéma II-12). Nous avons donc décidé de ne pas poursuivre sur cette voie de synthèse telle qu'elle fut décrite.

En conclusion, une analyse détaillée ainsi que nos travaux sur cette synthèse proposée en 2003 par l'équipe de Péricas nous ont permis d'identifier divers inconvénients synthétiques dans le cadre de la mise en place d'une bibliothèque de composés comme cela apparaît sur le schéma ci-dessous. (Schéma II-13)

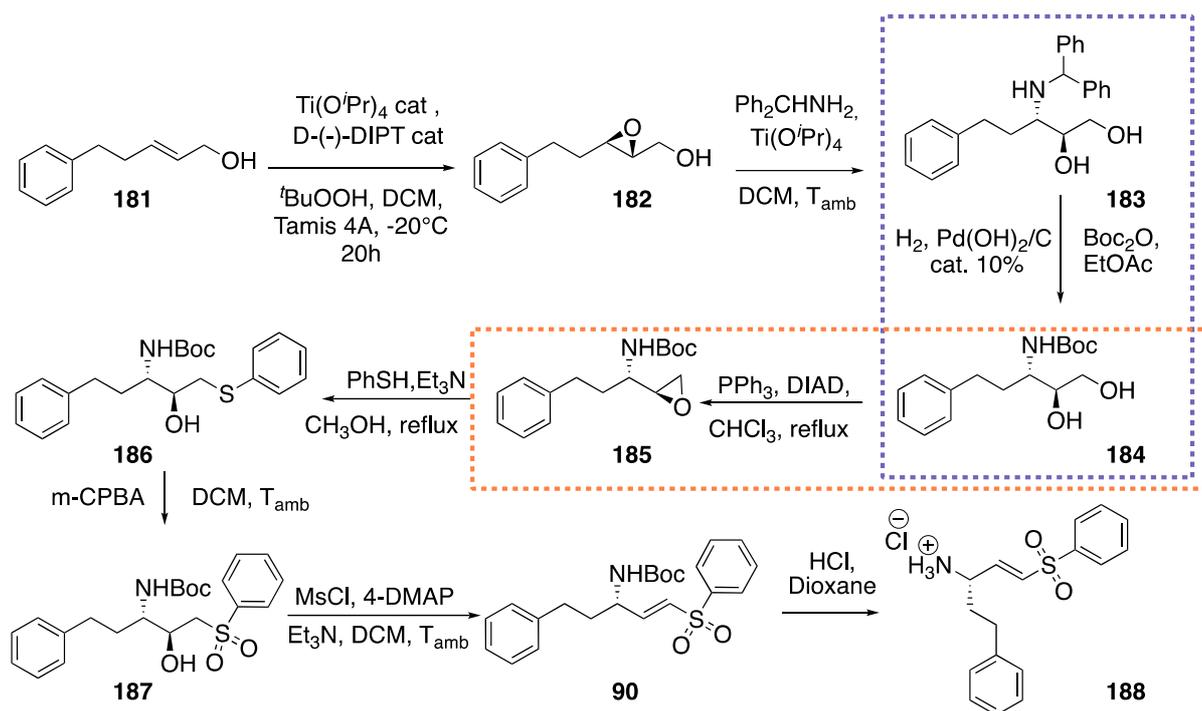


Schéma II-13 : Voie de synthèse de l'aminovinylsulfone décrite par Pericàs en 2003 via une époxyalcool

Tout d'abord lors de la 2^{ème} étape, l'ouverture de l'époxyde par des amines primaires ne nous a pas permis d'accéder au diol désiré **183**. En effet nous avons rencontré des problèmes de régiosélectivité de l'ouverture entre le diol 1,2 et le diol 1,3 également obtenu dans des proportions non négligeables.

De plus la troisième étape correspond à une étape de déprotection de **183** en amine et de sa reprotection par un groupement Boc obtenant ainsi l'amino diol **184**. Celle-ci est nécessairement chronophage sans pour autant apporter une plus value quant à la structure obtenue, même si elle s'avère efficace, ce qui n'a pas été le cas entre nos mains.

Par ailleurs comme évoqué précédemment, l'étape suivante de la synthèse consiste en la formation de l'époxyde terminal **185** à partir du diol **184**. Celle-ci est effectuée par une réaction de Mitsunobu qui entraîne la formation d'oxyde de triphenyl phosphine. Ce produit secondaire, dont l'élimination totale requiert divers traitements implique une chute du rendement isolé et une forte consommation de solvant.

Il apparaît donc judicieux de tenter de s'affranchir de ces différentes étapes en imaginant une variation de cette voie de synthèse qui reste néanmoins intéressante au vu du risque limité d'épimérisation. De plus, en évitant l'emploi de

triphenylphospine dans une réaction de Mitsunobu, il apparaît envisageable d'employer un azoture comme source d'azote et de conserver celui-ci au cours de la synthèse. Il s'avère cependant important de s'assurer de la viabilité de cette approche tant d'un point de vue de sécurité du procédé que concernant la stabilité de cette fonction dans les transformations fonctionnelles ultérieures ainsi que sa réduction en amine.

2. Variation synthétique et optimisation : l'azoture comme forme protégée de l'amine.

Nous nous sommes donc attachés à reprendre la stratégie globale mais en cherchant à en éliminer ce que nous identifions comme les maillons faibles. Cela conduit à la variante synthétique représentée ci-dessous. (Schéma II-14) Nous détaillerons par la suite les étapes conduisant à l'introduction des différents substituants sur la chaîne carbonée à partir de l'époxy alcool **211** obtenu précédemment. Nous avons essentiellement cherché à valider la possibilité de conserver la fonction azoture comme forme protégée de l'amine tout au long de la synthèse.

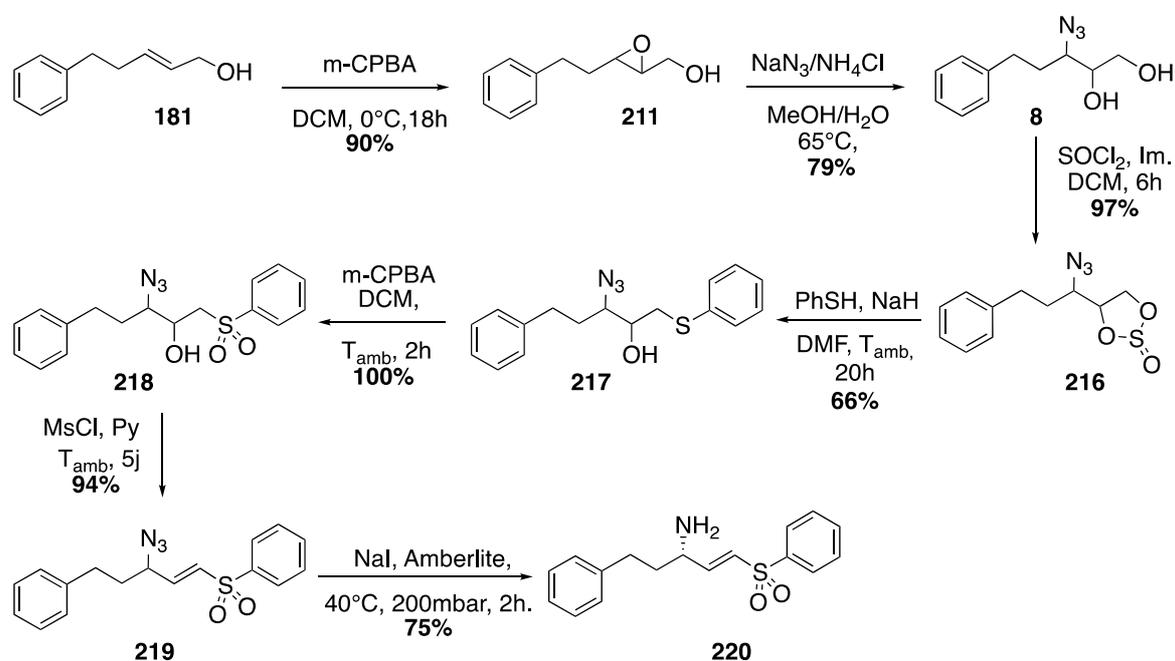


Schéma II-14 : Nouvelle voie de synthèse adaptée celle décrite par Pericàs

2.1 Introduction de l'azote.

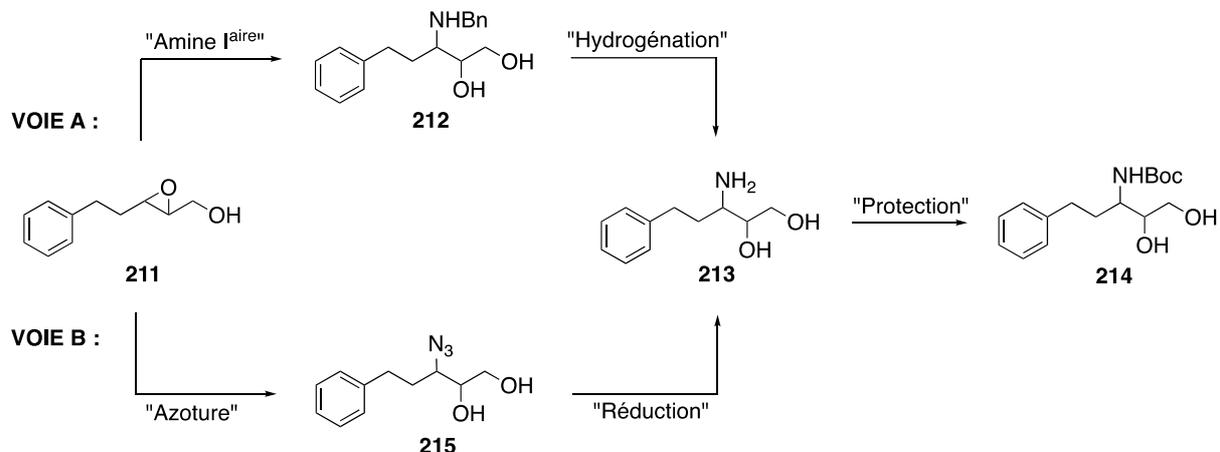


Schéma II-15 : Voies de synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan3-yl carbamate)

2.1.1 Ouverture de l'époxyde par des azotures

La régiosélectivité de l'ouverture et l'obtention du diol vicinal s'avérant non satisfaisante lors de l'ouverture de l'époxyde par une amine primaire, nous avons décidé d'introduire l'azote sous la forme d'un azoture. Nous nous sommes appuyés sur l'emploi du complexe $Ti(O-i-Pr)_2(N_3)_2$ pour garantir la régiosélectivité souhaitée. Une première tentative de formation *in situ* du complexe dans l'éthanol en présence de $Ti(O-i-Pr)_4$ et d'azoture de sodium s'est avérée non fructueuse avec une conversion incomplète et une cinétique très lente. (Schéma II-16)

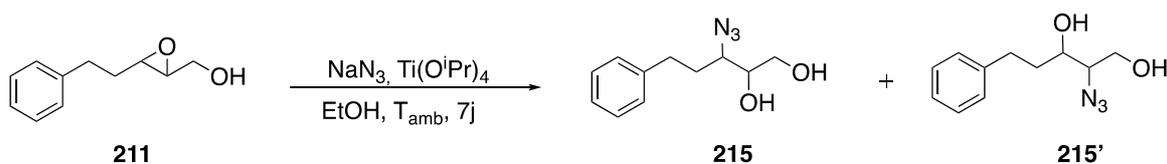


Schéma II-16 : Ouverture du trans-2,3-époxy-5-phenylpent-1-ol par l'azoture de sodium en présence de $Ti(O-i-Pr)_4$

Nous avons donc opté pour la synthèse isolée du complexe $Ti(O-i-Pr)_2(N_3)_2$ décrite par Caron et Sharpless qui ont utilisé ce complexe comme donneur d'azoture pour l'ouverture régiosélective d'époxy alcool, en position C₃, à 75°C dans le toluène pendant 10 à 15 min. Nous avons dans un premier temps synthétisé le complexe $Ti(O-i-Pr)_2(N_3)_2$ à l'échelle du gramme selon le protocole décrit par Choukroun et Gervais en 1980 par addition d'un équivalent de $Ti(O-i-Pr)_4$ à 2.5 équivalents d'azidotriméthylsilane. Après évaporation du milieu le complexe est obtenu sous la forme d'une poudre jaune avec un rendement de 63%. Ce complexe doit être

conservé sous atmosphère inerte pour éviter sa décomposition caractérisée par un changement de couleur du jaune au blanc.¹¹²(Schéma II-17)

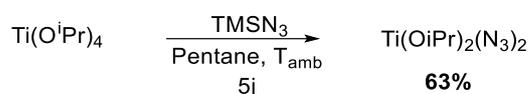


Schéma II-17 : Synthèse du complexe $\text{Ti(O-}i\text{-Pr)}_2(\text{N}_3)_2$

Ayant ce complexe en main, nous avons reproduit la synthèse du diol vicinal selon la description de Caron et Sharpless. La conversion complète de l'époxy alcool a été confirmée par CCM après 20h de réaction. Néanmoins, le produit désiré n'est obtenu qu'avec un très faible rendement (10%) qui peut être lié aux conditions de traitement aqueux de la réaction.¹¹³ (Schéma II-18)

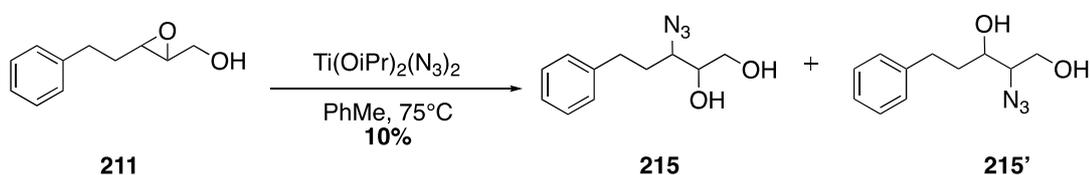


Schéma II-18 : Ouverture du trans-2,3-époxy-5 phénylpent-1-ol par le complexe $\text{Ti(O-}i\text{-Pr)}_2(\text{N}_3)_2$

Nous avons cependant pu obtenir suffisamment de produit pour constater la présence de deux régioisomères un semblant majoritaire en RMN du ^{13}C dont les signaux des carbones aliphatiques sont représentés en bleu à 73,62 ppm 63,66 ppm 63,14 ppm 32,36 ppm 32,23 ppm correspondant à l'amino-diol **215** et un minoritaire dont les signaux sont représentés en gris à 71,79ppm 66,87ppm 62,51ppm 35,29ppm 31,88ppm correspondent à l'amino-diol **215'**. (Figure II-2)

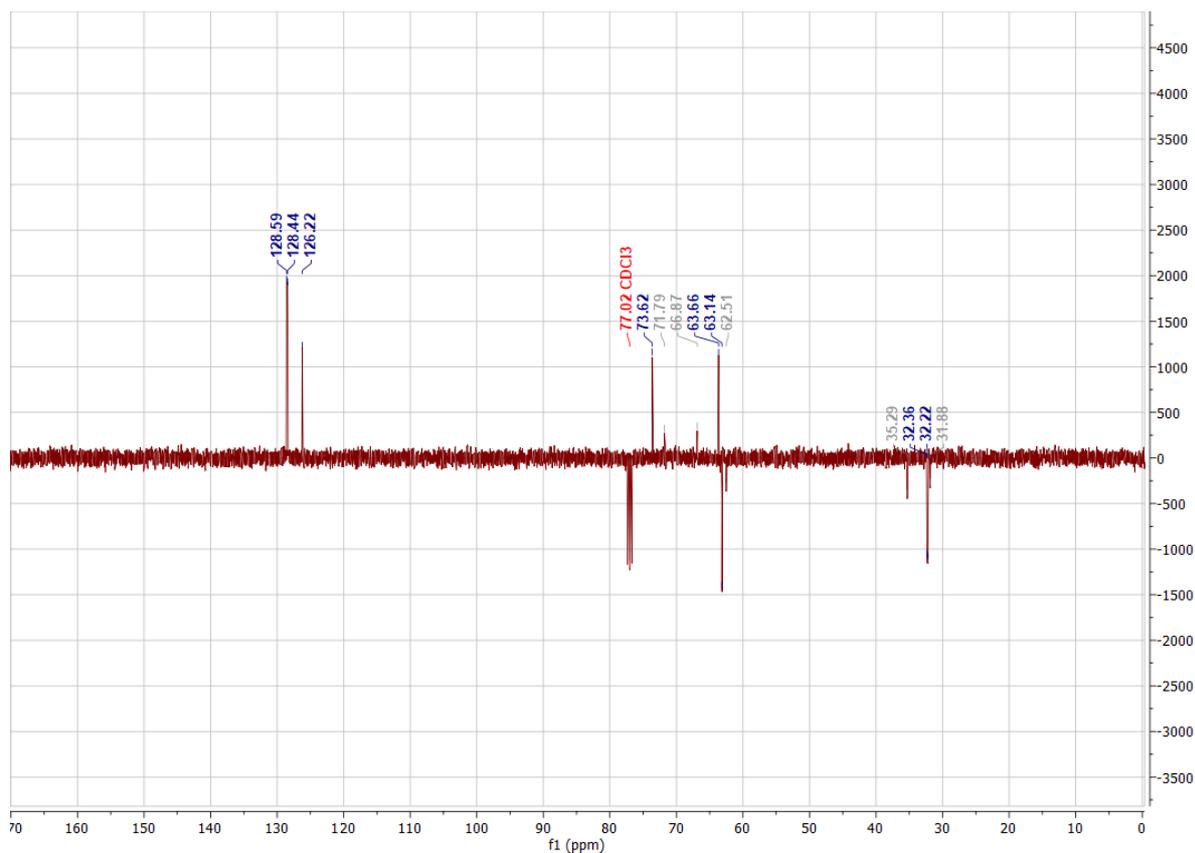


Figure II-2 : Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du 3-Azido-5-phenylpentan-1,2-diol et du 2-Azido-5-phenylpentan-1,3-diol

Le rendement limité par des conditions de traitement aqueux (par ailleurs peu compatibles avec une montée en échelle simple) obtenu avec $\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_2(\text{N}_3)_2$, nous a conduit à explorer une autre méthode que celle décrite par Caron et Sharpless. Une ouverture de l'époxyde par de l'azoture de sodium, qui avait également été décrite par Pérिकास pour d'autres substrats, apparait comme une approche plus simple à mettre en œuvre et à monter en échelle. Pericàs *et al.* ont décrit une réaction de l'azoture de sodium avec l'époxyde en présence de perchlorate de lithium à reflux dans l'acétonitrile.¹⁰⁶ (Schéma II-19)

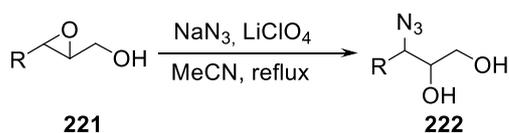


Schéma II-19 : Ouverture d'époxyalcool par l'azoture de sodium et le perchlorate de lithium Pericàs *et al.*

L'approche nous semblant optimisable du point de vue de la sécurité du procédé, nous avons cherché une alternative dans la littérature et nous nous sommes

appuyés sur des résultats décrits par Sharpless mettant en œuvre l'ouverture de l'époxyalcool par l'azoture de sodium en présence de chlorure d'ammonium à reflux dans un mélange de méthanol et d'eau. Les ratios de régioisomères pour deux substrats de structures proches de notre époxyalcool étaient rapportés à 100 :1 pour l'époxyalcool **223**, ce qui s'explique par la nature benzylique du carbone subissant l'attaque nucléophile, et 1.4 :1 pour **224**.¹¹³ (Schéma II-20) Même si l'introduction d'un carbone entre l'époxyde et le noyau aromatique induit une moins bonne régiosélectivité, nous avons pensé que ceci est également dû à l'encombrement stérique généré par le noyau aromatique. Cette hypothèse est corroborée par les résultats obtenus dans la même publication avec l'époxyalcool **225** ayant lui une simple chaîne alkyle et dont le ratio augmente à 5.8 : 1. Dès lors, notre substrat présentant une position moins contrainte d'un point de vue stérique, nous avons souhaité engager notre époxyde dans ces conditions réactionnelles.

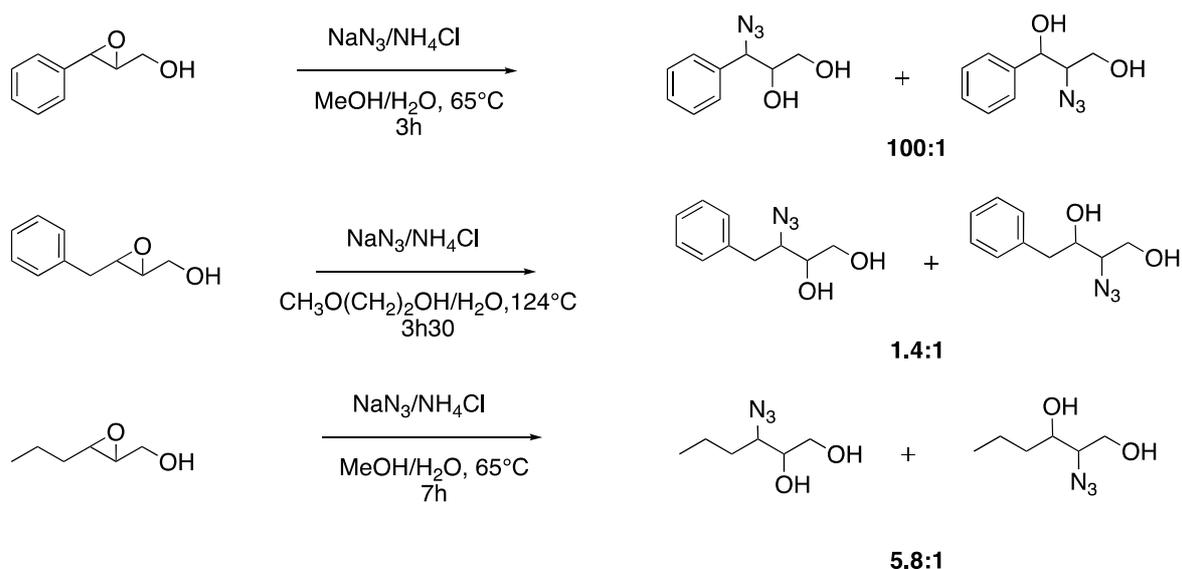


Schéma II-20 : Régiosélectivité de l'ouverture de différents époxyalcool par l'azoture de sodium en présence de chlorure d'ammonium

Celles-ci conduisirent à la consommation de l'époxyalcool **211**, constatée par CCM avec la formation d'une unique nouvelle tâche. Nous avons donc pu ainsi obtenir par ce protocole un nouveau produit avec une très bonne conversion massique. (Schéma II-21)

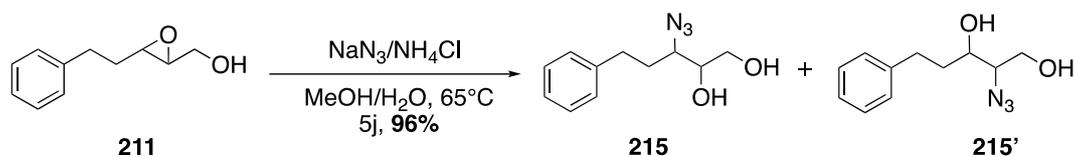


Schéma II-21 : Ouverture du *trans*-2,3-époxy-5-phenylpent-1-ol par l'azoture de sodium en présence de chlorure d'ammonium

L'analyse RMN ^1H du produit obtenu met en évidence l'ouverture de l'époxyde, avec multiplet intégrant pour trois protons entre 3.89 et 3,62 ppm correspondant aux CH et au CH_2 du diol, ainsi qu'un multiplet intégrant pour un proton entre 3.47 et 3,41 ppm correspondant quant à lui au proton au pied de l'azoture. Cependant un recouvrement des divers signaux ne permet pas de conclure de manière définitive sur le niveau de régiosélectivité. Toutefois, contrairement aux réactions conduites avec les amines primaires, le spectre RMN ^{13}C montre très clairement la formation très majoritaire d'un régioisomère dont les déplacements chimiques sont indiqués en bleu en Figure II-3 et d'un régioisomère minoritaire pour lequel les déplacements chimiques sont indiqués en gris. (Figure II-3)

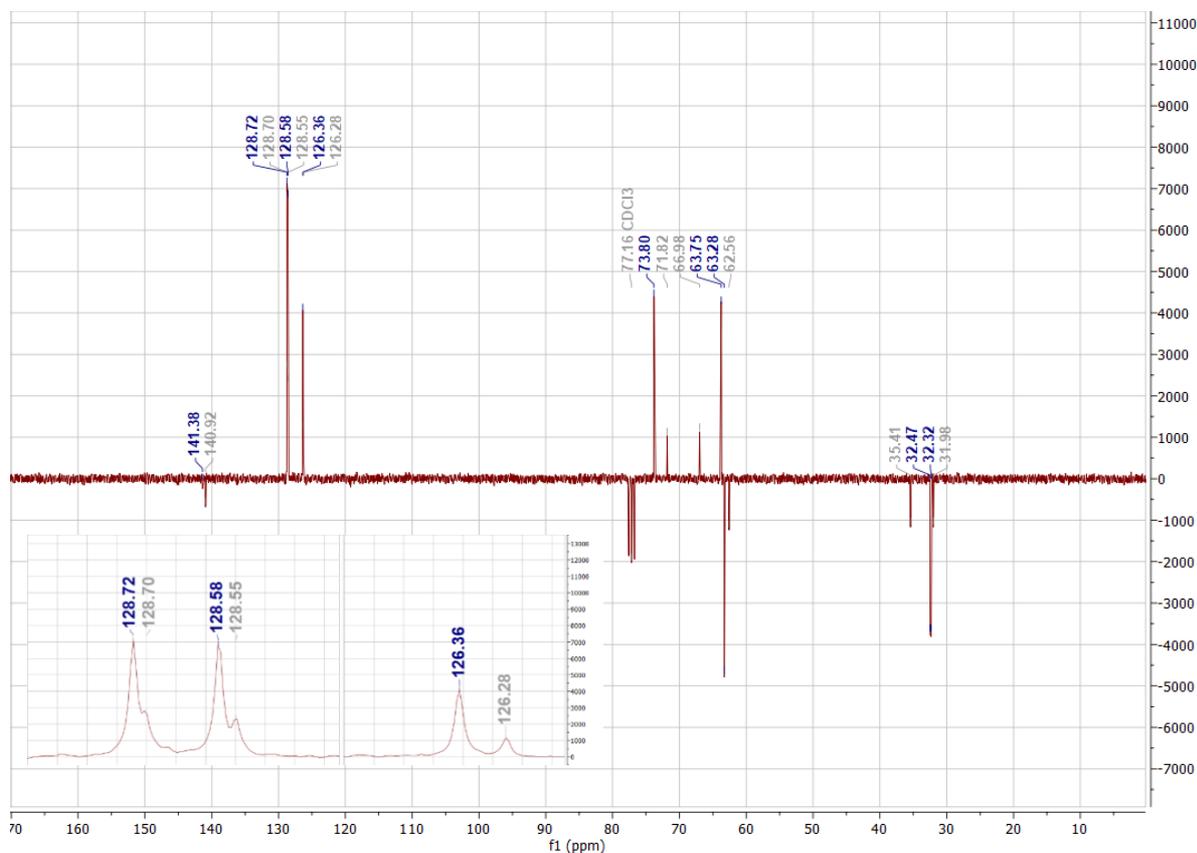


Figure II-3 : Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du 3-Azido-5-phenylpentan-1,2-diol et du 2-Azido-5-phenylpentan-1,3-diol

L'influence du temps de réaction a été examinée. Après 48h, le mélange de régioisomères est obtenu avec un rendement de 80% qui peut être augmenté à 96% après 5 jours de réaction. De manière intéressante, après avoir optimisé la réaction sur une échelle de 500 mg (2.8 mmol), la réaction a pu être progressivement montée en échelle jusqu'à 4g. La production d'un azoture sur des quantités importantes nous a interrogé sur le danger potentiel que représente l'emploi de tels dérivés. Cela nous a conduit à réaliser une étude de DSC sur notre mélange de diol.

La stabilité de l'azoture **215** (et **215'**) a été évaluée dans le cadre des équations de Yoshida.^{114,115} Cette méthode consiste à évaluer la sensibilité aux chocs (SS) et la tendance à la propagation explosive (EP) d'une substance donnée via des équations semi-empiriques faisant intervenir deux paramètres mesurés par calorimétrie différentielle à balayage. Les équations sont les suivantes :

Shock sensitivity (SS) according to Yoshida correlations.

$$\text{Shock sensitivity} = \log (Q_{DSC}) - 0.72 \times \log (T_{onset} - 25) - 0.98$$

Explosive propagation (EP) according to Yoshida correlations.

$$\text{Explosive propagation} = \log (Q_{DSC}) - 0.38 \times \log (T_{onset} - 25) - 1.67$$

où Q_{DSC} est exprimée en cal/g et T_{onset} en °C.

Q_{DSC} représente l'énergie libérée lors du chauffage menant à la dégradation de l'échantillon, et exprimée en cal/g, tandis que la température d'amorçage T_{onset} correspond à l'abscisse de l'intersection entre la tangente au pic exotherme détecté et la ligne de base. (Figure II-4)

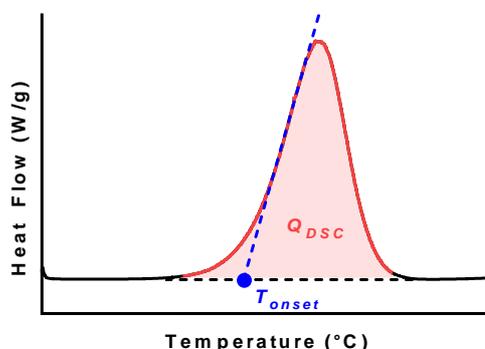


Figure II-4 : Représentation de la Q_{DSC} et de la T_{onset}

Une substance pour laquelle au moins l'une des deux valeurs (SS ou EP) est positive aura un risque important d'être explosive.

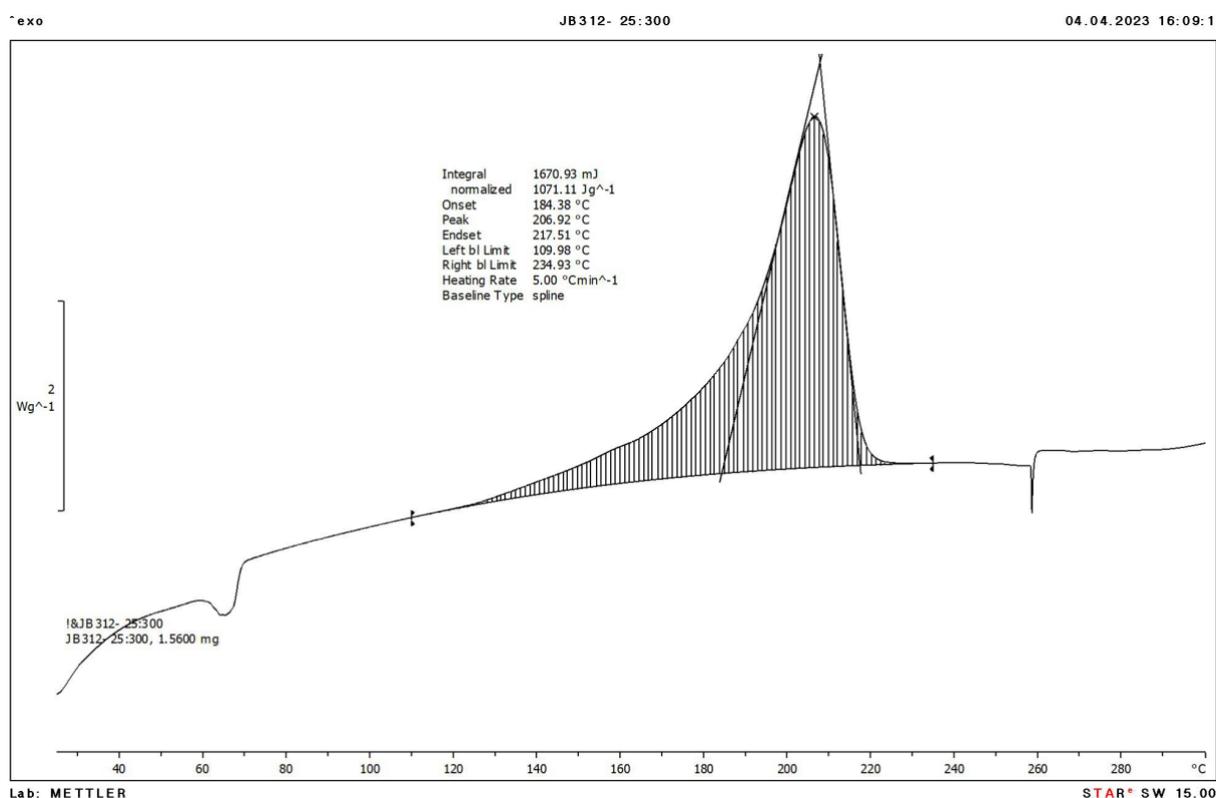


Figure II-5. Courbe d'analyse par calorimétrie différentielle à balayage de l'azoture 215.

L'analyse par calorimétrie différentielle à balayage d'un échantillon de **215** (et **215'**) (Figure II-5) donne les valeurs suivantes :

$$Q_{DSC} = 1071 \text{ J/g} = 256 \text{ cal/g}$$

$$T_{onset} = 184^{\circ}\text{C}$$

Les valeurs de SS et EP sont donc les suivantes :

$$SS = -0.16$$

$$EP = -0.10$$

Ces deux valeurs étant négatives, on peut rationnellement établir la non-explosivité de l'azoture **215** (et **215'**) dans les conditions standards d'utilisation.

N'ayant pas pu identifier des conditions chromatographiques permettant de séparer ces régioisomères, nous avons envisagé de poursuivre la synthèse sur le mélange, en faisant l'hypothèse que les diol-1,2-**215** et le diol-1,3-**215'** présenteraient

des réactivités différentes dans les étapes suivantes. Dans ce but, diverses réactivités ont été évaluées.

2.1.2 Synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan3-yl carbamate) par réduction de l'azoture.

Dans un premier temps, afin de chercher à obtenir une caractérisation plus précise du ratio obtenu lors de l'ouverture de l'époxyde, nous avons cherché à réduire l'azoture pour faciliter la séparation des régiosomères. Nous avons, pour cela, poursuivi la synthèse du tert butyl (1,2-dihydroxy-5-phenylpentan3-yl carbamate **214** sur le mélange de régiosomères. (Schéma II-22) avec la réduction de Staudinger par la triphénylphosphine. Malheureusement celle-ci n'a pas été concluante sur notre mélange d'azotures **215** et **216'**. On n'observe pas le produit désiré.¹¹⁶

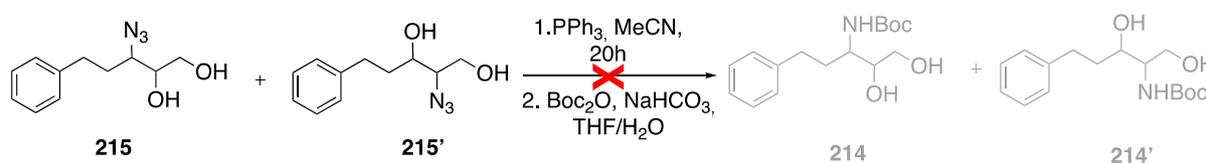


Schéma II-22 : Essai de réduction de Staudinger de l'azoture par la triphénylphosphine

Devant cet échec, nous nous sommes donc portés sur la poursuite de la synthèse en conservant l'azoture sur les étapes suivantes, lesquelles pourraient nous permettre d'effectuer cette séparation.

