

INTRODUCTION

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

BIOLOGIE ET TRAITEMENTS DU
CANCER

La lutte contre le cancer occupe une place importante dans la recherche thérapeutique mondiale. Parmi les nombreux champs d'investigation, figure l'extraction et l'isolation de molécules produites naturellement afin de les tester sur des cellules cancéreuses. Les cryptophycines, représentées dans la figure ci-dessous, constituent un motif chimique sujet à de nombreuses études depuis l'isolation de la cryptophycine-1 des extraits de l'algue bleu-vert du genre *Nostoc* en 1990. Les espoirs étaient grands qu'un de ces produits naturels pourrait être converti en drogue anticancéreuse utile. A ce jour quelques 20 produits naturels de cette famille, dotés d'activités antibiotiques et antitumorales variables, ont été isolés. Étant donné le potentiel clinique de ce groupe de produits, il est sensé de s'attendre à ce que de nouvelles synthèses améliorées des cryptophycines et de ses analogues continuent à être développées dans les années à venir.

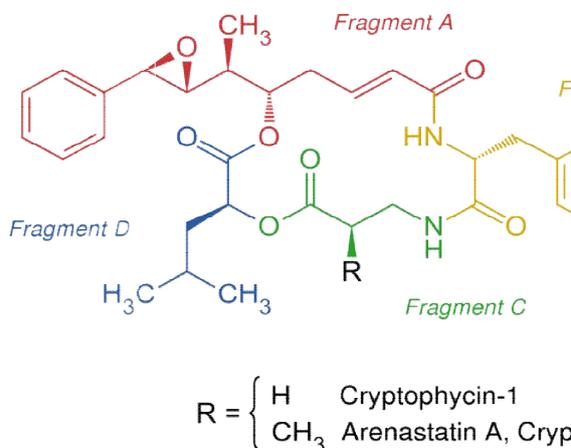


Figure 1 : Cryptophycines

SECTION 1 : BIOLOGIE DU CANCER

1.1-CYCLE CELLULAIRE

Le cancer peut être défini comme une maladie liée en même temps à la prolifération incontrôlée et à la dissémination dans l'organisme de cellules devenues anormales. Les processus qui régissent la division cellulaire sont donc très importants dans la cancérogénèse. Il est bien connu que la division cellulaire est contrôlée par le cycle cellulaire. Ce dernier a pour fonction de reproduire des cellules filles identiques à la cellule mère ; cependant, celles dont l'ADN est altéré sont réparées ou détruites¹. Le dérèglement des systèmes régissant et contrôlant l'avancement du cycle cellulaire est à l'origine de la prolifération incontrôlée des cellules tumorales.

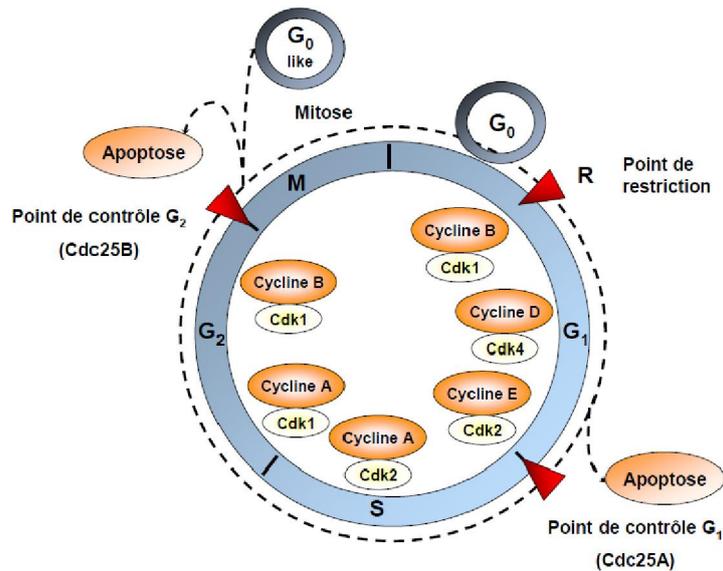


Figure 2 : Cycle cellulaire¹.

Le cycle cellulaire est représenté sur la figure 2. Ce cycle concerne toutes les cellules activées par un facteur de croissance et comprend quatre étapes dont la chronologie est strictement déterminée : G₁, S, G₂, M :

- G₁ : synthèse de molécules nécessaires à la division cellulaire (désoxyribonucléotides, enzymes ...), il n'y a pas de réplication de l'ADN (cellule diploïde).
- S : réplication de l'ADN, la cellule 2n devient 4n (tétraploïde).
- G₂ : la cellule met en place les protéines du fuseau mitotique. Il y a séparation des deux centrosomes.
- M : mitose.

Les cellules qui ne sont pas engagées dans le cycle cellulaire sont dites « quiescentes » et se trouvent en phase G₀.

A l'état physiologique, la progression d'une cellule vers la phase suivante n'est possible que lorsque tous les événements relatifs à la phase précédente sont achevés. Le système possède deux points de contrôle (passage de G₁ à S et de G₂ à M) et un point de restriction R en G₁. Chaque changement de phase du cycle cellulaire est précédé d'un contrôle sous la dépendance de kinases (CdK), de protéines activatrices (cyclines) ou inhibitrices (CKI, ou Cdk inhibitors).

Les éléments clefs des événements majeurs du cycle cellulaire sont les enzymes à activité protéine kinase, les CdK, qui sont régulées par deux types de mécanismes¹:

- des réactions de phosphorylation et de déphosphorylation,
- l'association avec des protéines activatrices, les cyclines.

L'activité des CdK est très faible au début de G₁. Cette activité déclenche la formation des complexes de pré-réplication. Au milieu de la phase G₁, l'activité des CdK est plus importante. Elle est due à l'association des CdK4 et CdK6 aux cyclines de type D. Parmi les substrats de ces enzymes, il y a la pRb (protéine régulatrice). La phosphorylation de pRb

conduit à la transcription de plusieurs gènes, dont celui codant pour les cyclines E et A, CdK1 et les protéines intervenant dans la réplication. Le passage de G₁ à S (initiation de la réplication) est induit par l'activité des complexes CyclineE-CdK2 et CyclineA-CdK2. Le passage de G₂ à M est provoqué par l'activité des complexes CyclineA-CdK1 et CyclineBCdK1, responsables de la phosphorylation de substrats tels que le cytosquelette, les histones et les protéines de l'enveloppe nucléaire².

Les phosphatases Cdc25A, B et C déphosphorylent et activent les complexes CdK/cycline. La Cdc25A permet le passage G1-S (activation de Cdk2-cycline E), alors que la Cdc25B autorise la transition G2-M (activation de CdK1-CyclineB). Les CdC25A et CdC25B sont surexprimées dans de nombreux cancers^{1,2}.

1.2-BIOLOGIE DU CANCER

Le cancer résulte de six altérations de la physiologie cellulaire³. Ces altérations sont communes à toutes les cellules cancéreuses et sont à l'origine de leur prolifération incontrôlée.

La division cellulaire est induite par certains signaux (facteurs de croissance). Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses acquièrent la capacité à produire elles-mêmes leurs propres signaux de croissance cellulaire et d'y être sensibles tout en demeurant insensibles aux signaux cellulaires antiprolifératifs. Par ailleurs, l'apoptose, qui est l'un des moyens de destruction des cellules ne pouvant achever un cycle cellulaire normal, est absente (figure 1). Les cellules cancéreuses acquièrent également la capacité à se diviser à l'infini et à activer l'angiogenèse des capillaires sanguins dans leur voisinage immédiat. Enfin, la tumeur primaire envahit les tissus adjacents et dissémine des cellules pionnières dans l'organisme qui fonderont des tumeurs secondaires (métastases). Ces tumeurs distantes sont la cause de 90% des décès dans les cancers³. Les différentes altérations physiologiques sont représentées sur la figure 3.

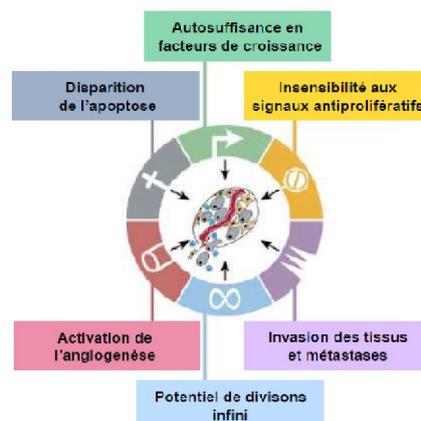


Figure 3 : Les six altérations physiologiques de la cellule conduisant à la formation de cellules cancéreuses³.

1.3-GENESE DE CELLULES CANCEREUSES

Une cellule devient cancéreuse suite à une altération de son ADN. Il existe deux types de modifications génétiques conduisant à la formation d'une cellule cancéreuse⁴:

- l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs,
- l'activation de proto-oncogènes en oncogènes.

Le processus par lequel une cellule normale devient maligne avec la capacité de former une tumeur requiert plusieurs dérèglements de la machinerie cellulaire. La disparition du phénomène d'apoptose (mort cellulaire programmée) est l'un de ces dérèglements. La mort cellulaire programmée fait partie intégrante de la physiologie normale d'un organisme. Son dérèglement peut être à l'origine de nombreuses pathologies. La disparition de ce phénomène est l'une des raisons qui explique la survenue d'un cancer. Il existe d'autres types de mort cellulaire comme la nécrose, la sénescence, ou encore l'autophagie qui ne compensent qu'en partie la disparition du phénomène d'apoptose chez les cellules tumorales. Par conséquent, de nombreuses recherches se focalisent sur les voies cellulaires qui régissent ce phénomène afin que l'apoptose puisse être restaurée chez les cellules cancéreuses⁵.

Le terme « apoptose » regroupe des caractéristiques morphologiques que possèdent les cellules apoptotiques comme l'altération de la membrane plasmique ou la formation de corps apoptotiques⁶. L'apoptose est reconnue comme la plus grande barrière que doivent contourner les cellules tumorales. Cette barrière franchie, elles peuvent alors survivre et proliférer. Les cellules cancéreuses acquièrent une résistance à l'apoptose en adoptant plusieurs stratégies :

- la perte de fonction par mutation de la protéine, qui est un suppresseur de tumeur, est fréquemment observée. En effet, une protéine est promotrice de l'apoptose lorsqu'elle active la transcription des protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2, dans des contextes où l'ADN est endommagé. Une protéine non-fonctionnelle peut donc directement être reliée à un défaut d'induction de l'apoptose après un stress cellulaire.
- d'autres modifications anti-apoptotiques sont observées dans les tumeurs humaines, elles impliquent la famille des protéines Bcl-2 et IAP. Une perte de fonction des protéines pro apoptotiques Bax et Bak, où le haut niveau d'expression des protéines anti-apoptotiques est élevée, conduit à l'inhibition de l'apoptose. Des modifications dans les voies des récepteurs de mort peuvent aussi jouer un rôle dans la résistance à l'apoptose^{6,7}.

Les cellules qui entrent en apoptose montrent des changements biochimiques et morphologiques caractéristiques. Ces différents changements sont présentés dans le tableau 1. Ils comprennent l'agrégation de la chromatine, la condensation du cytoplasme et du noyau, la partition du cytoplasme et du noyau en petites vésicules (appelées corps apoptotiques). Ils contiennent des ribosomes, des mitochondries intactes et du matériel nucléaire. *In vivo*, ces corps apoptotiques sont rapidement reconnus et phagocytés par les macrophages et les cellules épithéliales adjacentes. En raison de ce mécanisme très efficace de destruction des cellules apoptotiques, la réponse inflammatoire n'est pas déclenchée⁸.

Tableau 1 : Changements morphologiques et biochimiques chez la cellule durant l'apoptose⁸.