2.2 Introduction du soufre

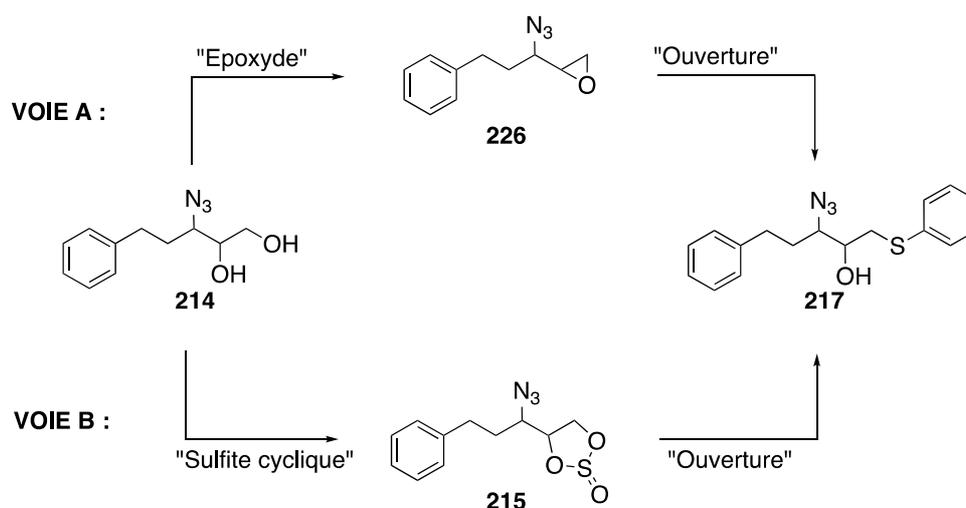


Schéma II-23 : Voies de synthèse envisagées pour l'introduction du motif soufré

2.2.1 Synthèse de l'époxyde terminal

Péricàs décrit dans la synthèse de de la 5-Phenyl amino vinyl sulfone sur laquelle est basé ces travaux, l'obtention de l'époxyde terminal par une réaction de Mitsunobu intramoléculeire.¹⁰⁶ (Schéma II-24)

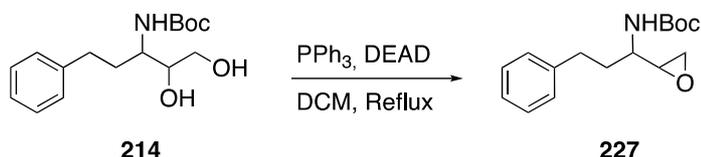


Schéma II-24 : Synthèse de l'époxyde terminal décrite par Pericàs par une réaction de Mitsunobu intramoléculeire

L'inconvénient majeur de cette étape est alors son incompatibilité avec la présence d'un azoture lié au risque de réduction de celui-ci par la triphénylphosphine. Il est à noter qu'une version catalytique de la réaction de Mitsunobu catalysée par l'oxyde de (2-hydroxyphénylbenzyl)diphénylphosphine **228** dont le seul produit secondaire formé est de l'eau, récemment décrite par Denton pourrait représenter une méthode alternative.¹¹⁷ (Schéma II-25) Néanmoins, face à l'incertitude de pouvoir générer par ce biais un époxyde terminal nous avons décidé de nous concentrer sur les différentes alternatives tentant de rendre la synthèse plus facile permettant un gain de temps visant l'accès à une bibliothèque d'analogues. Nous, nous sommes, dans un premier temps, intéressés aux différentes conditions de substitution nucléophile qui ne nécessite pas la synthèse préalable du catalyseur et qui sont décrites en version intramoléculeire.

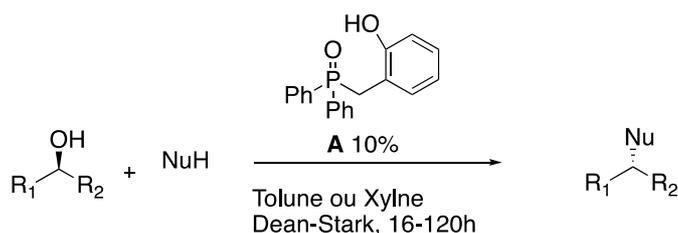


Schéma II-25 : Réaction de Mitsunobu catalytique décrite par Denton et al.

Dans la littérature on retrouve un grand nombre de conditions pour synthétiser un époxyde terminal à partir d'un diol par substitution nucléophile en présence d'une base (d'hydrure de sodium, de méthanolate sodium ou de carbonate de potassium) après activation de l'alcool primaire en bon groupement partant (tosylate, acetate...),¹¹⁸⁻¹²³ (Schéma II-26)

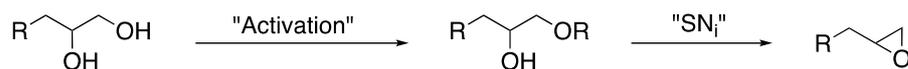


Schéma II-26 : Synthèse d'époxyde terminal par SN₁

- Résultat

Notre première tentative a été en suivant le protocole de Dubey, avec une activation dans la pyridine par le chlorure de tosylate à 0°C, suivi de la formation de l'époxyde en présence de carbonate de potassium dans le méthanol. Celui-ci ne nous a pas permis d'obtenir le produit désiré mais un éther méthylique **229** isolé avec de faibles rendements et probablement issu du déplacement du tosylate par le méthanol en présence de carbonate. (Schéma II-27)

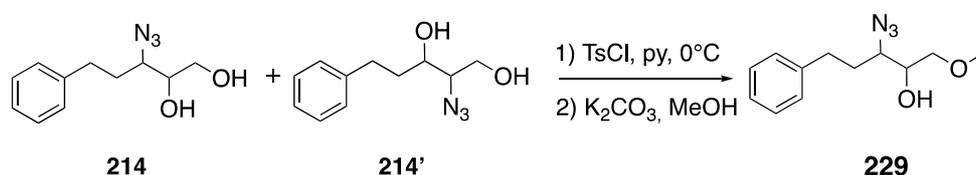


Schéma II-27 : Synthèse de l'éther méthylique après activation de l'alcool en tosylate

Pour éviter cela, nous avons par la suite modifié le solvant et la base utilisés dans la seconde étape en remplaçant le carbonate de potassium et le méthanol par l'hydrure de sodium et le DMF comme réalisé par Bennett pour la synthèse du 1,2-epoxy-3-phenyl. Malheureusement là encore, le produit souhaité n'a pas été obtenu sans qu'une raison unique ne soit identifiée, la tosylation ne semblait toutefois déjà pas efficace. (Schéma II-28)

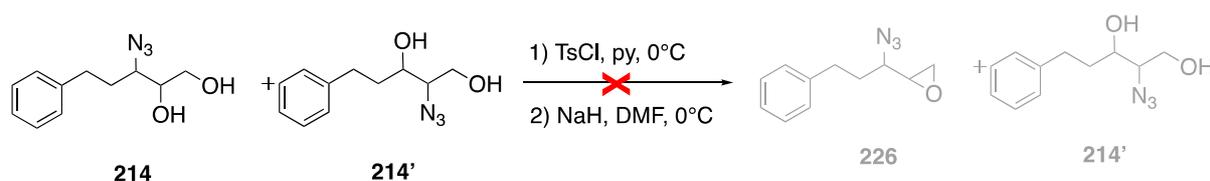


Schéma II-28 : Synthèse de l'époxyde terminal après activation de l'alcool en tosylate par l'hydrure de sodium

N'ayant pas obtenu l'époxyde désiré, nous nous sommes alors tournés vers un équivalent d'époxyde, tel qu'un sulfite cyclique.

2.2.2 Synthèse du sulfite cyclique

Les premiers sulfites aliphatiques furent obtenus après la réaction du chlorure de soufre en présence d'un excès d'alcool, Carius étudiera par la suite le mécanisme

du mélange de diols **215** et **215'** par addition lente de chlorure de thionyle à 0°C dans le DCM en présence d'imidazole. (Schéma II-32) Le milieu réactionnel devient laiteux de couleur jaunâtre lors de l'addition. Laissé sous agitation durant 20h, le milieu redevient limpide et de couleur marron. Le suivi de la réaction en CCM donne bien lieu à 4 spots correspondant aux divers régio- et stéréo-isomères, associés à la chiralité de l'atome de soufre. La réaction est quantitative, ne nécessite pas de purification supplémentaire et peut être réalisée à l'échelle du gramme.

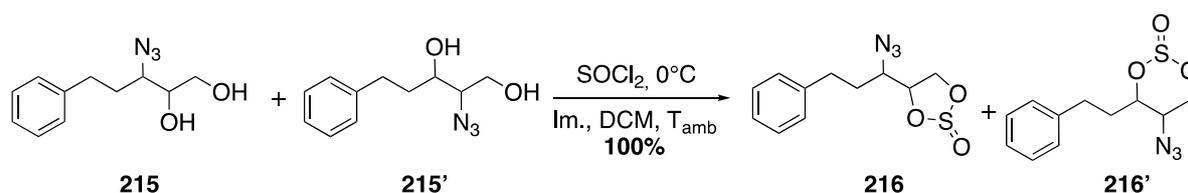


Schéma II-32 : Synthèse du 4-(1-azido-3-phenylpropyl)-1-3,2-dioxathiolane-2-oxide

2.2.3 Synthèse du thioéther

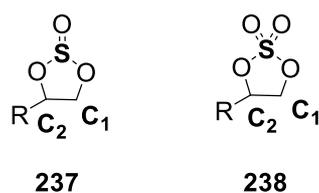


Figure II-6 : Représentation du sulfite cyclique et du sulfate cyclique

Le choix de la synthèse du sulfite cyclique **237** par rapport au sulfate cyclique **238** (Figure II-6) s'explique en raison de la régiosélectivité de l'ouverture qui est plus favorable en position C₁ pour le sulfite cyclique. En effet l'ouverture du sulfate cyclique par un nucléophile peut avoir lieu à la fois sous contrôle stérique et électronique pouvant engendrer une ouverture en position C₂.¹²⁹

En effet, il a été rapporté par Carslen *et al.* que l'ouverture du sulfite cyclique **239** a lieu exclusivement en position C₁ ou sur le soufre et non en position C₂. La différence de ratio entre les deux ouvertures possibles va alors dépendre de la nature du nucléophile. L'ouverture par le phénolate de sodium, le thiophénolate de sodium, l'azoture de sodium ou encore le cyanure de sodium a lieu exclusivement en position C₁ et donne le produit souhaité **240** alors que l'ouverture du même substrat par le sel de sodium de la benzylamine, de l'aniline, de l'alcool benzylique ou du benzylmercaptan a lieu à la fois en position C₁ ainsi qu'au niveau du soufre qui donne après hydrolyse le 3-O-benzylglycérol **241** avec des ratios respectifs **240/241** = 9 : 1, 3 : 1, 1 : 6 et 1 : 18. (Schéma II-33)^{129,130}.

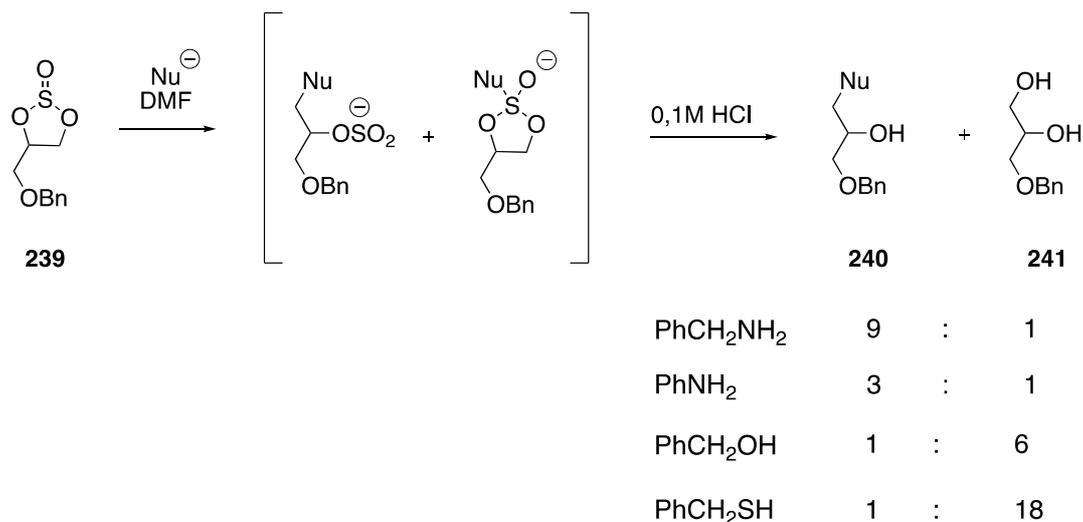


Schéma II-33 : Ouverture du sulfite cyclique par différent nucléophile

Ces résultats peuvent être expliqués par la théorie HSAB (concept acide-base de Pearson), les nucléophiles moins polarisables donc dit « durs » vont avoir une réactivité plus importante envers le soufre du sulfite qui est plus « dur » au regard du site C₁ plus « mou ». ^{131,132}

- Résultat

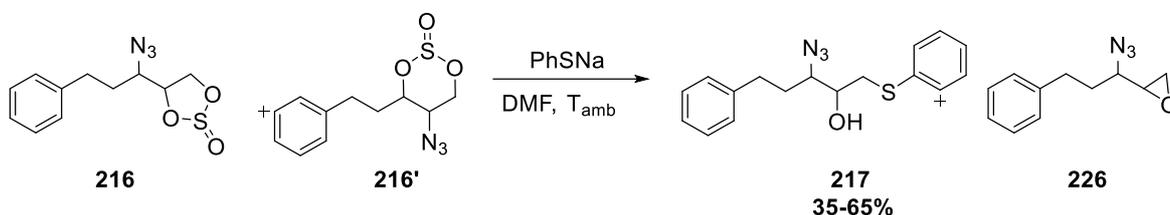


Schéma II-34 : Synthèse du 3-azido-5-phényl-1-(phénylthio)pentan-2-ol par ouverture du sulfite cyclique au thiophénolate de sodium.

L'ouverture des sulfites cycliques **216** et **216'** est réalisée dans le DMF anhydre par le thiophénolate de sodium généré *in situ* à 0°C en présence de thiophénol et de sodium métallique. Le thioéther désiré **217** résultant de l'ouverture en position C₁ est bien le produit majoritaire. Celui-ci est isolé avec un rendement de 65% par chromatographie sur gel de silice avec un gradient de 100% cyclohexane à 90 :10 cyclohexane/acétate d'éthyle. Parmi les produits secondaires isolés se trouvent l'époxyde terminal **226** qui correspond à la seconde attaque possible du thiolate sur l'atome de soufre du sulfite cyclique. Cela provoque l'ouverture du sulfite, libérant un alcoolate qui conduit alors à l'époxyde. (Schéma II-34). Ce mécanisme a déjà été rapporté par Lohray lors de la réaction du sulfite de glycol **242** avec le méthanolate

de sodium dont le produit majoritaire est l'oxyde d'éthylène **243**. (Schéma II-35).¹³³ Aucun produit issu du sulfite cyclique **216'** dérivant du diol-1,3 **215'** n'a pu être observé.

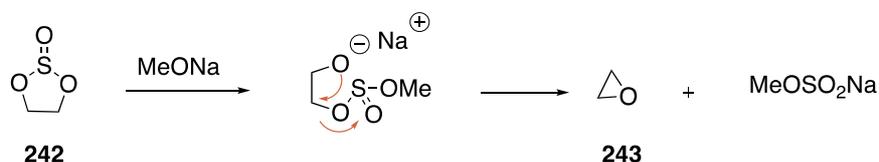


Schéma II-35 : Mécanisme de la synthèse de l'oxyde d'éthylène lors de l'ouverture du sulfite de glycol.

2.3 Aménagement fonctionnel

2.3.1 Synthèse de l'hydroxyvinylsulfone

- Résultat

L'oxydation de l'atome de soufre du thioéther **186** en sulfone est obtenu comme décrit précédemment par Péricàs grâce à l'ajout de 2 équivalents de mCPBA à 0°C. (Schéma II-36).

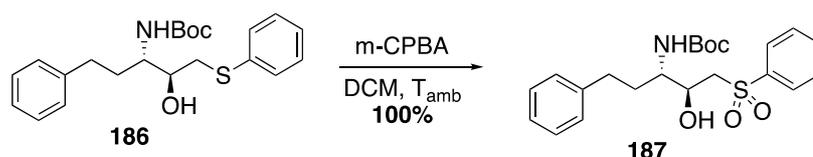


Schéma II-36 : Oxydation du soufre au mCPBA par Pericàs et al.

On observe alors en RMN le déblindage des protons proches du soufre notamment du CH₂ en alpha et du proton au pied du OH. (Figure II-7) Ce déblindage est dû au changement de la fonction thioéther où le soufre est électrodonneur en sulfone qui est une fonction électroattractrice. On peut clairement voir la migration du multiplet entre 3.7 et 3,63 ppm encadré ci-dessous en bleu qui correspond au proton H₂ au pied de l'alcool. En effet en plus d'être déblindé après l'oxydation du soufre celui-ci couple lors d'une analyse 2D COSY ¹H-¹H avec le proton de l'alcool qui sort sous la forme d'un doublet à 3,62 avec une constante de couplage de 2,4 Hz. Au contraire le signal du proton au pied de l'azoture, entre 3,42 et 3,50 ppm, n'est pas modifié après l'oxydation, le multiplet ne variant pas tout comme le reste des signaux de la molécule. Le CH₂ en alpha du soufre se distingue lui en système AB formant deux doublets dédoublés un à 2,98 ppm ayant des constantes de couplage de 14,5 Hz et de 9,5 Hz et le second à 3,23 ppm ayant des constantes de couplage de de 14Hz et de 3 Hz. Après l'oxydation du soufre on peut voir que les deux signaux se superposent,

ainsi le doublet dédoublé à 2,98 ppm encadré en vert est lui aussi déblindé par la présence du soufre autour de 3,3 ppm.

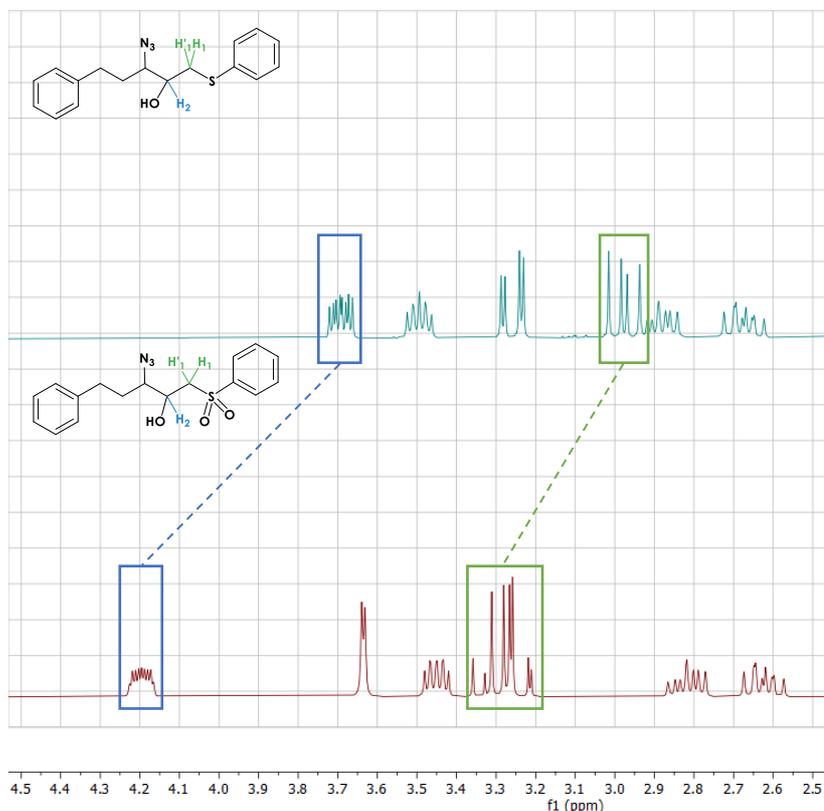


Figure II-7 : Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du 3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pentan-2-ol entre 2,5 et 4,5 ppm

2.3.2 Synthèse de l'azidovinylsulfone

- Résultat

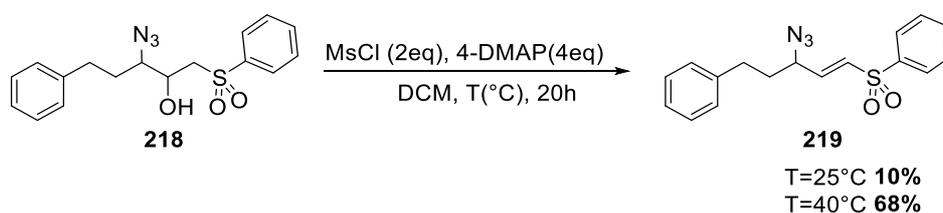


Schéma II-37 : Synthèse du (E)-3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1-pentene avec 4-DMAP

Après un essai dans le DCM en présence de 4 équivalents de 4-DMAP et de de 2 équivalents de mésylchloride à température ambiante peu concluant avec seulement 10% de rendement du produit souhaité et la récupération de 74% du produit de départ après séparation sur colonne de silice. Nous avons obtenu un meilleur rendement de 68% en chauffant le milieu réactionnel à reflux, il reste tout de

même nécessaire de purifier le produit sur colonne. (Schéma II-37). Finalement la synthèse de la vinylsulfone **219** est mise en œuvre dans la pyridine en présence de 2 équivalents de chlorure de mésyle à température ambiante pendant 5 jours. Elle est ainsi obtenue avec un rendement optimal de 94%. D'après les analyses RMN celle-ci est suffisamment propre et ne nécessite donc pas de purification supplémentaire (Schéma II-38). Nous avons également pu constater qu'en portant la réaction à reflux différents produits secondaires sont observés, probablement issus de l'élimination du proton au pied de l'azoture de l'hydroxyvinylsulfone **218** et de l'isomérisation de le vinylsulfone **219**.

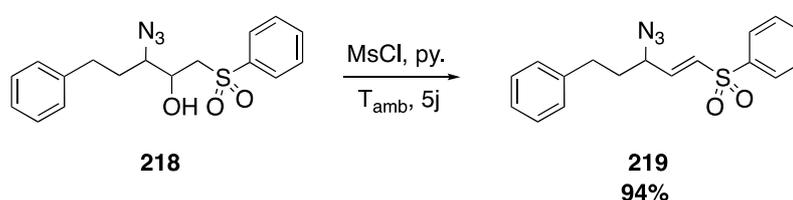


Schéma II-38 : Synthèse du (E)-3-azido-5-phényl-1-(phénylsulfonyl)-1-pentène dans la pyridine.

On observe la formation de la double liaison trans en RMN du proton par l'apparition de deux doublets dédoublés à 6.89 ppm de constantes de couplage 15.16 et 5.84 Hz, et à 6.58 ppm de constantes de couplage 15.16 Hz et 1.62 Hz. (Figure II-8)

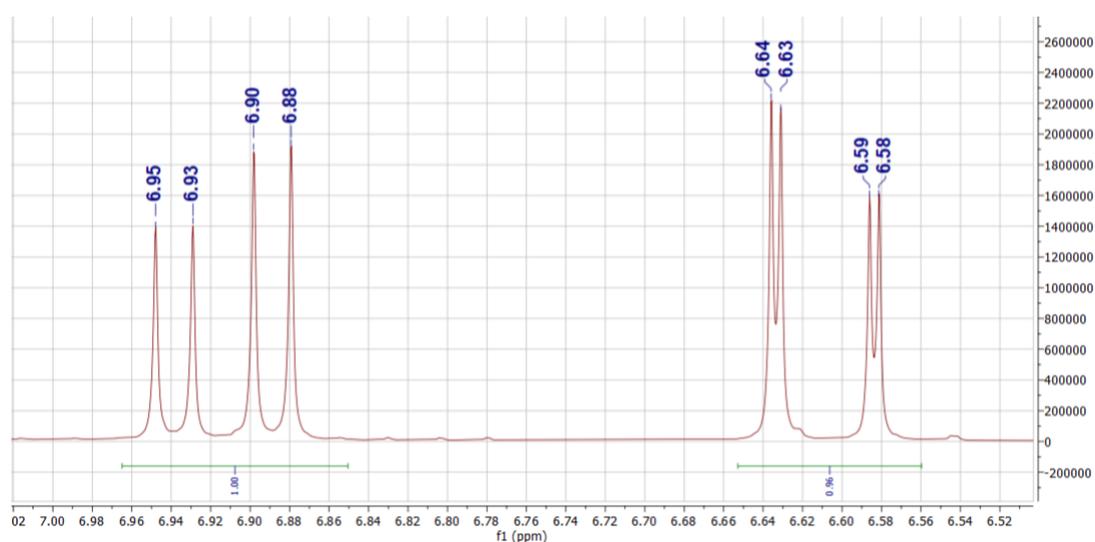


Figure II-8 : Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du (E)-3-azido-5-phényl-1-(phénylsulfonyl)-1-pentène entre 6,52 et 7,0 ppm doublet dédoublés des protons éthyléniques

2.3.3 Synthèse de l'aminovinylsulfone

a)

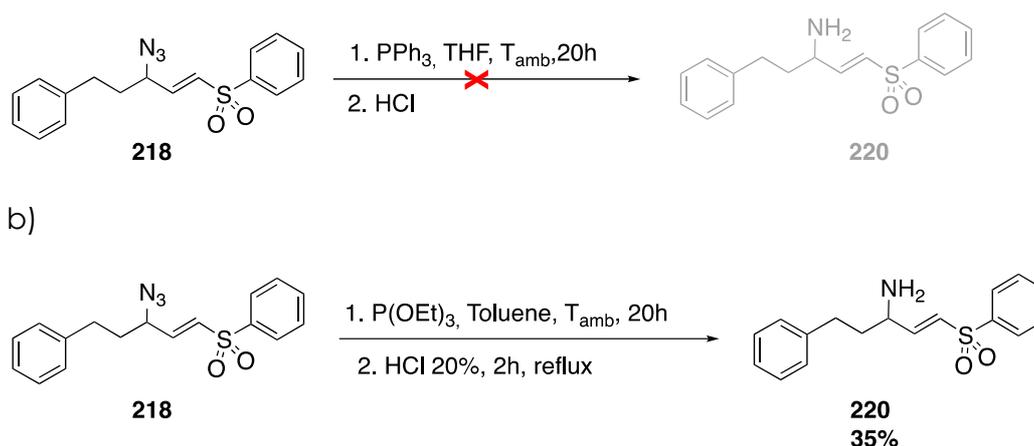


Schéma II-39 : Réduction de l'azoture a) par la triphenylphosphine b) par le triéthylphosphite

La réduction de l'azoture **219** pour obtenir l'aminovinylsulfone **220** s'est ensuite avérée relativement compliqué. La réduction de Staudinger couramment utilisé n'a pas donné le produit souhaité dans notre cas, comme reporté précédemment par Evans qui a, quant à lui, décrit la réduction de cet azoture avec de la triméthylphosphine. Il a toutefois obtenu des rendements variables et relativement faibles entre 6% et 30 %. Nous avons donc envisagé la réduction avec un phosphite en l'occurrence le triéthylphosphite $P(OEt)_3$. L'amine fut ainsi obtenue grâce à la réduction au triéthylphosphite dans le toluène à température ambiante pendant 20h. Le rendement obtenu étant là encore très peu satisfaisant avec un rendement faible de seulement 35% (Schéma II-39).

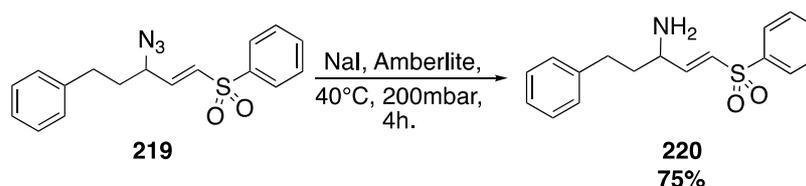


Schéma II-40 : Réduction de l'azoture par l'iodure de sodium en milieu acide.

Les conditions optimales identifiées correspondent à une méthode proposée par l'équipe de Fairbanks. L'amine fut, en effet, obtenue avec un bon rendement par réduction en milieu acide (résine d'Amberlite) en présence de NaI sous pression réduite de 200mbar (Schéma II-40).¹³⁴

Ayant établi et validé cette optimisation de l'approche synthétique de l'aminovinylsulfone, il nous restait alors à explorer la possibilité de la réaliser de manière énantiométrée, avec une bonne efficacité pour permettre l'implication des produits issus de cette approche dans des tests biologiques.

3. Approche asymétrique

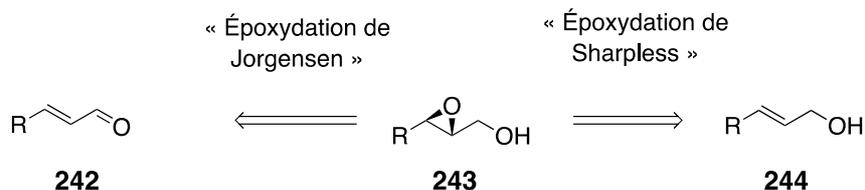
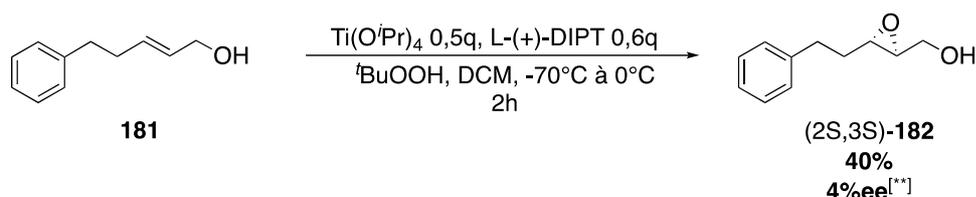


Schéma II-41 : Voie rétrosynthétiques envisagée pour la synthèse asymétrique de l'époxyalcool

3.1 Étape clé : Époxydation Sharpless

Ayant établi une approche simple et efficace en voie racémique, nous nous sommes intéressés à la synthèse énantiosélective de l'époxyde **211**. Dans un premier temps deux approches décrites par Sharpless s'offraient à nous. La 1^{ère} où les catalyseurs sont introduits en quantité catalytique et la seconde où ils sont introduits en quantité sub-stoichiométrique.

Dans nos mains, en s'appuyant sur la version sub-stoichiométrique (Schéma **II-42**), nous avons pu obtenir l'époxyde (2S,3S)-**182** par oxydation à l'hydroperoxyde de tert-butyle (TBHP) en présence de 0.5 équivalents d'isopropylate de titane ($Ti(O-i-Pr)_4$) et de 0.6 équivalent de (L)/(+)-Tartrate de diisopropyle (DIPT), avec un rendement faible de 40%, et un excès énantiomérique calculé en HPLC chirale était pratiquement inexistant (4%).¹³⁵



[**] excès énantiomérique obtenu par HPLC chirale

Schéma II-42 : Synthèse asymétrique de Sharpless sub-stoichiométrique

Il apparaissait donc essentiel de mettre en place la version catalytique de la réaction en présence de tamis moléculaire (4Å) activé. Le suivi d'un protocole adapté des travaux précédemment réalisés par Péricas et Jamisson nous a permis d'obtenir les deux énantiomères (2S,3S)-**182** et (2R,3R)-**182**. (Schéma **II-43**) L'oxydant reste le TBHP mais l'oxydation à lieu cette fois-ci en présence de 5% de $Ti(O-i-Pr)_4$ et de 8% de l'un des tartrates de diisopropyle L ou D.¹³⁶⁻¹³⁸

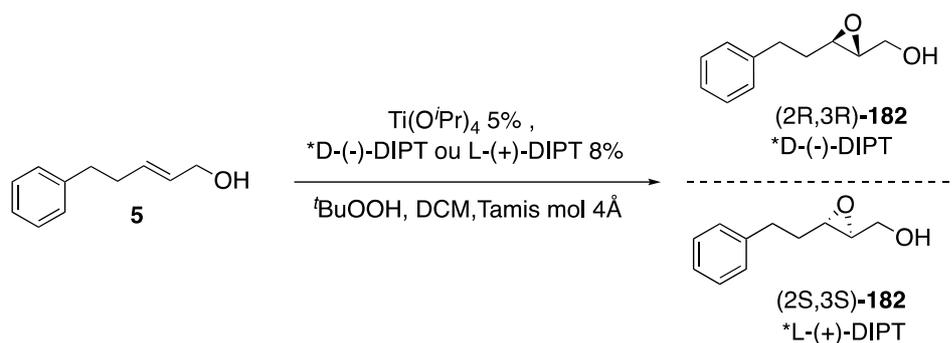


Schéma II-43 : Synthèse des énantiomères du trans-2,3-époxy-5 phénylpent-1-ol par époxydation asymétrique de Sharpless

Les additions sont réalisées à basse température ($-78\text{ }^{\circ}\text{C}$) puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante sur la nuit. On obtient ainsi de très bons rendements compris entre 70% et 94% (Entrées 1 à 3 Tableau II-2). Les excès énantiomériques obtenus par HPLC chirale sont cette fois-ci meilleurs, allant jusqu'à 84% (Entrées 1 Tableau II-2). Toutefois ils s'avèrent encore insuffisants pour conduire des études d'affinités pour la cible biologique. De plus un manque de reproductibilité de l'induction chirale a été observé en particulier lors des montées en échelle (Entrées 2 et 3 Tableau II-2).

Entrée	Catalyseur	T($^{\circ}\text{C}$)	Rdt	e.e
1	L-(+)-DIPT	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ à TA	70%	84
2	D-(-)-DIPT	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ à TA	83%	27
3	D-(-)-DIPT	$-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ à TA	94%	24
4	L-(+)-DIPT	-78 à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	81%	12
5	D-(-)-DIPT	-78 à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	80%	71

Tableau II-2 : Résultats des synthèses des énantiomères du trans-2,3-époxy-5 phénylpent-1-ol

Il est possible que la présence de traces d'eau, liée à une moindre activité du tamis moléculaire, soit à l'origine d'une neutralisation de l'activité du catalyseur. D'autre part, la température du milieu réactionnel que l'on laisse revenir à température ambiante peut être une autre cause de variation des excès énantiomériques. Ainsi, pour essayer d'augmenter l'excès énantiomérique obtenu nous avons décidé de laisser la réaction à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ sur la nuit. Les rendements obtenus sont toujours satisfaisants autour de 80%, l'excès énantiomérique ne fut quant à lui pas

amélioré étant seulement 12% et 71% (Entrées 4 et 5 Tableau **II-2**). Aucune différence notable ne nous a permis d'expliquer la disparité des résultats observée au niveau des excès énantiomériques en HPLC chirale.

Nous n'avons pas été en mesure de reproduire des excès énantiomériques suffisamment élevés grâce à l'époxydation de Sharpless pour utiliser cette approche pour la suite du projet. Il s'avérait donc clé d'explorer une autre méthode permettant de contrôler l'induction chirale de manière satisfaisante (>95%) et reproductible. Nous nous sommes pour cela tournés vers des méthodes d'organocatalyse.

3.2 Étape clé : Époxydation par organocatalyse

3.2.1 *Bibliographie généralité*

La catalyse asymétrique à base de métaux est pratiquée depuis très longtemps avec un grand succès. Depuis les années 1990, un domaine de la chimie organique de la catalyse a connu un renouveau important en s'appuyant sur des molécules organiques ne comportant pas de centre métallique. On parle alors de d'organocatalyse par opposition à la catalyse organométallique.^{139,140} Ces méthodes prennent leurs sources sur les premières réactions utilisant la (S)-proline comme organocatalyseur. L'exemple typique fut la réaction d'aldolisation intramoléculaire rapportée par Hajos et Parrish en 1974. (Schémas **II-44**)¹⁴¹

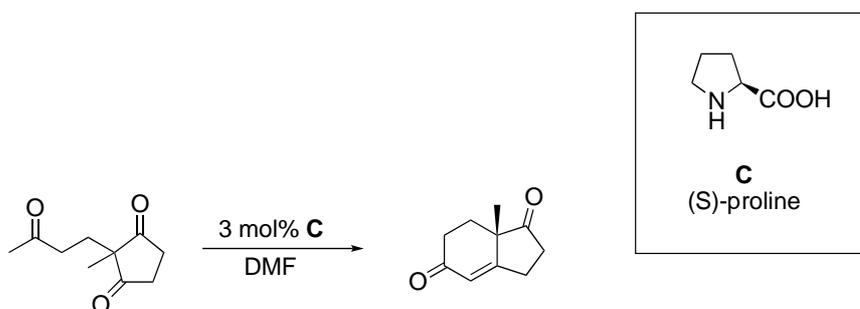


Schéma II-44 : Réaction d'aldolisation intramoléculaire décrite par Hajos et Parrish

Yian Shi, Scott Denmark et Dan Yang, ont respectivement réalisé les premières réactions organocatalytiques d'époxydation énantiosélective en utilisant trois catalyseurs différents : le premier dérivé de fructose **D**, une cétone à 11 chaînons **E** et enfin une cétone fluorée **F** (Figure **II-9**).

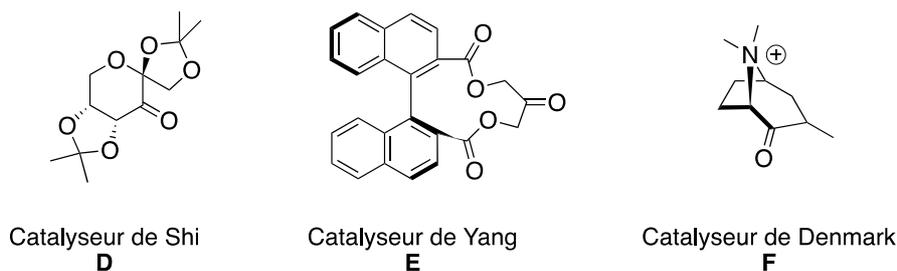


Figure II-9 : Représentation des premiers catalyseurs d'organocatalyse d'époxydation

Ainsi, après l'oxydation du stilbene **245** à l'oxone dans l'acétonitrile, ils obtiennent l'oxyde de stilbene (R,R) **246** avec de très bon rendement et des excès énantiomériques compris entre 47% et 95%. (Schémas II-45)



Schéma II-45 : Oxydation du stilbene à l'oxone en présence des différents catalyseurs

Contrairement aux cétones α,β -insaturées peu de travaux existait concernant l'époxydation asymétrique d'aldéhydes α,β -insaturés avant les travaux publiés par Jørgensen *et al.* en 2005 rapportant une époxydation hautement énantiosélective utilisant un éther silylé de diarylprolinol comme catalyseur **G**. (Figure II-10).