Changements morphologiques	Changements biochimiques	Signification physiologique
Bourgeonnement de la membrane sans perte d'intégrité	Régulation enzymatique	Cellules individuelles affectées
Agrégation de la chromatine au niveau de la membrane cellulaire	Fragmentation non aléatoire de l'ADN (signe caractéristique de l'apoptose)	Induction par des stimuli : *absence de facteurs de croissance *changement de l'environnement hormonal
Diminution du volume cytoplasmique et condensation du noyau	Relargage du cytochrome C dans le cytoplasme par les mitochondries activatrices de l'apoptose	Pas de réponse inflammatoire
Formation des vésicules (corps apoptotiques)	Activation de la cascade des caspases	Phagocytose par les cellules épithéliales adjacentes et les macrophages
Perméabilisation des mitochondries à cause de la formation des pores	Altération de la membrane : translocation des PS du côté extracellulaire de la membrane plasmique.	

SECTION 2 : TRAITEMENTS DES CANCERS, MODE D'ACTION DES ANTICANCEREUX ET UTILISATION DE MOLECULES NATURELLES TERRESTRES.

Pour traiter les cancers, il existe deux grands types de traitements, les traitements locorégionaux qui agissent directement sur la tumeur, et les traitements systémiques qui ne sont pas ciblés. En général, les différents traitements sont couplés.

2.1-TRAITEMENTS LOCOREGIONAUX

- La chirurgie

La chirurgie a été le premier traitement utilisé pour lutter contre le cancer, notamment pour traiter les petites tumeurs localisées ou les tumeurs solides à développement lent, qui représentent 70% des cancers. Elle consiste en l'ablation de la tumeur et est souvent associée à d'autres thérapies telles que la chimiothérapie, la radiothérapie ou l'hormonothérapie. Ce traitement constitue le seul moyen efficace pour traiter les zones peu vascularisées auxquelles la chimiothérapie n'accède pas.

- La radiothérapie

C'est une alternative à la chirurgie, lorsque l'organe atteint doit être préservé. La radiothérapie agit localement sur la région irradiée. Tous les types de radiothérapie sont basés sur l'ionisation. Les particules émises (électrons, photons X ou γ , protons) interagissent avec

l'eau des cellules pour former des espèces réactives de l'oxygène (ROS), provoquant la destruction des cellules adjacentes.

- La photothérapie dynamique des tumeurs

La photothérapie dynamique repose sur l'utilisation combinée d'une substance photosensibilisante et d'un rayonnement lumineux approprié (LASER) qui pénètre bien les tissus. La substance photosensibilisante est destinée à se concentrer le plus sélectivement possible dans les tissus à traiter. L'irradiation déclenche la photooxydation du photosensibilisant, ce qui va provoquer un stress oxydatif (production localisée de ROS) et entraîner la mort cellulaire^{1, 9, 10} (Cf. Figure 3). La substance photosensibilisante peut être administrée soit par voie intraveineuse, soit par voie topique¹¹. La plupart des molécules utilisées en photothérapie des tumeurs sont des dérivés de porphyrines tels que le porfimère sodique ou des chlorines, des bactériochlorines, ou des téxaphyrines.

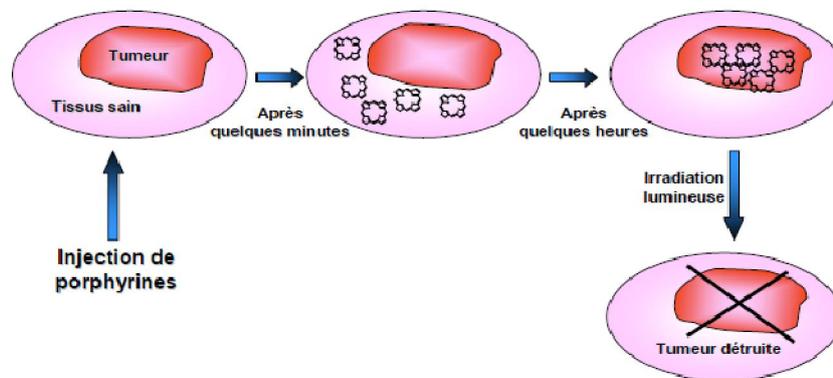


Figure 4 : Représentation du principe de la PDT¹⁰

2.2-LES TRAITEMENTS SYSTEMIQUES

- L'hormonothérapie

L'hormonothérapie est utilisée pour traiter les cancers dont le développement dépend des hormones. Ce traitement est particulièrement efficace dans les cancers du sein et de la prostate. Il inclut des médicaments dont l'action consiste à stopper la production de certaines hormones et à modifier leur fonctionnement.

- L'immunothérapie

L'approche immunothérapeutique est basée sur la modification et l'exploitation des mécanismes cellulaires de défense de l'hôte ou sur le contrôle de la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules du système immunitaire¹.

- La chimiothérapie

La chimiothérapie isolée n'est indiquée que dans de très rares cas. Dans la plupart des cas, une combinaison de deux ou de trois approches est nécessaire⁴. Lorsque le cancer prolifère et crée des tumeurs secondaires, les traitements locaux tels que la radiothérapie et la chirurgie ne

sont plus adaptés. La chimiothérapie est utilisée afin de soigner un cancer en bloquant la prolifération cellulaire, en en réduisant la taille, et en prévenant la formation des tumeurs secondaires.

1. MODE D'ACTION DES AGENTS CHIMIOThERAPEUTIQUES

Le but des agents anticancéreux est d'atteindre les cellules tumorales afin de les détruire, par interaction avec une ou plusieurs cibles pharmacologiques¹. La figure 5 résume les différentes cibles potentielles de la chimiothérapie.

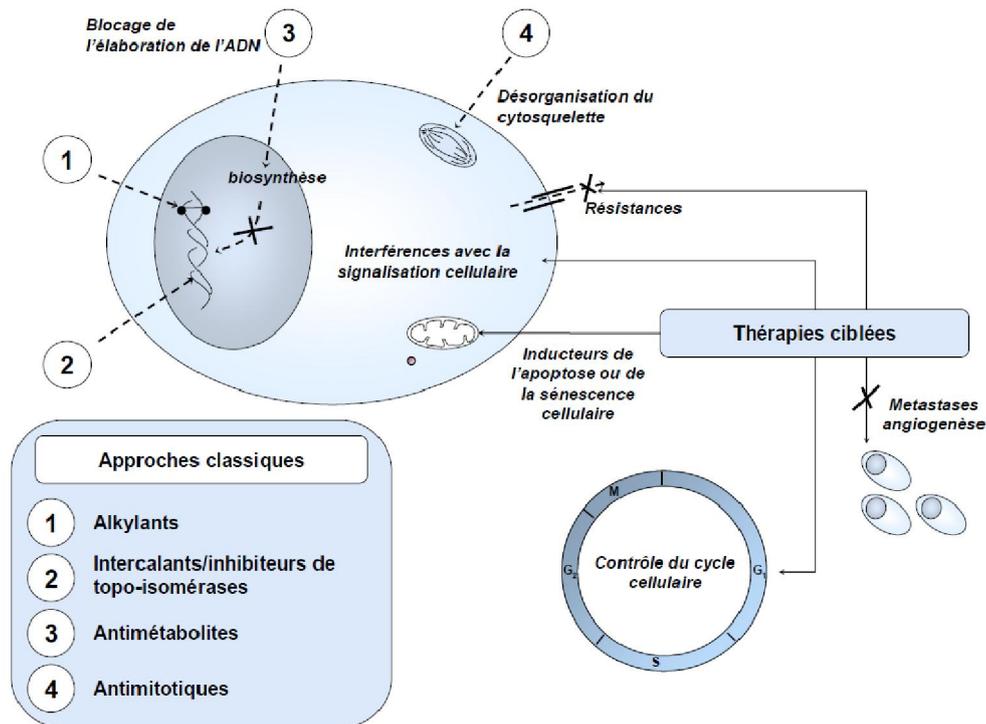


Figure 5 : Les cibles des agents antitumoraux¹.

Une des principales cibles des traitements anticancéreux est l'ADN. Les molécules anticancéreuses peuvent interagir avec l'ADN de trois manières différentes¹:

- par établissement de liaison covalente avec l'ADN (agents alkylants),
- en interagissant avec les systèmes de réparation de l'ADN (agents intercalants, inhibiteurs de topo-isomérases)
- en bloquant la biosynthèse des constituants de l'ADN (antimétabolites).

Les autres anticancéreux sont les molécules qui perturbent le fuseau mitotique, et empêchent la division cellulaire¹. Enfin d'autres approches sont développées comme celles qui¹:

- restaurent le phénomène d'apoptose,
- restaurent les systèmes de contrôle du cycle cellulaire,
- inhibent l'angiogénèse,
- interviennent dans les voies de signalisation cellulaire.

2. CLASSIFICATION DES AGENTS ANTICANCEREUX

2.1-Les molécules cytotoxiques interagissant avec l'ADN

Les agents alkylants se fixent de façon covalente sur les atomes de soufre, d'azote, d'oxygène, d'azote des bases et sur les groupements phosphates de l'ADN. Leur effet cytotoxique est lié en grande partie à l'alkylation des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN. Ces agents interviennent essentiellement au moment de la réplication de l'ADN (phase S) quand les deux brins sont séparés et exposent ainsi les sites d'intérêt à l'action alkylante. Il existe huit familles d'agents alkylants¹ :

- les moutardes à l'azote,
- les oxazaphosphorines (cyclophosphamide et ifosfamide),
- les **aziridines** (thiotépa, mitomycine C^{1, 12, 13, 14}, azinomycins^{15, 16}, azicemicins¹⁷, et maduropeptin¹⁸,
- les nitrosourées (carmustine, lomustine),
- les sulfonates d'alkyle,
- les triazènes,
- les complexes du platine.

La figure 6 représente la structure de la mitomycine C, appartenant à la famille d'antibiotiques à activité antitumorale extraites du milieu de fermentation de *Streptomyces caespitosus*^{1, 12-14}.

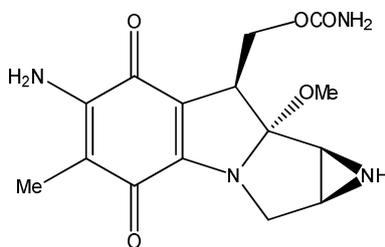


Figure 6 : Structure chimique de la mitomycine C

Parmi les molécules interagissant avec l'ADN, certaines induisent ou stabilisent les coupures de l'ADN. Les principaux représentants de cette classe sont les inhibiteurs de topo isomérase. Leur rôle est de maîtriser les phénomènes de sous et surenroulement du matériel nucléaire. Elles sont essentielles à la résolution des problèmes topologiques accompagnant la réplication et la transcription de l'ADN, l'assemblage de la chromatine, la recombinaison et la séparation des chromosomes. Les molécules agissant sur les topo-isomérase sont classées en deux groupes¹ :

- celles qui sont actives sur les topo-isomérase I,
- celles qui sont actives sur les topo-isomérase II.

La camptothécine et ses dérivés sont des inhibiteurs de la topo-isomérase I. Les épipodophyllotoxines, les anthracyclines, la mitoxantrone, le bisantène, l'amsacrine, la

dactinomycine, l'acétate d'elliptidium et les bléomycines sont des inhibiteurs de topoisomérase II. La figure 6 représente la structure chimique du mitoxantrone. Le motif tricyclique anthraquinonique est présent dans la structure de nombreuses substances naturelles largement répandues dans le monde végétal. L'utilisation de dérivés anthraquinoniques en chimiothérapie est issue de criblages systématiques réalisés par le National Cancer Institute (NCI/USA) ¹.

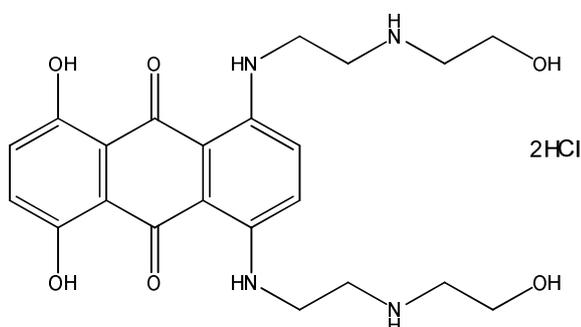


Figure 7 : Structure chimique de la mitoxantrone.