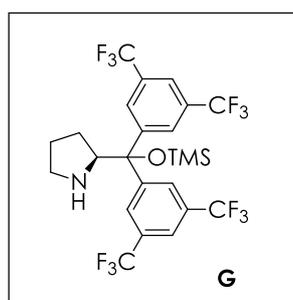


Figure II-10 : Représentation du catalyseur de Jørgensen (S)- α,α -[3,5-Bis(trifluorométhyl)phényl]prolinol triméthylsilyl éther,

L'oxydant utilisé est cette fois-ci de l'eau oxygénée dans le DCM donnant les époxydes correspondants avec de bons rendements entre 60 et 90% et des excès énantiomériques compris entre 75 et 99% (Schémas II-46). La réaction fut par la suite également réalisée dans des mélanges de solvant eau-ethanol et eau-THF.^{142,143}



Schéma II-46 : Synthèse d'époxyaldéhyde Jørgensen et al.

Le mécanisme proposé par Jørgensen *et al.* pour cette réaction est décrit ci-dessous. (Schéma II-47). L'aldéhyde α,β -insaturé et l'amine chirale réagissent pour générer un intermédiaire iminium dans la première étape. L'atome de carbone électrophile β subit l'attaque nucléophile du peroxyde ce qui entraîne la création de la liaison carbone-oxygène et de l'énamine intermédiaire. L'attaque nucléophile intramoléculaire de l'énamine sur le peroxyde, suivie de l'hydrolyse de l'intermédiaire iminium, aboutit à la création de l'époxy-aldéhyde.

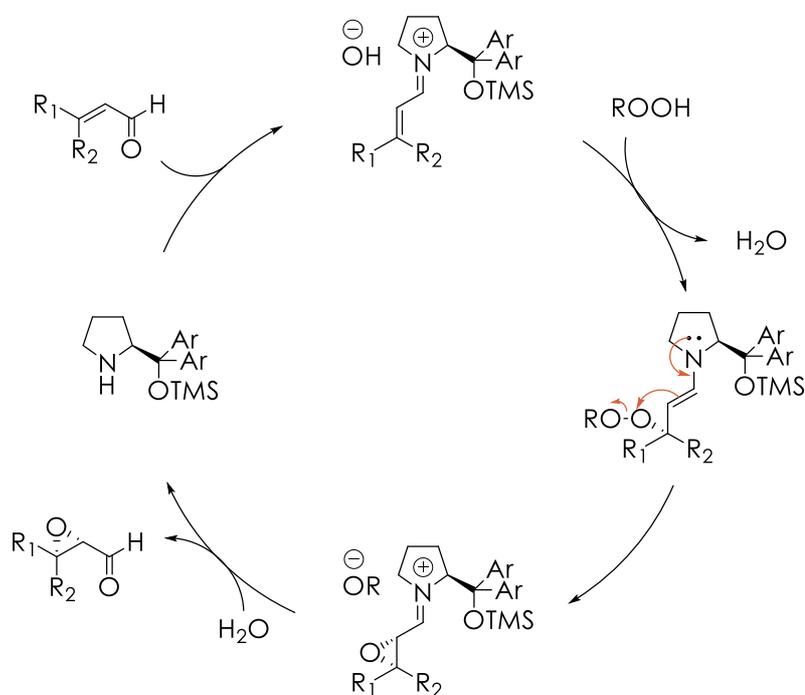


Schéma II-47 : Cycle catalytique de l'époxydation d'aldéhyde α,β -insaturé proposé par Jørgensen et al.

3.2.2 Résultat

Suryavanshi *et al.* ont décrit en 2012 au cours de la synthèse de l'(-)-aspinolide la synthèse de l'époxyalcool **250** avec un rendement de 43% et un excellent excès énantiomérique de 99% à partir de l'énal **249** correspondant par une époxydation catalysée avec le catalyseur de Jørgensen **G**, suivi d'une réduction au borohydrure de sodium. (Schéma II-48).¹⁴⁴

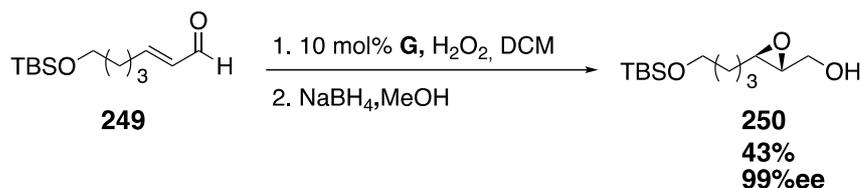


Schéma II-48 : Synthèse du ((2R,3R)-3-(4-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)butyl)oxiran-2-yl)methanol décrite par Suryavanshi et al.

En appliquant cette méthode à l'aldéhyde **251** obtenu par une oxydation, au réactif de Dess-Martin, nous avons ainsi put obtenir l'époxy-alcool d'intérêt (2R,3R)-**182**. La synthèse, simple à mettre en œuvre, a été réalisée sur 1g de réactif de départ avec un rendement après purification sur gel de silice sur deux étapes autour de 80% et un excès énantiomérique de 96% mesuré par HPLC chirale. (Schéma II-49). L'autre énantiomère (2S,3S)-**182** a également pu être obtenu avec le même rendement en présence de l'autre énantiomère (R) du catalyseur de Jørgensen, avec cette fois-ci un excès énantiomérique de 95% également mesuré par HPLC chirale.

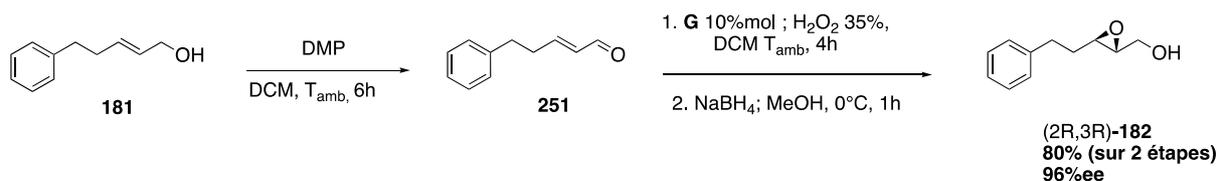


Schéma II-49 : Synthèse du (2R,3R)-trans-2,3-époxy-5 phenylpent-1-ol par époxydation asymétrique de Jørgensen

3.3 Synthèse asymétrique de la vinylsulfone

L'ensemble de la synthèse jusqu'à l'aminovinylsulfone a ensuite été reproduite pour s'assurer de la conservation de l'excès énantiomérique. On observe une conservation de l'excès énantiomérique de 96% jusqu'à l'azidovinylsulfone suivi d'une légère érosion de la pureté optique lors de la réduction de l'azoture à l'iodure de sodium avec un excès énantiomérique mesuré de 92%. L'ensemble des résultats est représenté sur le schéma ci-dessous. (Schéma II-50).

Chapitre II : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – optimisation de l'approche via un époxyde terminal

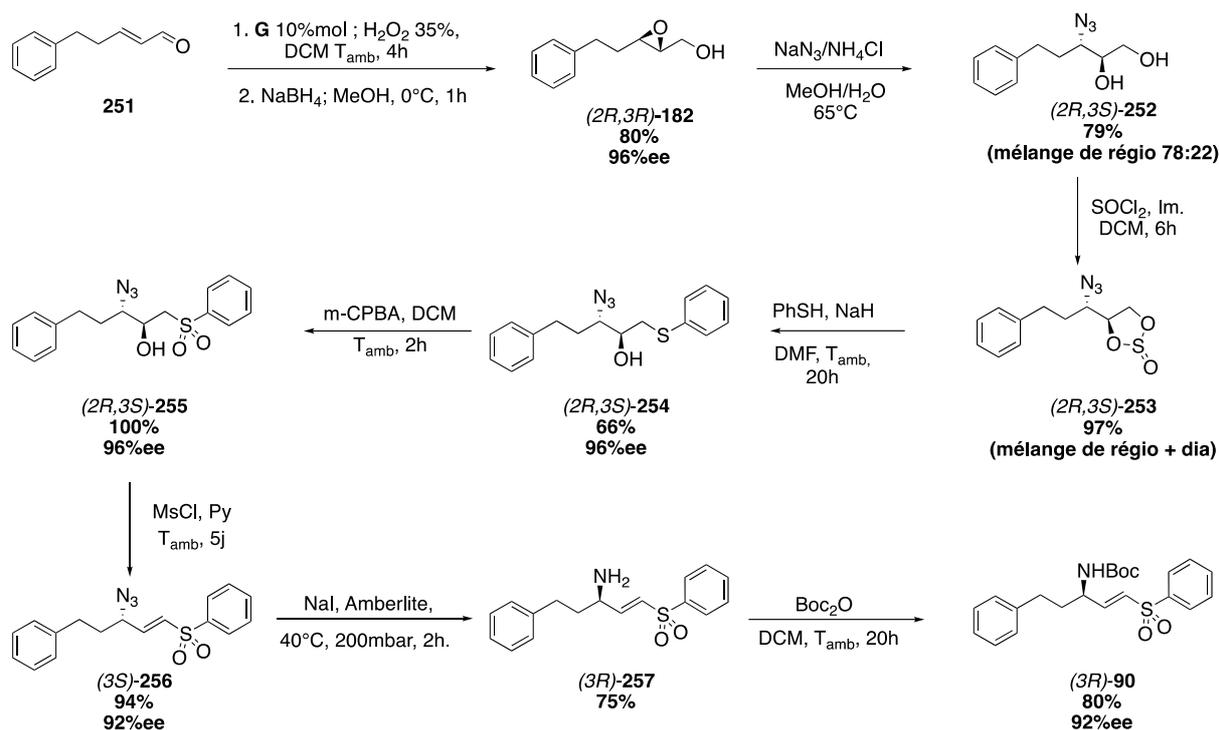


Schéma II-50 : Synthèse asymétrique du (E)-3-(tert-butoxycarbonyl)amino-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1-pentène

IV/ Synthèse du LHVS

1. Synthèse LHVS via ligation de Staudinger « traceless »

Ayant obtenu de manière efficace l'azido-vinylsulfone, nous avons tenté une réaction de formation de liaison peptidique de type ligation de Staudinger.

1.1 Ligation de Staudinger « traceless »

La réaction de Staudinger, telle que décrite dans son étude de 1919, est à la base de la technique de bioconjugaison connue sous le nom de ligation de Staudinger.¹¹⁶ Comme nous l'avons vu précédemment, l'hydrolyse de l'imino-phosphorane intermédiaire peut conduire à l'amine correspondante. Or il s'avère que le caractère nucléophile de l'azote de l'imino-phosphorane peut également permettre la formation d'une liaison amide par réaction avec un ester.

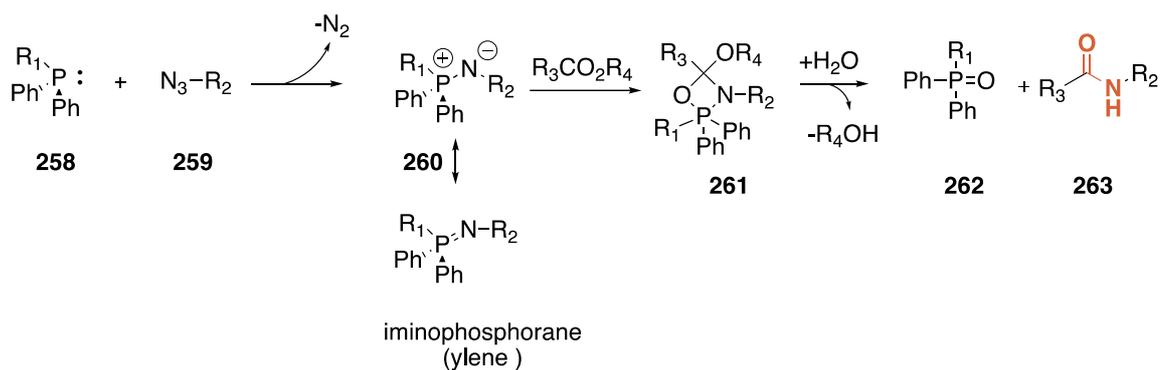
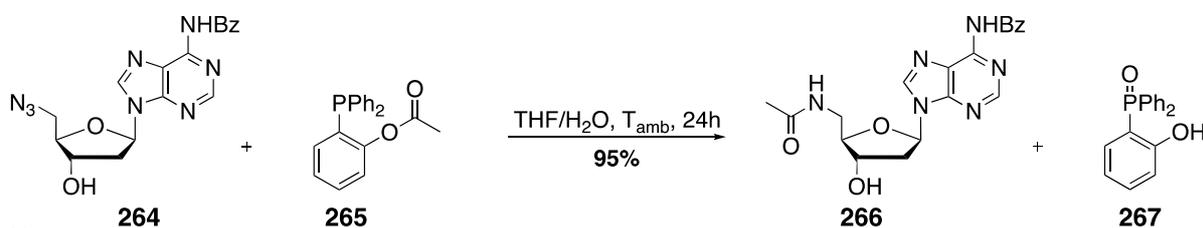


Schéma II-51 : Mécanisme de la réaction de ligation de Staudinger

Le schéma ci-dessus illustre le principe de la ligation de Staudinger. Une phosphine **258** et un azoture **259** réagissent dans la première étape, pour produire un iminophosphorane (ou phosphazène) **260** (via un phosphazide et une perte de N₂). Cet intermédiaire de réaction a fait l'objet de nombreuses études pour sa réactivité avec un grand nombre d'électrophiles. La ligation de Staudinger correspond quant à elle la conversion de l'imino-phosphorane en amides **263** en formant une liaison carbone-azote avec des dérivés d'acides carboxyliques. (Schéma II-51)¹⁴⁵.

Ils existent plusieurs versions intramoléculaires de la ligation de Staudinger où la fonction ester ou thioester est portée par la phosphine. Nous nous intéresserons ici plus particulièrement à la ligation de Staudinger « traceless » qui permet la formation d'une liaison amide et l'élimination simultanée de l'oxyde de phosphine formé. Cette réaction fut publiée à la suite des travaux de Vilarrasa simultanément en l'an 2000 par l'équipe de Bertozzi et celle de Raines. (Schéma II-52).¹⁴⁶⁻¹⁴⁸

a)



b)

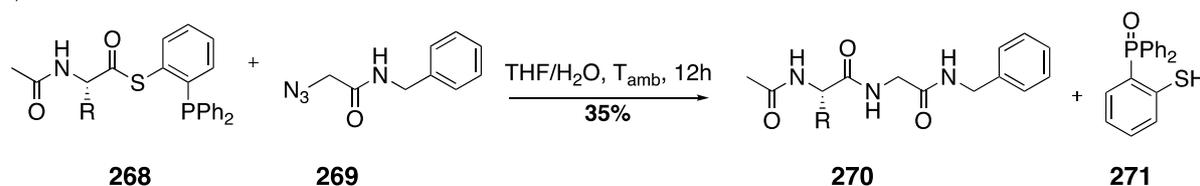


Schéma II-52 : Réaction de Staudinger « traceless » par a) Bertozzi et al. et b) Raines et al.

Le mécanisme et la cinétique de la réaction ont été étudiés par Raines et al. ainsi que Fang et al. (Schéma II-53). L'imino-phosphorane **274** créé lorsque le composé réagit avec l'azoture **273** est dans ce cas piégé par le carbonyle adjacent. Enfin, l'hydrolyse entraîne la formation d'amide **276** et la libération de l'oxyde de phosphine **277**.^{149,150}

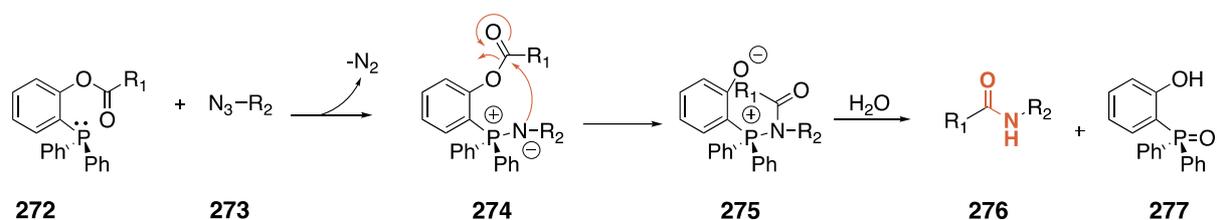


Schéma II-53 : Mécanisme de la réaction de Staudinger « traceless » proposé par Raines et al. et Fang et al.

Un exemple d'application en dehors de la bioconjugaison fut publié par Yamashita *et al.* en 2014 concernant la synthèse totale de la nobilamide B (Figure II-11), un antagoniste d'un canal ionique non sélectif le TRPV1 (transient receptor potential vanilloid type 1).¹⁵¹

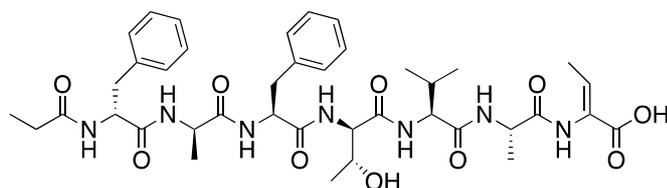


Figure II-11 : Représentation de la nobilamide B

L'étape finale de la synthèse de la nobilamide B utilise la ligation de Staudinger pour la formation stéréosélective de la Z énamide **280** (Schéma II-54). Le premier bloc, un peptide à cinq acides aminés est quant à lui obtenu par synthèse peptidique sur support solide (SPPS) sur une résine de Wang par activation microonde.

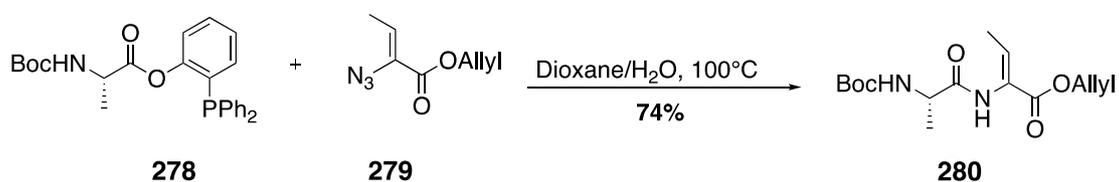


Schéma II-54 : Synthèse de la Z énamide par ligation de Staudinger « traceless » pour la synthèse de la nobilamide B par Yamashita et al.

1.2 Résultat

1.2.1 Synthèse du phosphinoester

Nous avons donc synthétisé le phosphinoester **282** de la morpholinoleucine en suivant le protocole de Yamashita *et al* grâce à un couplage entre l'acide **203** activé par le chlorhydrate d'EDC et le (2-Hydroxyphenyl)diphénylphosphine **281** à température ambiante dans un mélange DCM /THF. Le produit désiré est obtenu après une purification par flash chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 75%. (Schéma II-55).¹⁵¹

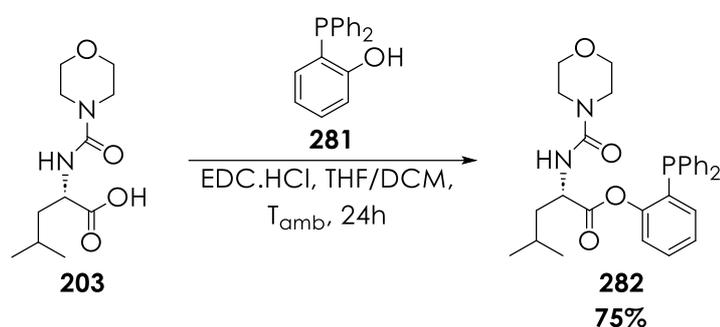


Schéma II-55 : Synthèse du phosphinoester de la morpholinoleucine.

On peut distinguer l'apparition des protons aromatiques autour 7,5 ppm en RMN du ¹H ainsi que la présence de la phosphine en RMN du ³¹P. (Figure II-12)

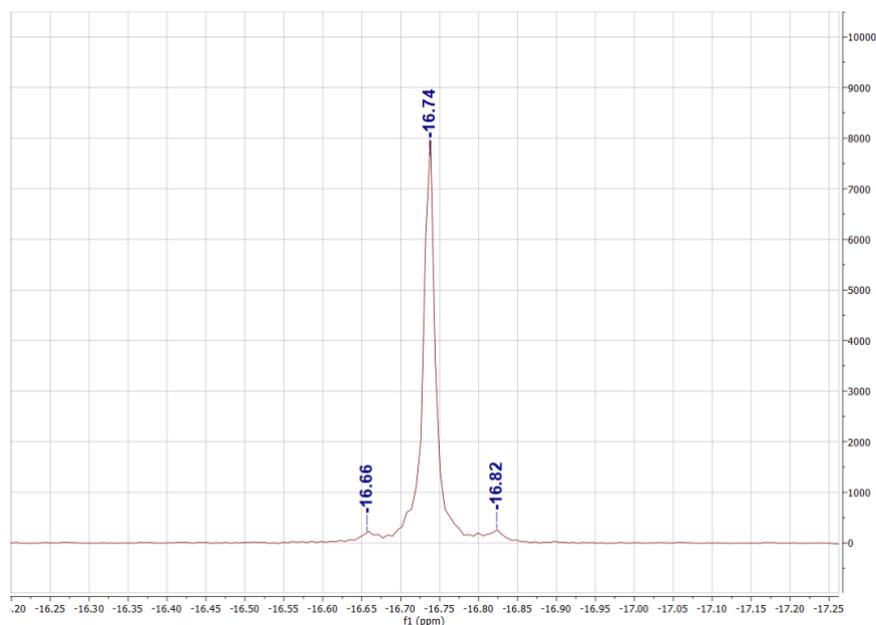


Figure II-12 : Spectre RMN ³¹P (122 MHz, CDCl₃) du 2-(diphénylphosphanyl)phényl (morpholine-4-carbonyl)-L-leucinate entre -17,25 et -16,25 ppm

1.2.2 Synthèse du LHVS

Toujours en suivant le protocole décrit par Yamashita *et al.* nous avons ensuite réalisé la ligation de Staudinger « traceless » pour la synthèse du LHVS **A** à température ambiante dans un mélange de solvant THF/H₂O pendant 20h. (Schéma II-56).

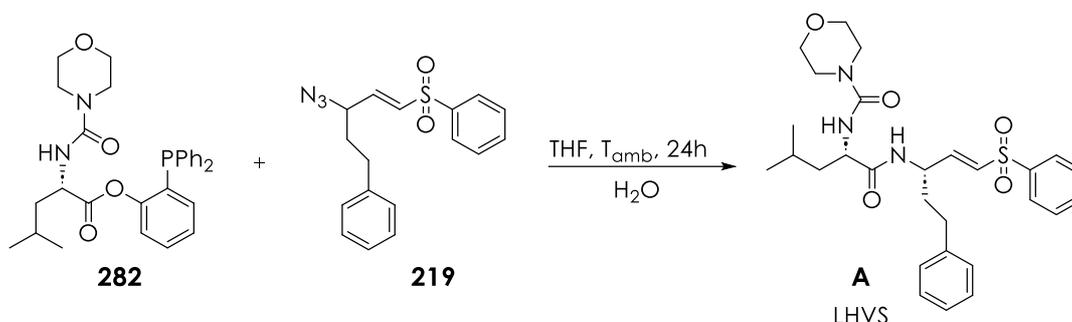


Schéma II-56 : Synthèse du LHVS par ligation de Staudinger « traceless »

Nous avons observé le produit désiré au sein du brut réactionnel lors du suivi CCM et HPLC-MS avec une confirmation de la masse avec un m/z de 528. Toutefois, la présence de deux produits secondaires de rapports frontaux très proches a rendu l'isolement impossible par purification en flash chromatographie sur gel de silice. Nous avons donc décidé de procéder à un couplage peptidique classique à partir de l'amine.

2. Synthèse LHVS via couplage peptidique

2.1 Synthèse liaison peptidique

Afin de réaliser ce couplage peptidique, nous avons effectué l'activation de notre dérivé de la leucine **203**. Dans le cadre de la formation d'amide, l'acide carboxylique est le plus souvent activé en présence d'un agent de couplage. Il en existe un grand nombre dont les plus courants sont : le N-hydroxysuccinimide (HOSu), le N-hydroxy-5-norbornène-2,3-dicarboximide (HONB), le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt), le 6-chloro-1-hydroxybenzotriazole (6-Cl-HOBt), le 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt) et plus récemment le 3-hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazine (HODhbt) et son dérivé aza (HODhat) (Figure II-13)

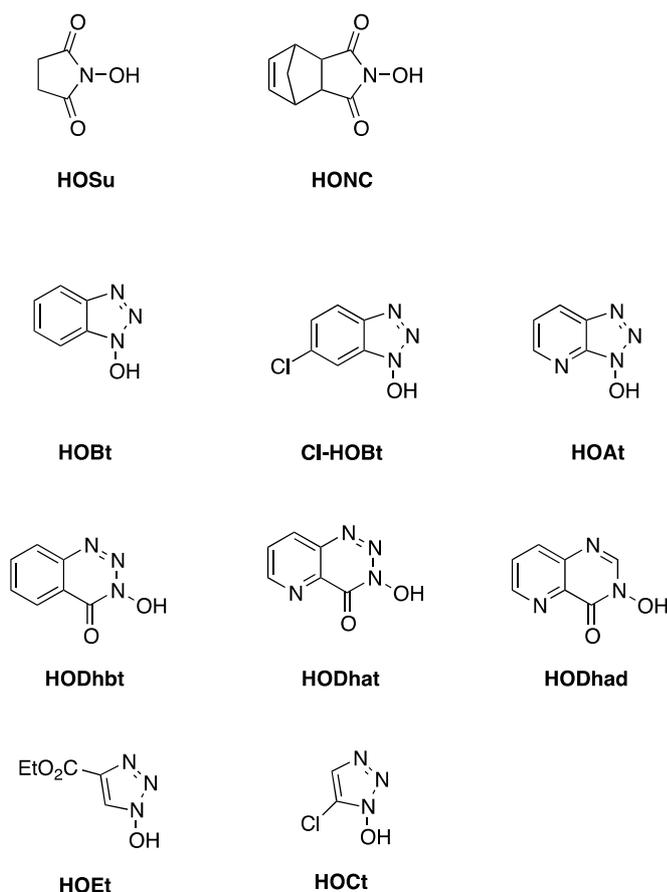


Figure II-13 : Représentation de différents agents de couplage peptidique

L'introduction de ces motifs en lieu et place de l'hydroxyle de la fonction acide, permet l'activation de cette fonction, le motif jouant le rôle de groupement partant dans la réaction d'addition-élimination. La réaction de couplage a alors lieu entre l'intermédiaire activé formé et l'amine. (Schéma II-57).

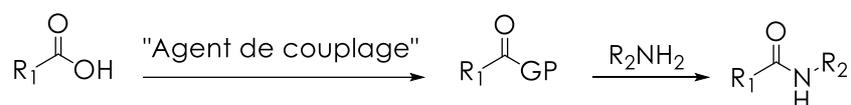


Schéma II-57 : Principe de la réaction de couplage peptidique

2.2 Résultat

Nous avons appliqué cette méthode pour accéder au LHVS **A** à partir de l'aminovinylsulfone racémique **220** en employant l'HOBT et l'EDC dans le DCM pendant 24h. Cela nous a permis d'accéder au LHVS sous forme d'un mélange de diastéréoisomères après purification par flash chromatographie sur gel de silice avec rendement de 78%. (Schéma II-58).

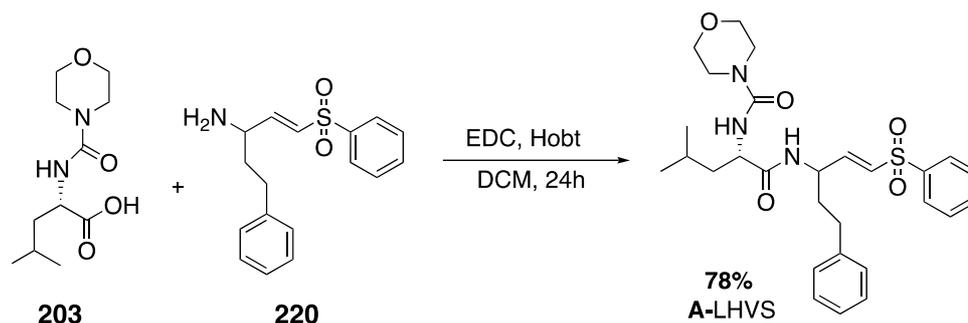


Schéma II-58 : Synthèse du LHVS par couplage peptidique

On observe bien en spectroscopie de masse le pic M à 528,58 m/z ainsi que la distribution M+1 qui représente 33,26% et M+2, 5,57%. L'obtention du LHVS est donc bien validée et un seul diastéréoisomère est observé en RMN 1H. Cette méthode représente donc une voie de synthèse à des analogues du LHVS en particulier en s'appuyant sur la fonction azoture qui peut permettre des couplages par cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre (CuAAC). En effet, les triazoles ainsi obtenus sont des bioisostères de la fonction amide introduite ci-dessus. Ces autres analogues permettraient ainsi d'engendrer une famille alternative d'analogues du LHVS et de variants fluorés, comme nous le verrons en conclusion de ce manuscrit.

CHAPITRE 3 : SYNTHÈSE DU LHVS, INHIBITEUR DE LA CATHEPSINE S – À PARTIR D'UNE ALLYLAMINE CHIRALE

I/ Rappels bibliographiques

Les stratégies d'accès à des vinylsulfones **283** par sulfonylation à partir d'alcènes ou d'alcyne ont fait l'objet de diverses études. Elles n'ont cependant à ce jour jamais été appliquées à la synthèse d'aminovinylsulfones bien que leur mise en œuvre puisse conduire à un accès simple et convergent, conjugué à une bonne stabilité configurationnelle des intermédiaires de synthèse mis en jeu. Comme le montre le schéma ci-dessous, les deux points cruciaux de cette approche seront d'une part la réaction d'arylsulfonylation d'une allylamine **284** et d'autre part la synthèse asymétrique de cette dernière. Nous allons dans un premier temps présenter les méthodes relatives à ces deux points et par la suite les résultats obtenus pour cette approche. (Schéma III-1)

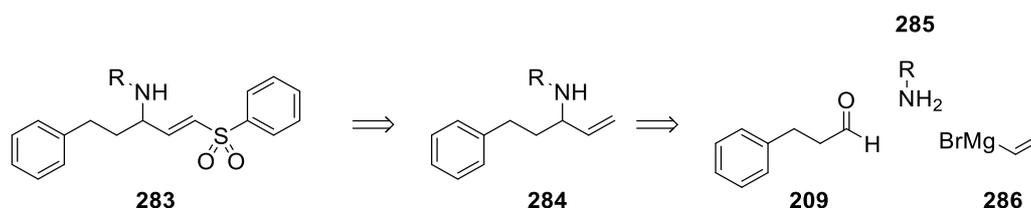


Schéma III-1 : Voie rétrosynthétique d'accès aux aminovinylsulfones via une amine allylique par addition d'organomagnésien sur une imine.

1. Synthèse de vinylsulfone à partir d'un alcène

1.1 Par addition de chlorure de sulfonyle

En 1983, Kimigata *et al.* ont publié les premiers résultats d'une sulfonylation catalysée par le ruthénium des styrènes **288** à l'aide de chlorures de sulfonyle **287** ¹⁵². (Schéma III-2)

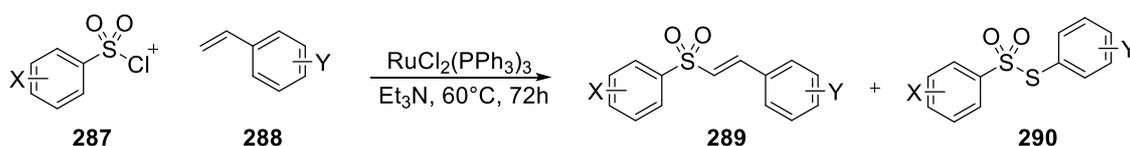


Schéma III-2 : Sulfonylation catalysée au ruthénium des styrènes par Kimigata *et al.*

Au cours des dix dernières années, la transformation par catalyse photorédox a également été développée. Yu *et al.* ont décrit en 2013 le couplage direct de chlorures de sulfonyle avec des énamides en présence d'un photocatalyseur iridié et de 1,5 équivalents de Na₂HPO₄. ¹⁵³(Schéma III-3)

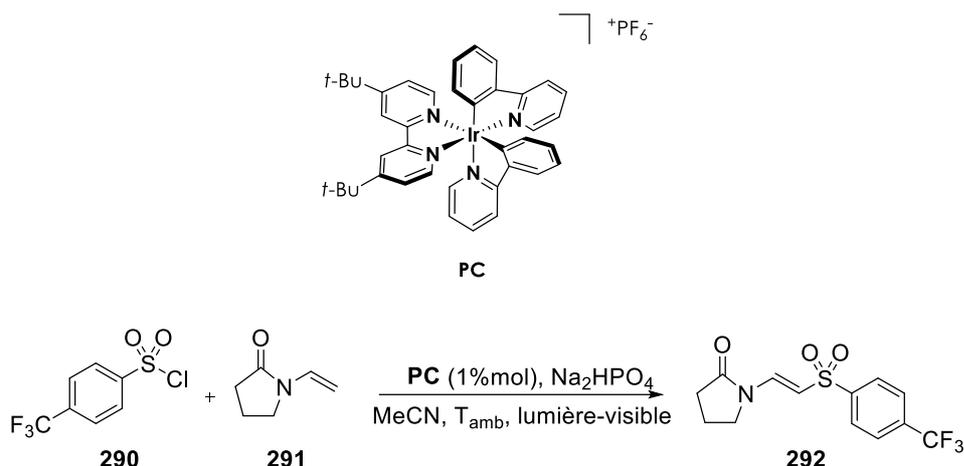


Schéma III-3 : Sulfonation de chlorures de sulfonyle et d'énamides en présence d'un photocatalyseur iridié par Yu et al.

Enfin plus récemment, Niu *et al.* ont quant à eux mis en place en 2018, la sulfonation directe entre les alcènes et le chlorure de sulfonyle à température ambiante en utilisant une technique photoredox induite par la lumière visible en présence d'un photocatalyseur de ruthénium. Cette technique permet la production chimiosélective de dérivés vinylsulfone avec des rendements modérés à élevés. La sélectivité de la réaction est entièrement contrôlée par les propriétés électroniques des alcènes.¹⁵⁴(Schéma III-4)

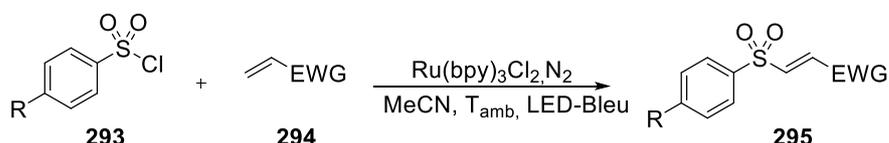


Schéma III-4 : Sulfonation directe entre les alcènes et le chlorure de sulfonyle en présence d'un photocatalyseur de ruthénium Niu et al.

Ces réactions nécessitaient cependant toujours l'utilisation d'un catalyseur métallique. En 2020, le groupe Li a publié une réaction sans espèce métallique. La réaction de sulfonation des styrènes avec des chlorures de sulfonyle peut en effet être effectuée en présence d'iode hypervalent. Cependant, ce système s'est avéré peu efficace avec le 2-phénylpropène, le 1-phénylpropène ou l'allylbenzène.¹⁵⁵ (Schéma III-5)

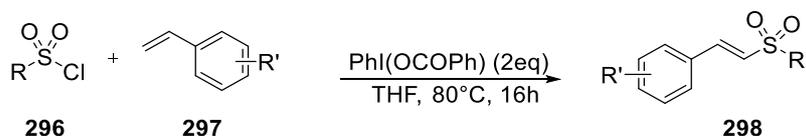


Schéma III-5 : Sulfonation catalysée à l'iode hypervalent des styrènes par Liu et al.

1.2 Par décomposition de sulfonylhydrazine

Le groupe Wei a décrit la réaction radicalaire des styrènes avec des sulfonylhydrazides conduisant à des vinylsulfones en 2019, via l'action d'un système TBAI/TBHP. Il est supposé que dans les conditions réactionnelles, des radicaux sulfonyles sont générés et s'additionnent sur les styrènes. Le mécanisme proposé envisage une abstraction radicalaire d'hydrogène sur le radical obtenu. Un mécanisme impliquant la formation d'un dérivé iodé suivi de l'élimination de HI n'est pas évoqué, bien qu'il soit également cohérent.¹⁵⁶ (Schéma III-6)

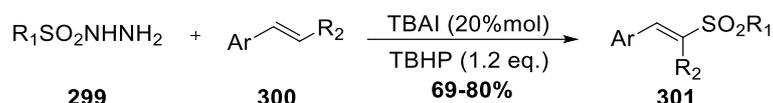


Schéma III-6 : Sulfonylation radicalaire des styrènes avec des sulfonylhydrazides en présence de TBAI/TBHP

1.3 Par addition de sel d'aryldiazonium en présence de DABSO

Le DABSO (Figure III-1), est un réactif utilisé comme substitut plus pratique de SO₂. Il a été introduit en 2011 par Willis *et al.* afin d'engendrer *in situ* de sels de sulfinate.