La dernière classe de molécules interagissant sur l'ADN sont les antimétabolites. Ils interfèrent dans la synthèse des acides nucléiques en inhibant la biosynthèse des nucléotides et des acides nucléiques ou en s'incorporant dans les acides nucléiques par l'un (ou les deux) des mécanismes suivants¹:

- inhibition de la biosynthèse des nucléotides et des acides nucléiques.
- incorporation dans les acides nucléiques.

La figure 8 présente la structure chimique du 5-fluorouracile dont la synthèse a été effectuée en 1957 par Heidelberger. Cette molécule est un analogue de l'uridine où l'hydrogène en position 5 est remplacé par un atome de fluor. Cette substitution est responsable de l'inhibition de la thymidylate synthase¹.

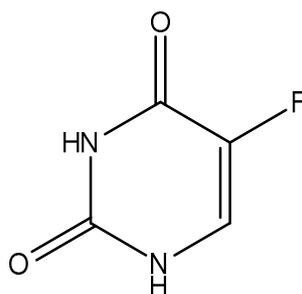


Figure 8 : Structure chimique du fluorouracile

2.2-Principes actifs interférant avec la tubuline et les microtubules

Les antimitotiques sont des composés qui bloquent la mitose et conduisent à l'apoptose des cellules traitées. Leur action s'exerce essentiellement sur la formation et la fonctionnalité du fuseau mitotique constitué par l'auto-assemblage de la tubuline. Les microtubules sont des structures dynamiques en constante évolution qui sont soumises à des séquences de polymérisation-dépolymérisation. Les différentes molécules intervenant sur la formation du

fuseau mitotique peuvent être classées en deux groupes, en fonction de leur mécanisme d'action¹.

Les inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline empêchent la formation du fuseau mitotique. Parmi ces inhibiteurs, on trouve les vinca-alcaloïdes, la colchicine et ses dérivés. Les inhibiteurs de la dépolymérisation des microtubules agissent en complexant la tubuline et se comportent comme des stabilisateurs du fuseau. Les taxoïdes, les diterpènes tétracycliques, les macrolides, comme les épothilones sont des inhibiteurs de la dépolymérisation des microtubules. La figure 9 représente la structure de la colchicine 1. Cette molécule est l'archétype des substances actives sur la tubuline et la mitose. Elle n'est pas utilisée comme antitumoral en raison de sa toxicité. Cependant certains de ses dérivés ont montré une activité antitumorale¹.

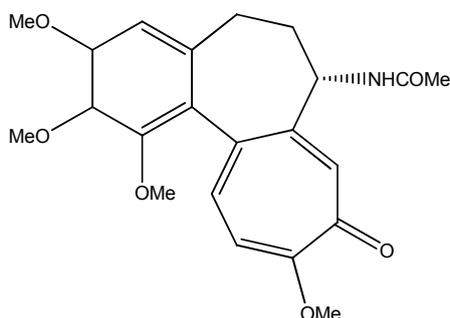


Figure 9 : Structure chimique de la colchicine 1

2.3-Les thérapies ciblées

Au cours des traitements, la tumeur peut développer une certaine résistance. Plusieurs mécanismes expliquent ce phénomène, comme la diminution de la concentration intracellulaire du cytotoxique, ou la mise en place de systèmes de détoxification. La résistance peut être également due à une altération des cibles des anticancéreux, ou par réparation des dommages causés par les agents alkylants sur l'ADN¹.

Les efforts des équipes de recherche se sont donc orientés vers la mise en évidence de médicaments agissant plus sélectivement sur le fonctionnement de la cellule tumorale en restaurant l'apoptose, en régulant le cycle cellulaire ou les différentes voies de signalisation cellulaire^{1,2}.

3. IMPORTANCE DES PRODUITS NATURELS DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Les produits naturels sont directement ou indirectement à l'origine de 60% des traitements anticancéreux. Des exemples comme la vincristine et le paclitaxel (issus de plantes) (figure 10), l'actinomycine D (figure 11), la **mitomycine C** (figure 6), la bléomycine (figure 12) (issues de sources microbiennes) ou encore la trabectedine et la bryostatine-1 (issus du monde marin) (figure 13) montrent l'importance des sources naturelles dans les traitements du cancer

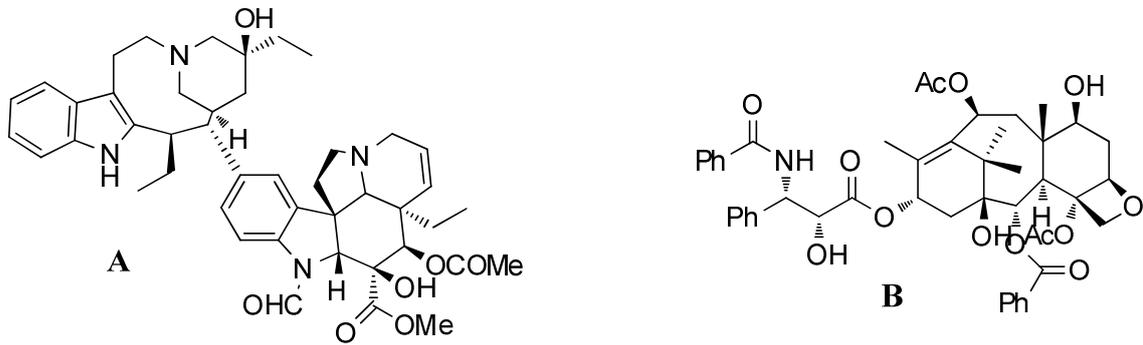


Figure 10 : Structures de la vincristine (A) et du paclitaxel (B)

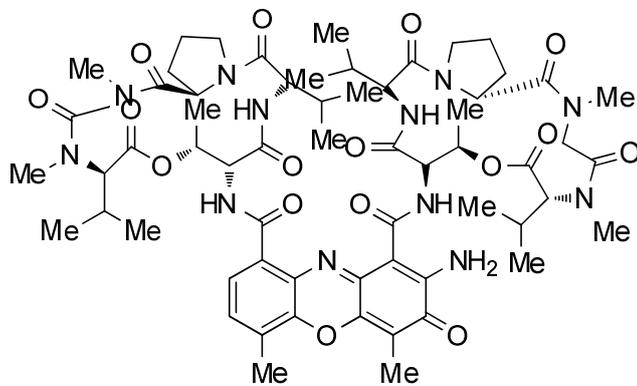


Figure 11 : Structure de l'actinomycine D

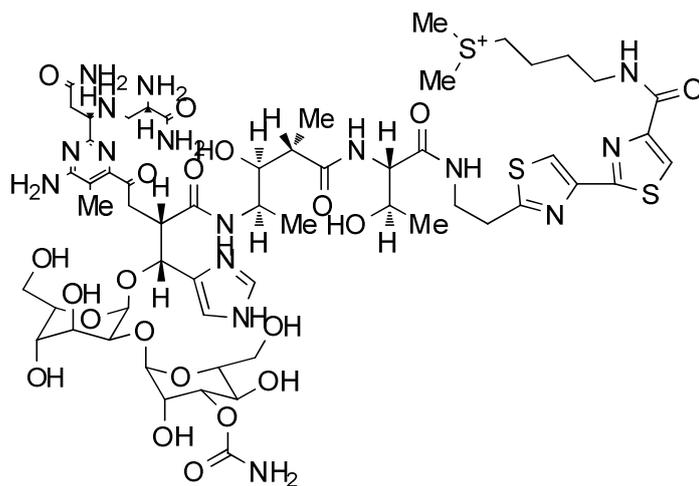


Figure 12 : Structure de la bléomycine A2

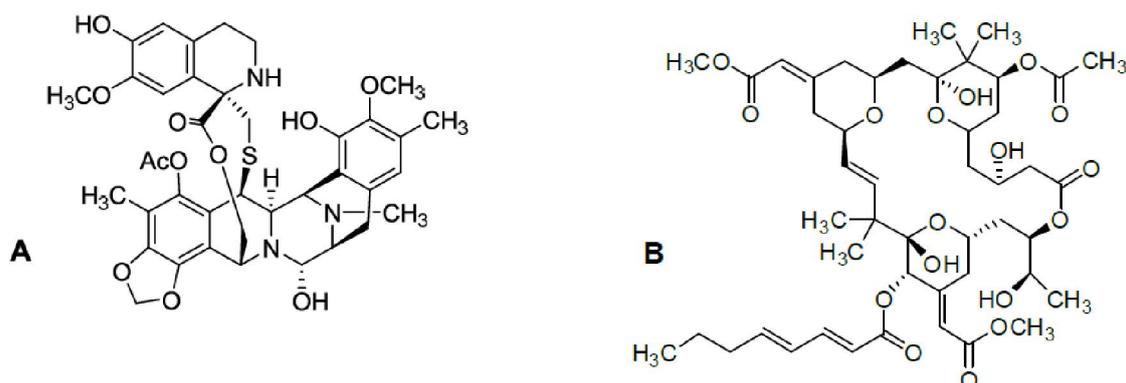


Figure 13 : Structures de la trabectedine (A) et de la bryostatine-1 (B)

Le milieu naturel a toujours été d'une grande importance dans ce secteur. Par exemple, l'épothilone (antibiotique de la classe des macrolides), synthétisé par *Sorangium cellulosum*, a été découvert en 1995. Cette substance montre *in vitro* une activité anticancéreuse importante sur les lignées cellulaires résistantes aux taxanes. Plus de 300 analogues de l'épothilone furent donc synthétisés conduisant à l'ixabépilone (Ixempra®, figure 13)¹⁹.

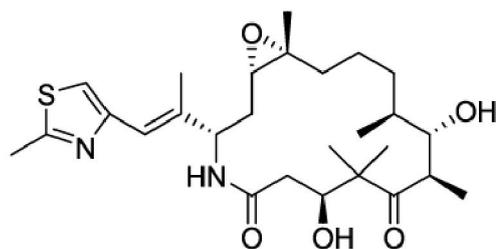


Figure 13 : Structure de l'ixabépilone

Ce nouvel inhibiteur de microtubules possède le même mécanisme d'action que les taxanes, mais sans présenter de phénomènes de résistance. En octobre 2007, l'ixabépilone a reçu l'approbation de la FDA pour le traitement de cancer du sein métastatique ou localement avancé¹⁹.

Le temsirolimus (ou CCI-779, Torisel®, figure 14) est le premier inhibiteur de protéine kinase mTOR (Mammalian target of rapamycin) approuvé par la FDA en 2007, pour le traitement de patients avec un cancer rénal avancé. La voie de signalisation mTOR est impliquée dans les mécanismes de prolifération, de croissance, de survie cellulaire et d'angiogénèse. Il offre donc un nombre de possibilités importantes en association avec d'autres molécules thérapeutiques ciblées pour le traitement des tumeurs solides et des lymphomes. La classe des analogues de la rapamycine est connue depuis de nombreuses années, il s'agit des antibiotiques de la classe des macrolides, produits par *Streptomyces hygroscopus*^{19, 20}.

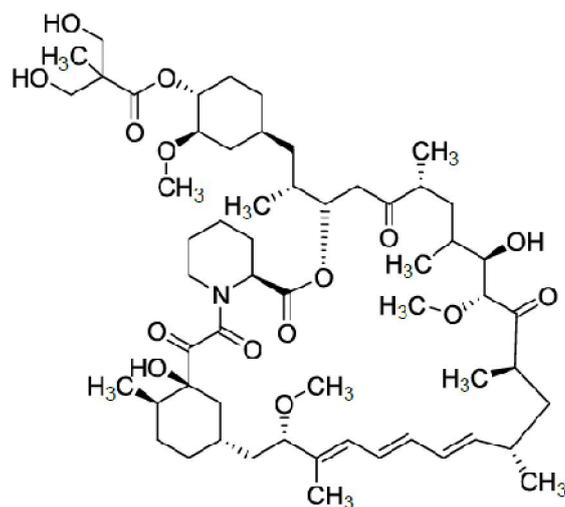


Figure 14 : Structure du Temsirolimus

Les exemples du temsirolimus et de l'ixabepilone montrent que les produits naturels sont une source importante d'inspiration et de découverte de nouvelles molécules anticancéreuses à action ciblée.

4. ORIGINES DE SUBSTANCES CANCEREUSES.

Les principales sources de molécules anticancéreuses sont les végétaux supérieurs, les bactéries et les moisissures. Dans les paragraphes suivants, nous présentons quelques molécules issues de ces différentes sources.

- Les plantes

Durant les 40 dernières années, les plantes ont été la plus grande source de métabolites secondaires avec l'avantage de présenter une grande diversité chimique. Des médicaments tels que les camptothécines, les taxanes, les vinca-alcaloïdes et les épipodophyllotoxines continuent d'être intensément prescrits (figure 15).

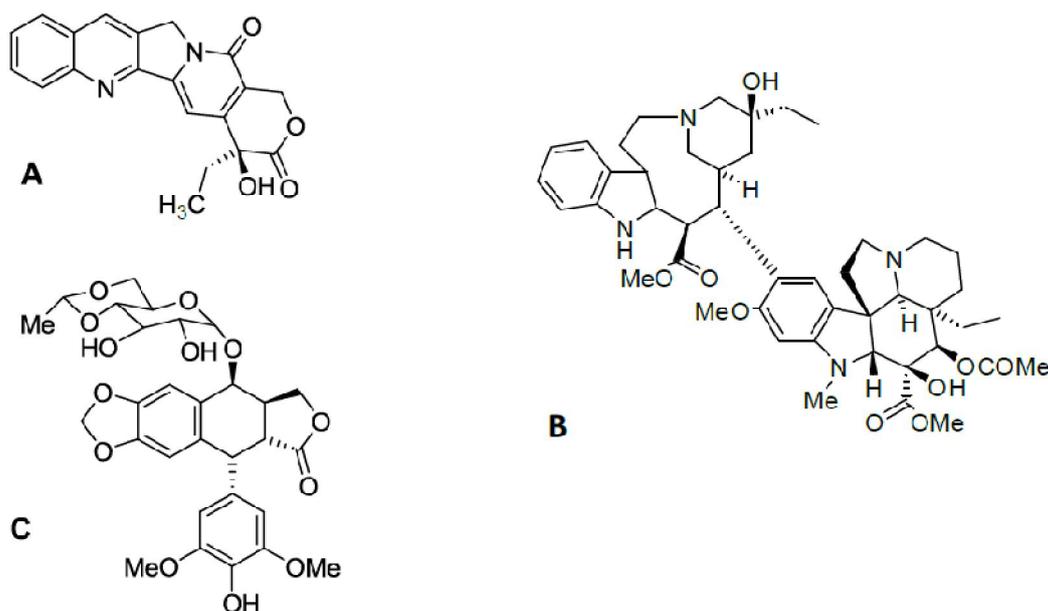


Figure 15 : Exemples de la diversité chimique du monde végétal terrestre : structures de la camptothécine (A), la vinblastine (B) et de l'étoposide 5 (épipodophyllotoxine) (C)

D'autres exemples de produits d'origine naturelle ou dérivés, actuellement en cours d'investigation et d'essais cliniques sont le flavopiridol, l'homoharringtonine, la β -lapachone, et la combrestatine A4 (figure 16). Le flavopiridol est un inhibiteur de Cdk. Cette molécule est une flavone synthétique dérivée de l'alcaloïde rohitukine, qui a été isolée des feuilles et des tiges de *Amoora rohituka* et plus tard de *Dysoxylum binectariferum*²⁰.

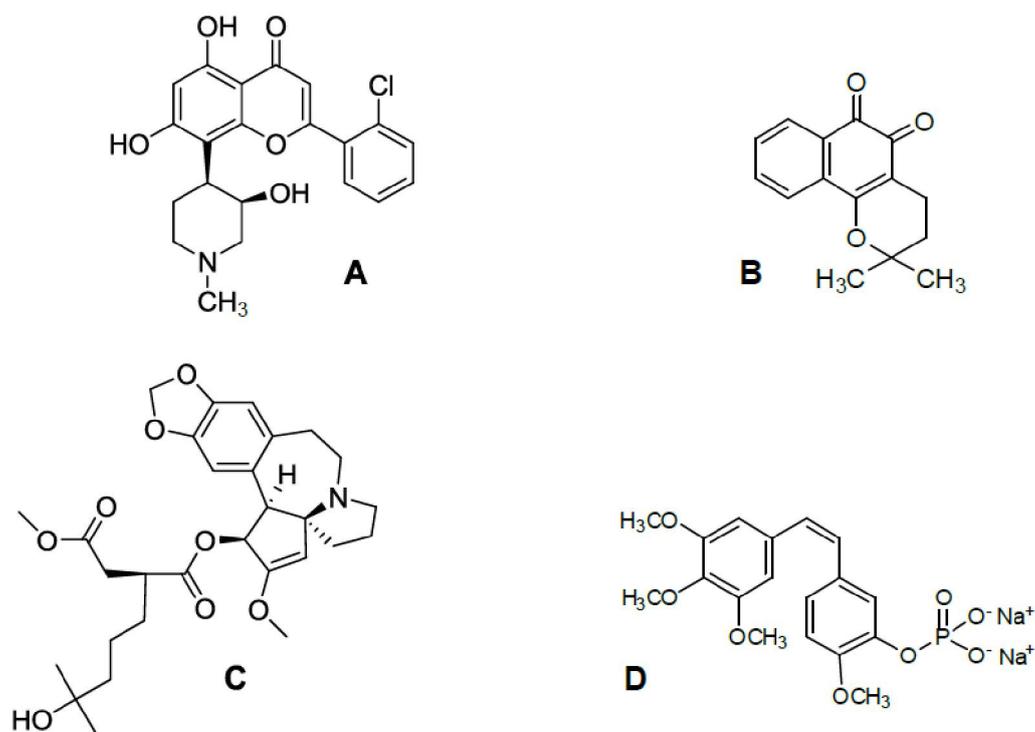


Figure 16 : Structures du flavopiridol (A), de la β -lapachone (B), de l'homoharringtonine (C), et de la combrestatine A4 (D)

L'homoharringtonine est un alcaloïde isolé d'un arbre originaire de Chine, *Cephalotaxus harringtonia*. Il inhibe la synthèse des protéines et bloque la progression du cycle cellulaire. La β -lapachone est une quinone obtenue de l'écorce de *Tabebuia avellanae*. C'est un inhibiteur de la topoisomérase I. Il provoque un ralentissement du cycle en phase G₁ ou S avant d'induire l'apoptose ou la nécrose sur de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses²⁰. La combrestatine A4 est isolée du tronc de l'arbre Sud-Africain *Combretum caffreum*, il inhibe la croissance des capillaires sanguins, causant la mort des cellules cancéreuses et leur nécrose²⁰.

On estime que moins de 15% des plantes supérieures ont été étudiées en vue de déterminer leurs teneurs en composés bioactifs¹⁹. Le monde végétal donnera sans doute de nombreux autres composés anticancéreux dans un avenir plus ou moins proche ou lointain, car beaucoup reste à faire dans ce domaine.

- *Les microorganismes*

La mise sur le marché de l'Ixempra® (Ixabepilone) (figure 13) et du Torisel® (temsirolimus) (figure 14), constitue l'un des exemples de la richesse des microorganismes comme source de molécules anticancéreuses. La romidepsine (FK228, figure 17), isolée de la bactérie *Chromobacterium violaceum*, est un depsipeptide inhibiteur des histones déacétylases. Il a montré une bonne activité dans le traitement des patients souffrant de lymphome.

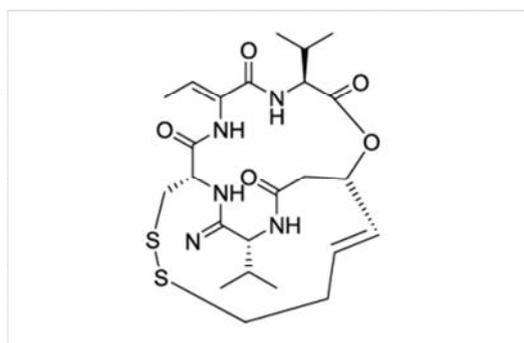


Figure 17 : Structure de la romidepsine

Une proportion importante des composés bioactifs issus de sources animales est souvent synthétisée par un symbiote microbien²¹. Les microorganismes offrent l'avantage d'être cultivables en bioréacteur. Ces 50 dernières années, les actinomycètes et les moisissures sont devenus les groupes les plus étudiés. A ce jour, on estime que le nombre d'antibiotiques clairement identifiés représente moins de 5% du total possible, ce qui fait que l'univers chimique produit par les microorganismes est encore largement inexploité¹⁹.

Au cours de prochaines années, le nombre de molécules anticancéreuses issues de microorganismes devrait s'accroître de manière significative avec le développement des méthodes de culture des organismes procaryotes et l'exploitation des approches de métagénomique pour les microorganismes non cultivables^{19, 20}.

- **Mers et Océans**

Le milieu marin est resté très longtemps inexploré du point de vue pharmacologique. Les océans couvrent 70% de la surface de notre planète²² et représentent le plus grand écosystème mais aussi le plus ancien de la planète Terre. Il apparaît aujourd'hui comme une source très importante de nouvelles molécules tête de série et il est reconnu comme la source de molécules à activité biologique présentant le potentiel le plus élevé.

Les substances naturelles isolées d'organismes marins se caractérisent souvent par la présence d'éléments chimiques ou de structures rarement observées en milieu terrestre en raison de la composition chimique de l'eau de mer. Les molécules marines contiennent des atomes comme le chlore, le soufre, le brome, le bore, le silicium, l'iode et l'arsenic, éléments peu présents dans les métabolites des organismes terrestres²³.

Outre cette originalité chimique, les molécules marines présentent également une originalité structurale. Par exemple, les terpènes halogénés retrouvés chez certaines algues rouges (figure 18) n'ont pas d'équivalents terrestres²³.

Enfin, les molécules isolées des mers et océans ont souvent des mécanismes d'action particuliers et peu retrouvés chez les autres molécules anticancéreuses^{20, 24}. Par exemple, la céphalostatine 1 (figure 19), induit l'apoptose *via* l'activation des caspases. Le salinosporamide A (figure 19) est un inhibiteur du protéasome. Les particularités des molécules marines du point de vue structural mais aussi au niveau de leur mécanisme d'action constituent un avantage dans la recherche de nouvelles molécules anticancéreuses²⁴.

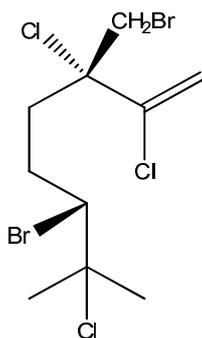


Figure 18 : Structure de l'halomon issu de l'algue rouge *Portiera hornemannii*. Cette molécule possède une forte action cytotoxique sur différentes lignées cellulaires cancéreuses²³

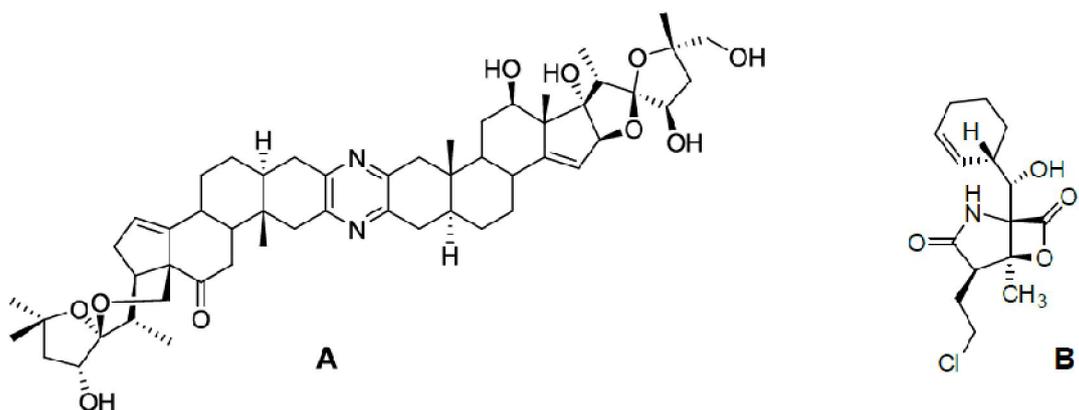


Figure 19 : Structures de la céphalostatine 1 (A) et du salinosporamide A (B)

En 2004, 716 nouveaux composés d'origine marine à activité biologique étaient référencés, 812 en 2005, et 719 en 2006^{20, 25}. Un nombre croissant de composés sont actuellement en phase pré-clinique ou clinique de développement pharmaceutique.