157

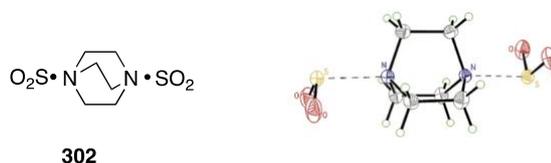


Figure III-1 : Représentation du DABSO

Après avoir été utilisé avec succès pour la synthèse de sulfone, Feng *et al.* ont rapporté en 2015 une synthèse efficace à trois composants de vinylsulfones via une alcénylation radicalaire catalysée par l'iode. Cette réaction a lieu entre des alcènes terminaux, des sels d'aryle diazonium et du DABSO. Elle peut être utilisée avec une large variété de substrats.¹⁵⁸ (Schéma III-7)

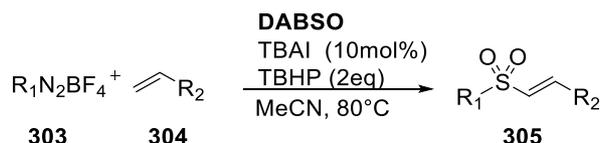


Schéma III-7 : Sulfonylation d'alcène et de sels d'aryle diazonium catalysée à l'iode par Feng *et al.*

L'année suivante Wu *et al.* ont également décrit une synthèse à trois composants de vinylsulfones à l'aide d'un procédé cette fois-ci catalysé par le bromure

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

de cuivre (II) impliquant des alcènes, du dioxyde de soufre une nouvelle fois via le DABSO et des tétrafluoroborates d'aryldiazonium .¹⁵⁹ (Schéma III-8) Cette réaction est une version sulfonylante de la réaction de Meerwein permettant par une réaction radicalaire de réaliser l'arylation d'oléfines. Dans ce cas, la présence de DABSO permet le piégeage du SO₂ conduisant ainsi à l'aryle vinyle sulfone.

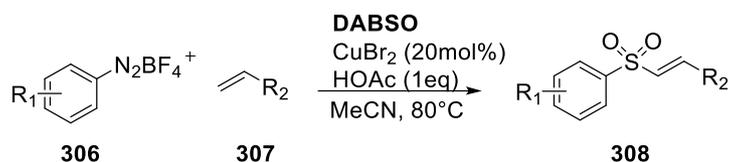


Schéma III-8 : Sulfonylation d'alcène et de sels d'aryle diazonium catalysée au cuivre par Wu et al.

Enfin tout récemment une version s'affranchissant de catalyseur métallique a été élaborée par Jana *et al.* qui ont étudié la réactivité jusque-là inconnue des sels d'aryldiazonium et du DABSO avec les acides vinylboroniques ainsi que les halogénures de vinyle pour la synthèse entre autres des vinylsulfones. La production rapide du radical intermédiaire arylsulfonyle est une étape importante dans le mécanisme de ces réactions à trois composants.¹⁶⁰ (Schéma III-9)

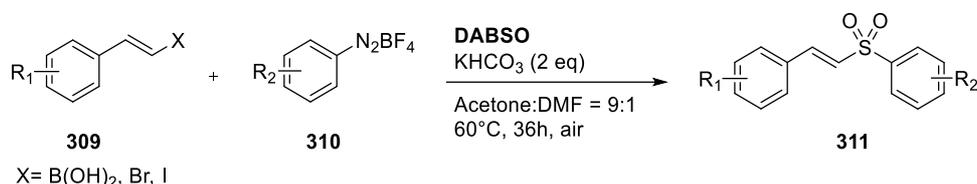


Schéma III-9: Sulfonylation d'acides vinylboroniques et d'halogénures de vinyle et de sels d'aryle diazonium par Jana et al.

1.4 Par addition de sulfinat de sodium

1.4.1 A partir d'alcène

a) L'iode hypervalent (III)

Les réactifs d'iode hypervalent, sont connus pour être polyvalents en synthèse organique grâce à leur sélectivité et aux conditions d'oxydations douces qu'ils offrent. Ils ont été employés en 2010 par l'équipe Kuhakarn pour accéder à des vinylsulfones. Ils ont obtenu parmi les divers exemples la vinylsulfone **314** avec un très bon rendement de 84%.¹⁶¹ (Schéma III-10)



Schéma III-10 : Sulfonation d'alcène en présence de sodium sulfinate et de diacétate d'iodobenzène par Kuhakarn et al.

b) Le diiode

L'iode, qui est un réactif économique est de plus en plus utilisé comme catalyseur ou accélérateur de réaction. À la suite de leurs travaux sur le (diacétoxyiodo)benzène évoqué précédemment, l'équipe de Kuhakarn a publié en 2013 une nouvelle procédure améliorée pour la synthèse des vinylsulfones en une étape à partir donc l'iode moléculaire et d'un alcène. Un exemple est illustré ci-dessous. Ils obtiennent un rendement de 71% à partir de l'ester allylique **315**. (Schéma III-11).¹⁶²

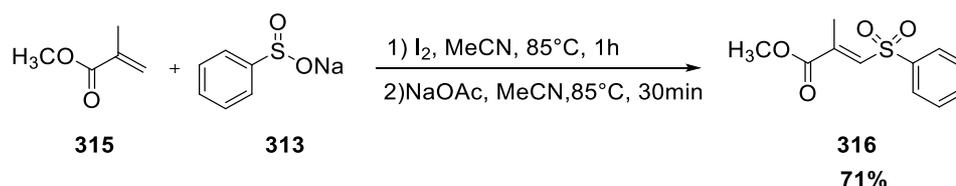


Schéma III- 11 : Sulfonation d'alcène en présence de sodium sulfinate et de diiode par Kuhakarn et al.

c) Le N-Iodosuccinimide

L'iode peut s'avérer être un électrophile peu efficace dont l'action doit le plus souvent être activée pour permettre une rupture hétérolytique de la liaison I-I. Une autre possibilité est d'utiliser un agent d'iodation comportant un seul atome d'iode électrophile, comme les N-iodoamides ou les N-iodoimides. Le N-iodosuccinimide (NIS) (Figure III-2) est un composé utilisé dans les iodations électrophiles et comme source d'iode dans les processus radicalaires.

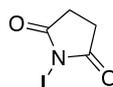


Figure III-2 : Représentation du N-Iodosuccinimide

Même s'il en existe d'autres, c'est la dernière voie de synthèse utilisant un dérivé iodé qui sera présentée ici. Elle a été utilisée avec de bon résultat publiés en 2006 par Wolff et al.¹⁶³ (Schéma III-12)

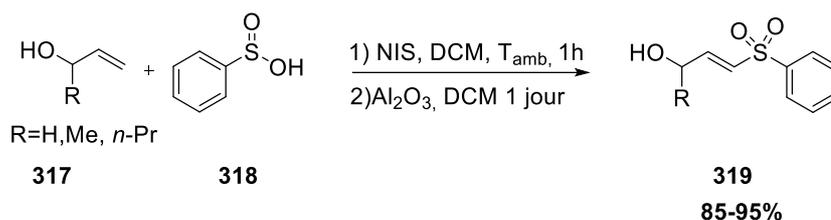


Schéma III-12 : Sulfonylation d'alcène en présence d'acide benzenesulfonique et de NIS par Wolff et al.

1.4.2 A partir d'acides cinnamiques

Le groupe Wang a mis au point une sulfonylation décarboxylante induite par la lumière visible des acides cinnamiques en utilisant des sulfonates de sodium pour la production de vinylsulfones. Cette transformation a été réalisée en utilisant du sel d'ammonium de Rose Bengale supporté par de la résine Merrifield comme photocatalyseur.¹⁶⁴(Schéma III-13)

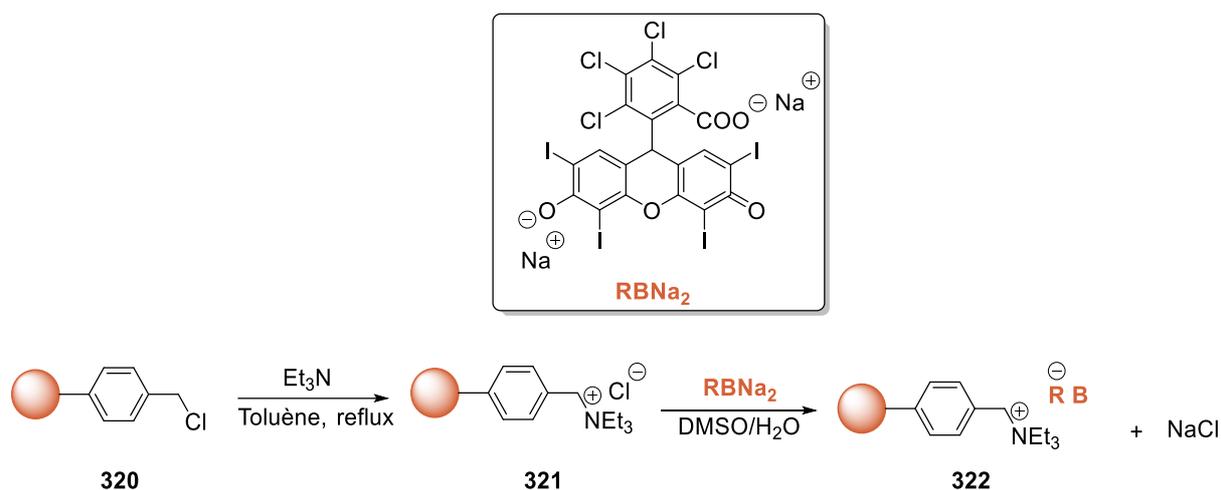


Schéma III-13 : Synthèse du sel d'ammonium de Rose Bengale supporté par de la résine Merrifield par Wang et al.

Notamment, le catalyseur supporté peut être facilement éliminé du mélange réactionnel par filtration et recyclé au moins six fois sans subir de perte d'activité appréciable.¹⁶⁴ (Schéma III-14)

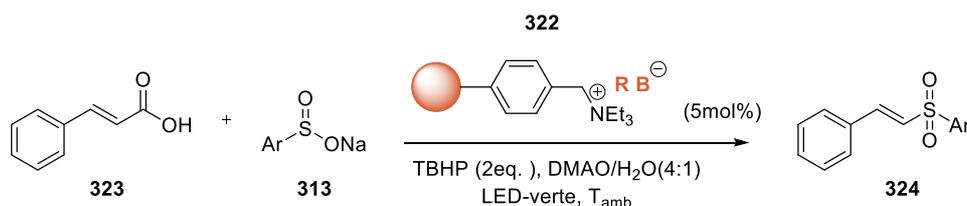


Schéma III-14 : Sulfonylation décarboxylante d'acide cinnamique photocatalysée par Wang et al.

1.4.3 A partir de nitrostyrène

De manière concomitante, deux équipes ont développé indépendamment une méthode de couplage croisé radicalaire pour sulfonyler de manière régiosélective les nitrostyrènes avec des sulfinates de sodium pour conduire à des (E)-vinyl sulfones avec des rendements modérés à élevés. Yadav *et al.* ont d'abord développé une catalyse par l'argent d'une variété de nitrostyrènes avec divers sulfinates en présence de $K_2S_2O_8$. (Schéma III-15)¹⁶⁵. Le mécanisme proposé implique une oxydation du sulfinatate par l'argent (lequel est réoxydé en Ag(I) par le persulfate) suivie d'une addition sur la nitrooléfine et d'une élimination du radical NO_2 .

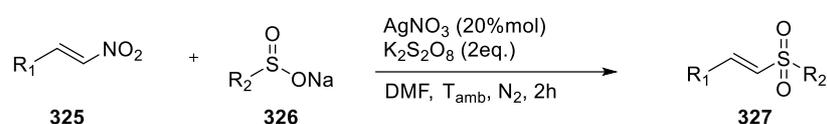


Schéma III-15 : Sulfonylation des nitrostyrènes en présence de sulfinatate de sodium catalysée à l'argent par Yadav *et al.*

De manière similaire, la méthode décrite par Chen *et al.* effectue l'oxydation du sulfinatate par le $Mn(OAc)_3$ suivi de l'addition sur le nitrostyrène (Schéma III-16)¹⁶⁶.

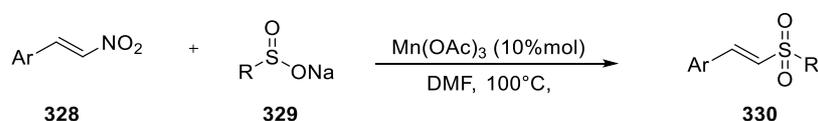


Schéma III-16 : Sulfonylation des nitrostyrènes en présence de sulfinatate de sodium catalysée au manganèse par Yuan *et al.*

Une méthode similaire a par la suite été rapportée par Yuan sous irradiation micro-ondes dans le DMSO en présence d'AcOH.¹⁶⁷ (Schéma III-17)

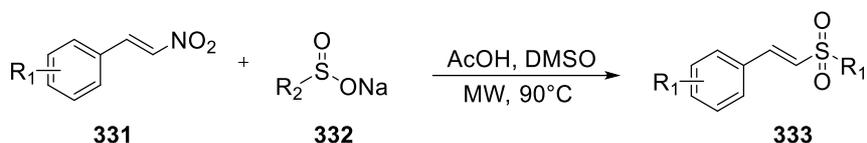


Schéma III-17 : Sulfonylation des nitrostyrènes en présence de sulfinatate de sodium sous irradiation micro-ondes par Yuan *et al.*

Il est cependant à noter que ces deux dernières méthodes n'ont été développées qu'avec des dérivés styrènes, et ne sont donc pas adaptées à la synthèse d'aminovinylsulfones. Nous nous sommes donc intéressés à l'utilisation des réactifs oxydants de l'iode.

L'objectif est d'établir une approche synthétique plus rapide et plus convergente pour LHVS. Nous nous sommes donc intéressés à diverses approches permettant d'accéder au squelette désiré à partir d'une allylamine par addition d'un fragment sulfinate. En effet, il apparaît envisageable par ce biais d'accéder de manière très convergente au squelette aminovinylsulfone. De plus, l'accès énantiocontrôlé à des allylamines apparaît tout à fait réaliste à partir d'aldéhyde via l'emploi des sulfonamide d'Ellman.

2. Le tert-butane sulfonamide

Parmi les diverses voies permettant d'accéder à des amines chirales, la méthode aux sulfonamides, et plus particulièrement l'emploi de tert-butyl sulfonamide s'est imposé par son efficacité. Celle-ci peut être attribuée à diverses caractéristiques de cette méthode. La première est liée à l'accessibilité des deux énantiomères de la copule chirale. (Figure III-3) La seconde correspond à l'introduction simple de cette copule, en particulier via la formation de sulfonylimines, lesquelles réagissent de manière efficace avec un grand nombre de nucléophiles. Enfin la qualité de l'induction chirale est souvent très bonne, et dans la plupart des cas, doublée du fait que les deux diastéréoisomères pouvant être obtenus lors de l'addition du nucléophile sont séparables par chromatographie sur gel de silice. Dès lors, après déprotection, elle aussi aisée, de l'amine, celle-ci peut être obtenue sous la forme d'un seul énantiomère.



Figure III-3 : Représentation des énantiomères de la copule chirale sulfonamide

Le procédé global de formation des amines chirales suit donc le schéma suivant. (Schéma III-18) Le sulfonamide est condensé sur des dérivés carbonyles en présence d'un acide de Lewis et d'un agent déshydratant pour conduire à la sulfonylimine correspondante, stable et pouvant être isolée et stockée sans précaution majeure.

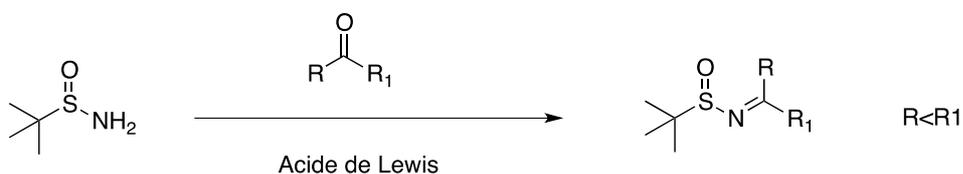


Schéma III-18 : Synthèse des sulfinylimines

De manière particulièrement remarquable, l'isomère E est le seul produit de la réaction, le contrôle total de la régiosélectivité reposant sur des critères stériques, et sur le fait que la barrière d'inversion entre les deux isomères s'avère considérable.

Des études structurales et conformationnelles ont été menées au niveau théorique.^{168,169} Il ressort des calculs que la liaison Soufre-Oxygène et le doublet non liant de l'atome d'azote sont positionnés de manière antipériplanaire afin de réduire les répulsions électroniques entre l'oxygène et l'azote. Dans le cas des sulfinylaldimines ; la conformation au niveau du carbone est par ailleurs favorisée par la liaison hydrogène intramoléculaire entre l'oxygène et le proton de l'imine ainsi que par une hyperconjugaison négative entre le doublet non liant de l'azote avec l'orbitale σ^*_{S-O} . La conformation alternative, d'une énergie supérieure de +24,34 kJ/mol présente les doublets non liants de soufre et d'azote en position antipériplanaire. (Figure III-4)

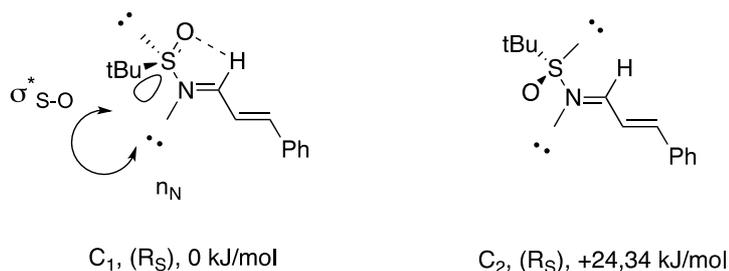


Figure III-4 : Conformation des sulfinylimines

L'hyperconjugaison entre le doublet non liant de l'azote et la σ^*_{S-O} de l'atome de soufre conduit à une stabilité exacerbée des sulfinylimines en regard des imines correspondantes. De plus, l'électrophilie est également augmentée par la charge partielle positive de l'atome de soufre liée à la polarisation de la liaison S-O. L'addition de nucléophiles sur la C=N s'avère donc généralement efficace et divers organométalliques peuvent être employés y compris les organosilyles ou les organozinciques. L'encombrement apporté par le fragment tert-butyl dirige cette addition exclusivement sur le carbone, sans que l'atome de soufre ne soit touché. Les diverses additions nucléophiles envisageables ont conduit à une vaste gamme d'amines chirales en tirant parti de la réactivité des sulfinylimines avec une grande variété de dérivés nucléophiles (Figure III-5).

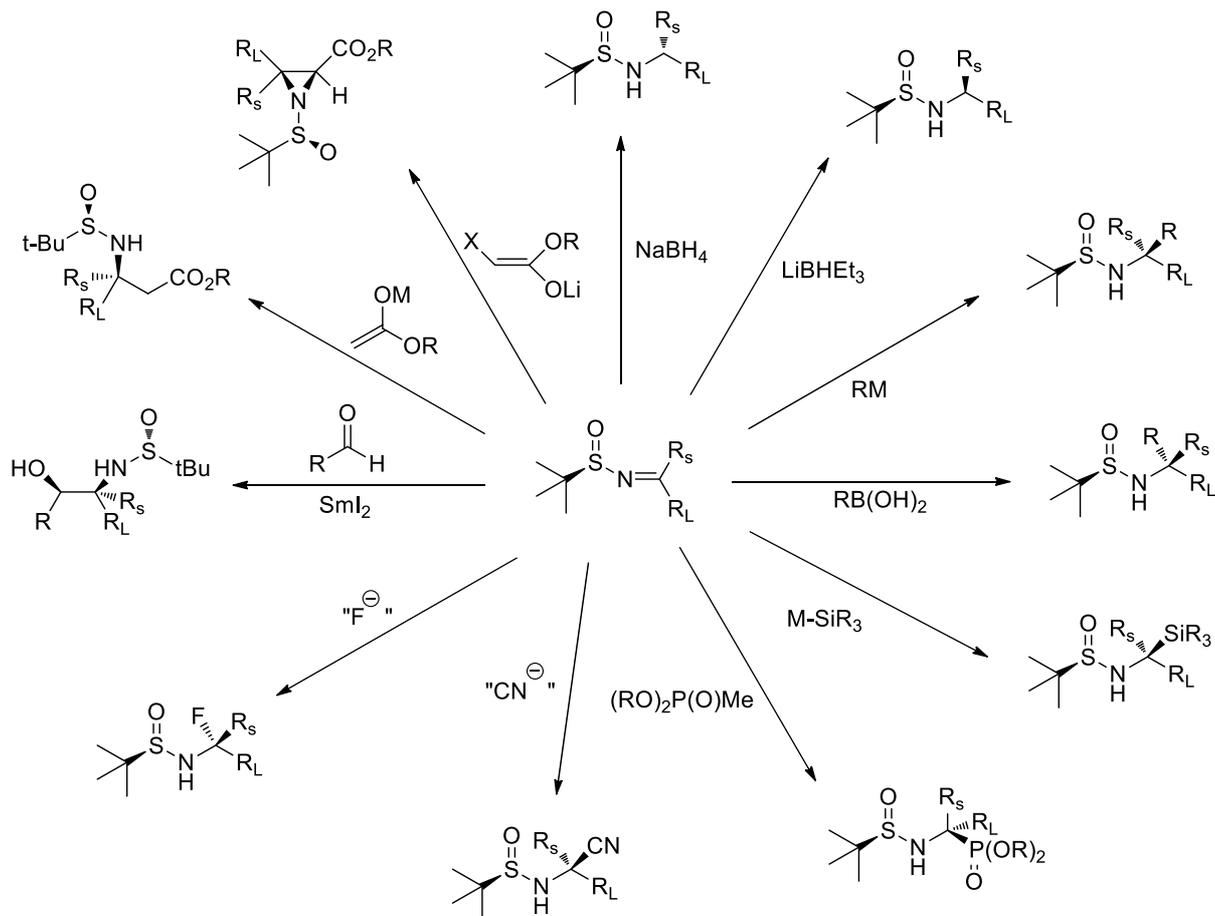


Figure III-5 : Exemples d'additions de dérivés nucléophiles sur les dérivés tert-butane sulfinylamines.

Dans la plupart des cas, l'addition des nucléophiles aboutit à un diastéromère majoritaire clair (ed typiquement supérieur à 98%). L'implication d'un intermédiaire ouvert et la formation d'un état de transition à six chaînons de type Zimmerman-Traxler sont les deux facteurs responsables du contrôle stéréochimique au niveau du centre asymétrique formé (Schéma III-19). Dans ce cadre, le rôle du solvant apparait crucial comme nous allons l'illustrer ci-après.

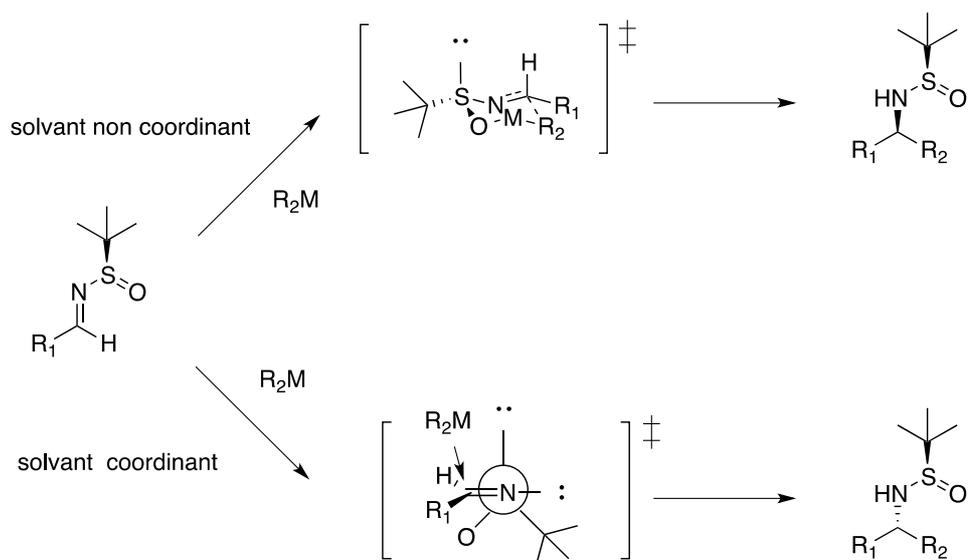


Schéma III-19 : Représentation des états de transition et intermédiaires réactionnels possibles

Un état de transition à six chaînons est préféré dans les solvants peu coordonnants. Dans ce cas, le métal est lié à l'oxygène du sulfonyle permettant le contrôle de la stéréosélectivité de la réaction. Dans l'arrangement cyclique du modèle de Zimmerman-Traxler, une minimisation des interactions 1,3-diaxiales entre le groupe R₁ (plus encombrant) de l'imine et le groupe tert-butane est obtenue par un positionnement équatorial de ces deux groupes. Ces deux éléments font que le nucléophile cible préférentiellement la face Si.

Dans les solvants coordonnants, l'oxygène du sulfonyle ne se lie plus au métal, les groupes sulfonyles sont donc libres de tourner autour de la liaison S-N de manière à minimiser les interactions (électroniques et stériques). La face de l'imine opposée au carbonyle du groupe tert-butane est alors attaquée par le nucléophile.

Enfin, un ultime avantage de l'emploi de ces sulfonamides est lié au fait que dans une solution organique acide (le plus souvent acide chlorhydrique / dioxane), la copule peut être facilement retirée, conduisant à l'amine chirale.

2.1 Application en synthèse asymétrique : addition nucléophile d'organométallique

2.1.1 *Addition d'organolithien et d'organomagnésien*

L'addition d'alkylmagnésium et de lithium à des sulfonilimines a été décrite pour la première fois par Ellman et al.^{170,171} Ces résultats préliminaires ont démontré

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

l'efficacité de la copule chirale dans l'addition 1,2 ($ed > 80\%$). Cependant, comme évoqué ci-dessus, le choix du solvant s'est d'entrée avéré critique.¹⁷² (Schéma III-20)

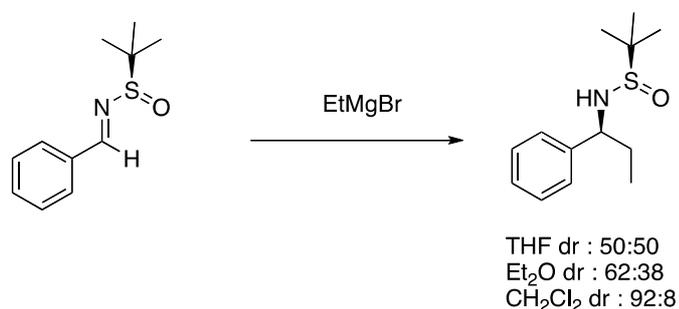


Schéma III-20 : Effet du solvant sur la stéréosélectivité

La coordination du métal par l'oxygène de la fonction sulfynyle est entravée par les solvants coordinants, ce qui entraîne un "intermédiaire réactionnel ouvert" qui, dans la plupart des cas, conduit au diastéro-isomère opposé à celui provenant de l'état de transition à six chaînons.

Il a pu être observé une absence totale d'effet du solvant sur l'induction asymétrique dans les cas où le substrat comporte un fragment coordinant.^{173,174} Un intermédiaire réactionnel propice à l'induction stéréochimique, cycle à cinq chaînons, est alors formé entre le métal, l'atome d'azote de la sulfonimine et l'hétéroélément de l'hétérocycle aromatique.

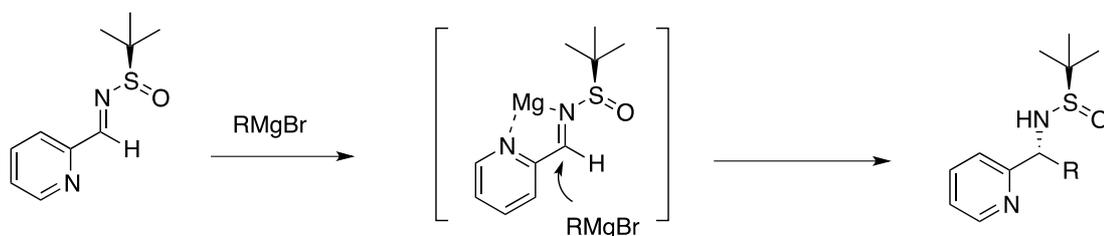


Schéma III-21 : Exemple d'une sulfonimine avec un groupement pyridine

La nature du métal représente naturellement un autre aspect crucial pour le contrôle de la stéréochimie. La différence de sélectivité entre deux espèces métalliques portant le même groupe alkyle a ainsi été démontrée.¹⁷² (Schéma III-22).

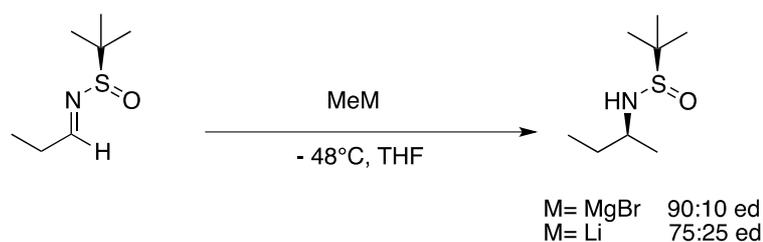


Schéma III-22 : Effet du métal sur la stéréosélectivité

Cet effet est vraisemblablement lié au fort caractère acide de Lewis du lithium. Le dérivé de lithium dans ce cas (dans le THF) favorise un état de transition ouvert, ce qui entraîne une diminution de l'excès diastéréoisomérique.

Les groupes R portés par la sulfonamide influent aussi naturellement l'induction asymétrique de la réaction.¹⁷⁵ Ainsi l'addition d'un même organolithien sur une arylsulfonamide comportant divers substituants en para conduit à des excès diastéréomériques significativement différents.¹⁷⁶

D'autre part, l'addition d'acide de Lewis peut également impacter la formation d'un intermédiaire soit cyclique soit ouvert influant ainsi la sélectivité de la réaction. Ainsi l'addition d'acides de Lewis (trialkylaluminiums, BF₃.OEt₂, magnésium et sels de zinc) en quantité stœchiométrique permet d'améliorer la stéréosélectivité de l'addition du nucléophile.^{172,176-179} Cela s'est par exemple avéré particulièrement efficace dans la synthèse totale du (6*R*,7*S*)-7-amino-7,8-dihydro-(*R*)-bisabolène.¹⁷⁷ (Schéma III-23)

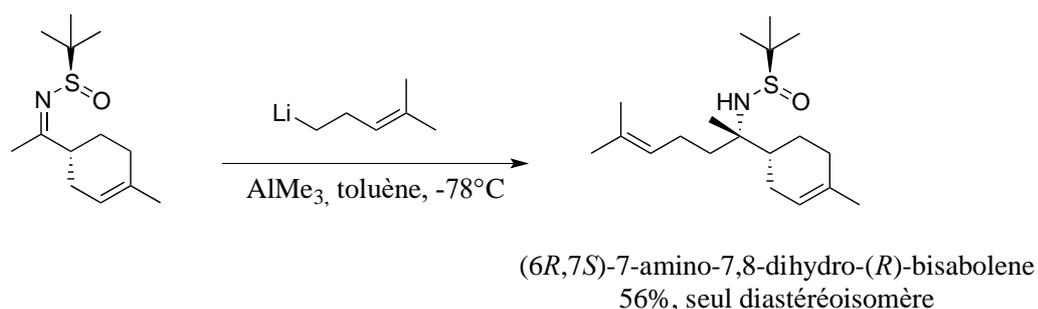


Schéma III-23 : Exemple d'utilisation d'acide de Lewis en tant qu'additif lors de l'addition d'un organolithien sur une sulfonamide

L'addition de difluoroénolate sur des trifluorométhylesulfonamides s'est avérée une méthode particulièrement efficace pour accéder à des amines comportant un fragment perfluoré illustrant la versatilité de la méthode, et l'aptitude des sulfonamides à réagir avec des nucléophiles d'origines diverses. En effet, dans ce cas, le nucléophile est généré par une réaction de type retro-aldol et réalise une réaction de

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

type Mannich pour conduire à la sulfinamide désirée avec des hauts rendements et d'excellentes diastéréosélectivité.¹⁸⁰ (Schéma III-24)

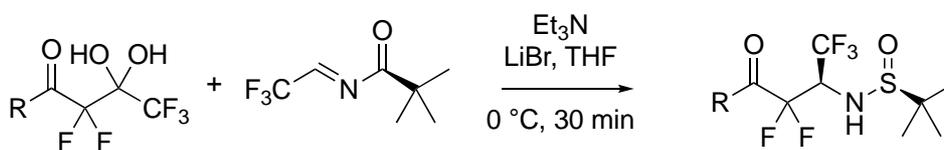


Schéma III-24 : Synthèse de sulfinamide par addition de difluoroénolate sur des trifluorométhylesulfinylimines

De manière intéressante, les sulfinylimines peuvent également être employées comme nucléophiles par un traitement en milieu basique. Il est même possible d'effectuer des polyaddition sur des aldéhydes comme cela a été illustrée récemment via une double réaction aldol-Tishchenko conduisant à des édifices moléculaires comportant une forte densité d'informations chirales sur des carbones contigus.¹⁸¹ (Schéma III-25)

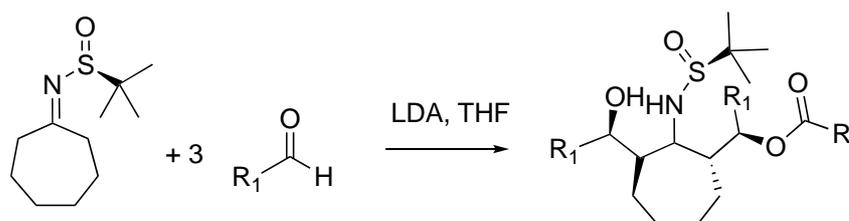


Schéma III-25 : Utilisation des sulfinylimines comme nucléophile

L'accès à des amines insaturées a fait l'objet d'études en particulier pour l'addition d'anions alcynures ou d'équivalents synthétiques sur les sulfinylimines.^{21,182,183} (Schéma III-26)

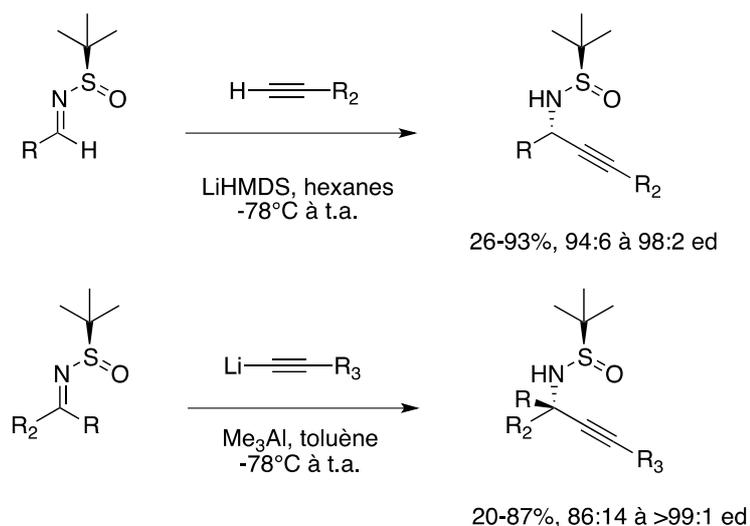


Schéma III-26 : Synthèse d'amines propargyliques

2.1.2 Addition d'organozincique

Dans les cas de faibles stéréosélectivités, l'emploi des triorganozincates $\text{Me}_2\text{R}'\text{ZnMgX}$ s'est avéré être une approche de remplacement fiable pour l'addition d'alkyl ou de vinylmagnésium aux sulfonyle imines. Celui-ci peut être réalisé par l'addition d'un organomagnésien avec ZnMe_2 pour produire le dérivé du zinc (Schéma III-27).^{184,185} Les groupements méthyles ne sont pas transférés et l'addition du troisième fragment organique est la seule observée. L'addition des mêmes bromures d'alkylmagnésium sur les mêmes sulfonyle imines conduit parfois à des excès diastéréoisomériques observés moins élevés que dans la réaction en présence de dimethylzinc.

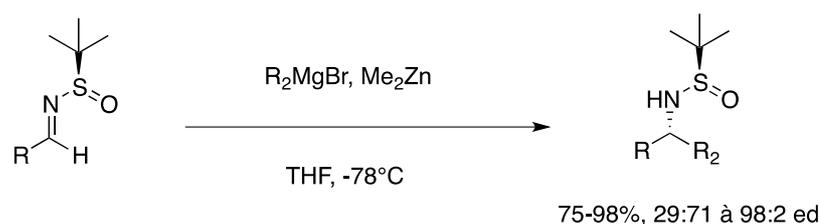
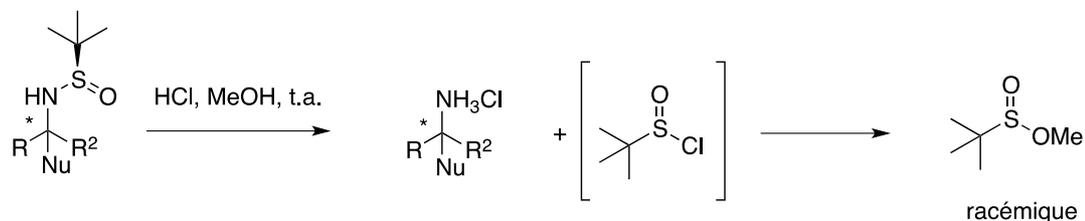


Schéma III-27 : Addition de triorganozincates sur les sulfonyle imines

Similairement l'addition de dialcyle zinc R_2Zn à des iminoesters de sulfonyle imine, a également conduit à de meilleurs résultats qu'avec l'utilisation de l'organomagnésien correspondant.¹⁷⁹

2.2 Déprotection de l'auxiliaire chiral

Les premières déprotections de groupements sulfinyles ont été décrites en employant un milieu méthanol chlorhydrique (Schéma III-28). Après précipitation dans des solvants étherés, les chlorhydrates sont ensuite séparés.



L'éthanol, l'isopropanol et le n-butanol conduisent au même résultat.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸

Des hydrolyses simultanées ou orthogonales des groupements sulfinyles et d'autres groupements fonctionnels (esters, nitriles, phosphonates, ou tert-butyloxycarbonyles) peuvent aussi être réalisés dans des conditions plus drastiques (HCl/H₂O au reflux).¹⁸⁹⁻¹⁹⁴ D'autres acides, tels que le TFA, peuvent également cliver le groupe sulfinyle.¹⁹⁵

II/ Résultats personnels

1. Introduction

Sur la base des résultats issus de la bibliographie, il nous a donc semblé pertinent de chercher à réaliser les deux points clés de cette approche synthétique par la formation de l'allylamine en employant le sulfinamide d'Ellman afin d'accéder à chacun des deux énantiomères de l'allylamine ciblée avec le meilleur excès énantiomérique possible, et de réaliser l'arylsulfonylation de l'amide par la méthode s'avérant la plus efficace.

2. Synthèse de l'amine allylique

2.1 Synthèse de la sulfinylimine

La sulfinylimine **334** est obtenue dans le DCM, en suivant le protocole décrit par Ellman *et al.* en 2004 à température ambiante en présence de Ti(OiPr)₄ pendant 20h, avec un très bon rendement de 80%. La réaction fut dans un premier temps réalisée à l'échelle du gramme puis montée en échelle sans problème notable à l'échelle multi

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

gramme permettant l'obtention après purification sur gel de silice de 6 grammes de produit. (Schéma III-29).¹⁷⁷

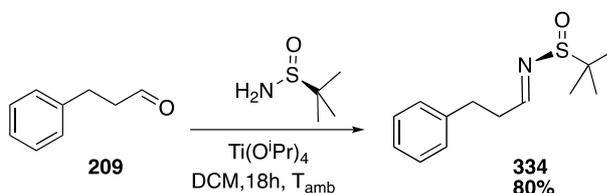


Schéma III-29 : Synthèse de la sulfynilimine à partir de 3-phenylpropanal

On peut réaliser un suivi en RMN du proton de la transformation en suivant la disparition du triplet du proton de l'aldéhyde du phenylpropioaldehyde de départ à 9,85 ppm et l'apparition de celui du proton de la sulfynilimine à 8,13 ppm. On observe également l'apparition à 1,14 ppm d'un singulet intégrant pour 9 proton caractéristique du groupement *tert*-Butyle. (Figure III-6).

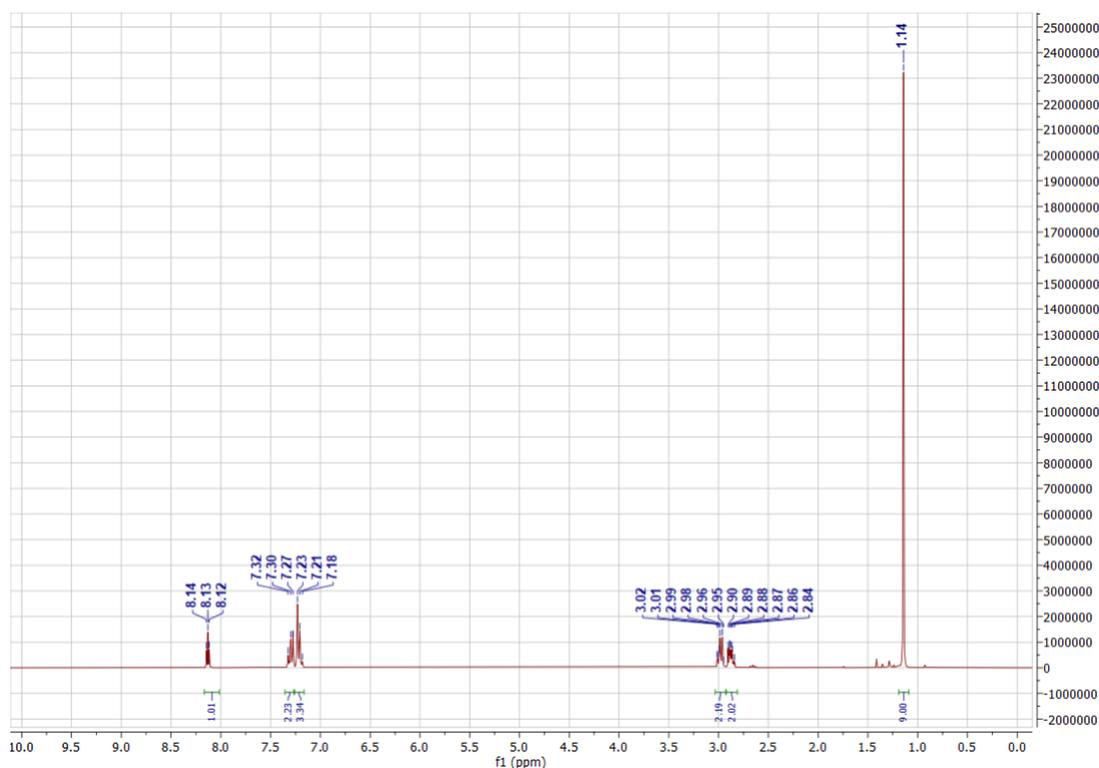


Figure III-6 : Spectre RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) du (R,E)-2-méthyl-N-(3-phenylpropylidène)propane-2-sulfonamide entre 0 et 10,0 ppm

2.2 Synthèse de la 5-phenyl-3-sulfonamide-1-en

Pour la suite de la synthèse afin d'obtenir les deux diastéréoisomères nous avons décidé de d'ajouter le vinyl magnésien à basse température dans le THF pendant 1h. On obtient à nouveau un bon rendement de 83%. Le rendement global sur deux

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

étapes est donc de 66,4% ce qui est semblable aux résultats de 68% obtenus par Qin *et al.* en 2020 pour la même synthèse. ^{177,196}(Schéma III-30).

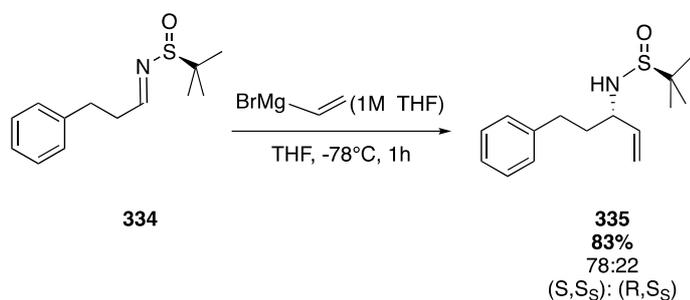


Schéma III-30 : Addition du vinylmagnésien

On peut cette fois-ci observer en RMN du proton la disparition du triplet du proton de la sulfinylimine à 8,13 ppm et l'apparition du doublet du proton porté par l'azote à 3,2 ppm ainsi que l'apparition des protons éthyléniques sous la forme d'un septuplet apparent intégrant pour un proton à 5,90 ppm et d'un triplet de doublet dédoublé intégrant pour deux protons à 5,25 ppm. (Figure III-7).

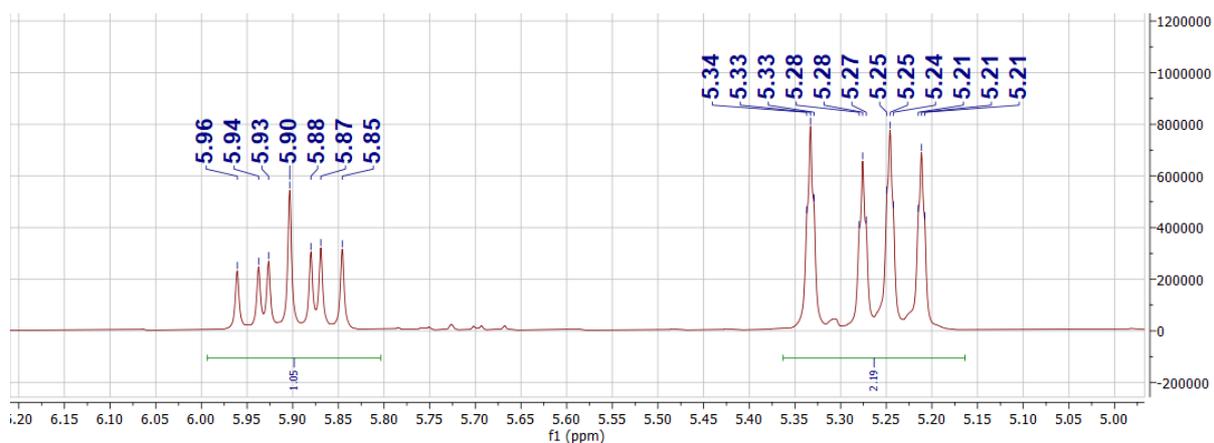


Figure III-7 : Spectre RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) proton éthylénique du (S)-2-méthyl-N-((S)-5-phénylpent-1-en-3-yl)propane-2-sulfonamide entre 5,0 et 6,15 ppm

2.3 Synthèse de l'amine allylique

La déprotection de la sulfonamide **335** en amine a été réalisée avec différentes conditions en milieu acide. Dans un premier temps pour des raisons de stabilité et de conservation nous avons synthétisé le sel. Une fois la sulfonamide en solution dans l'éther, nous avons fait précipiter le chlorhydrate d'ammonium **336** en ajoutant de l'acide chlorhydrique gazeux au milieu réactionnel sous flux d'argon. Celui-ci étant généré parallèlement grâce à l'ajout d'acide sulfurique concentré sur du chlorure de sodium. Nous avons obtenu le produit désiré sous la forme d'un solide blanc après filtration sur fritté, avec un bon rendement de 75%. Toutefois la reproductibilité de la

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

réaction n'était pas toujours évidente. En effet le suivi de la réaction s'avère délicat par CCM, et l'arrêt prématuré de la réaction engendre naturellement une perte de produit importante. A contrario, l'introduction excessive d'acide chlorhydrique dans le milieu qui entraîne, pour sa part, la dégradation du produit. (Schéma III-31).

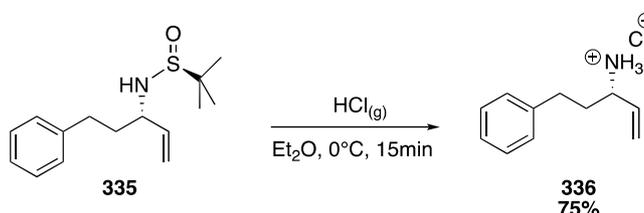


Schéma III-31 : Déprotection de la sulfinamide en présence $\text{HCl}_{(g)}$

Pour pallier ce problème et contrôler la quantité d'acide introduite lors de la réaction nous avons opté pour l'utilisation d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'éther à 1M. Cela nous a permis d'obtenir de manière parfaitement reproductible le sel ammonium désiré avec un rendement de 70%. (Schéma III-32).



Schéma III-32 : Déprotection de la sulfinamide en présence HCl 1M dans l'éther

Enfin l'étape suivante étant la protection de l'amine **337** par un groupement Boc, il nous est apparu évident que l'on pouvait engager l'amine libre isolée directement dans l'étape suivante sans risque de dégradation dans le temps. Nous avons donc mis en place la déprotection de la sulfinamide **335** dans le méthanol à température ambiante en présence d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 6M. Nous avons obtenu l'amine libre sous forme d'une huile jaune après un traitement acido-basique pour se débarrasser des impuretés sans purification supplémentaire avec 90% de rendement. (Schéma III-33).

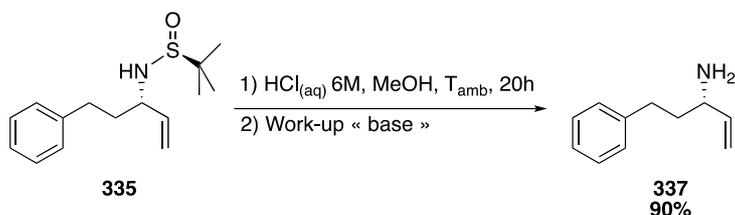


Schéma III-33 : Déprotection de la sulfonamide en présence $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ 6M dans le méthanol

2.4 Protection Boc de l'amine allylique

Afin de pouvoir travailler sur l'oléfine de l'allylamine, il nous fallait dans un premier temps protéger l'amine, ce que nous avons réalisé avec un groupement Boc. La protection s'effectue classiquement dans le DCM en présence de dicarbonate de di-tert-butyle et de triéthylamine. Le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanc après 20h sous agitation avec de très bon rendement de 97%. (Schéma III-34).

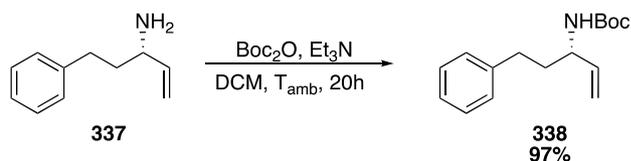


Schéma III-34 : Synthèse de l'amine allylique protégée par un groupement Boc.

3. Synthèse de l'aminovinylsulfone

3.1 Iode hypervalent (III)

Comme présenté précédemment, nous nous sommes intéressés à la synthèse de vinylsulfone publiée en 2010 par l'équipe Kuhakarn utilisant le (diacétoxyiodo)benzène ($\text{PhI}(\text{OAc})_2$, DIB) pour favoriser la réaction des sulfonates d'aryle et des alcènes dans une réaction de iodosulfonation suivie d'une réaction de d'élimination d'iode, en présence de iodure de potassium (KI). (Schéma III-35).

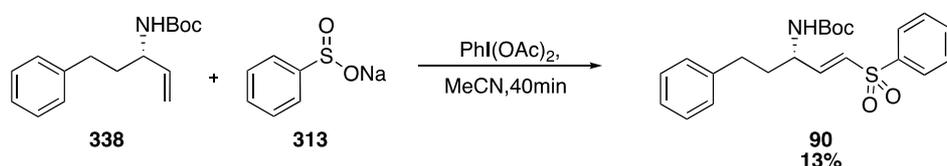


Schéma III-35 : Sulfonylation de l'amine allylique en présence de sulfinate de sodium et de DIB

Nous avons dans notre cas obtenu beaucoup de produits secondaires observés par CCM du milieu réactionnel. La purification après s'est avérée difficile et avons obtenu un rendement très faible de seulement 13% du produit souhaité. Le

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

rendement ne fut pas significativement augmenté en ajoutant du DBU pour favoriser l'élimination de l'iode et la formation de la double liaison. (Schéma III-36).

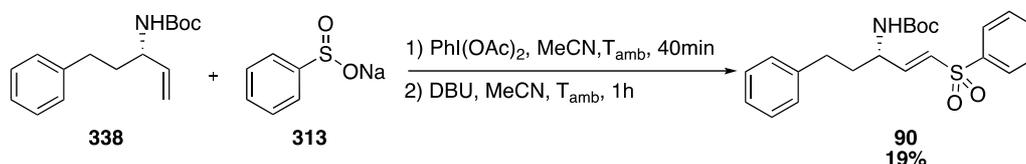


Schéma III-36 : Sulfonation de l'amine allylique en présence de sulfinate de sodium de DIB et d'une base DBU

Nous avons donc cherché une autre voie de synthèse possible, en nous intéressant cette fois-à l'utilisation du diiode.

3.2 Diiodure (I₂)

En nous inspirant des travaux l'équipe de Kuhakarn, nous avons pu obtenir l'aminovinylsulfone souhaitée après purification par flash chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 19%. (Schéma III-37).

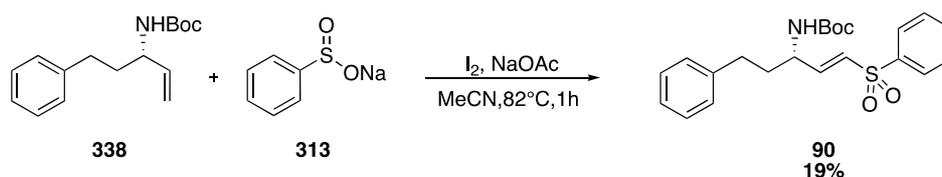


Schéma III-37 : Sulfonation de l'amine allylique en présence de sulfinate de sodium et de I₂

Les résultats n'étant toujours pas très satisfaisants nous sommes intéressés à un troisième réactif source d'iode cationique, le N-iodosuccinimide.

3.3 Couplage NIS

Nous avons adapté le protocole décrit par Wolff *et al.* comme vu précédemment à la synthèse de vinyl sulfone à partir d'une amine allylique protégée par un groupement Boc.

Pour commencer nous avons synthétisé et isolé le composé iodé **339** pour s'assurer de sa bonne formation. La réaction a lieu dans le DCM à température ambiante en présence de NIS. Nous avons fait le suivi réactionnel par CCM qui semblait fini après 4H30. Le milieu réactionnel était quant à lui passé de l'orange vif au bordeaux foncé au cours de la réaction. Après purification par flash chromatographie, nous avons obtenu le produit iodé avec un très mauvais rendement de seulement 3%. (Schéma III-38).

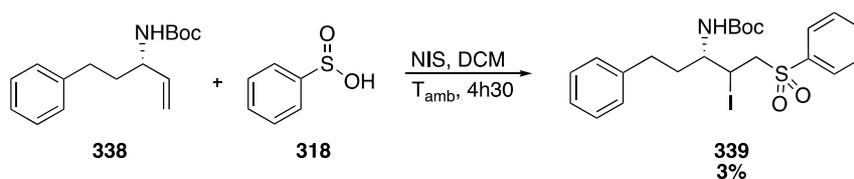


Schéma III-38 : Synthèse de la iodosulfone à T_{amb}

L'obtention d'un spot très proche de la ligne de base de la CCM après le traitement de la réaction avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénosulfate de sodium (NaHSO_4) nous a fait penser à une possible déprotection consécutive de l'amine ce qui pourrait expliquer le rendement obtenu et avons donc adapter le traitement en utilisant une solution saturée de chlorure d'ammonium (NH_4Cl). Nous avons également modifié par la suite la température de réaction de la iodination à 0°C ce qui évitait la formation de produit secondaire non-désirés et la dégradation du produit. Ces modifications nous ont permis d'améliorer le rendement à 75%. (Schéma III-39).

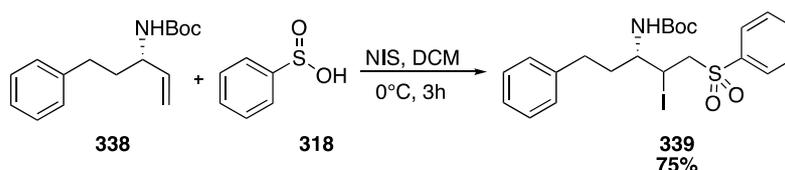


Schéma III-39 : Synthèse de la iodosulfone à 0°C

Nous avons pu observer que le changement de couleur du milieu réactionnel vers la couleur bordeaux est un indicateur fiable de la dégradation du produit comme illustré Figure III-8.

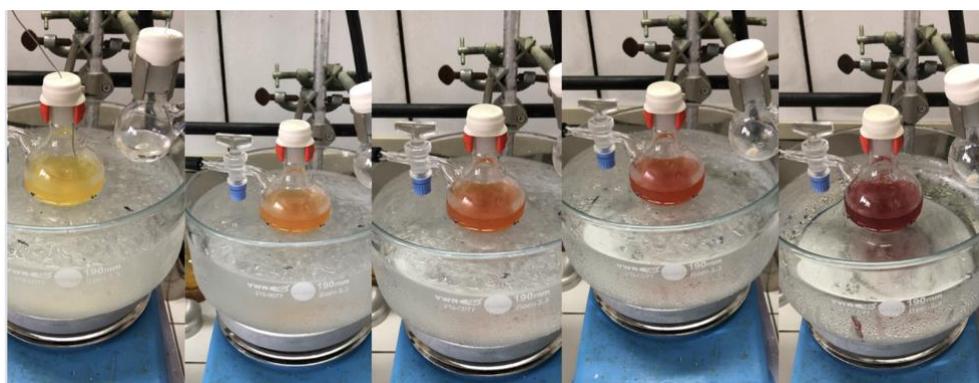


Figure III-8 : Changement de couleur du milieu réactionnel du jaune au bordeaux.

Nous avons ensuite réalisé la réaction d'élimination dans le DCM en présence d'alumine pendant 24h. L'aminovinylsulfone **90** est obtenue avec un rendement de 22% lorsque le produit brut fut conservé 10h sous argon au congélateur avant la

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

purification par flash chromatographie. En effet alors que l'on observait un seul produit en CCM après le traitement de la réaction, il y en avait après le stockage au moins deux sous-produit issu de la dégradation ou surréaction du produit avec des traces d'acides ou de base présent après concentration du produit sous vide à l'évaporateur rotatif. Nous avons donc décidé d'enchaîner la réaction et la purification du produit sans stockage intermédiaire et avons obtenu le produit désiré avec un meilleur rendement de 42% (Schéma III-39).

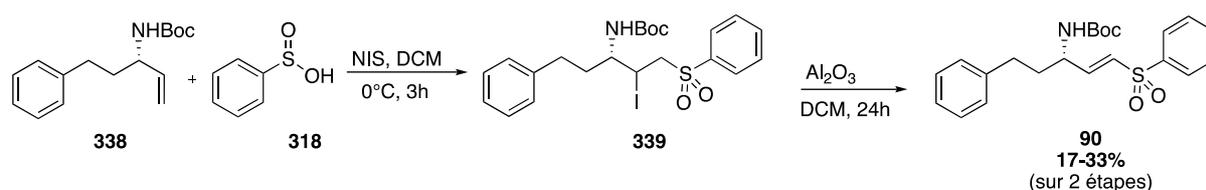


Schéma III-39 : Synthèse de l'aminovinylsulfone par réaction d'élimination

Malgré l'amélioration du rendement de la deuxième étape le rendement global sur les deux étapes restait encore assez faible, seulement de 33%. Nous avons donc décidé d'enchaîner les deux étapes sans isolation ni traitement intermédiaire du composé iodé **339**, en gardant le même protocole pour la purification de l'aminovinylsulfone **90** ainsi obtenue. (Schéma III-40).

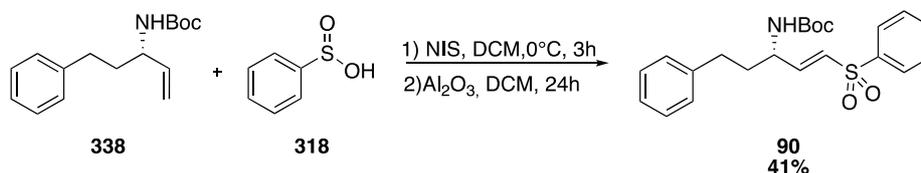


Schéma III-40 : Synthèse de l'aminovinylsulfone « one pot »

L'analyse du spectre RMN ¹H de ce produit confirme le couplage avec la présence d'un signal correspondant à 10 protons aromatiques entre 7 et 8 ppm. La formation de la double liaison de l'aminovinylsulfone est confirmée par le déblindage des signaux correspondants aux protons allyliques de 5,79 et 5,14 ppm (intégrant respectivement pour un et deux protons) à 6,88 et 6,42 ppm pour les signaux des protons vinyliques (intégrant chacun pour un proton). La constante de couplage de 15 Hz observée entre ces deux protons vinyliques est caractéristique de la stéréochimie E de la double liaison. (Figure III-9)

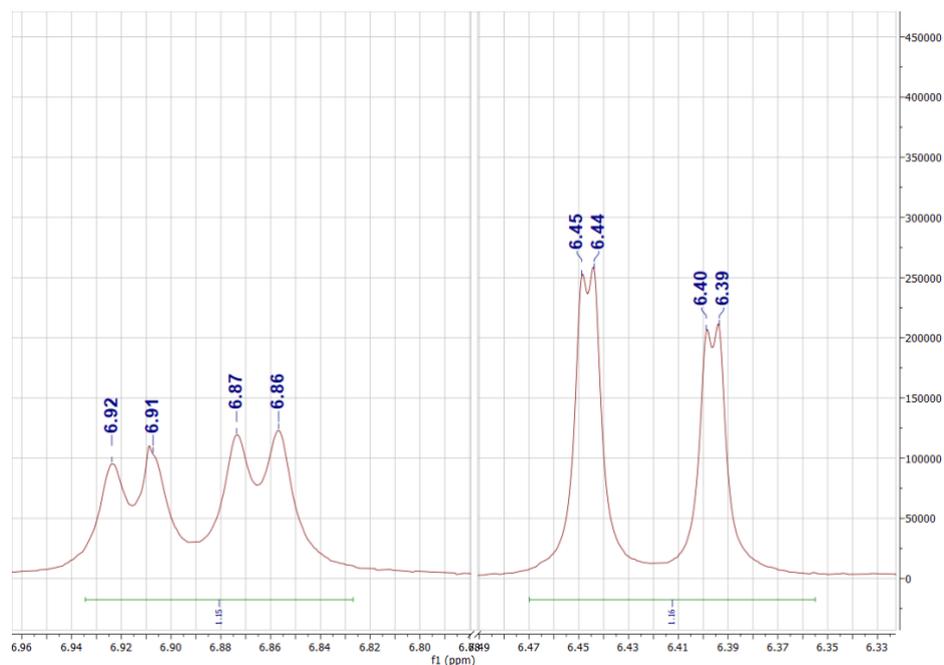
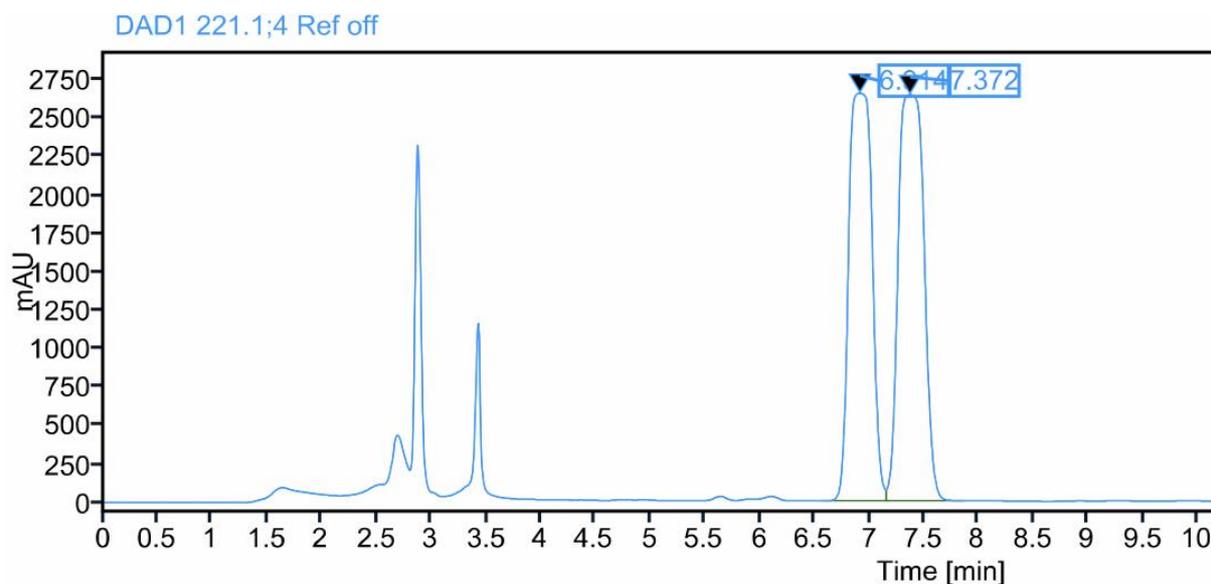


Figure III-9 Spectre RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) doublet de dédoublet des protons vinylique du tert-butyl (S,E)-(5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pent-1-en-3-yl)carbamate à 6,42 et 6,88 ppm

Une fois le produit synthétisé avec un rendement correct de 41% sur deux étapes, nous avons vérifié la pureté optique de notre composé en mesurant l'excès énantiomérique obtenu par HPLC chirale. Celui-ci s'avère être de 97%. Cela illustre une absence totale d'épimérisation sur le processus de synthèse, soit une amélioration significative par rapport aux résultats obtenus précédemment par la voie de synthèse présentée dans le chapitre II après réduction de l'azoture en amine. (Figure III-10)

a)



b)

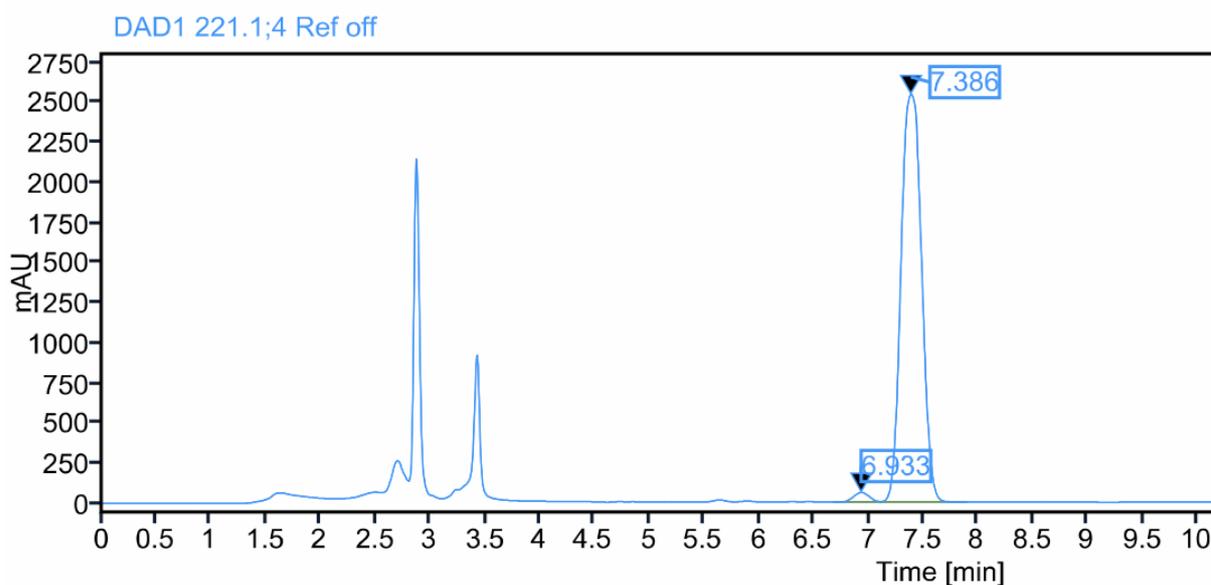


Figure III-10 : HPLC Chiralcel IC column, Heptane/Ethanol; 80:20 (1mL/min) a) mélange racémique b) mélange énatio-enrichi [(2R)- tr =6,933 min 1.61.29 Area%; (2S)- tr =7,386 min 98.39 Area%]. 97%ee

3.4 Déprotection amine

Enfin la déprotection de la protection Boc a lieu de manière assez classique en milieu acide en présence d'une solution d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane (1:5) à température ambiante. L'amine libre **220** est ainsi obtenue après un traitement acido-basique avec un rendement de 85%. (Schéma III-41).

Chapitre III : Synthèse du LHVS, inhibiteur de la cathepsine S – A partir d'une allylamine chirale.

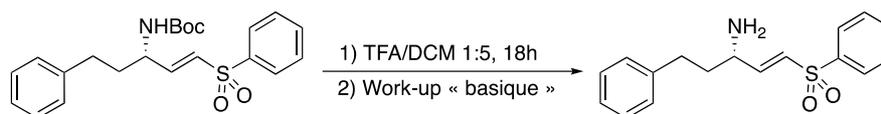


Schéma III-41 : Déprotection du groupement Boc pour la synthèse de l'amine libre

Conclusion

Les travaux réalisés ici ont donc permis la mise en œuvre d'une nouvelle voie d'accès au squelette aminovinylsulfone. Cette approche s'avère extrêmement convergente puisque qu'elle ne comporte que 5 étapes et que chaque fragment du motif aminovinylsulfone peut être incorporé à un stade avancé. De plus, nous avons pu vérifier sa grande efficacité pour le contrôle de la chiralité de la molécule finale, ce qui représente un atout supplémentaire. Cette approche apparaît donc parfaitement adaptée à la synthèse d'une bibliothèque de dérivés fluorés et des précurseurs de radiomarquage qui était l'objectif initial de ces travaux.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Au cours de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés sur la base des informations de la littérature à l'établissement et à l'optimisation de voies de synthèses énantiosélectives du LHVS, un inhibiteur de la Cathépsine S.

Le principe historique de ces méthodes est le couplage par une réaction d'HWE entre un aminoaldehyde chiral et des dialkyl((phenylsulfonyl)-methyl)phosphonates. Pour éviter les risques d'épimérisation et de perte de l'activité chirale une voie de synthèse par ouverture d'un époxyde terminal par le thiophénolate de sodium a été développée par Péricas et son équipe. Cependant, dans nos mains, cette synthèse s'est avéré compliquée à mettre en place. Nous avons rencontré des problèmes de régiosélectivité, des étapes chronophages successives de protection/deprotection/reprotection et la synthèse de produits secondaires dont l'élimination ampute le rendement global. Cependant, une difficulté majeure fut l'obtention d'excès énantiomériques qui se sont avérés globalement peu satisfaisants, car difficilement reproductibles dans l'optique de synthétiser une librairie d'analogues fluorés du LHVS pour tester leur affinité pour la Cathepsine S.

Nous nous sommes donc concentrés sur une adaptation de cette synthèse en introduisant l'azote via un azoture et en remplaçant l'époxyde terminal par un sulfite cyclique. De plus, de meilleurs excès énantiomériques supérieurs à 97% furent obtenus en organocatalyse par une époxydation de l'aldéhyde $\alpha\beta$ -insaturé catalysée par un dérivé de la proline, et ce de manière parfaitement reproductible. Enfin le maintien de l'information chirale sur l'ensemble de la synthèse a été démontré. Seule la réduction de l'azoture diminue légèrement l'excès énantiomérique qui reste tout de même supérieur à 92%. Pour s'affranchir de cette érosion, nous pouvons noter que la stratégie employée ouvre la possibilité de synthétiser des analogues du LHVS comportant une fonction triazole, via une cycloaddition classique alcyne-azoture catalysée au cuivre (Figure A), cette fonction étant reconnue comme bioisostère de la liaison peptidique.

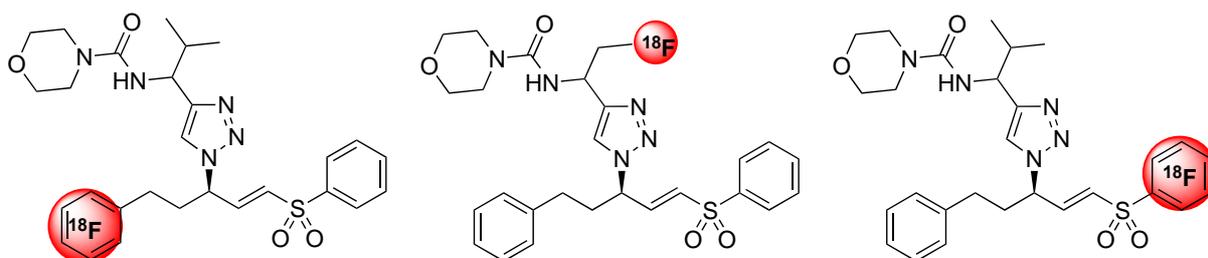


Figure A : Fluorination d'analogues du LHVS à cœur triazole.

La déclinaison de cette approche peut en effet conduire à des analogues fluorés, comme illustré sur le schéma **CP-1**, en s'appuyant sur chacun des fragments introduit au cours de la synthèse. L'accès à des motifs monofluorés apparaît en effet assez direct en s'appuyant sur des synthons de départ facilement accessibles comme représenté. Néanmoins, on pourra également s'intéresser à des motifs polyfluorés, à partir des mêmes fragments fluorés initiaux, aussi bien pour une approche diagnostique que pour d'éventuels développements thérapeutiques (du fait de la variété de pathologies dans lesquelles la Cathepsine S est impliquée), élargissant ainsi l'espace chimique des structures inhibitrices de la Cathepsine S pouvant conduire à l'obtention d'une affinité et sélectivité optimisés.