Premières découvertes en pharmacologie marine.

Même si l'utilisation des algues marines apparaît dans la pharmacopée chinoise (2800 ans avant J-C), l'utilisation d'organismes marins dans les médecines traditionnelles reste très limitée et les recherches en pharmacologie marine ont débuté au milieu du XXème siècle, avec deux découvertes majeures.

En 1948, les céphalosporines (figure 20) sont isolées par Brotzu d'un champignon microscopique marin (*Cephalosporium acremonium*). Ces composés sont des antibiotiques encore couramment utilisés de nos jours²³.

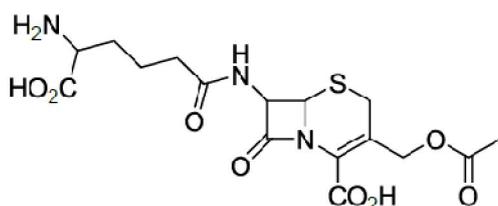


Figure 20 : Structure de la céphalosporine C

Au début des années 50, les arabinosides sont isolés par le chimiste américain Bergmann à partir d'une éponge des caraïbes *Cryptotethya crypta*. L'ARA-C est un anticancéreux puissant^{23, 26, 27}. Les analogues de synthèse des arabinosides sont notamment l'ARA-A et l'ARA-C (figure 21). Suite à ces deux découvertes, des efforts considérables furent mis en œuvre pour découvrir des nouveaux produits naturels provenant des océans.

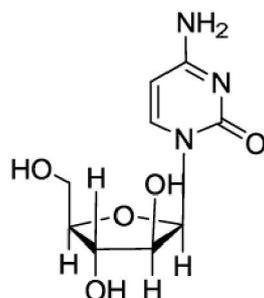


Figure 21 : Structure de l'ARA C

Le ziconotide (Prialt®), issu du venin de *Conus magus*, a été autorisé en 2004 pour le traitement de la douleur ^{26, 28}. La trabectedine (Yondelis®) est une molécule anticancéreuse qui a été approuvée en 2007 ^{26, 29}. Ces deux médicaments, issus du monde marin, sont les premiers autorisés depuis une quarantaine d'année. De nombreuses autres molécules d'origine marine sont en phase de développement clinique.

En 1998, 35 nouvelles molécules anticancéreuses issues du monde marin étaient identifiées et caractérisées. En 2008, 136 produits naturels d'origine marine et appartenant à des classes structurales diverses, incluant des polykétides, des terpènes, des stéroïdes et des peptides sont référencés (Tableau 2)²⁹. Ces molécules proviennent de diverses sources comprenant les invertébrés, les bactéries et les moisissures. Le travail de collecte de données bibliographiques effectué par Mayer illustre les potentialités immenses qu'offre le monde marin en cancérologie.

Tableau 2 : Nombre de molécules marines anticancéreuses identifiées et caractérisées entre 1998 et 2006²⁹

Année	Produits naturels marins en phase d'essai clinique ou préclinique en oncologie
2006	136
2004	150
2002	97
2000	143
1999	31
1998	35
Total	592

Anticancéreux isolés à partir d'organismes marins

Le tableau 3 présente les différents anticancéreux d'origine marine approuvés ou en cours de développement clinique.

Tableau 3 : Différents anticancéreux actuellement sur le marché ou en phase d'essais cliniques²⁶

Statut clinique	Nom du composé	Nom commercial	Origine	Classe chimique
Approuvé en 1969	Cytarabine, ARA-C	Cytosar-U®	Eponge	Nucleoside
en 2007	Trabectedine (ET-743)	Yondelis®	Tunicier	Alcaloïde
Phase III	Eribulin Mesylate(E7389)		Eponge	Macrolide
	Soblidotine (TZT1027)		Bactérie	Peptide
Phase II	Plinabuline (NPI2358)		Fungus	Diketopiperazine
	Plitidepsine	Aplidin®	Tunicier	depsipeptide
	PM1004	Zalypsis®	Nudibranche	Alcaloïde
	Tasidotine, Synthadotine (ILX651)		Bactérie	Peptide
Phase I	Bryostatine 1		Bryozoaire	Polyketide
	Hemiasterline (E7974)		Eponge	Tripeptide
	Marimozide (Salinosporamide A, NPI-0052)		Bactérie	Béta-lactone-gammalactam

Dans le paragraphe suivant sont référencées et présentées les principales molécules anti-tumorales d'origine marine ayant atteint les essais cliniques ou actuellement sur le marché.

Molécules cytotoxiques

La trabectedine (Ecteinascidin-743, Yondelis®) est un alcaloïde de la classe des tétrahydroisoquinolines provenant de l'ascidie *Ecteinascidia turbinata*³⁰. Elle est maintenant produite par hémi-synthèse à partir de la cyanosafranine B, extraite après fermentation de la bactérie marine *Pseudomonas fluorescens*³¹. Ce produit est un agent alkylant spécifique des positions N2 des guanines du petit sillon de l'ADN agissant sur la machinerie de réparation de l'ADN.

L'alkylation conduit à une courbure de l'ADN qui affecte différents facteurs de transcription impliqués dans la prolifération cellulaire, particulièrement concernant le système de réparation couplé à la transcription par excision des nucléotides^{19,32-34}. L'effet antiprolifératif dû à la liaison avec l'ADN intervient pour de faibles concentrations (1 à 10 ng.ml-1). Pour des doses plus importantes (10-100 ng.ml-1), il y a activation de l'apoptose par relargage du cytochrome C et activation de la caspase -3^{24,35}. La structure chimique de la trabectedine est représentée sur la figure 22.

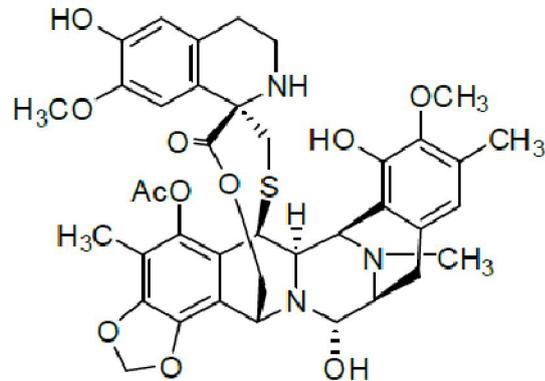


Figure 30 : Structure de la trabectedine et photographie de *Ecteinascidia turbinata*
 [Photographie d'*Ecteinascidia turbinata* de PharmaMar PharmaMar Inc., Madrid, Espagne²⁶

Les molécules de la famille des hémiassterlines (**tripeptides**), issues d'éponges du genre *Auleta*³⁶, telles que le E7974 (figure 23) et la taltobuline (HTI286) (analogues de synthèse) se lient au site de liaison des vinca-alcaloïdes de la tubuline, provoquant l'inhibition de la polymérisation de la tubuline ainsi que la dépolymérisation des microtubules existant, l'inhibition de la mitose et donc de la prolifération cellulaire^{37, 38}.

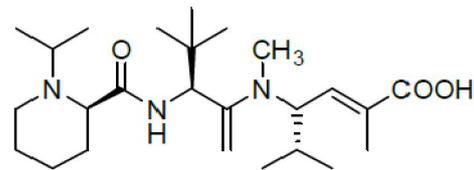


Figure 23 : Structure de E7974 et photographie de *Hemiasterella minor*
 [photographie de *hemiasterella minor* reproduite de Y. Benayahu et S. Perkol-Finkel²⁶

Le kahalalide F (figure 24) a été isolé du mollusque *Elysia rufescens*. C'est un tridécapéptide. La source naturelle de cette molécule est l'algue *Bryopsis spp*, qui fait partie du régime alimentaire de *E. rufescens*³⁹⁻⁴¹. Le kahalalide F est cytotoxique sur de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses et provoquerait leur nécrose ; par contre, les marqueurs de l'apoptose ne sont pas activés²⁴. Son mécanisme d'action est encore mal connu. L'elisidepsine (PM02734, Irvalec®) est un dérivé du kahalalide F qui est en cours d'essai clinique⁴².

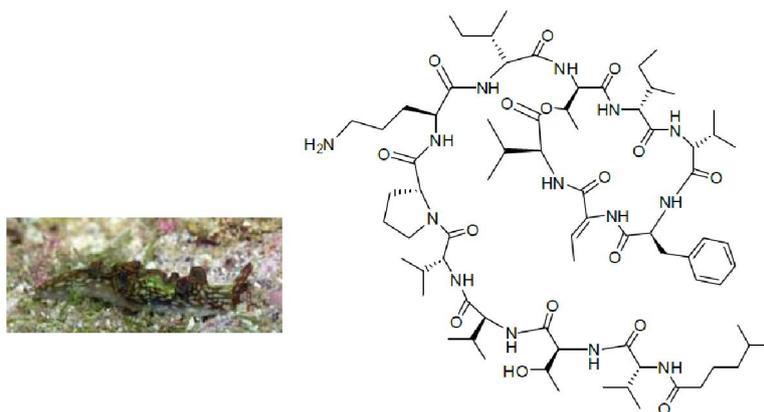


Figure 24 : Structure du kahalalide F et photographie de *Elysia rufescens*.
[photographie de *Elysia rufescens* de PharmaMar, Inc., Madrid, Espagne²⁶

Les dolastatines ont été isolées initialement du mollusque *Dolabella auricularia*⁴³. En réalité, elles proviennent des cyanobactéries du genre *Symploca* qui font partie du régime alimentaire de *D. auricularia*. Les dolastatines sont des oligopeptides (pentapeptides), contenant des acides aminés non conventionnels (dolavoline, dolaisoleucine, dolaproline, dolaphinine). Les dolastatines 10 et 15 possèdent une activité cytotoxique. La dolastatine 15 agit en se fixant au site de liaison des vinca-alcaloïdes de la tubuline et inhibent la polymérisation des microtubules, alors que la dolastatine 10 se lie au site de liaison des rhizoxine et maytansine adjacent du site de liaison des vinca-alcaloïdes^{38,44,45}.

En raison de faibles rendements de synthèse chimique, mais aussi à cause d'une faible solubilité en milieu aqueux, la dolastatine 15 n'a pas franchi l'étape des essais cliniques. Cependant la synthadotine ou tasidotine (ILX651), dérivée de la dolastatine 15, est en cours d'essais cliniques³⁸.

La dolastatine 10 (figure 25) montre une activité pro-apoptotique sur différentes lignées cellulaires cancéreuses (sein, poumon, leucémie et lymphome)⁴⁶. Elle agit en augmentant l'expression de Bax et en diminuant celle des protéines proapoptotiques de la famille Bcl-2^{46,47}. Ce composé n'a pas franchi l'étape des essais cliniques, car 40% des patients traités avec cette molécule ont souffert de neuropathie⁴⁸. Cependant, un de ses dérivés de synthèse, la soblidotine (TZT1027), soluble en milieu aqueux, est en cours d'évaluation clinique^{24, 48, 49}.