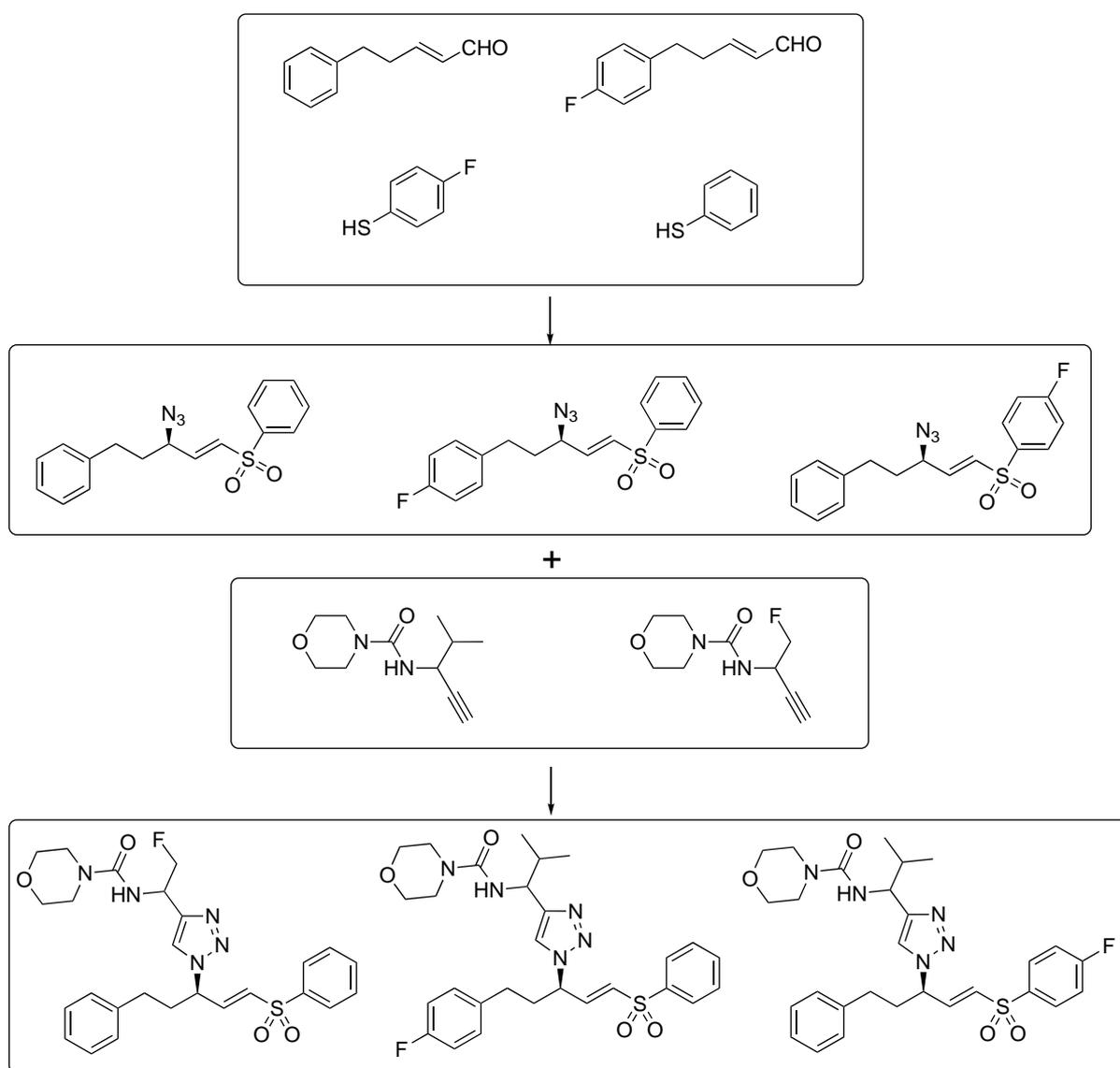


Schéma CP-1 : Représentation d'une sélection de motifs analogues du LHVS, à cœur triazole, monofluorés accessibles par l'approche synthétique par fragments.

Dans un second temps, afin de s'affranchir du problème de réduction de l'azoture (réduction requise pour accéder à la liaison amide native du LHVS) nous avons développé une seconde voie de synthèse plus courte où l'azote et la chiralité sont introduits par la condensation de la copule chirale d'Ellman sur le 3-phenylpropranal suivi de l'addition du bromure de vinylmagnésium. L'amino vinylsulfone est alors obtenue par couplage entre l'amine allylique protégée et l'acide benzènesulfonique promue par le N-iodosuccinimide. L'excès énantiomérique obtenu après la réaction d'élimination en présence d'alumine neutre est de 97%. Ainsi la possibilité de synthétiser rapidement un grand nombre d'analogues fluoré du LHVS pour la création d'une librairie est aujourd'hui envisageable comme illustré partiellement sur le schéma **CP-2**. A nouveau, l'accès à des composés comportant plusieurs atomes de fluor sur chacun des sites de fluoration est parfaitement réalisables par la combinaison des divers fragments présentés (de manière non exhaustive).

L'ensemble des méthodes de synthèse établies à travers ces travaux représente donc une première étape dans la constitution d'une large bibliothèque de composés dérivant du LHVS et comportant une analogie structurale marquée. L'accès à une telle variété de structures peut permettre d'entrevoir l'identification de composés non seulement hautement affins mais aussi présentant une forte sélectivité pour la Cathepsine S. En effet, du fait de l'ubiquité des protéases à cystéine dont elle est une représentante, il apparaît essentiel d'atteindre de hautes sélectivités pour l'enzyme ciblée afin de ne pas perturber d'autres mécanismes biologiques lors de l'emploi de tels inhibiteurs in vivo.

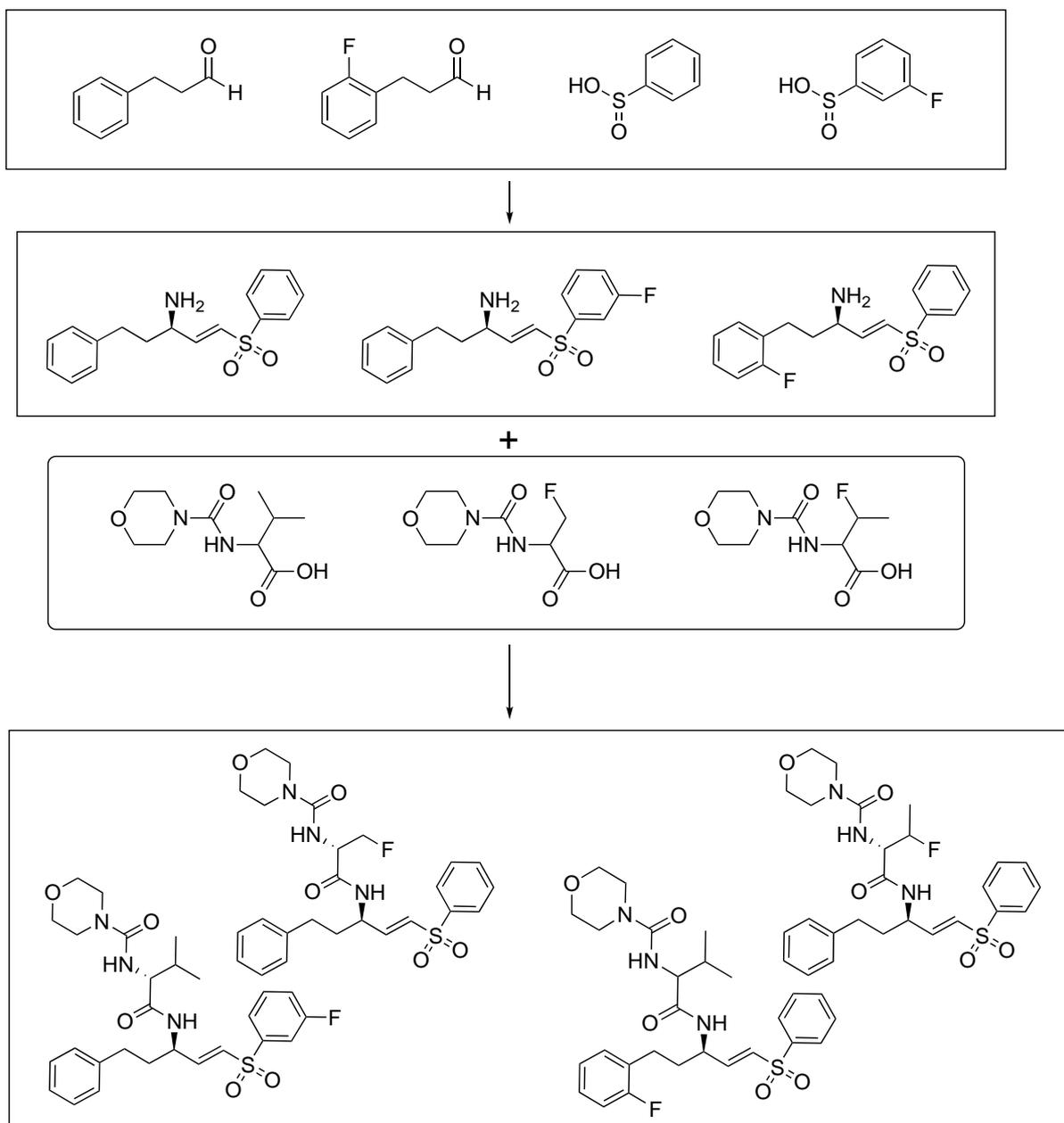
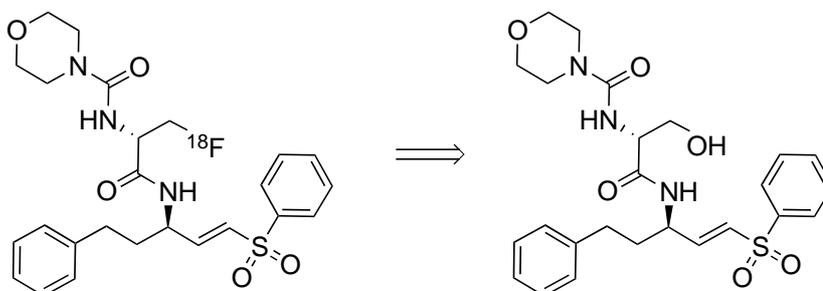


Schéma CP-2 : Sélection d'analogues fluorés du LHVS accessibles rapidement par l'approche convergente mise en œuvre.

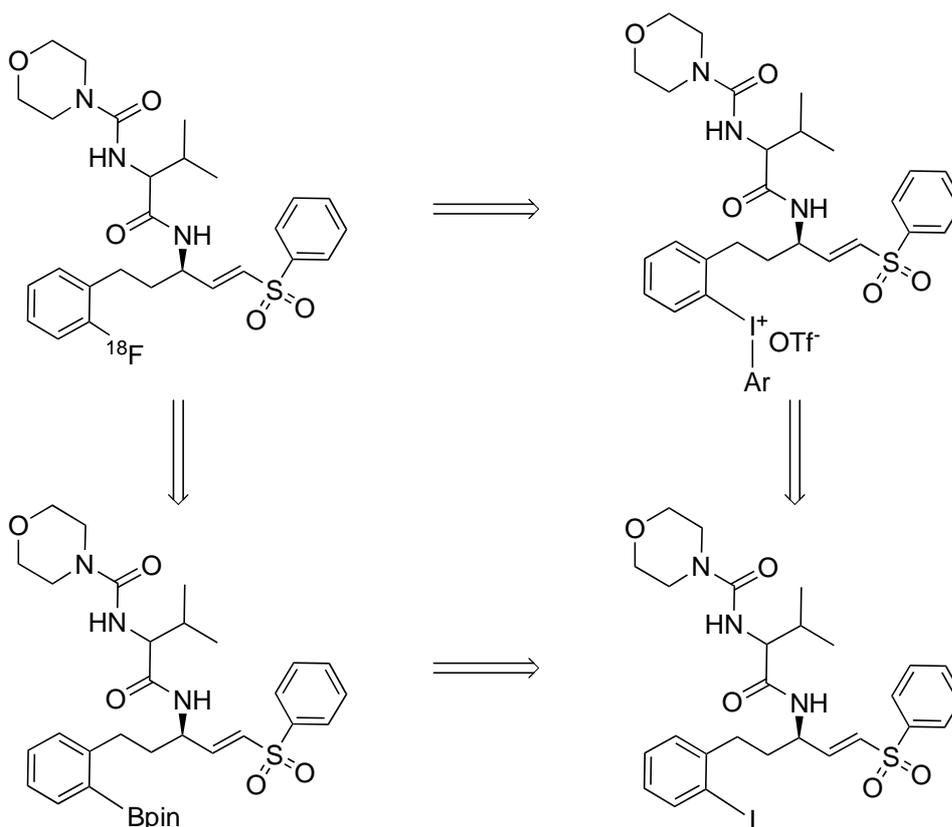
Afin d'identifier les candidats les plus pertinents pour une détection de la Cathepsine S, des tests d'affinité pour cette enzyme des composés de la bibliothèque obtenue de dérivés du LHVS seront réalisés. Ces tests consistent en une mesure de l'activité enzymatique de la cathepsine S par incubation de l'enzyme avec et sans l'inhibiteur puis addition de Cbz-Phe-Arg 7-amino-4-carbamoylmethylcoumarin. La libération de la coumarine sous l'action de l'enzyme est alors suivie par fluorescence et la constante d'inhibition de l'enzyme peut ainsi être déterminée. Ces tests pourront être réalisés dans le cadre de la collaboration de notre équipe avec les biologistes de l'institut des maladies métaboliques et cardiovasculaire. L'identification des substrats

les plus affins conduira alors à la synthèse de précurseurs de radiomarquage au ^{18}F . L'accès aux isotopomères s'appuie sur la même stratégie de synthèse, impliquant un radiomarquage lors de l'ultime étape, en considérant l'accès aux dérivés radiofluorés au niveau :

- des chaînes alkyles via l'activation des alcools correspondants,



- des fragments aromatiques via les iodoniums ou les acides boroniques correspondants, tous deux directement issus d'aromatiques iodés obtenus via le même schéma synthétique.



Les travaux que j'ai pu réaliser au cours de cette thèse représentent donc le préambule nécessaire à la mise en œuvre d'un programme de recherche de chimie médicinale ciblant la génération de nouveaux inhibiteurs de la Cathepsine S dans l'optique particulière de la surexpression de cette dernière par imagerie TEP. La mise

au point d'un tel outil d'exploration *in vivo* serait à même de permettre la visualisation *in vivo* de la plaque athéromateuse instable et permettre ainsi une meilleure prise en charge des patients touchés par cette pathologie. De plus, la Cathepsine S étant impliquée dans une large gamme de pathologies telles que les cancers, des maladies auto-immunes, et un large éventail de mécanismes inflammatoires.^{22,197} Ce même outil pourrait alors valider *in vivo* la surexpression ou la délétion de cette enzyme, et donc apporter un soutien diagnostique et de suivi thérapeutique pour des pathologies dépassant largement le cadre des maladies cardiovasculaires.

Partie Expérimentale

General Information:

Solvents, Reagents, and General procedures:

All chemicals were purchased from commercial sources (Sigma-Aldrich, Acros, Alfa Aesar and Tokyo Chemical Industry) and used as received unless otherwise noted. Solvents used were all commercial grade and used as received with no drying unless otherwise noted. Dry solvent were obtained by solvent purification system (SPS) MBraun SPS-800 from previously distilled and degassed solvents, pressurized under argon through two filters columns filled with 4Å molecular sieve. All reactions were performed in oven-dried glassware under argon atmosphere unless otherwise stated. Deuterated solvents for NMR spectroscopic analysis were purchased from Euriso-top.

4Å Molecular sieve is activated heating to 150°C under high vacuum overnight in a two-necked round-bottomed flask.

Unless specifically detailed, aqueous work-ups are carried out as follow: Reactions are quenched by addition of an aqueous solution. The aqueous phase is extracted 3 times with the indicated organic solvent. The organic phase is washed with an appropriate saturated solution for acid-base control then drained with brine before drying on MgSO₄, filtration and evaporation under reduced pressure.

Purification by Flash column chromatography (FCC) is carried out on a Interchim puriFlash XS520+ using Interchim puriFlash Columns Si-HP 30µ unless otherwise indicated.

Analysis:

NMR experiments were performed in deuterated solvents. ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹¹B NMR and ¹⁹F spectra were recorded on AVANCE NEO 600 MHz (2023) 4 channels equipped with a QCI 5mm cryoprobe ¹H, ¹³C, ³¹P, ¹⁵N ATMA (automatic tuning) and a 500-position high-throughput autosampler (SampleJet); AVANCE III HD 500 MHz (2013) 2 channels equipped with a Prodigy 5mm BBO, ¹H or ¹⁹F ATMA cryoprobe optimized for the observation of heteronuclei; AVANCE III HD 400 MHz (2016) 3 channels equipped with a 5mm TBO ATMA probe ; AVANCE II 400 MHz (2005) 3 channels equipped with an automatic sample changer (NMRCASE), 6 probes (5mm TBO, TXO, BBi, 10 mm BBO, ¹⁹F, H.R.M.A.S. ¹H, ¹⁹F, ³¹P); AVANCE NEO 300 MHz (2022) 2 channels, equipped with a 5mm BBFO ATMA probe.

All spectra were recorded at ambient temperature (298 K). Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm) downfield from tetramethylsilane and relative to the residual protium (¹H) of the deuterated solvents CDCl₃ (CHCl₃, δ = 7.26 ppm) for ¹H-NMR or the carbon (¹³C) of solvents CDCl₃ (δ = 77.2 ppm) as internal standards. Multiplicity of signals is indicated using the following abbreviations: s (singlet), b (broad), d (doublet), t (triplet), q (quartet), dd (doublet of doublets), dt (doublet of triplet), hept (heptet) and m (multiplet). Coupling constants (J) are given in Hz.

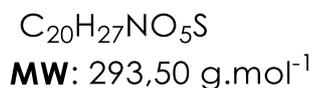
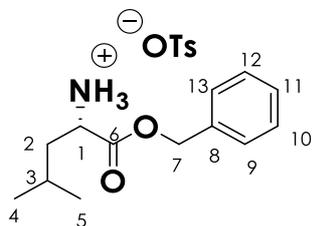
Reactions were monitored using Merck Silica gel 60 F₂₅₄ glass backed plates. TLC plates were visualized by UV fluorescence ($\lambda = 254, 365$ nm), potassium permanganate KMNO₄ and/or phosphomolybdic acid PMA staining.

IR spectra were recorded on a Benchtop FTIR Instruments Cary 630 FTIR Spectrometer with frequencies expressed in cm⁻¹.

High pressure liquid chromatography (HPLC) was carried out on a system from Waters using Phenomenex Gemini NX 54 C18 110Å with a solvent gradient from [90:10] H₂O + 0,05% CH₂O₂ /MeCN to 100% MeCN within 12 min. Retention time (Rt) are indicated when available.

Chiral High pressure liquid chromatography (HPLC) on a Agilent 1200 Series Gradient including Quaternary gradient pump with solvent degassing, standard autosampler, thermostating subambient to 80°C variable wavelength. Detector includes standard flow cell, DAD and Spectral module for ChemStation.

Chapitre 2 :

L-Leucine benzyl ester p-toluenesulfonate

A mixture of L-Leucine (3,27g, 25 mmol, 1.0 equiv), p-toluenesulfonic acid (5,70g, 30 mmol, 1.2 equiv), benzyl alcohol (13mL, 125 mmol, 5.0 equiv) and cyclohexane (20 mL) was refluxed for 4 h using a DeanStark apparatus to separate water that was azeotroped out as it formed. The reaction mixture was cooled to room temperature and ethyl acetate (20 mL) was added. After stirring for 1 h, the precipitate was collected by filtration and dried. The title compound L-Leucine benzyl ester p-toluenesulfonate is isolated as a white solid (9,8g, 100%).

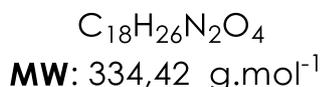
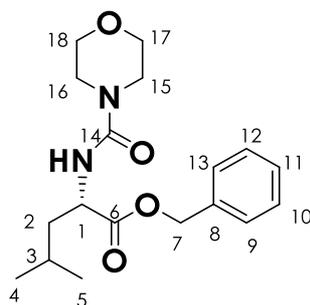
Rt= 3 min

NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8.26 (br s, 3H, H), 7.74 (d, J= 8.14, 2H, H), 7.27 (m, 5H, H), 7.07 (d, J= 7.97, 2H, H), 5.11 (d, J= 12.3, 1H, H), 5.02 (d, J=12.31, 1H,H), 3.96 (m, 1H, H) 2.30 (s, 3H, H), 1.66 (m, 3H, H), 0,74 (pt, J= 5.3, 6H, H)

NMR ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 169.7, 141.4, 140.2, 134.8, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2, 126.1, 67.7, 51.7, 39.2, 24.1, 22.0, 21.9, 21.3.

MS(ESI+): [MH⁺]m/z = 222,2

Identical to the data reported by Bolchi et al. Amino Acids **2017**, 49, 965 and by Abou Fayad et al. Eur. J. Org. Chem. **2015**, 5603–5609

Benzyl-4-methyl-2(morpholine-4)-carboxamide pentanoate

To a solution of the L-Leucine benzyl ester p-toluenesulfonate salt (10,5344g, 26,77 mmol, 1.0 equiv), in DCM at room temperature is successively added Et_3N (3,73mL, 26,77 mmol, 1.0 equiv), and $\text{N,N}'$ -carbonyldiimidazole (5,4393g, 32,13 mmol, 1.2 equiv). The reaction is stirred for 20h. After reaction completion (TLC monitoring), the reaction is quenched with HCl 1M. After standard aqueous work up using DCM and a solution of saturated NaHCO_3 . The title compound is used in the next step without any further purification.

To a solution of the carboxamide (26,77 mmol, 1.0 equiv), in DCM at 0°C is successively added 4-morpholine (2,7090mL, 26,77 mmol, 1.0 equiv) and Et_3N (3,73mL, 26,77 mmol, 1.0 equiv). The reaction is then allowed to warm up to room temperature and is stirred for 20h. After reaction completion (TLC monitoring), the reaction is quenched with HCl 1M. After standard aqueous work up using DCM and a solution of saturated NaHCO_3 . After purification of the residue by FCC on a 120g cartridge using a (9:1) to (6:4) (Cy: EtOAc) gradient the title compound is isolated (5.91g; 66%) as a white solid.

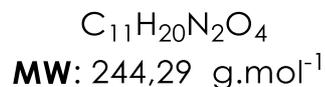
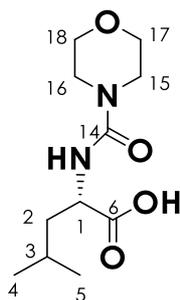
R_f = 0, 33 [60:40 C_6H_{10} /AcOEt]

R_t = 6,05 min

NMR ^1H (400 MHz, CDCl_3): 7.32–7.38 (5H, m), 5.20 (1H, d, $J = 12.7$ Hz), 5.13 (1H, d, $J = 12.7$ Hz), 4.83 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.56–4.60 (1H, m), 3.68 (4H, t, $J = 4.9$ Hz), 3.33–3.41 (4H, m), 1.49–1.71 (3H, m), 0.93 (6H, t, $J = 4.9$ Hz),

MS(ESI⁺): $[\text{MH}^+]\text{m/z} = 222,4$

Identical to the data reported by T. Shinozuka *et al.* Bioorg. Med. Chem. **2006**, 14 6807–6819

N-(Morpholin-4-ylcarbonyl)-L-Leucine

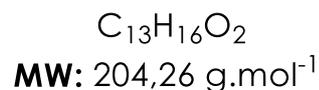
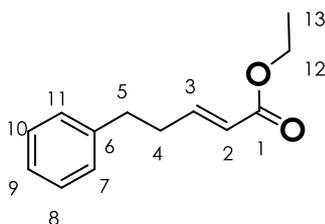
A mixture of urea **22** (5.8 g, 17.34 mmol, 1.0 equiv) and Pd/C (10%, 0.0923 g, 0.050 mmol, 5%mol) in EtOH (175 mL) was stirred under H₂ atmosphere overnight. After removal of Pd/C by filtration, the filtrate was concentrated. The title compound, N-(Morpholin-4-ylcarbonyl)-L-leucine is isolated as a white solid (4,23g, 100%).

NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6.50 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.48–3.54 (m, 4H), 3.21–3.30 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 1.62–1.43 (m, 3H), 0.86 (d, J=6.6, 3H), 0.82 (d, J= 6.5, 3H)

NMR ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 163.5, 158.1, 66.35, 66.30, 47.2, 44.4, 24.8, 23.5, 21.9

IR: 3360, 2960, 1726, 1631, 1538, 1270, 1118, 1000, 860, 593 cm⁻¹ ;

Identical to the data reported by Huang *et al.* J. Med. Chem. **2002**, 45, 676-684

(E)-ethyl-5-phenylpent-2-enoate

To a cooled (0 °C, ice/water bath) suspension of NaH (60%, 4.7370 g, 118.48 mmol, 1.1 equiv) in THF (240 mL) under argon is added dropwise triethyl phosphonoacetate (21.37 mL, 107.7 mmol, 1.0 equiv). The resulting mixture is stirred at 0 °C for 30 min. 3-Phenylpropionaldehyde (14,18 mL, 107.70 mmol, 1.0 equiv) is then added dropwise and the reaction is stirred for another 45 min. Water (75 mL) is then added at 0 °C and the biphasic mixture is warmed to RT. After standard aqueous work up using EtOAc The title compound is isolated (22g, 100%) as a colorless oil and used in the next step without any further purification.

R_f = 0,70 [80:20 C₆H₁₀/AcOEt]

R_t = 5.77 min

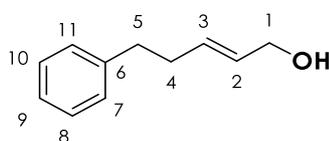
NMR ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.34-7.28 (m, 2H, H_{ArYl}), 7.25 -7.20 (m, 3H, H_{ArYl}), 7.03 (dt, $J=15.6, 6.8, 1\text{H}, \text{H}_3$), 5.87 (dt, $J=15.7, 1.6, 1\text{H}, \text{H}_2$), 4.21 (q, $J=7.2, 2\text{H}, \text{H}_{12}$), 2.80 (t, $J=8.2, 2\text{H}, \text{H}_5$), 2.58-2.52 (dtd, 2H, H_4) 1.31 (t, $J=7.1, 3\text{H}, \text{H}_{13}$).

NMR ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 166.7, 148.2, 140.9, 128.6, 128.4, 126.3, 122.0, 60.3, 34.5, 34.0, 14.4.

IR: 2926 cm^{-1} ; 1716,4 cm^{-1} ; 1653,1 cm^{-1} .

MS(ESI+): $[\text{MH}^+]\text{m/z} = 205,21$

(E)-5-phenylpent-2-en-1-ol



$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}$
MW: 162,23 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

To a solution of (E)-ethyl-5-phenylpent-2-enoate (10g, 10mL, 48.96mmol, 1.0 equiv) in toluene (90 mL) under argon at $-8\text{ }^\circ\text{C}$ (dry ice/acetone), is added dropwise a solution of diisobutylaluminum hydride in toluene (66 mL, 1.2 M, 97.91 mmol, 1.6 equiv). The reaction mixture is stirred 5h then warmed to $0\text{ }^\circ\text{C}$ (ice/water) and an aqueous saturated solution of Rochelle's salt (100mL) was slowly added followed by water (50 mL) and diethyl ether (100 mL). The emulsion was stirred vigorously overnight. After standard aqueous work up using Et_2O , purification of the residue by bulb-to-bulb distillation under reduce pressure (Kugelrohr), the title compound is isolated (6.1926 g, 78%) as a colorless oil.

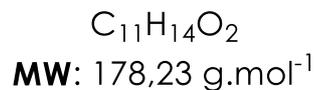
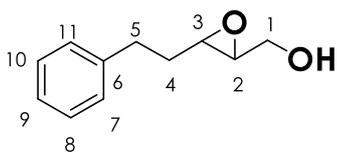
Rf = 0,25 [70:30 $\text{C}_6\text{H}_{10}/\text{AcOEt}$] **Rt** = 5.40 min

NMR ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.33-7.28 (m, 2H, H_7 and H_{11}), 7.24 -7.20 (m, 3H, H_8, H_9 and H_{10}), 5.80 - 5.66 (m, 2H, H_2 and H_3), 4.11 (d, $J=5.4, 2\text{H}, \text{H}_1$), 2.76 - 2.72 (m, 2H, H_5), 2.43 - 2.38 (m, 2H, H_4), 1.39 (br, s, OH).

NMR ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 141.7, 132.3, 129.6, 128.4, 128.3, 125.9, 63.7, 36.3, 34.0.

IR: 3324,8 cm^{-1} ; 3026,6 cm^{-1} ; 2922,2 cm^{-1} ; 2855,1 cm^{-1} ; 1604,6 cm^{-1} ; 1496,5 cm^{-1} ; 1082,8 cm^{-1} ; 997,1 cm^{-1} ; 967,2 cm^{-1} .

MS(ESI+): $[\text{MH}^+]\text{m/z} = 163,15$.

trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol

To a solution of (E)-5-phenylpent-2-en-1-ol (6.1926 g, 38.17 mmol, 1.0 equiv) in dichloromethane (250 mL) at 0°C under argon (ice/water), is added m-CPBA 70% (18.8208 g, 76.34 mmol, 2.0 equiv). The mixture is allowed to reach RT and stirred overnight. The reaction mixture is cooled to -20 °C, and the m-chloro-benzoic acid is filtered on Celite. The organic layer is washed twice with a 1M Na₂S₂O₃ solution, then a saturated NaHCO₃ solution and finally dried over MgSO₄. After filtration and evaporation under reduced pressure, the title compound is isolated (5.44 g, 80%) as a colorless oil used in the next step without any further purification.

R_f = 0,24 [70: 30 C₆H₁₀/AcOEt]

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7.33-7.27 (m, 2H, H₇ and H₁₁), 7.35 -7.17 (m, 3H, H₈, H₉ and H₁₀), 3.84 (dd, J= 12.6, 2.6, 1H, H₁), 3.56 (dd, J= 12.6, 4.4, 1H, H₁), 2.99 (td, J= 5.8, 2.3, 1H, H₃), 2.88–2.84 (m, 1H, H₂), 2.82–2.68 (m, 2H, H₅), 2.32 (br, 1H, OH), 2.22–1.83 (m, 2H, H₄)

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 141.2, 128.6, 128.5, 126.2, 61.8, 58.9, 55.5, 33.4, 32.3.

IR: 3395,6 cm⁻¹ ; 3026,6 cm⁻¹ ; 2978,1 cm⁻¹ ; 2929,7 cm⁻¹ ; 2862,6 cm⁻¹ ; 1602,8 cm⁻¹ ; 1496,5 cm⁻¹ ; 1453,7 cm⁻¹ .

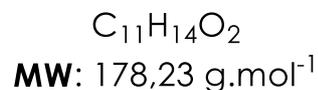
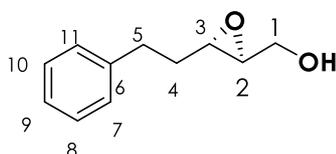
General method A: Substochiométrique Sharpless Epoxidation

To a solution of Ti(Oi-Pr)₄ (91,2 μL, 0.31 mmol, 0,5 equiv.) in dry DCM (2 mL) over activated 4A MS at -70°C is added under an argon atmosphere (+)-DIPT (77.2 μL, 0.37 mmol, 0,6 equiv.) and (E)-phenyl-2-penten-1-ol (100 mg, 0.62 mmol, 1 equiv.) successively. Then a t-BuOOH (0.25 mL, 1,23 mmol, 2equiv) that has been precooled to -20 °C is added. The temperature mixture is allowed to come to 0°C over a 2 hours period of stirring. It is then quenched at the same temperature by the addition of ice-cold 40% NaOH solution in brine, (60 mg of NaOH and 7.5 mg of NaCl dissolved in 0.15 mL H₂O). The quenched reaction mixture is stirred at 0°C for 30 min. It is then filtered through celite, eluted with 50 mL of Et₂O, and washed with sat. aq. Na₂S₂O₃ (50 mL) and sat. aq. Rochelle's salt. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under vacuum.

General method B: Catalytic Sharpless Epoxidation

60 mg of 4Å MS is activated drying under high vacuum heating to 150°C overnight in a two-necked round-bottomed flask. 2 mL of anhydrous DCM is added under an argon atmosphere in this flask. The reaction mixture is cooled to -20 °C. (+) or (-)-DIPT (7.2 µL, 0.04 mmol, 6 mol%) followed by Ti(Oi-Pr)₄ (9.1 µL, 0.03 mmol, 5 mol%) are added successively. The reaction mixture is cooled further to -48 °C and *t*-BuOOH (0.25 mL, 1.23 mmol, 2 equiv) is added over 5 min. The reaction mixture is stirred at this temperature for 30 min (to 1 hour). (*E*)-phenyl-2-penten-1-ol (100 mg, 0.62 mmol, 1 equiv) is then added in 0.5 mL of anhydrous DCM. The reaction mixture is stirred at -48 °C for 1 h (up to 4h) then is allowed to return to -20°C and is stirred 20h (or to rt over the night). The reaction is quenched at the same temperature by the addition of ice-cold 40% NaOH solution in brine, (60 mg of NaOH and 7.5 mg of NaCl dissolved in 0.15 mL H₂O). The quenched reaction mixture is stirred at 0°C for 1 hour (or 30 min). It is then filtered through celite, eluted with 50 mL of Et₂O, and washed with sat. aq. Na₂S₂O₃ (50 mL) and sat. aq. Rochelle's salt. The organic layer is dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under vacuum. After purification of the residue by FCC on 4g or 12g cartridge using a (1:0) to (7:3) (C₆H₁₀: EtOAc) gradient the title compound is isolated as a colorless oil.

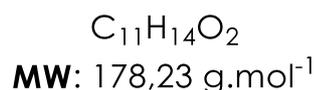
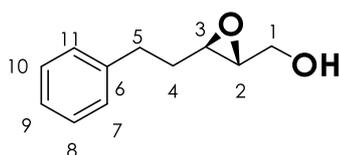
(2*S*,3*S*)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol



(2*S*,3*S*)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol was synthesized from (*E*)-5-phenylpent-2-en-1-ol using general method B.

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 70:30 (1 mL/min) [(2*S*,3*S*)-**252**- tr = 8,72 min; (2*R*,3*R*)-**252** tr = 11,69 min]. 61% ee

(2*R*,3*R*)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol



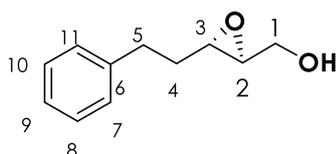
(2*S*,3*S*)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol was synthesized from (*E*)-5-phenylpent-2-en-1-ol using general method B.

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 70:30 (1mL/min) [(2R,3R)-**252** tr =8,66 min; (2R,3R)-**252** tr =11,68 min]. 81% ee

General method C: Catalytic Organocatalyse Epoxidation

To a solution of Epoxyaldehyde (0.9 g, 5.62 mmol, 1.0 equiv) in dichloromethane (20 mL), is added the Jorgensen catalyst (0.3356 g, 0.56 mmol, 10% mol) followed by an aqueous solution of H₂O₂ at 35% (1.5mL 7.3024 mmol, 1.3 equiv). The mixture is allowed to stirred overnight at RT. After completion of the reaction the medium is diluted in MeOH and NaBH₄ is added at 0°C and stired for 15 to 30 min. The reaction is quenched with a saturated solution of NH₄Cl followed by an extraction with Et₂O. The organic layer is washed twice with a saturated brine solution, and finally dried over MgSO₄. After filtration and evaporation under reduced pressure and purification of the residue by FCC on 4g or 12g cartridge using a (1:0) to (7:3) (C₆H₁₀: EtOAc) gradient the title compound is isolated as a white solid (0,66g ; 66%)

(2S,3S)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol

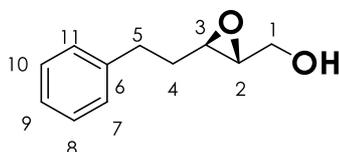


C₁₁H₁₄O₂
MW: 178,23 g.mol⁻¹

(2S,3S)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol was synthezise from (E)-5-phenylpent-2-en-1-ol using general methode C with (R)-α,α-Bis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]-2-pyrrolidinemethanol trimethylsilyl ether Jorgensen's catalyst

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 50:50 (1mL/min) [(2S,3S)-**182**- tr =9,069 min 98.30 Area%; (2R,3R)-**182** tr =12,092 min 1.70 Area%]. 96% ee

(2R,3R)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol

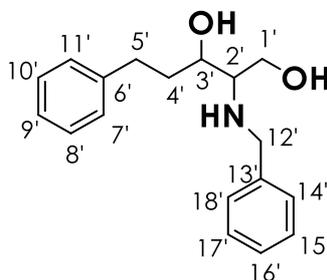
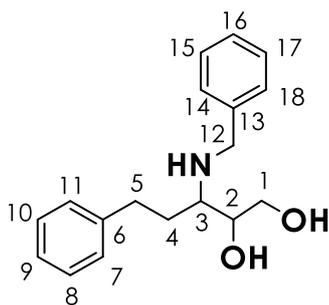


C₁₁H₁₄O₂
MW: 178,23 g.mol⁻¹

(2S,3S)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol was synthezise from (E)-5-phenylpent-2-en-1-ol using general methode C with (S)-α,α-Bis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]-2-pyrrolidinemethanol trimethylsilyl ether Jorgensen's catalyst

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 70:30 (1mL/min) [(2S,3S)-**182** tr =9,159 min 2.07 Area% ; (2R,3R)-**182** tr =12,123 min 97.93 Area%]. 96% ee

3-(Benzylamino)-5-Phenylpentane-1,2-diol

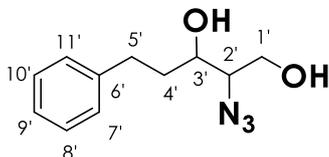
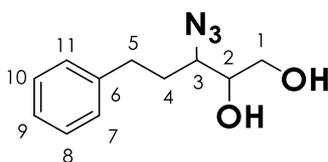


$C_{18}H_{23}NO_2$
MW: 285,39 g.mol⁻¹

Ti(O-*i*-Pr)₂(N₃)₂

In an oven-dried 100 mL round-bottomed flask containing dry pentane (230 mL) under argon are added azidotrimethylsilane (3.5 g, 30.65 mmol ; 4 mL, 2.5 equiv) and Ti(*i*O-Pr)₄ (3.4841 g, 3.63 mL, 12.26 mmol, 1.0 equiv). The solution is then stirred at room temperature for five days leading to a yellowish-white slurry. The title compound is isolated (1.9264g, 63%) after evaporation under reduced pressure as a yellow solid.

3-azido-5-phenylpentan-1,2-diol



$C_{11}H_{15}N_3O_2$
MW: 221,26 g.mol⁻¹

Method D: To an oven-dried 50mL flask containing a Ti(O-*i*-Pr)₂(N₃)₂ (0,7121g, 2,84mmol, 1.2 equiv) solution in toluene (30mL) under argon at 75 °C is added *trans*-2,3-epoxy-5-phenylpentanol (0,4223g, 2,37mmol, 1.0 equiv). After XXh , the reaction is quenched by a 5% solution of sulfuric acid and is stirred for another hour. After standard aqueous work up using DCM the title compound is isolated (52.4255g, 10%.) as a yellow oil.

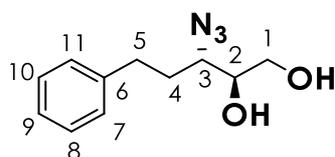
Method E: A solution of *Trans*-2,3-epoxy-5-phenylpentanol **182** (4g; 22.44 mmol), sodium azide (2.1915 g; 4.21 mmol) and ammonium chloride (2.7611g; 51.62 mmol) dissolved in a mixture of methanol and water (60/6.4mL) is heated to reflux for 2 days. After completion the reaction is cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue is taken in ethyl acetate, filtered through a silica plug and concentrated under reduced pressure. Purification of the residue by FCC on 40g cartridge using a (1:0) to (9:1) (DCM:MeOH) gradient provided the title compound (3.90 g, 79%) as a yellow oil.

NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7.33–7.27 (m, 2H, $\text{H}_{7,7'}$ and $\text{H}_{11,11'}$), 7.23–7.20 (m, 3H, $\text{H}_{8,8'}$, $\text{H}_{9,9'}$ and $\text{H}_{10,10'}$), 3.89–3.62 (m, 3H, $\text{H}_{1,1'}$ and $\text{H}_{2,3'}$), 3.47–3.41 (m, 1H, $\text{H}_{3,2'}$), 2.93–2.61 (m, 3H, $\text{H}_{5,5'}$, OH and OH'), 2.01–1.95 (m, 2H, H_4), 1.94–1.78 (m, 3H, H_4 , OH and OH').

NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 141.4, 140.9, 128.7, 128.7, 128.6, 128.5, 126.3, 126.2, 73.9, 71.6, 67.0, 63.7, 63.3, 62.5, 35.4, 32.5, 32.3, 31.9.

IR: 3287,5 cm^{-1} ; 3190,6 cm^{-1} ; 3028,5 cm^{-1} ; 2965,1 cm^{-1} ; 2922,2 cm^{-1} ; 2094,8 cm^{-1} ; 1490,9 cm^{-1} ; 1451,8 cm^{-1} .

(2R,3S)-3-azido-5-phenylpentane-1,2-diol

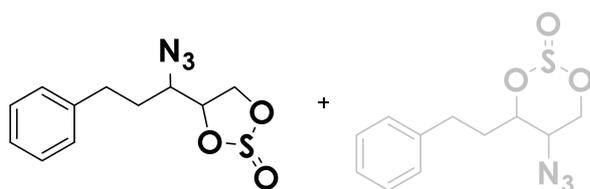


$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$
MW: 221,26 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

(2R,3S)-3-azido-5-phenylpentane-1,2-diol was synthesized from (2S,3S)-trans-2,3-epoxy-5-phenylpentanol using general method E.

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 50:50 (1 mL/min) [(2R,3S)-**252** t_r = 9,701 min 75,22 Area%; (2S,3R)-**252** t_r = 10,398 min 1,90 Area%]; 95% ee

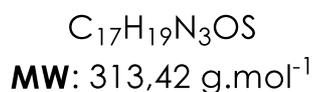
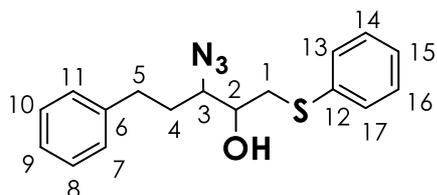
4-(1-azido-3-phenylpropyl)-1,3,2-dioxathiolane-2-oxide



$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$
MW: 267,30 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

To a solution of 1,2-diol-3-azido-5-phenylpentane **252** (3.5 g, 15.82 mmol, 1.0 equiv) in DCM (114 mL) under argon, is added imidazole (1.2923 g, 18.98 mmol, 1.2 equiv). After cooling to 0°C (ice/water) thionyl chloride (1.37 mL, 18.98 mmol, 1.2 equiv) is added. The mixture is allowed to reach RT and stirred overnight. After standard aqueous work up with DCM, the title compound is obtained (4.12 g) as a yellow oil used in the next step without being isolated.

3-azido-5-phenyl-1-(phenylthio)pentan-2-ol



Method F : To a cooled (0 °C, ice/water bath) suspension of NaH (60%, 0.6780 g, 16.95 mmol, 1.1 equiv) in dry DMF (42.25 mL) under argon is added thiophenol (1.57 mL, 15.41 mmol, 1.0 equiv) dropwise and the resulting mixture is stirred at 0 °C for 30 min. A solution of sulfite cyclic **15** (4.12g, 15.41 mmol, 1.0 equiv) in DMF is then added dropwise. The mixture is allowed to reach RT and stirred overnight. The reaction was quenched by 1M aqueous solution of HCl (50mL). After standard aqueous work up using Et₂O, purification of the residue by FCC on 120g cartridge using a (1:0) to (9:1) (DCM:MeOH) gradient , the title compound is isolated (3.17g, 65%) as a white oil .

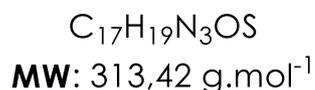
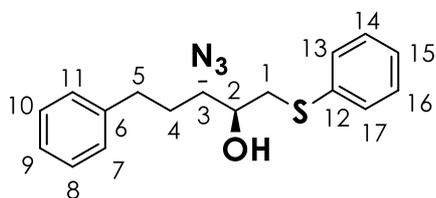
NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7.41-7.17 (m, 10H, H_{7to11} and H_{13to17}), 3.70 -3.63 (m, 1H, H₂), 3.50-3.44 (m, 1H, H₃), 3.23 (dd, J=14.0, 3.0, 1H, H₁), 2.98 (dd, J= 14.0, 9.5, 1H, H₁), 2.89-2.60 (m, 2H, H₅), 2.74 (d, J= 3.2, 1H, OH) 1.94-1.74 (m, 2H, H₄).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 140.9, 134.3, 129.4, 128.7, 128.6, 127.3, 126.4, 71.5, 65.0, 38.4, 32.5, 32.1.

IR: 3447,8 cm⁻¹ ; 3026,6 cm⁻¹ ; 2924,1 cm⁻¹ ; 2098,5 cm⁻¹ ; 1582,3 cm⁻¹ ; 1479,8 cm⁻¹ ; 1438,8 cm⁻¹ ; 1261,7 cm⁻¹ .

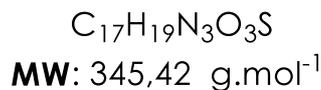
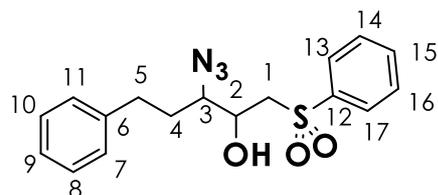
HRMS : (M+C₂H₅) = 342,1636

(2R,3S)-3-azido-5-phenyl-1-(phenylthio)pentan-2-ol



3-azido-5-phenyl-1-(phenylthio)pentan-2-ol was synthesized from (2R,3S)-3-azido-5-phenylpentane-1,2-diol using general method F.

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 50:50 (1mL/min) [(2R,3S)-**254** tr =8,078 min 97.75 Area%; (2S,3R)-**254** tr =13,185 min 2.25 Area%]. 96%ee

3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pentan-2-ol

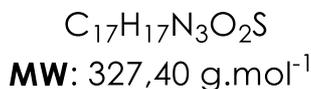
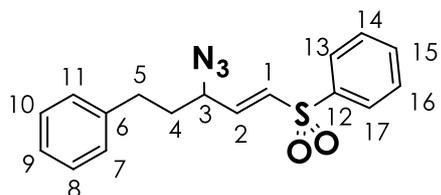
To a cooled (0 °C, ice/water bath) solution of the sulfide **254** (3.17 g, 10.11 mmol, 1 equiv.) in dry dichloromethane (120 mL), *m*-chloroperbenzoic acid 50-55% (7.9 g, 21.24 mmol, 2.1 equiv) was added dropwise. Stirring was maintained at room temperature over the night until TLC analysis showed that the reaction was complete. The reaction was quenched by 1M aqueous solution of Na₂S₂O₃ (100mL). The organic layer is washed twice with a 1M Na₂S₂O₃ solution, with a saturated NaHCO₃ solution and dried over MgSO₄. After filtration and evaporation under reduced pressure, the title compound is isolated (3,51 g, quant.) as a white solid used in the next step without requiring any further purification.

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7.96-7.92 (m, 2H, H₁₄ and H₁₆), 7.74-7.68 (m, 1H, H₁₅), 7.64-7.58 (m, 2H, H₁₃ and H₁₇), δ 7.32-7.27 (m, 2H, H₇ and H₁₁), 7.24-7.18 (m, 1H, H₉), 7.17-7.13 (m, 2H, H₈ and H₁₀), 4.23 -4.16 (m, 1H, H₂), 3.62 (d, J= 2.4, 1H, OH) 3.48-3.42 (m, 1H, H₃), 3.36-3.21 (m, 2H, H₁), 2.87-2.57 (m, 2H, H₅), 1.84-1.64 (m, 2H, H₄)

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 140.5, 139.0, 134.5, 129.7, 128.8 , 128.5, 128.0 , 126.5, 69.5, 65.0, 58.5, 32.2, 32.1.

IR: 3490,7 cm⁻¹ ; 3062,0 cm⁻¹ ; 3026,6 cm⁻¹ ; 2926,0 cm⁻¹ ; 2098,5 cm⁻¹ ; 1496,5 cm⁻¹ ; 1448,1 cm⁻¹ ; 1304,6 cm⁻¹ ; 1138,7 cm⁻¹ .

HRMS : (M+C₂H₅) = 374,1533

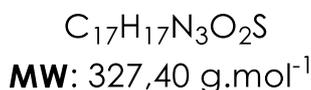
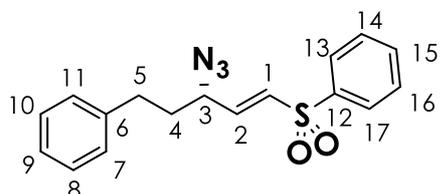
(E)-3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1-pentene

Method G : Mesityl chloride (1.51 mL, 19.63 mmol, 2.0 equiv) was added at room temperature via syringe to a solution of the 2-hydroxy sulfone **255** (3.39 g, 9.81 mmol, 1.0 equiv) in pyridine (101.7mL). The resulting mixture was stirred at rt for 5 days, at which time TLC analysis showed that the reaction was complete. The reaction was quenched by 1M aqueous solution of HCl (90m). After standard aqueous work up using DCM, the title compound is isolated (2.94g, 91%.) as a brown oil used in the next step without requiring any further purification.

NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7.93-7.89 (m, 2H, H_7 and H_{11}), 7.70 -7.55 (m, 3H, H_8 , H_9 and H_{10}), 7.89 -7.16 (m, 5H, H_{13} , H_{14} , H_{15} , H_{16} and H_{17}), 6.89 (dd, $J=15.16, 5.84$, 1H, H_2), 6.58 (dd, $J=15.16, 1.62$, 1H, H_1), 4.08 (ddd, (qd app), $J=6.5$, 1H, H_3), 2.82-2.66 (m, 2H, H_5), 2.01-1.93 (td, (q app) $J=7.5$, 2H, H_4)

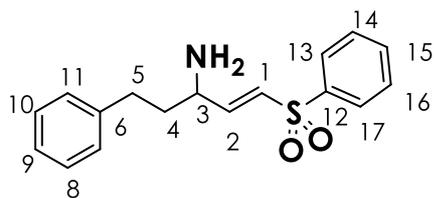
NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 142.5, 140.0, 133.9, 132.7, 129.6, 128.9, 128.5, 127.9, 60.8, 35.4, 31.7.

IR: 3050,8 cm^{-1} ; 2953,9 cm^{-1} ; 2924,1 cm^{-1} ; 2866,3 cm^{-1} ; 2100,4 cm^{-1} ; 1649,3 cm^{-1} ; 1602,8 cm^{-1} ; 1448,1 cm^{-1} ; 1349,3 cm^{-1} ; 1306,4 cm^{-1} ; 1144,3 cm^{-1} .

(3S),(E)-3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1-pentene

(3S)(E)-3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1-pentene was synthesized from (2R,3S)- 3-azido-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pentan-2-ol using general method G.

Chirale HPLC: Chiralcel IA column, Heptane/Ethanol; 90:10 to 50:50 (1mL/min) [(2S)- tr = 8,078 min 96.43 Area%; (2R)- tr = 13,184 min 3.57 Area%]. 92%ee

(E)-3-amine-5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pent-1-enC₁₇H₁₉NO₂S

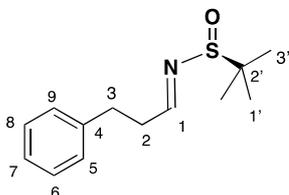
MW: 301,40

Azido Vinylsulfone (0,1g, 0,31mmol, 1 equiv.) was dissolved in MeOH (5 mL), and the resulting solution was added to a stirred solution of NaI (0,1830g, 1,22 mmol, 4 equiv.) and Amberlite IR 120 (1.8 meq/mL by wetted bed volume of exchangeable H⁺ ions, 2 equiv.) in MeOH (5 mL). The reaction mixture was then concentrated on a rotary evaporator at 40 °C and 200 mbar until dryness two times (approx. 1 hour 30 min.). After filtration and evaporation under reduced pressure, the title compound is isolated (0,1 g, 75-57%.) as a yellow oil used in the next step without requiring any further purification.

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7.94-7.89 (m, 2H, H₁₄ and H₁₆), 7.67-7.53 (m, 3H, H₁₃, H₁₅ and H₁₇), 7.35-7.28 (m, 2H, H₇ and H₁₁), δ 7.25-7.27 (m, 3H, H₈, H₉ and H₁₀), 7.00 (dd, J= 15.00, 5.6, 1H, H₂), 6.52 (dd, J= 15.00, 1.5, 1H, H₁), 3.60-3.53 (m, 1H, H₃), 2.78-2.68 (m, 2H, H₅), 1.96-1.75 (m, 2H, H₄)

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 149.9, 141.0, 133.6, 129.9, 129.5, 128.7, 128.5, 127.8, 126.3, 51.7, 38.4, 32.1.

Chapitre 3 :

(S,E)-2-methyl-N-(3-phenylpropylidene)propane-2-sulfinamide

$C_{12}H_{17}NOS$
MW: 237,36 g.mol⁻¹

To a solution of propiophenyl aldehyde (2,75 mL, 16,50 mmol, 1.2 equiv), and (R)-2-methylpropane-2-sulfinamide (2,6570g, 19,80 mmol, 1.2 equiv), in DCM (50 mL) was added tetraethoxytitanium (10,35 mL, 33,00 mmol, 2.0 equiv), The mixture was stirred at room temperature for 20h. When complete, the mixture was slowly poured into water (1 L) and then filtered, the filtrate was concentrated in vacuo. The resulting residue was extracted with ethyl acetate, the organic layer was washed with water, dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and concentrated. After purification of the residue by FCC on a 12g cartridge using a (1:0) to (9.5:5) (Cy: EtOAc) gradient the title compound is isolated (2.8290g; 72%) as a colourless oil.

R_f = 0, 42 [80:20 C₆H₁₀/AcOEt]

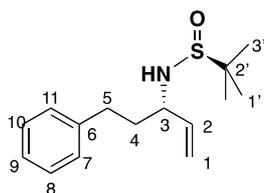
R_t=4,71min

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (t, J= 4.22, 1H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.23-7.18 (m, 3H), 3.02-2.95 (m, 2H.), 2.90-2.84 (m, 2H.), 1.14(s,9H)

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 168.61, 140.34, 128.58, 128.37, 126.30, 56.61, 37.48, 31.38, 22.28

MS(ESI+) : [MH⁺]m/z = 238,2

Identical to the data reported by Schenkel and. Ellman, Org. Lett., **2004** , 6, 20,3621-3624

(S)-2-methyl-N-((S)-5-phenylpent-1-en-3-yl)propane-2-sulfinamide

$C_{15}H_{23}NOS$
MW: 265,42 g.mol⁻¹

To a solution of (E)-2-methyl-N-(3-phenylpropylidene)propane-2-sulfinamide (6g, 25.3mmol, 1 equiv) in THF (120mL) at -78 °C was added vinyl magnesium bromide in THF (51 mL, 1M, 50.6mmol) through a cannula. The mixture was stirred at -78 °C for 2h and then was warmed to rt with stirring. After reaction completion (TLC monitoring), the reaction mixture was quenched by the addition of saturated aq. NH₄Cl and extracted with EtOAc. The combined organic layers were dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and concentrated. After purification of the residue by FCC on a 120g cartridge using a (8:2) to (7:3) (Cy: EtOAc) gradient the title compound is isolated (5.6g; 83%) as a colourless oil.

R_f = 0.1 [75:25 C₆H₁₀ /AcOEt]

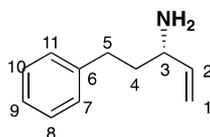
R_t = 4,71min

NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.32-7.27 (m, 2H), 7.22-7.18 (m, 3H), 5.90 (ddd, J= 17.23 ; 10.32 ; 7.0, 1H), 5.26 (ddt, J= 26.21 ; 10.83; 1.25, 2H), 3.82 (p, J=6.55, 1H), 3.22(d, J= 6.46, 1H) 2.68(t, J= 8.25, 2H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.95-1.93 (m, 1H), 1.24(s,9H)

NMR ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 141.59, 139.59, 128.50, 128.40, 126.02, 116.95, 58.34, 55.88, 37.08, 31.83, 22.67.

MS(ESI+) : [MH⁺]m/z = 266,2

Identical to the data reported by Qin *et al.* Org. Chem. Front. **2020**, 7, 20,3132-3136

(S)-5-phenyl-pent-1-en-3-amine

$C_{11}H_{15}N$
MW: 161,25 g.mol⁻¹

To a solution of (R)-2-methyl-N-((R)-5-phenylpent-1-en-3-yl)propane-2-sulfinamide (1.2g, 4.52 mmol, 1 equiv) in MeOH (50mL) was added aqueous HCl (13.5 mL, 3M).The mixture was stirred at rt overnight. After reaction completion (TLC monitoring), the reaction mixture was diluted by the addition of water and extracted with EtOAc. The combined organic layers were dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and concentrated. The title compound is isolated (0.7g; 96%) as a yellow oil.

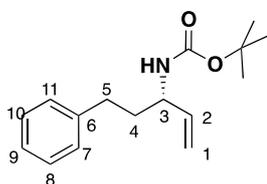
R_f = 0,1 [80:20 C₆H₁₀/AcOEt]

NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.34-7.28 (m, 2H), 7.23-7.18 (m, 3H), 5.85 (ddd, J= 17.15 ; 10.26 ; 6.9, 1H), 5.13 (ddt, J= 22.45 ; 10.22; 1.39, 2H), 3.35 (q, J=7.1, 1H), 2.72-2.66(m, 2H), 1.83-1.75 (m, 2H), 1.72br s, 2H)

NMR ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 142.94, 142.10, 128.48, 128.45, 125.88, 114.15, 54.13, 39.13, 32.44.

Identical to the data reported by Defieber and Carreira Angew. Chem. Int. Ed. **2007**, 46, 3139-1343

(S)-5-phenyl-pent-1-en-3-N-Boc-amine



C₁₆H₂₃NO₂
MW: 261,37 g.mol⁻¹

To a solution of (R)-5-phenyl-pent-1-en-3-amine (0.7g, 4.34 mmol, 1 equiv) in DCM (50mL) was added Et₃N (0.6 mL, 6.51 mmol; 1.5eq). The mixture was stirred at rt for 30min before Di-tert-butyl dicarbonate (1.83g, 6.51 mmol; 1.5eq) After reaction completion (TLC monitoring), the reaction mixture was quenched by the addition of saturated aq. NH₄Cl and extracted with DCM. The combined organic layers were dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and concentrated. After purification of the residue by FCC on a 25g cartridge using a (1:0) to (9:1) (DCM: MeOH/NH_{3(aq)}) gradient the title compound is isolated (0.9g; 80%) as a white solid.

R_f = 0,7 [80:20 C₆H₁₀/AcOEt]

R_t = 5.35min

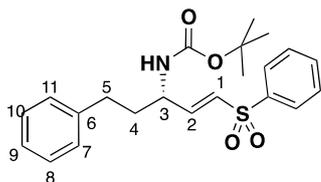
NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.31-7.29 (m, 2H), 7.21-7.17 (m, 3H), 5.79 (ddd, J= 17.93 ; 10.3 ; 7.1, 1H), 5.14 (ddt, J= 21.6 ; 10.36; 1.3 , 2H), 4.48 (br s, 1H), 4.15 (br s, 1H), 2.75-2.60(m, 2H), 1.91-1.71 (m, 2H), 1.46(s,9H)

NMR ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 146.88, 141.76, 138.92, 128.56, 128.51, 126.06, 114.86, 85.31, 37.09, 32.28, 28.54, 27.55.

MS(ESI+) : [MH⁺]m/z = 262,2

Identical to the data reported by Defieber and Carreira Angew. Chem. Int. Ed. **2007**, 46, 3139-1343

tert-butyl (S,E)-(5-phenyl-1-(phenylsulfonyl)pent-1-en-3-yl)carbamate



$C_{22}H_{27}NO_4S$
MW: 401,52 g.mol⁻¹

To a solution of NIS (0.8607g, 3.83 mmol, 1 equiv) and benzene sulfonic acid (0.5439g, 3.83 mmol, 1 equiv) in dry DCM (30mL) (R)-5-phenyl-pent-1-en-3-N-Boc-amine (1g, 3.83 mmol; 1equiv) was added dropwise at 0°C. The mixture was stirred at 0°C for 4h until the medium turn fuchsia. After reaction completion (TLC monitoring), the reaction mixture was quenched by the addition of neutral alumina oxide (15g) and allowed to stir for 24 hours. After filtration on celite, the combined organic layers were wash with Na₂S₂O₃, carbonate solution and brine the dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and concentrated. After purification of the residue by FCC on a 12g cartridge using a (1:0) to (9:1) (DCM: MeOH/NH₃(aq)) gradient the title compound is isolated (0.6140g; 40%) as a white solid.

Rf = 0.27 [80:20 C₆H₁₀/AcOEt]

NMR ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.31-7.29 (m, 2H), 7.21-7.17 (m, 3H), 5.79 (ddd, J= 17.93; 10.3 ; 7.1, 1H), 5.14 (ddt, J= 29.2 ; 13.8; , 2H), 4.48 (br s, 1H), 4.15 (br s, 1H), 2.75-2.60 (m, 2H), 1.91-1.71 (m, 2H), 1.46 (s, 9H)

Chirale HPLC: Chiralcel IC column, Heptane/Ethanol; 80:20 (1mL/min) [(2R)- tr =6,933 min 1.79 Area%; (2S)- tr =7,386 min 98.21 Area%]. 97%ee

Identical to the data reported by Evans *et al.* Synthesis **2022**, 54 (7), 1753–1764.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. P. Libby. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature* **2021**, 592 (7855), 524–533.
2. P. Libby, J.E. Buring, L. Badimon, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Primers* **2019**, 5 (1), 1–18.
3. J.L.M. Björkegren, A.J. Lusis. Atherosclerosis: Recent developments. *Cell* **2022**, 185 (10), 1630–1645.
4. A.A.C. Newman, V. Serbulea, R.A. Baylis, et al. Multiple cell types contribute to the atherosclerotic lesion fibrous cap by PDGFR β and bioenergetic mechanisms. *Nat Metab* **2021**, 3 (2), 166–181.
5. G.F. Alencar, K.M. Owsiany, S. Karnewar, et al. Stem Cell Pluripotency Genes Klf4 and Oct4 Regulate Complex SMC Phenotypic Changes Critical in Late-Stage Atherosclerotic Lesion Pathogenesis. *Circulation* **2020**, 142 (21), 2045–2059.
6. H. Pan, C. Xue, B.J. Auerbach, et al. Single-Cell Genomics Reveals a Novel Cell State During Smooth Muscle Cell Phenotypic Switching and Potential Therapeutic Targets for Atherosclerosis in Mouse and Human. *Circulation* **2020**, 142 (21), 2060–2075.
7. P.K. Shah, D. Lecis. Inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease. *F1000Res* **2019**, 8, F1000 Faculty Rev-1402.
8. L. Panh, O. Lairez, J.-B. Ruidavets, et al. Coronary artery calcification: From crystal to plaque rupture. *Arc. Cardiovasc. Dis.* **2017**, 110 (10), 550–561.
9. Y. Vengrenyuk, S. Carlier, S. Xanthos, et al. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103 (40), 14678–14683.
10. J.D. Hutcheson, C. Goettsch, S. Bertazzo, et al. Genesis and growth of extracellular-vesicle-derived microcalcification in atherosclerotic plaques. *Nature Mater* **2016**, 15 (3), 335–343.
11. J.L. Ruiz, S. Weinbaum, E. Aikawa, J.D. Hutcheson. Zooming in on the genesis of atherosclerotic plaque microcalcifications. *J. Physiology* **2016**, 594 (11), 2915–2927.
12. H. Huang, R. Virmani, H. Younis, et al. The Impact of Calcification on the Biomechanical Stability of Atherosclerotic Plaques. *Circulation* **2001**, 103 (8), 1051–1056.
13. R. Virchow. Cellular Pathology (1858).; Thoemmes Continuum, **2004**.
14. H. Ait-Oufella, S. Taleb, Z. Mallat, A. Tedgui. Recent Advances on the Role of Cytokines in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **2011**, 31 (5), 969–979.
15. G.K. Sukhova, G.P. Shi, D.I. Simon, H.A. Chapman, P. Libby. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest* **1998**, 102 (3), 576–583.
16. J. Liu, G.K. Sukhova, J.-S. Sun, et al. Lysosomal Cysteine Proteases in Atherosclerosis. *Arterioscl. Throm. Vas.* **2004**, 24 (8), 1359–1366.
17. G.K. Sukhova, Y. Zhang, J.-H. Pan, et al. Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* **2003**, 111 (6), 897–906.
18. K.J. Rodgers, D.J. Watkins, A.L. Miller, et al. Destabilizing Role of Cathepsin S in Murine Atherosclerotic Plaques. *Arterioscl. Throm. Vas.* **2006**, 26 (4), 851–856.
19. P.-M. Andraut, P. Panwar, N.C.W. Mackenzie, D. Brömme. Elastolytic activity of cysteine cathepsins K, S, and V promotes vascular calcification. *Sci Rep* **2019**, 9 (1), 9682.

20. J.-L. Figueiredo, M. Aikawa, C. Zheng, et al. Selective Cathepsin S Inhibition Attenuates Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice with Chronic Renal Disease. *Am. J. Pathol.* **2015**, 185 (4), 1156–1166.
21. A.W. Patterson, W.J.L. Wood, M. Hornsby, et al. Identification of Selective, Nonpeptidic Nitrile Inhibitors of Cathepsin S Using the Substrate Activity Screening Method. *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (21), 6298–6307.
22. R.D.A. Wilkinson, R. Williams, C.J. Scott, R.E. Burden. Cathepsin S: therapeutic, diagnostic, and prognostic potential. *Biol. Chem.* **2015**, 396 (8), 867–882.
23. R. Löser, J. Pietzsch. Cysteine cathepsins: their role in tumor progression and recent trends in the development of imaging probes. *Front. Chem.* **2015**, 3.
24. K. Docherty, R. Carroll, D.F. Steiner. Identification of a 31,500 molecular weight islet cell protease as cathepsin B. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **1983**, 80 (11), 3245–3249.
25. R.W. Mason, D. Wilcox, P. Wikstrom, E.N. Shaw. The identification of active forms of cysteine proteinases in Kirsten-virus-transformed mouse fibroblasts by use of a specific radiolabelled inhibitor. *Biochem. J.* **1989**, 257 (1), 125–129.
26. R.W. Mason, L.T. Bartholomew, B.S. Hardwick. The use of benzyloxycarbonyl[125I]iodotyrosylalanyldiazomethane as a probe for active cysteine proteinases in human tissues. *Biochem. J.* **1989**, 263 (3), 945–949.
27. J.-P. Falgoutyret, W.C. Black, W. Cromlish, et al. An activity-based probe for the determination of cysteine cathepsin protease activities in whole cells. *Anal. Biochem.* **2004**, 335 (2), 218–227.
28. A. Veilleux, W.C. Black, J.Y. Gauthier, et al. Probing cathepsin S activity in whole blood by the activity-based probe BIL-DMK: Cellular distribution in human leukocyte populations and evidence of diurnal modulation. *Anal. Biochem.* **2011**, 411 (1), 43–49.
29. M. Bogyo, S. Verhelst, V. Bellingard-Dubouchaud, S. Toba, D. Greenbaum. Selective targeting of lysosomal cysteine proteases with radiolabeled electrophilic substrate analogs. *Chem. Biol.* **2000**, 7 (1), 27–38.
30. P.E. Edem, S. Czorny, J.F. Valliant. Synthesis and Evaluation of Radioiodinated Acyloxymethyl Ketones as Activity-Based Probes for Cathepsin B. *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (22), 9564–9577.
31. M. Laube, M. Frizler, R. Wodtke, et al. Synthesis and preliminary radiopharmacological characterisation of an ¹¹C-labelled azadipeptide nitrile as potential PET tracer for imaging of cysteine cathepsins. *J Label Compd Radiopharm* **2019**, 62 (8), 448–459.
32. M.E. Rodnick, X. Shao, K.M. Kozloff, P.J.H. Scott, M.R. Kilbourn. Carbon-11 labeled cathepsin K inhibitors: syntheses and preliminary in vivo evaluation. *Nucl. Med. Biol.* **2014**, 41 (5), 384–389.
33. Oral Presentation. *J. Label Compd. Radiopharm* **2013**, 56, S1–S87.
34. J.C. Lorenz, C.A. Busacca, X. Feng, et al. Large-Scale Asymmetric Synthesis of a Cathepsin S Inhibitor. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (4), 1155–1161.
35. B. Latli, M. Hrapchak, J. C. Lorenz, C. A. Busacca, C. Senanayake. Synthesis of a Potent Cathepsin S Inhibitor Labeled with Deuterium and Carbon-14. *CRP* **2012**, 5 (4), 314–317.
36. T.J. Wadas, E.H. Wong, G.R. Weisman, C.J. Anderson. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. *Chem. Rev.* **2010**, 110 (5), 2858–2902.
37. G. Ren, G. Blum, M. Verdoes, et al. Non-Invasive Imaging of Cysteine Cathepsin Activity in Solid Tumors Using a ⁶⁴Cu-Labeled Activity-Based Probe. *PLoS ONE* **2011**, 6 (11), e28029.

38. G. Blum, G. von Degenfeld, M.J. Merchant, H.M. Blau, M. Bogyo. Noninvasive optical imaging of cysteine protease activity using fluorescently quenched activity-based probes. *Nat Chem Biol* **2007**, 3 (10), 668–677.
39. N.P. Withana, X. Ma, H.M. McGuire, et al. Non-invasive Imaging of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Using Cathepsin Protease Probes. *Sci Rep* **2016**, 6 (1), 19755.
40. N.P. Withana, T. Saito, X. Ma, et al. Dual-Modality Activity-Based Probes as Molecular Imaging Agents for Vascular Inflammation. *J. Nucl. Med.* **2016**, 57 (10), 1583–1590.
41. R. Löser, R. Bergmann, M. Frizler, et al. Synthesis and Radiopharmacological Characterisation of a Fluorine-18-Labelled Azadipeptide Nitrile as a Potential PET Tracer for in vivo Imaging of Cysteine Cathepsins. *ChemMedChem* **2013**, 8 (8), 1330–1344.
42. N. Katunuma, E. Murata, H. Kakegawa, et al. Structure based development of novel specific inhibitors for cathepsin L and cathepsin S in vitro and in vivo. *FEBS Letters* **1999**, 458 (1), 6–10.
43. H.-H. Otto, T. Schirmeister. Cysteine Proteases and Their Inhibitors. *Chem. Rev.* **1997**, 97 (1), 133–172.
44. C. Lemke, L. Cianni, C. Feldmann, et al. N-Sulfonyl dipeptide nitriles as inhibitors of human cathepsin S: In silico design, synthesis and biochemical characterization. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30 (18), 127420.
45. J.T. Palmer, D. Rasnick, J.L. Klaus, D. Bromme. Vinyl Sulfones as Mechanism-Based Cysteine Protease Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1995**, 38 (17), 3193–3196.
46. J.C. Powers, J.L. Asgian, Ö.D. Ekici, K.E. James. Irreversible Inhibitors of Serine, Cysteine, and Threonine Proteases. *Chem. Rev.* **2002**, 102 (12), 4639–4750.
47. D. Roman, M. Sauer, C. Beemelmans. Applications of the Horner–Wadsworth–Emmons Olefination in Modern Natural Product Synthesis. *Synthesis* **2021**, 53 (16), 2713–2739.
48. B.E. Maryanoff, A.B. Reitz. The Wittig olefination reaction and modifications involving phosphoryl-stabilized carbanions. Stereochemistry, mechanism, and selected synthetic aspects. *Chem. Rev.* **1989**, 89 (4), 863–927.
49. G. Wittig, W. Haag. Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien. *Chem. Ber.* **1955**, 88 (11), 1654–1666.
50. P.A. Byrne, D.G. Gilheany. The modern interpretation of the Wittig reaction mechanism. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (16), 6670–6696.
51. G. Wittig, A. Haag. Über Phosphin-alkylene als olefinbildende Reagenzien, VIII. Allenderivate aus Ketenen. *Chem. Ber.* **1963**, 96 (6), 1535–1543.
52. M. Schlosser, K.F. Christmann. Olefinierungen mit Phosphor-Yliden, I. Mechanismus und Stereochemie der Wittig-Reaktion. *Liebigs Ann.* **1967**, 708 (1), 1–35.
53. G. Wittig, U. Schöllkopf. Über Triphenyl-phosphin-methylene als olefinbildende Reagenzien I. Mitteil. *Chem. Ber.* **1954**, 87 (9), 1318–1330.
54. E. Vedejs, K.A.J. Snoble. Direct observation of oxaphosphetanes from typical Wittig reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95 (17), 5778–5780.
55. E. Vedejs, G.P. Meier, K.A.J. Snoble. Low-temperature characterization of the intermediates in the Wittig reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103 (10), 2823–2831.
56. L. Horner, H. Hoffmann, H.G. Wippel. Phosphinoxyde als Olefinierungsreagenzien. *Chem. Ber.* **1958**, 91 (1), 61–63.
57. L. Horner, H. Hoffmann, H.G. Wippel, G. Klahre. Phosphororganische Verbindungen, XX. Phosphinoxyde als Olefinierungsreagenzien. *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2499–2505.
58. W.S. Wadsworth, W.D. Emmons. The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83 (7), 1733–1738.