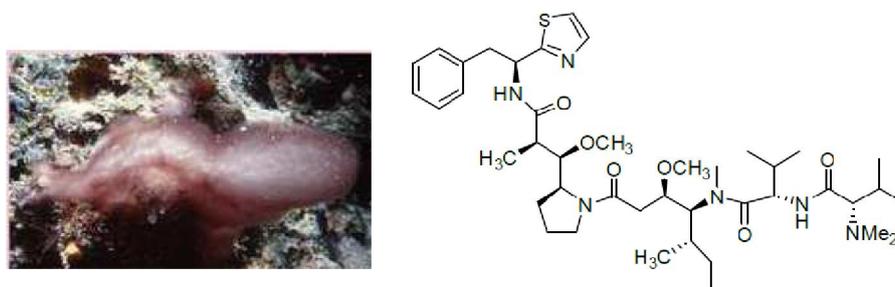


Figure 25 : Structure de la dolastatine 10 et photographie de *Symploca sp.*
[Photographie de *Symploca sp.* de Raphael Ritson-Williams²⁶ (Smithsonian Institute, Ft. Pierce, FL, USA)

L'halichondrine B appartient à la famille des macrolides, elle a été isolée de l'éponge *Halichondria okadai*⁵⁰. L'halichondrine B se fixe sur la tubuline *via* le site des Vinca-alcaloïdes et empêche la dépolymérisation des microtubules^{51, 52}. L'éribuline mésylate E7389 (figure 26) actuellement en cours d'essai clinique est l'un de ces dérivés²⁶.

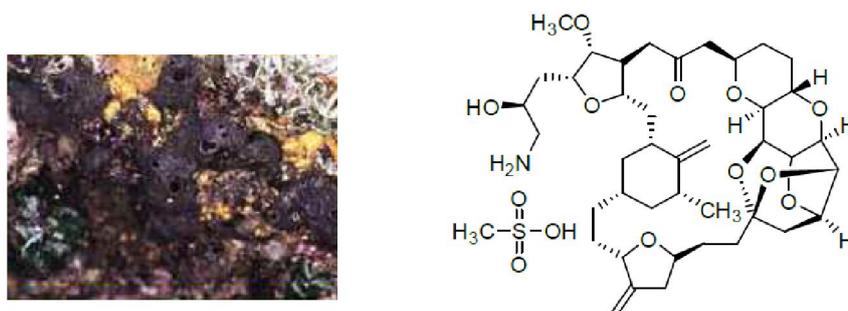


Figure 26 : Structure de l'éribuline mésylate et photographie de *Halichondria okadai*.
[photographie de *Halichondria okadai* du Professor Yasunori Saito²⁶.

La spisulosine (ES-285, figure 27), extraite du bivalve *Spisula polynyma*, agit en déstabilisant les filaments d'actine du cytosquelette des cellules cancéreuses. Les cellules traitées avec cette molécule présentent une morphologie particulière^{53, 54}. Son mécanisme d'action n'est pas encore totalement élucidé.



Figure 27: Structure de la spisulosine et photographie de *Spisula polynyma*.
[photographie de *Spisula polynyma* : <http://marinebiotech.org>].

Le Zalypsis® (PM00104, figure 28) est un alcaloïde synthétique inspiré par la jorumycine et des molécules de la famille des renieramycines issues respectivement de mollusques et d'éponges⁵⁵. Il présente une activité antinéoplasique qui s'explique par sa liaison réversible à l'ADN, produisant ainsi une interférence dans les processus de réplication, de transcription et de traduction⁵⁶.

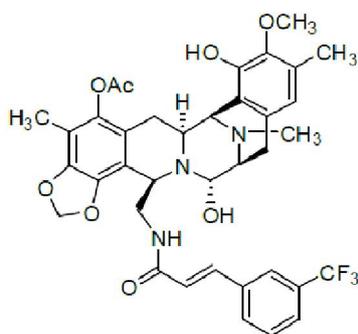


Figure 28 : Structure du Zalypsis® et photographie de *Joruna funebris*.
[photographie de *Joruna funebris* de PharmaMar, Inc., Madrid, Espagne²⁶.

Pour sa part, la plinabuline NPI-2358 (figure 29), est un dérivé synthétique d'halimide issu d'*Aspergillus* sp. CNC-139, cultivé à partir de l'algue verte *Halimeda lacrimosa* ; il présente une activité antinéoplasique^{26, 57} et se lie sélectivement au site de liaison des colchicines de la tubuline, provoquant un arrêt du cycle cellulaire en phase M et un blocage de la division cellulaire^{26, 58, 59}. Il induit également la dépolymérisation de la tubuline des cellules endothéliales vasculaires, et détruit sélectivement la vascularisation de la tumeur^{26, 58}.

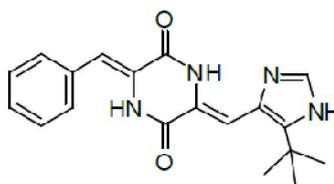


Figure 29 : Structure du NPI-2358 et photographie de *Aspergillus* sp. CNC-139.
[photographie de Paul Jensen (University of California, San Diego, CA, USA)²⁶

Stimulants du système immunitaire

Le KRN 7000 (figure 30) est un dérivé d'agelasphines ; il s'agit d'un α -galactosylcéramide, issu de l'éponge *Agelas mauritanus*⁶⁰. Il active la réponse immunitaire et stimule la production de lymphocyte T tueur (ou NKT). Il présente également des activités antimétastatiques^{38, 51}.

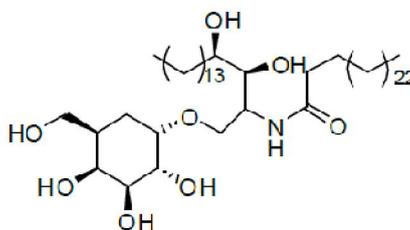


Figure 30 : Structure du KRN 7000 et photographie d'*Agelas clathrodes*.
photographie d'*Agelas clathrodes*: <http://marinebiotech.org>

Inhibiteurs de l'angiogénèse

La squalamine est issue de l'estomac du requin *Squalus acanthias*⁶² (figure 31). Elle inhibe l'angiogénèse en empêchant la liaison du VEGF à son récepteur ce qui bloque la formation de nouveaux vaisseaux sanguins⁶³.

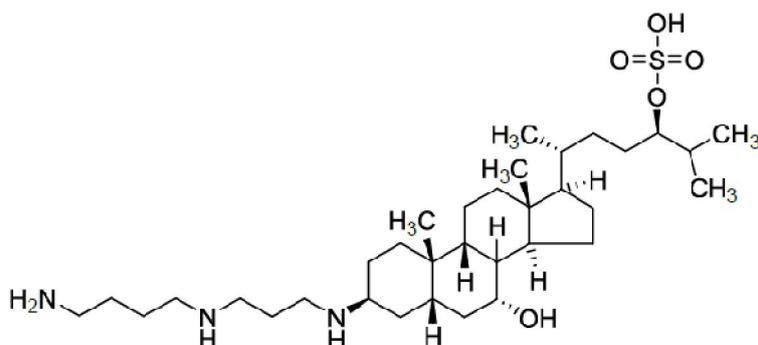


Figure 31 : Structure de la squalamine
photographie d'*Agelas clathrodes*: <http://marinebiotech.org>

Molécules intervenant dans les voies de signalisation cellulaire et le cycle cellulaire

Le panobinostat (LBH 589, figure 32), inspiré de la psammapline (issue de l'éponge : *Psammaplysilla spp*), présente une activité antinéoplasique. Il inhibe sélectivement les histones déacétylases, ce qui conduit à l'hyperacétylation des histones et provoque une modulation de l'expression des protéines du cycle cellulaire, l'arrêt du cycle en phase G2/M et l'apoptose. Cette molécule module également l'expression des gènes impliqués dans l'angiogénèse, comme les facteurs HIF-1 et le VEGF^{38,64}.

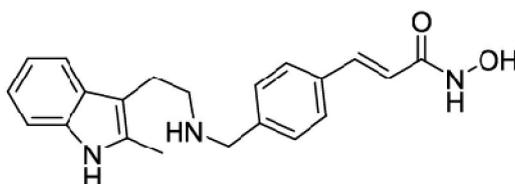


Figure 32 : Structure du panobinostat

Le salinosporamide A (NPI0052, figure 33) est un antinéoplasique issu de l'actinomycète *Salinospora tropica*^{65, 66}. Ce composé inhibe de manière irréversible le protéasome et induit l'apoptose chez les cellules résistantes au bortezomibe (inhibiteur du protéasome).

L'inhibition du protéasome conduit à l'accumulation de protéines poly-ubiquitinisées, provoquant l'arrêt des processus cellulaires, du cycle cellulaire, l'induction de l'apoptose, l'inhibition de la croissance cellulaire et de l'angiogénèse^{24, 26, 67}.

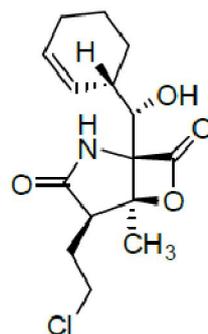
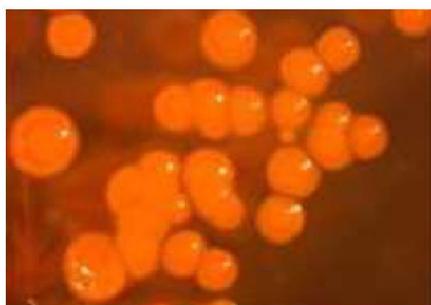


Figure 33 : Structure du salinosporamide A et photographie de *salinospora tropica*.
photographie de *salinospora tropica* de Sy Teisan (Nereus Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, USA)²⁶

Les bryostatines sont des lactones macrocycliques originellement isolées du bryozoaire *Bugala neritina*⁶⁸. Il existe de nombreux dérivés synthétiques de la bryostatine-1. Jusqu'à présent, sa synthèse complète (figure 34) reste difficile²⁶. Les bryostatines se lient et inhibent la protéine kinase C (PKC), conduisant à l'inhibition de la prolifération cellulaire et à l'induction de l'apoptose chez les cellules cancéreuses. La bryostatine-1 inactive la protéine Bcl-2 anti-apoptotique. Son effet pro-apoptotique est faible lorsqu'elle est utilisée seule. Par contre, utilisée en combinaison avec le paclitaxel, elle stimule une augmentation de l'activation des caspases, y compris chez les cellules cancéreuses présentant une surexpression de la protéine Bcl-xl^{24, 26 69, 70, 71}. La structure chimique de la bryostatine 1 est présentée sur la figure 34.

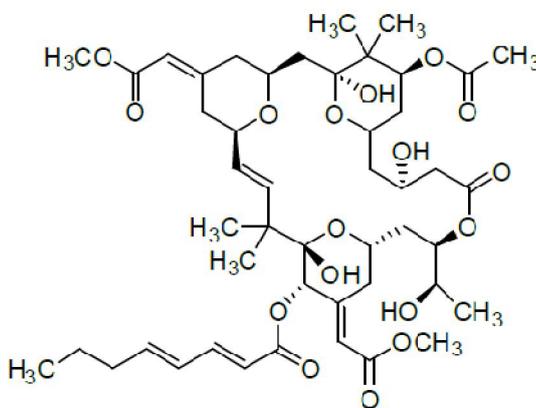


Figure 34 : Structure de la Bryostatine 1 et photographie de *Bugula neritina*.
photographie de *Bugula neritina* de Koty Sharp, (Ocean Genome Legacy, Ipswich, MA, USA)²⁶

Inducteurs d'apoptose

La plitidepsine (aplidine®), analogue de la déhydrodidemnine B est un depsipeptide cyclique isolé d'*Aplidium albicans* (tunicien). Il induit l'apoptose en déclenchant le relargage du cytochrome C, active la caspase-3 et provoque également l'arrêt du cycle cellulaire en phase G₁ et G₂, ce qui inhibe la prolifération cellulaire. La déhydrodidemnine B est représentée sur la figure 35^{38, 72, 73}.

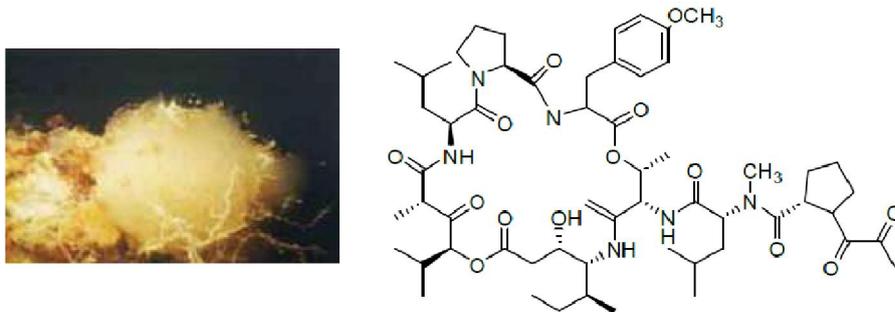


Figure 35 : Structure de la déhydrodidemnine B et photographie de *Aplidium albicans*.
photographie de *Aplidium albicans* de PharmaMar, Inc., Madrid, Espagne²⁶

De nombreuses molécules issues du monde marin et présentant des activités anticancéreuses n'ont pas franchi toutes les étapes des essais cliniques. Par exemple, le discodermolide (figure 36) est sorti des essais cliniques en phase I, en 2000. Cette molécule est produite par l'éponge *Discodermia dissoluta*⁷⁴; elle agit comme un immunosuppresseur ; elle induit l'arrêt du cycle cellulaire en G₂/M et l'apoptose sur de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses. Elle se lie à la tubuline et stabilise les microtubules avec d'autres agents stabilisants des microtubules comme le paclitaxel.

Outre la stabilisation des microtubules, le discodermolide induit l'activation tardive des caspases-3 et -8, mais aussi le relargage de cytochrome C, provoquant l'apoptose. Cette molécule suscite toujours un intérêt thérapeutique, notamment en association avec d'autres traitements, notamment le paclitaxel^{24, 75-77}.

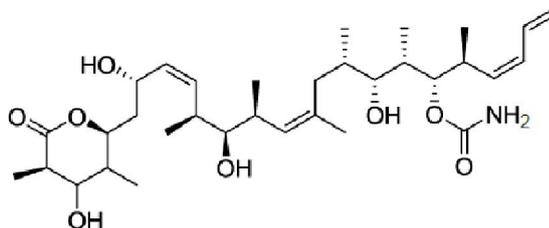


Figure 36 : Structure du discodermolide

5. MOLECULES MARINES ET MECANISMES D'ACTION

Les différentes molécules présentées ici montrent une grande variété d'effets anticancéreux. Nombreuses sont celles qui induisent l'apoptose, comme la trabectedine, la dolastatine 10 et ses dérivés, le salinosporamide A, la bryostatine-1, la déhydrodidemnine B et le discodermolide. D'autres agissent sur le cycle cellulaire comme le panobinostat. La spisulosine (ES-285) agit sur le cytosquelette et le KRN 7000 stimule le système immunitaire. La squalamine est un inhibiteur de l'angiogénèse. Toutes ces molécules, avec leurs mécanismes d'action, montrent le potentiel des molécules marines en cancérologie et notamment dans le cadre des thérapies ciblées.

- Différents sites de liaison à la tubuline des agents ciblant les microtubules

Plus de 30 molécules différentes qui interagissent avec quatre sites principaux de liaison à la tubuline sont actuellement répertoriées : le site taxane/épothilones⁷⁸⁻⁸², le site

laulidamide/peloruside A⁸³, le site colchicine⁸⁴, et le site Vinca-alcaloïde (Figure 37). La différence essentielle réside dans le fait que certains agents antimicrotubules se fixent préférentiellement sur les dimères libres de tubuline et d'autres plutôt sur les microtubules polymérisés. Néanmoins, la liaison de molécules sur les 2 premiers sites aura plutôt tendance à stabiliser les microtubules alors que celle sur les 2 derniers sites induira préférentiellement une dépolymérisation.

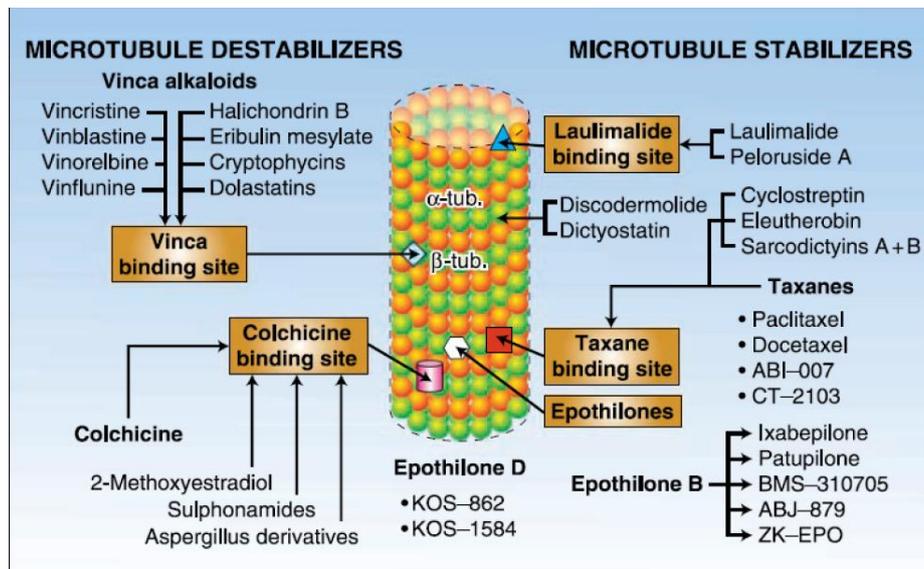


Figure 37 : Les différents sites de liaison à la tubuline des agents ciblant les microtubules⁸⁵

Les vinca-alcaloïdes se lient préférentiellement aux dimères de tubuline libre, mais également aux extrémités des microtubules. Le domaine de liaison des vinca-alcaloïdes à la β -tubuline est en effet situé près du site de liaison interchangeable du GTP.

Ces composés ont été classés parmi les agents déstabilisateurs, ceux qui inhibent l'assemblage de la tubuline en microtubules, induisant ainsi la dépolymérisation des polymères déjà formés. La progression mitotique est alors bloquée et la cellule meurt par apoptose. Ils sont communément utilisés en traitement de tumeurs solides ou de tumeurs hématologiques malignes et ont montré leur efficacité aussi bien en utilisation individuelle que combinée à d'autres agents cytotoxiques⁸⁶.

A l'origine isolés à partir de la pervenche de Madagascar (*Vinca rosae*), la vinblastine et la vincristine, aux structures presque identiques, sont les deux premiers vinca-alcaloïdes à avoir été identifiés. Puis apparut la vinorelbine (Navelbine®, GlaxoSmithKline) qui est un dérivé semi-synthétique de la vinblastine. Mais c'est la vinflunine, également un dérivé synthétique, qui présente l'activité la plus élevée *in vitro* de tous les vinca-alcaloïdes, et dont l'efficacité a été démontrée dans le cancer du poumon⁸⁷.

Des dérivés synthétiques d'autres composés naturels agissant au site de liaison des vinca-alcaloïdes sont à l'étude⁸⁸. L'éribuline mésylate (E7389, Havalen™, Eisai) qui est un dérivé synthétique de l'halichondrine B, isolé de l'éponge marine *Halichondria okadaic*⁸⁹, a été approuvé par la FDA en 2010 pour usage chez des patients atteints de cancer du sein métastatique ayant précédemment reçu au moins deux traitements chimiothérapeutiques à un stade avancé de la maladie ; il a été approuvé par l'agence européenne EMA en mars 2011 pour les mêmes indications⁹⁰. Le LY355703 est un dérivé synthétique des cryptophycines, des composés naturels isolés à partir d'une algue bleue-verte⁹¹, qui a démontré son efficacité dans le cancer de l'ovaire réfractaire aux dérivés du platine⁹¹.

De nombreuses dolastatines, isolées à partir d'un mollusque de l'océan Indien, *Dolabella auricularia*, et dépistées pour une activité antitumorale, se lient près du site de liaison des vinca-alcaloïdes⁹². Bien que de nombreux composés aient été testés, les résultats cliniques restent décevants. Seule la Tasidotine (ILX651), un dérivé synthétique de la dolastatine-15, inhibe la nucléation des microtubules à de faibles concentrations, et pourrait potentiellement devenir un agent pharmacologique prometteur⁹³. Des études de phase II dans des mélanomes et le cancer du poumon sont en cours.

CHAPITRE I

PRESENTATION DES CRYPTOPHYCINES

1. ISOLATION ET MODE D'ACTION DES CRYPTOPHYCINES

1.1-GENERALITES

Les cryptophycines sont des métabolites secondaires de la classe des macrocycles depsipeptidiques, produits par les cyanobactéries du genre *Nostoc*⁹⁴. Leur nom provient du fait qu'elles sont hautement cytotoxiques vis-à-vis des levures du genre *cryptococcus*.

Les cryptophycines constituent l'un des meilleurs exemples récents dans la recherche de thérapies anticancéreuses⁹⁵. La structure, la formule générale ainsi que la numérotation des atomes de carbone de ces composés, telle que décrite dans WO 98/08505, sont rappelées ci-dessous (Figure 38):

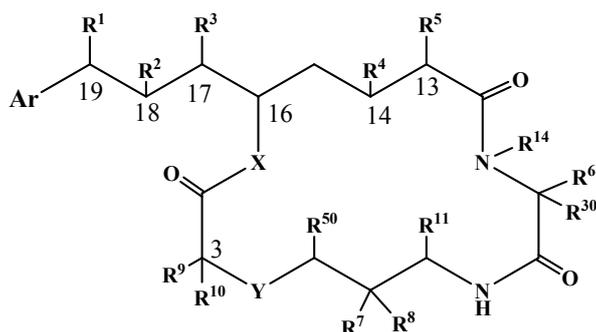


Figure 38 : Structure, formule générale et numérotation des atomes de carbone de cryptophycines.

Les cryptophycines sont une nouvelle et puissante classe (tumeur-sélective) d'agents antimitotiques tubuline-contrainants⁹⁶. Elles montrent une excellente activité contre les lignées cellulaires des cancers multirésistants (MDR) et sont particulièrement actives contre les tumeurs mammaires^{97,98}.

1.2-MECANISMES D'ACTION

Les cryptophycines sont des composés initialement identifiés en 1990 dans des extraits de l'algue bleu-vert du genre *Nostoc*⁹⁷. Elles constituent une famille unique de macrolides antimitotiques à 16 chaînons. Le mécanisme d'action de cette classe de composés a été associé à une action sur les microtubules (antimicrotubules) (Figure 37, **chap. 1**)⁹⁹⁻¹⁰⁶.

Leur cible thérapeutique moléculaire est la protéine tubuline dont elles suppriment puissamment la dynamique de formation: en effet, elles ralentissent cette formation d'une manière dose-dépendante, ce qui aboutit à une dépolymérisation irréversible, sans doute à cause de l'établissement d'une liaison covalente entre la drogue et le fuseau microtubulaire. En outre, elles désactivent la protéine Bcl-2, provoquant ainsi une réponse inductrice de l'apoptose plus rapide et à des concentrations beaucoup plus faibles que les composés utilisés cliniquement¹⁰⁵.

La présence de plusieurs fonctions amide et des liaisons ester dans le noyau cryptophycine donne accès à des approches très convergentes de synthèse totale. Cependant, l'instabilité hydrolytique *in vivo* de l'ester C5 constitue un obstacle majeur à la recherche d'un candidat à usage clinique. Ce problème a été quelque peu surmonté grâce à la synthèse totale de la cryptophycine-52⁹⁷. Malgré l'enthousiasme initial découlant de la possibilité de voir les cryptophycines surmonter la multirésistance des tumeurs aux médicaments dans les systèmes expérimentaux, cet engouement n'a pas été confirmé dans les essais cliniques. En outre, la cryptophycine 52, tout en étant très toxique, a montré une activité très modérée chez les patients atteints d'un cancer ovarien avancé et résistant au platine¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Cela fait que l'on s'en sert plutôt comme modèle que comme support de synthèse.