59. E.J. Corey, G.T. Kwiatkowski. The Synthesis of Olefins from O,O'-Dialkyl β -Lithioalkylphosphonothioate Esters. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88 (23), 5654–5656.
60. J. Ivkovic, C. Lembacher-Fadum, R. Breinbauer. A rapid and efficient one-pot method for the reduction of N -protected α -amino acids to chiral α -amino aldehydes using CDI/DIBAL-H. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13 (42), 10456–10460.
61. W. Doherty, P. Evans. Aminooxylation Horner–Wadsworth–Emmons Sequence for the Synthesis of Enantioenriched γ -Functionalized Vinyl Sulfones. *J. Org. Chem.* **2016**, 81 (4), 1416–1424.
62. H. Seki, K. Koga, S.-I. Yamada. A New Synthetic Approach to N-Acylated Amino Acids by CAtalytic reduction of their Mixed CARbonic-Carboxylic Acid Anhydrides with palladium-CHARcoal. *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, 20 (2), 361–367.
63. K. BALENOVIĆ, N. BREGANT, D. CERAR, D. FLEŠ, I. JAMBREŠIĆ. Some Derivatives of Optically Active α -Amino Aldehydes. *Amino Acids X. J. Org. Chem.* **1953**, 18 (3), 297–302.
64. K. BALENOVIĆ, N. BREGANT, T. GALIJAN, Z. ŠTEFANAC, V. ŠKARIĆ. Optically Active Amino Aldehydes. II. Preparation of Cyclic Acetals of Quaternary Amino Aldehydes; Contribution to the Knowledge of the Stereospecificity of Muscarinic Activity1. *J. Org. Chem.* **1956**, 21 (1), 115–118.
65. S. Akabori. Synthese von Imidazol-Derivaten aus α -Amino-säuren, I, Mitteil.: Eine neue Synthese von Desamino-histidin und ein Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Ergothioneins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1933**, 66 (2), 151–158.
66. R. a. F. Bullerwell, A. Lawson. 671. 2-Mercaptoglyoxalines. Part V. The preparation of 4(5)-substituted 2-mercaptoglyoxalines from amino-acids. *J. Chem. Soc.* **1951**, No. 0, 3030–3032.
67. M. Falorni, G. Giacomelli, A. Porcheddu, M. Taddei. A Simple Method for the Reduction of Carboxylic Acids to Aldehydes or Alcohols Using H₂ and Pd/C. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (24), 8962–8964.
68. L.I. Zakharkin, V.V. Gavrilenko, D.N. Maslin, I.M. Khorlina. The preparation of aldehydes by reduction of esters of carboxylic acids with sodium aluminum hydride. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 4 (29), 2087–2090.
69. A. Ito, R. Takahashi, Y. Baba. A New Methode to synthesize α -Aminoaldehydes. *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, 23 (12), 3081–3087.
70. J.R. Luly, J.F. Dellaria, J.J. Plattner, J.L. Soderquist, N. Yi. A synthesis of protected aminoalkyl epoxides from α -amino acids. *J. Org. Chem.* **1987**, 52 (8), 1487–1492.
71. F. Coelho, G. Diaz, C.A.M. Abella, W.P. Almeida. The Baylis-Hillman Reaction with Chiral α -Amino Aldehydes under Racemization-Free Conditions. *Synlett* **2006**, 2006 (3), 435–439.
72. B. Soto-Cairolí, J. Justo de Pomar, J.A. Soderquist. Enantiomerically Pure α -Amino Aldehydes from Silylated α -Amino Acids. *Org. Lett.* **2008**, 10 (2), 333–336.
73. W. Ried, P. Pfaender. α -Aminoaldehyde durch hydrogenolytische Spaltung N-tosylierter α -Aminoacyl-dimethylpyrazole. *Liebigs Ann.* **1961**, 640 (1), 111–126.
74. H. Suda, T. Takita, T. Aoyagi, H. Umezawa. The Chemical Synthesis of Bestati. *J. Antibiot.* **1976**, 29 (5), 600–601.
75. R. Nishizawa, T. Saino, T. Takita, et al. Synthesis and structure-activity relations of bestatin analogs, inhibitors of aminopeptidase B. *J. Med. Chem.* **1977**, 20 (4), 510–515.
76. H. Khatri, C.H. Stammer. Convenient synthesis of α -acylamino aldehydes. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 0 (2), 79–80.
77. B. Shimizu, A. Saito, A. Ito, et al. Synthtic studies on Leupeptins and their analogs. *Antibiotics.* **1972**, 25 (9), 515–523.

78. H. Zhang, J. Collins, R. Nyamwihura, et al. Vinyl sulfone-based inhibitors of trypanosomal cysteine protease rhodesain with improved antitrypanosomal activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30 (14), 127217.
79. S. Nahm, S.M. Weinreb. N-methoxy-n-methylamides as effective acylating agents. *Tetrahedron Letters* **1981**, 22 (39), 3815–3818.
80. J.-A. Fehrentz, B. Castro. An Efficient Synthesis of Optically Active α -(t-Butoxycarbonylamino)-aldehydes from α -Amino Acids. *Synthesis* **1983**, 1983 (8), 676–678.
81. F.J. van Dalen, T. Bakkum, T. van Leeuwen, et al. Application of a Highly Selective Cathepsin S Two-step Activity-Based Probe in Multicolor Bio-Orthogonal Correlative Light-Electron Microscopy. *Front. Chem.* **2021**, 8.
82. J.C. Collins, W.W. Hess, F.J. Frank. Dipyrindine-chromium(VI) oxide oxidation of alcohols in dichloromethane. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9 (30), 3363–3366.
83. R. Ratcliffe, R. Rodehorst. Improved procedure for oxidations with the chromium trioxide-pyridine complex. *J. Org. Chem.* **1970**, 35 (11), 4000–4002.
84. K.E. Rittle, C.F. Homnick, G.S. Ponticello, B.E. Evans. A synthesis of statine utilizing an oxidative route to chiral α -amino aldehydes. *J. Org. Chem.* **1982**, 47 (15), 3016–3018.
85. E.J. Corey, G. Schmidt. Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in aprotic media. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20 (5), 399–402.
86. C.F. Stanfield, J.E. Parker, P. Kanellis. Preparation of protected amino aldehydes. *J. Org. Chem.* **1981**, 46 (23), 4797–4798.
87. J.R. Parikh, W. v. E. Doering. Sulfur trioxide in the oxidation of alcohols by dimethyl sulfoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89 (21), 5505–5507.
88. 康正浜田, 孝之塩入. New Methods And Reagents in Organic Synthesis : a practical method for the preparation of optically active n-protected α -amino aldehyde and peptide aldehydes. *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30 (5), 1921–1924.
89. A.J. Mancuso, S.-L. Huang, D. Swern. Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl sulfoxide "activated" by oxalyl chloride. *J. Org. Chem.* **1978**, 43 (12), 2480–2482.
90. E.J. Corey, C.U. Kim. Oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds using dimethyl sulfoxide--chlorine complex as reagent. *Tetrahedron Lett.* **1973**, 14 (12), 919–922.
91. D.B. Dess, J.C. Martin. Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones. *J. Org. Chem.* **1983**, 48 (22), 4155–4156.
92. A.G. Myers, B. Zhong, M. Movassaghi, et al. Synthesis of highly epimerizable N-protected α -amino aldehydes of high enantiomeric excess. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41 (9), 1359–1362.
93. E.K. Aratikatla, M. Kalamuddin, P. Malhotra, A. Mohammed, A.K. Bhattacharya. Enantioselective Synthesis of γ -Phenyl- γ -amino Vinyl Phosphonates and Sulfones and Their Application to the Synthesis of Novel Highly Potent Antimalarials. *ACS Omega* **2020**, 5 (45), 29025–29037.
94. V.A. Golubev, G. Rozantsev, M.B. Neiman. Some reactions of free iminoxyl radicals with the participation of the unpaired electron. *Russ Chem Bull* **1965**, 14 (11), 1898–1904.
95. J.A. Cella, J.A. Kelley, E.F. Kenehan. Nitroxide-catalyzed oxidation of alcohols using m-chloroperbenzoic acid. New method. *J. Org. Chem.* **1975**, 40 (12), 1860–1862.
96. P. Lucio Anelli, C. Biffi, F. Montanari, S. Quici. Fast and selective oxidation of primary alcohols to aldehydes or to carboxylic acids and of secondary alcohols to ketones mediated by oxoammonium salts under two-phase conditions. *J. Org. Chem.* **1987**, 52 (12), 2559–2562.

97. M. Zhao, J. Li, E. Mano, et al. Oxidation of Primary Alcohols to Carboxylic Acids with Sodium Chlorite Catalyzed by TEMPO and Bleach. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (7), 2564–2566.
98. J.B. Epp, T.S. Widlanski. Facile Preparation of Nucleoside-5'-carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (1), 293–295.
99. M. Robert Leanna, T.J. Sowin, H.E. Morton. Synthesis of α -amino and α -alkoxy aldehydes via oxoammonium oxidation. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33 (35), 5029–5032.
100. J. Jurczak, D. Gryko, E. Kobrzycka, H. Gruza, P. Prokopowicz. Effective and mild method for preparation of optically active α -amino aldehydes via TEMPO oxidation. *Tetrahedron* **1998**, 54 (22), 6051–6064.
101. Malaprade Reaction. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, **2010**; pp 1807–1810.
102. R. Criegee. Eine oxydative Spaltung von Glykolen (II. Mitteil. über Oxydationen mit Blei(IV)-salzen). *Ber.Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, 64 (2), 260–266.
103. W. Shen, L. Cunningham, P. Evans. Asymmetric Synthesis of γ -Amino-Functionalised Vinyl Sulfones: De Novo Preparation of Cysteine Protease Inhibitors. *Synthesis* **2022**, 54 (7), 1753–1764.
104. R. Ettari, E. Nizi, M.E. Di Francesco, et al. Development of Peptidomimetics with a Vinyl Sulfone Warhead as Irreversible Falcipain-2 Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (4), 988–996.
105. W.S. Saari, T.E. Fisher. A Convenient and Versatile Synthesis of Chiral Aliphatic and Allylic Amines. *Synthesis* **1990**, 1990 (6), 453–454.
106. A. Pico, A. Moyano, M.A. Pericàs. Enantiodivergent, Catalytic Asymmetric Synthesis of γ -Amino Vinyl Sulfones. *J. Org. Chem.* **2003**, 68 (13), 5075–5083.
107. T. Shinozuka, K. Shimada, S. Matsui, et al. Arylamine based cathepsin K inhibitors: Investigating P3 heterocyclic substituents. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14 (20), 6807–6819.
108. M.O. Ganiu, B. Nepal, J.P. Van Houten, R. Kartika. A decade review of triphosgene and its applications in organic reactions. *Tetrahedron* **2020**, 76 (47), 131553.
109. J.-S. Suppo, G. Subra, M. Bergès, R. Marcia de Figueiredo, J.-M. Campagne. Inverse Peptide Synthesis via Activated α -Aminoesters. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (21), 5389–5393.
110. M. Canas, M. Poch, X. Verdaguer, et al. Regioselective ring opening of chiral epoxyalcohols by primary amines. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32 (47), 6931–6934.
111. B. ElAmin, G.M. Anantharamaiah, G.P. Royer, G.E. Means. Removal of benzyl-type protecting groups from peptides by catalytic transfer hydrogenation with formic acid. *J. Org. Chem.* **1979**, 44 (19), 3442–3444.
112. R. Choukroun, D. Gervais. Reactivity of new azido-complexes of titanium and vanadium. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1980**, No. 9, 1800–1802.
113. M. Caron, P.R. Carlier, K.B. Sharpless. Regioselective azide opening of 2,3-epoxy alcohols by $[\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_2(\text{N}_3)_2]$: synthesis of α -amino acids. *J. Org. Chem.* **1988**, 53 (21), 5185–5187.
114. Safety of Reactive Chemicals and Pyrotechnics (Volume 5) (Industrial Safety Series, Volume 5) - Wada, Y.; Foster, N.; Yoshida, T.: 9780444886569 - AbeBooks <https://www.abebooks.com/9780444886569/Safety-Reactive-Chemicals-Pyrotechnics-Volume-0444886567/plp> (accessed Jul 24, 2023).
115. J.B. Sperry, C.J. Minter, J. Tao, et al. Thermal Stability Assessment of Peptide Coupling Reagents Commonly Used in Pharmaceutical Manufacturing. *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 22 (9), 1262–1275.

116. H. Staudinger, J. Meyer. Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylenderivate und Phosphinimine. *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2 (1), 635–646.
117. R.H. Beddoe, K.G. Andrews, V. Magné, et al. Redox-neutral organocatalytic Mitsunobu reactions. *Science* **2019**, 365 (6456), 910–914.
118. A.K. Ghosh, J. Takayama, Y. Aubin, et al. Structure-Based Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Series of Novel and Reversible Inhibitors for the Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus Papain-Like Protease. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (16), 5228–5240.
119. A.K. Ghosh, K.V. Rao, P.R. Nyalapatla, et al. Design of Highly Potent, Dual-Acting and Central-Nervous-System-Penetrating HIV-1 Protease Inhibitors with Excellent Potency against Multidrug-Resistant HIV-1 Variants. *ChemMedChem* **2018**, 13 (8), 803–815.
120. O. Monasson, M. Ginisty, J. Mravljak, et al. Synthetic studies towards diazepamone scaffolds. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2009**, 20 (20), 2320–2330.
121. O. Monasson, M. Ginisty, G. Bertho, C. Gravier-Pelletier, Y. Le Merrer. Efficient synthesis of polyfunctionalised enantiopure diazepamone scaffolds. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48 (46), 8149–8152.
122. I.A. Moussa, S.D. Banister, C. Beinat, et al. Design, Synthesis, and Structure–Affinity Relationships of Regioisomeric N-Benzyl Alkyl Ether Piperazine Derivatives as σ -1 Receptor Ligands. *J. Med. Chem.* **2010**, 53 (16), 6228–6239.
123. F. Bennett, V.M. Girjavallabhan, N. Patel. A concise, general enantioselective synthetic route to 2(R)- and 2(S)-[1'(S)-azido-2-phenylethyl]oxirane and related epoxides. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, No. 9, 737–738.
124. H.F. van Woerden. Organic Sulfites. *Chem. Rev.* **1963**, 63 (6), 557–571.
125. *Carius. Ber.* **1888**, 21, 2843.
126. *Carius. Ber.* **1889**, 22, 1764.
127. B.M. Kim, K.B. Sharpless. Cyclic sulfates containing acid-sensitive groups and chemoselective hydrolysis of sulfate esters. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30 (6), 655–658.
128. S.A. King, B. Pipik, D.A. Conlon, M. Bhupathy. Preparation of Cyclic Sulfites by Transesterification of Diols and Diisopropyl Sulfite. *Synth. Comm.* **1997**, 27 (4), 701–707.
129. H.-S. Byun, L. He, R. Bittman. Cyclic Sulfites and Cyclic Sulfates in Organic Synthesis. *Tetrahedron* **2000**, 56 (37), 7051–7091.
130. P.H.J. Carlsen, K. Aase, C.A. Wachtmeister, et al. Nucleophilic Addition to Cyclic 1,2-Sulfites. *Acta Chem. Scand.* **1993**, 47, 617–619.
131. R.G. Parr, R.G. Pearson. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105 (26), 7512–7516.
132. R.G. Pearson. The principle of maximum hardness. *Acc. Chem. Res.* **1993**, 26 (5), 250–255.
133. B.B. Lohray. Cyclic Sulfites and Cyclic Sulfates: Epoxide like Synthons. *Synthesis* **1992**, 1992 (11), 1035–1052.
134. K. Suthagar, A.J. Fairbanks. A new way to do an old reaction: highly efficient reduction of organic azides by sodium iodide in the presence of acidic ion exchange resin. *Chem. Commun.* **2017**, 53 (4), 713–715.
135. Enantioselective epoxidation of allylic alcohols: (2S,2S)-3Propyloxiranemethanol. *Org. Synth.* **1985**, 63, 66.
136. T. Katsuki, K.B. Sharpless. The first practical method for asymmetric epoxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102 (18), 5974–5976.
137. E. Medina, A. Vidal-Ferran, A. Moyano, M.A. Pericàs, A. Riera. Enantioselective synthesis of N-Boc-1-naphthylglycine. *Tetrahedron: Asymmetr.* **1997**, 8 (10), 1581–1586.

138. J. Tanuwidjaja, S.-S. Ng, T.F. Jamison. Total Synthesis of ent-Dioxepandehydrothysiferol via a Bromonium-Initiated Epoxide-Opening Cascade. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131 (34), 12084–12085.
139. O. Riant, H.B. Kagan. Asymmetric Diels-Alder reaction catalyzed by chiral bases. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30 (52), 7403–7406.
140. K.A. Ahrendt, C.J. Borths, D.W.C. MacMillan. New Strategies for Organic Catalysis: The First Highly Enantioselective Organocatalytic Diels-Alder Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (17), 4243–4244.
141. Z.G. Hajos, D.R. Parrish. Asymmetric synthesis of bicyclic intermediates of natural product chemistry. *J. Org. Chem.* **1974**, 39 (12), 1615–1621.
142. J. Franzén, M. Marigo, D. Fielenbach, et al. A General Organocatalyst for Direct α -Functionalization of Aldehydes: Stereoselective C–C, C–N, C–F, C–Br, and C–S Bond-Forming Reactions. Scope and Mechanistic Insights. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (51), 18296–18304.
143. M. Marigo, J. Franzén, T.B. Poulsen, W. Zhuang, K.A. Jørgensen. Asymmetric Organocatalytic Epoxidation of α,β -Unsaturated Aldehydes with Hydrogen Peroxide. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (19), 6964–6965.
144. A.M. Shelke, V. Rawat, G. Suryavanshi, A. Sudalai. Asymmetric synthesis of (+)-stagonolide C and (–)-aspinolide A via organocatalysis. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2012**, 23 (22), 1534–1541.
145. C. Bednarek, I. Wehl, N. Jung, U. Schepers, S. Bräse. The Staudinger Ligation. *Chem. Rev.* **2020**, 120 (10), 4301–4354.
146. J. Garcia, F. Urpí, J. Vilarrasa. New synthetic “tricks”. Triphenylphosphine-mediated amide formation from carboxylic acids and azides. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25 (42), 4841–4844.
147. E. Saxon, J.I. Armstrong, C.R. Bertozzi. A “Traceless” Staudinger Ligation for the Chemoselective Synthesis of Amide Bonds. *Org. Lett.* **2000**, 2 (14), 2141–2143.
148. B.L. Nilsson, L.L. Kiessling, R.T. Raines. Staudinger Ligation: A Peptide from a Thioester and Azide. *Org. Lett.* **2000**, 2 (13), 1939–1941.
149. F. Ge-Min, W. Chen, D. a. N. Jing, G.U.O. Qiang-Xiang. Theoretical Study on Reaction Mechanism of Traceless Staudinger Ligation. *Acta Chim. Sin.* **2009**, 67 (20), 2335.
150. M.B. Soellner, B.L. Nilsson, R.T. Raines. Reaction Mechanism and Kinetics of the Traceless Staudinger Ligation. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (27), 8820–8828.
151. T. Yamashita, H. Matoba, T. Kuranaga, M. Inoue. Total syntheses of nobilamides B and D: application of traceless Staudinger ligation. *Tetrahedron* **2014**, 70 (42), 7746–7752.
152. N. Kamigata, H. Sawada, M. Kobayashi. Reactions of arenesulfonyl chlorides with olefins catalyzed by a ruthenium(II) complex. *J. Org. Chem.* **1983**, 48 (21), 3793–3796.
153. H. Jiang, Y. Cheng, Y. Zhang, S. Yu. Sulfonation and Trifluoromethylation of Enol Acetates with Sulfonyl Chlorides Using Visible-Light Photoredox Catalysis. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2013 (24), 5485–5492.
154. T. Niu, D. Lin, L. Xue, D. Jiang, B. Ni. Visible-Light-Induced Chemoselective Synthesis of α -Chloro and Vinyl Sulfones by Sulfonylation of Alkenes. *Synlett* **2018**, 29 (3), 364–368.
155. X. Wang, B. Hu, P. Yang, Q. Zhang, D. Li. Synthesis of vinyl sulfones through sulfonylation of styrenes with sulfonyl chlorides under metal-free conditions. *Tetrahedron* **2020**, 76 (15), 131082.
156. W.-H. Bao, W.-W. Ying, X.-D. Xu, et al. Radical Heck-type reaction of styrenes with sulfonyl hydrazides on water at room temperature. *Tetrahedron Letters* **2019**, 60 (1), 55–58.

157. H. Woolven, C. González-Rodríguez, I. Marco, A.L. Thompson, M.C. Willis. DABCO-Bis(sulfur dioxide), DABSO, as a Convenient Source of Sulfur Dioxide for Organic Synthesis: Utility in Sulfonamide and Sulfamide Preparation. *Org. Lett.* **2011**, 13 (18), 4876–4878.
158. W. Fan, J. Su, D. Shi, B. Feng. An efficient one-pot, three-component synthesis of vinyl sulfones via iodide-catalyzed radical alkenylation. *Tetrahedron* **2015**, 71 (38), 6740–6743.
159. R. Mao, Z. Yuan, R. Zhang, et al. A copper(II)-catalyzed three-component reaction of aryldiazonium tetrafluoroborates, sulfur dioxide, with alkenes. *Org. Chem. Front.* **2016**, 3 (11), 1498–1502.
160. P. Das, S. Das, R. Jana. Aryldiazonium Salts and DABSO: A Versatile Combination for Three-Component Sulfonylative Cross-Coupling Reactions. *Chem. Asian J.* **2022**, 17 (11), e202200085.
161. P. Katrun, S. Chiampanichayakul, K. Korworapan, et al. PhI(OAc)₂/KI-Mediated Reaction of Aryl Sulfinates with Alkenes, Alkynes, and α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds: Synthesis of Vinyl Sulfones and β -Iodovinyl Sulfones. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2010 (29), 5633–5641.
162. T. Sawangphon, P. Katrun, K. Chaisiwamongkhol, et al. An Improved Synthesis of Vinyl- and β -Iodovinyl Sulfones by a Molecular Iodine-Mediated One-Pot Iodosulfonation-Dehydroiodination Reaction. *Synth. Comm.* **2013**, 43 (12), 1692–1707.
163. R.R. Wolff, V. Basava, R.M. Giuliano, W.J. Boyko, J.H. Schauble. Iodosulfonation of alkenes with benzenesulfinic acid – N-iodosuccinimide Facile preparation of α,β -unsaturated sulfones. *Can. J. Chem.* **2006**, 84 (4), 667–675.
164. P. Li, G.-W. Wang. Visible-light-induced decarboxylative sulfonylation of cinnamic acids with sodium sulfinates by using Merrifield resin supported Rose Bengal as a catalyst. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, 17 (22), 5578–5585.
165. Keshari, T., Kapoor, R., Yadav, L.D.S. Silver-Catalyzed Denitrative Sulfonylation of β -Nitrostyrenes: A Convenient Approach to (E)-Vinyl Sulfones *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2016 (15), 2695–2699
166. G. Nie, X. Deng, X. Lei, Q. Hu, Y. Chen. Mn(III)-mediated regioselective synthesis of (E)-vinyl sulfones from sodium sulfinates and nitro-olefins. *RSC Adv.* **2016**, 6 (79), 75277–75281.
167. G.-F. Hong, J.-W. Yuan, Z.-H. Dong, et al. Metal-free synthesis of (E)-vinyl sulfones via denitrative coupling reactions of β -nitrostyrenes with sodium sulfinates. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* **2018**, 193 (11), 771–779.
168. P.V. Bharatam, P. Uppal, A. Kaur, D. Kaur. Theoretical investigation on the conformational preferences of sulfinimines. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, No. 1, 43–50.
169. F. Ferreira, M. Audouin, F. Chemla. Influence of HMPA on the Stereochemical Outcome of the Addition of a Racemic Allenylzinc onto Enantiopure N-tert-Butanesulfinimines: Stereoselective Access to Enantiopure cis-Ethynylaziridines. *Chem. Eur. J.* **2005**, 11 (18), 5269–5278.
170. G. Liu, D.A. Cogan, J.A. Ellman. Catalytic Asymmetric Synthesis of tert-Butanesulfinamide. Application to the Asymmetric Synthesis of Amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119 (41), 9913–9914.
171. D.A. Cogan, J.A. Ellman. Asymmetric Synthesis of α,α -Dibranched Amines by the Trimethylaluminum-Mediated 1,2-Addition of Organolithiums to tert-Butanesulfinyl Ketimines. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121 (1), 268–269.
172. D.A. Cogan, G. Liu, J. Ellman. Asymmetric synthesis of chiral amines by highly diastereoselective 1,2-additions of organometallic reagents to N-tert-butanesulfinyl imines. *Tetrahedron* **1999**, 55 (29), 8883–8904.

173. S.D. Kuduk, R.M. DiPardo, R.K. Chang, C. Ng, M.G. Bock. Reversal of diastereoselection in the addition of Grignard reagents to chiral 2-pyridyl tert-butyl (Ellman) sulfinimines. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45 (35), 6641–6643.
174. A.S.K. Hashmi, S. Schäfer, J.W. Bats, W. Frey, F. Rominger. Gold Catalysis and Chiral Sulfoxides: Enantioselective Synthesis of Dihydroisoindol-4-ols. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008 (29), 4891–4899.
175. A.W. Shaw, S.J. deSolms. Asymmetric synthesis of α,α -diaryl and α -aryl- α -heteroaryl alkylamines by organometallic additions to N-tert-butanesulfinyl ketimines. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42 (41), 7173–7176.
176. N. Plobeck, D. Powell. Asymmetric synthesis of diarylmethylamines by diastereoselective addition of organometallic reagents to chiral N-tert-butanesulfinimines: switchover of diastereofacial selectivity. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2002**, 13 (3), 303–310.
177. T. Kochi, J.A. Ellman. Asymmetric α -Alkylation of N'-tert-Butanesulfinyl Amidines. Application to the Total Synthesis of (6R,7S)-7-Amino-7,8-dihydro- α -bisabolene. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (48), 15652–15653.
178. Z. Han, D. Krishnamurthy, D. Pflum, et al. First Application of Tunable Alkyl or Aryl Sulfinamides to the Stereoselective Synthesis of a Chiral Amine: Asymmetric Synthesis of (R)-Didesmethylsibutramine ((R)-DDMS) Using (R)-Triethylmethylsulfinamide ((R)-TESA). *Org. Lett.* **2002**, 4 (23), 4025–4028.
179. F.A. Davis, W. McCoull. Concise Asymmetric Synthesis of α -Amino Acid Derivatives from N-Sulfinylimino Esters. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (10), 3396–3397.
180. C. Xie, L. Wu, H. Mei, et al. Generalized access to fluorinated β -keto amino compounds through asymmetric additions of α,α -difluoroenolates to CF₃-sulfinylimine. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12 (39), 7836–7843.
181. E. Alcock, P. Mackey, A. Turlik, et al. The Aldol-Tishchenko Reaction of Butanone, Cyclobutanone and a 3-Pentanone Derived Sulfinylimine and DFT Calculations of the Stereo-determining Step. *Chem. A Eur. J.* **2023**, 29 (22), e202203029.
182. R.B. Lettan, K.A. Scheidt. Lewis Base-Catalyzed Additions of Alkynes Using Trialkoxysilylalkynes. *Org. Lett.* **2005**, 7 (15), 3227–3230.
183. C.-H. Ding, D.-D. Chen, Z.-B. Luo, L.-X. Dai, X.-L. Hou. Highly Diastereoselective Synthesis of N-tert-Butylsulfinylpropargylamines through Direct Addition of Alkynes to N-tert-Butanesulfinimines. *Synlett* **2006**, 2006 (8), 1272–1274.
184. R. Almansa, D. Guijarro, M. Yus. Synthesis of highly enantiomerically enriched amines by the diastereoselective addition of triorganozincates to N-(tert-butanesulfinyl)imines. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2008**, 19 (21), 2484–2491.
185. R. Almansa, D. Guijarro, M. Yus. Triorganozincates as efficient nucleophiles for the diastereoselective addition to N-(tert-butanesulfinyl)imines. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2008**, 19 (5), 603–606.
186. K. Brinner, B. Doughan, D.J. Poon. Scalable Synthesis of β -Amino Esters via Reformatsky Reaction with N-tert-Butanesulfinyl Imines. *Synlett* **2009**, 2009 (6), 991–993.
187. S. Wen, K.L. Carey, Y. Nakao, et al. Total Synthesis of Azumamide A and Azumamide E, Evaluation as Histone Deacetylase Inhibitors, and Design of a More Potent Analogue. *Org. Lett.* **2007**, 9 (6), 1105–1108.
188. T.P. Tang, J.A. Ellman. Asymmetric Synthesis of β -Amino Acid Derivatives Incorporating a Broad Range of Substitution Patterns by Enolate Additions to tert-Butanesulfinyl Imines. *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (22), 7819–7832.
189. W. Jiang, ChenChen, D. Marinkovic, et al. Practical Asymmetric Synthesis of α -Branched 2-Piperazinylbenzylamines by 1,2-Additions of Organometallic Reagents to N-tert-Butanesulfinyl Imines. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (22), 8924–8931.

190. W. Jiang, J.A. Tran, F.C. Tucci, et al. Synthesis and characterization of pyrrolidine derivatives as potent agonists of the human melanocortin-4 receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17 (23), 6546–6552.
191. C. Chen, W. Jiang, J.A. Tran, et al. Identification and characterization of pyrrolidine diastereoisomers as potent functional agonists and antagonists of the human melanocortin-4 receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18 (1), 129–136.
192. J.A. Tran, C.W. Chen, F.C. Tucci, et al. Syntheses of tetrahydrothiophenes and tetrahydrofurans and studies of their derivatives as melanocortin-4 receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18 (3), 1124–1130.
193. H.A. Rajapakse, M.B. Young, H. Zhu, S. Charlton, N.N. Tsou. Asymmetric synthesis of dihydroquinazolinones via directed ortho metalation and addition to tert-butanesulfinyl imines. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46 (51), 8909–8912.
194. X.-L. Qiu, J. Zhu, G. Wu, W.-H. Lee, A.R. Chamberlin. Stereoselective Synthesis of Chiral IBR2 Analogues. *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (5), 2018–2027.
195. H. Shimamura, H. Gouda, K. Nagai, et al. Structure Determination and Total Synthesis of Botromycin A2: A Potent Antibiotic against MRSA and VRE. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48 (5), 914–917.
196. S. Qin, L. Yao, Y. Luo, et al. Synthesis of aziridines with multiple chiral substitutions by copper-catalyzed diastereoselective radical aminotrifluoromethylation of alkenes. *Org. Chem. Front.* **2020**, 7 (20), 3132–3136.
197. Smyth, P.; Sasiwachirangkul, J.; Williams, R.; Scott, C. J. Cathepsin S (CTSS) activity in health and disease - A treasure trove of untapped clinical potential. *Mol. Aspects Med.* **2022**, 88, 101106.

Abstract

Atherosclerosis is responsible for a large part of cardiovascular events and causes more than 19 million deaths each year. The detection of « unstable » plaques, which will evolve and are likely to break down is therefore a major current issue in the prevention of cardiovascular accidents.

Positron emission tomography (PET) represents an extremely promising imaging technique for their detection since it allows a non-invasive analysis of plaques in the patient and the use of selected targets that will qualitatively define atheromatous plaque.

Cathepsin S belongs to the lysosomal cysteine protease family, initially identified in the endosomal and lysosomal compartments, playing a role in the homeostasis of intracellular proteins by activating their degradation. Recent studies have shown that these proteases are also found in extra-cellular space during the development of cardiovascular pathologies. Interestingly, its expression has been identified in human atherosclerotic lesions when healthy arterial segments do not contain it.

PET's atheromatous lesions identification might thus be investigated *in vivo* by labelling of Cathepsin S via radiofluorinated inhibitors.

Our medicinal chemistry project aims to synthesizing fluorinated analogues of Cathepsin S inhibitors. One of the main goals is to design a library of new fluorinated molecules in order to explore their affinities and specificities and investigate the radiolabelling of the most promising molecules for PET imaging purpose.

The chosen approach relies on minor structural modifications of a known Cathepsin S inhibitor such as LHVS. This peptide derivative exhibits a very good inhibition constant (K_i) of 5nM for Cathepsin S as well as an excellent selectivity, forecasting the synthesis of selective fluorinated inhibitors of Cathepsin S and the quest for a radiolabelled probe.

The initial strategy we discuss and were able to put in place to access the LHVS is the synthesis two blocks. On one hand the morpholino-leucine fragment and on the other hand the strategy to access the aminovinylsulfone motif, building on earlier work by Pericas, highlighting the challenges of this approach and the successes attained by altering the implemented reactions to result in an approach that is efficient both from the perspective of overall yield and the control of stereochemistry.

Finally, we will describe another synthetic approach, this time based on the use of a chiral allyl amine. We will show in particular that the use of a chiral allylamine represents an even more convergent approach and therefore perfectly adapted to the synthesis of the library of compounds that we were initially targeting. We will describe the rapid access to the two enantiomers of allyl amines required for the asymmetric synthesis of LHVS analogues, based on the use of a chiral auxiliary such as an Ellman auxiliary. The further transformations allowing to access the diverser diastereoisomers of LHVS is subsequently described.

KEYWORDS: Organic synthesis; Aminovinylsulfone; Cathepsin S Inhibitors; Fluorinated analogs; PET imaging

Résumé

L'athérosclérose est responsable d'une grande partie des événements cardiovasculaires et provoque chaque année plus de 19 millions de décès. La détection des plaques « instables », qui vont évoluer et sont susceptibles de se dégrader, est donc un enjeu actuel majeur dans la prévention des accidents cardiovasculaires.

La tomographie par émission de positrons (TEP) représente une technique d'imagerie extrêmement prometteuse pour leur détection puisqu'elle permet une analyse non invasive des plaques chez le patient et l'utilisation de cibles sélectionnées qui définiront qualitativement la plaque d'athérome.

La cathepsine S appartient à la famille des protéases à cystéine lysosomales, initialement identifiée dans les compartiments endosomals et lysosomal. Elle joue un rôle dans l'homéostasie des protéines intracellulaires en activant leur dégradation. Et dans le développement de pathologies cardiovasculaires. Fait intéressant, son expression a été identifiée dans des lésions athérosclérotiques humaines lorsque des segments artériels sains ne la contiennent pas.

L'identification des lésions athéromateuses en PET pourrait ainsi être étudiée *in vivo* par marquage de la cathepsine S via des inhibiteurs radiofluorés.

Ce projet de chimie médicinale vise à synthétiser des analogues fluorés des inhibiteurs de la cathepsine S. L'un des principaux objectifs est de concevoir une bibliothèque de nouvelles molécules fluorées afin d'explorer leurs affinités et spécificités et d'étudier le radiomarquage des molécules les plus prometteuses pour l'imagerie TEP.

L'approche choisie repose sur des modifications structurales mineures d'un inhibiteur connu de la cathepsine S, le LHVS. Ce dérivé peptidique présente une très bonne constante d'inhibition (K_i) de 5nM pour la cathepsine S ainsi qu'une excellente sélectivité, prédisant la synthèse de molécules sélectives. Les inhibiteurs fluorés de la cathésine S et la recherche d'une sonde radiomarquée.

La stratégie initiale dont nous discutons et avons pu mettre en place pour accéder au LHVS est la synthèse de deux blocs. D'une part le fragment morpholino-leucine et d'autre part la stratégie d'accès au motif aminovinylsulfone, s'appuyant sur les travaux antérieurs de Pericas, mettant en évidence les défis de cette approche et les succès obtenus en modifiant les réactions mises en œuvre pour aboutir à une approche qui est efficace tant du point de vue du rendement global que du contrôle de la stéréochimie.

Enfin, nous décrivons une autre approche de synthèse, basée cette fois sur l'utilisation d'une allyl amine chirale. Nous montrerons en particulier que l'utilisation d'une allylamine chirale représente une approche encore plus convergente et donc parfaitement adaptée à la synthèse de la bibliothèque de composés que nous ciblions initialement. Nous décrivons l'accès rapide aux deux énantiomères d'allylamines nécessaires à la synthèse asymétrique d'analogues de LHVS, basé sur l'utilisation d'un auxiliaire chiral tel qu'une sulfinamide d'Ellman. Les transformations suivantes conduisant au LHVS et à ses différents diastéréoisomères sont décrites en suivant.

MOTS CLÉS : Synthèse organique ; Aminovinylsulfone ; Inhibiteurs de Cathepsine S ; Analogues fluorés ; Imagerie TEP