Des études ont montré que l'inhibition des microtubules par les cryptophycines se fait par le biais d'une forte liaison covalente, en rapport stœchiométrique, et avec une très forte affinité (Kd nM 47), et non par association longiligne avec ces support^{105, 107}. Comme la plupart des composés les plus testés au cours des dernières années dans des essais cliniques pour l'inhibition de la formation de microtubules, les cryptophycines ne sont pas affectées par la surexpression de la glycoprotéine P^{107, 109}. Des études pour évaluer la neurotoxicité ont permis de suggérer des limites à la dose en phase I des essais cliques de la cryptophycine-52 (LY355703) administrée par voie intraveineuse^{103, 107, 110}. Par ailleurs, il est utile de signaler que ces substances présentent une activité prometteuse en combinaison avec la doxorubicine, le paclitaxel, le 5-fluorouracile, et des analogues de platine^{111, 112}.

Un analogue synthétique de la cryptophycine, la cryptophycine-52 (CR-52), a été étudié cliniquement en raison à la fois de sa puissante activité anticancéreuse préclinique et de sa stabilité *in vivo*¹¹²⁻¹¹⁶. Toutefois, en raison d'un nouveau mécanisme par lequel les cryptophycines inhibent les microtubules, une étude clinique plus approfondie des analogues de cryptophycine a été envisagée¹¹⁷.

1.3-ISOLATION DES DIFFERENTES CRYPTOPHYCINES

Les cryptophycines ont été découvertes en 1990, les espoirs étaient grands qu'un de ces produits naturels pourrait être converti en drogue anticancéreuse utile¹¹⁸⁻¹²⁰. La cryptophycine 1 (Cf. Figure 39), est le représentant principal de cette classe des drogues anticancéreuses.

L'espèce ATCC 53789 de *Nostoc*, est l'un des agents de déstabilisation des tubulines les plus efficaces jamais trouvés¹¹⁸. En outre, les cryptophycines, comme les épothilones, n'étaient pas des substrats de la P-glycoprotéine, une pompe de flux qui immunise une variété de cellules cancéreuses MDR contre une multitude de drogues anticancéreuses^{91, 114, 118, 121-123}.

L'analogue synthétique, Cr-52 a été choisi parce qu'aucune méthode de production biotechnologique à grande échelle des cryptophycines n'existe à ce jour. Par la suite, les coûts de production élevés et les effets secondaires toxiques de la cryptophycine 52 ont arrêté son développement ainsi que celui de n'importe quel autre analogue de cette famille.

1.3.1-Cryptophycines portant une fonction époxyde sur l'unité A

Le premier représentant de cette classe de molécules, la cryptophycine-1(Figure 39), a été isolé en 1990 de cyanobacterium d'algues bleu-vert (*Nostoc sp.*). Elle en constitue aussi la toxine majeure^{124, 125}. Elle a été initialement décrite comme agent antifongique¹²⁴. Ses valeurs d'IC₅₀ sont de l'ordre de pM⁹⁵.

Un composé de structure apparentée, la cryptophycine-24, (Cf. Figure 39), également appelée arenastatin A), a été isolée de l'éponge marine *Okinawa arenaria Dysidea*¹²⁶ et plus tard à partir de *Nostoc sp.*, souche GSV 224¹²⁷. C'est aussi un puissant inhibiteur de la polymérisation de la tubuline. Les cryptophycines-1, -52 et -292 (Figure 39), qui se caractérisent par une fonction époxyde représentée ci-dessous, ont des propriétés anticancéreuses^{128, 129} qui ont permis de passer aux essais cliniques de phase II dans le cancer du poumon (LY 355073)^{114, 116, 128}.

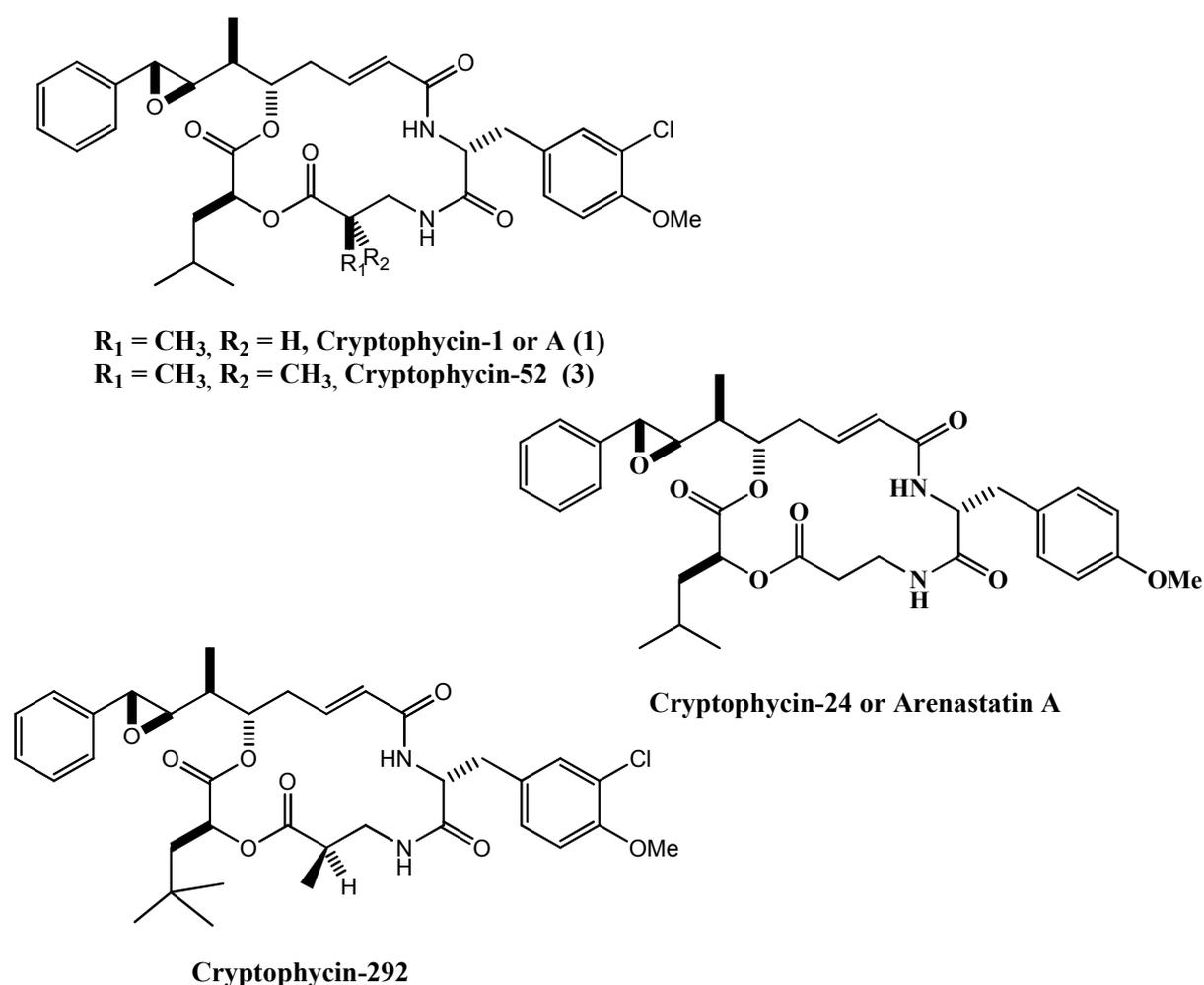
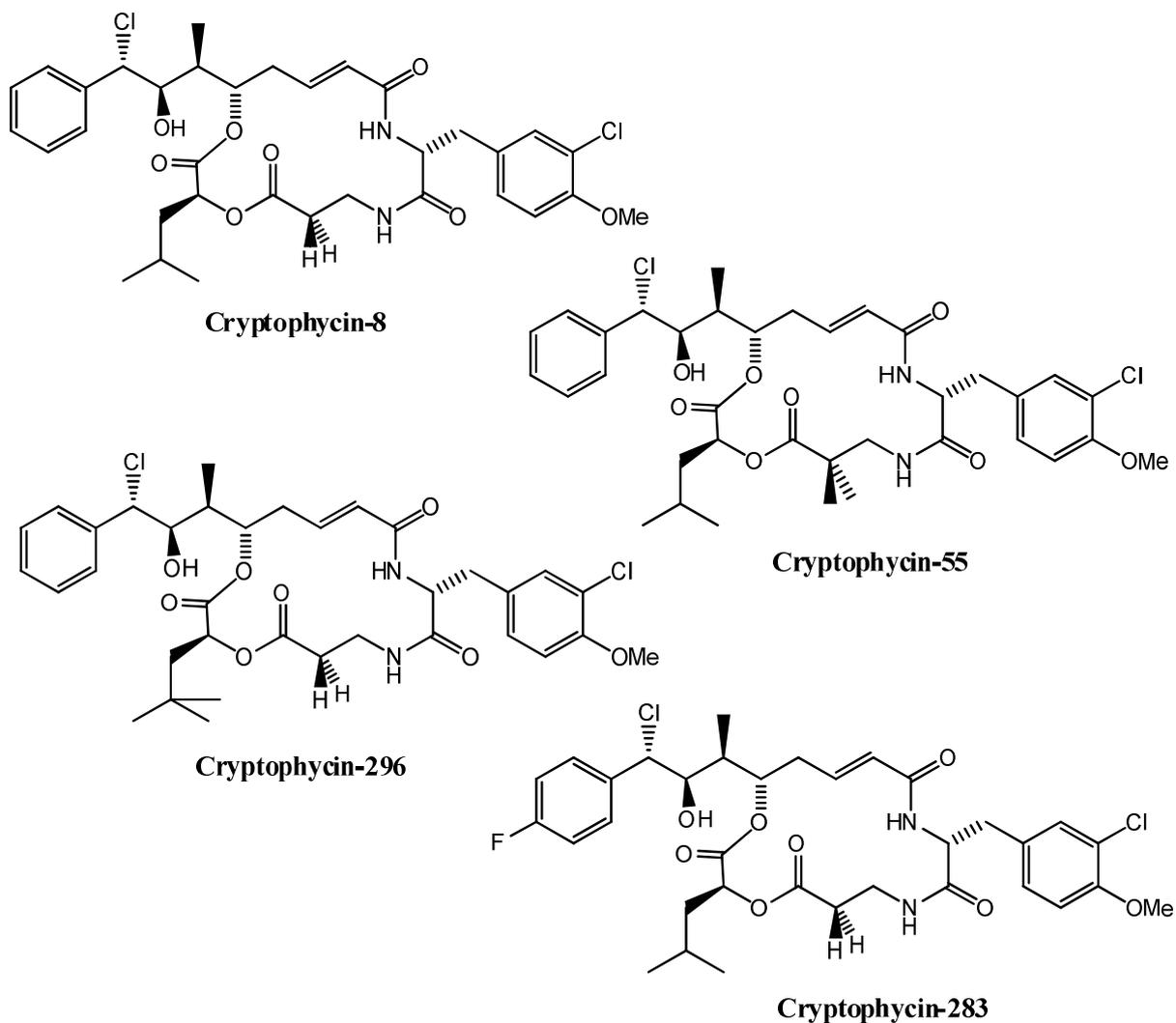


Figure 39 : Structures des cryptophycines-1, 52, 292 et 24.

1.3.2-Cryptophycines portant une fonction chlorhydrique sur l'unité A

La cryptophycine-55, prodrogue de la cryptophycine-52 (Figure 40), se caractérise quant à elle par une fonction chlorhydrique en lieu et place de la fonction époxyde¹³⁰ comme les autres cryptophycines-8, -249, -296, -309, et -283 (Figure 40)¹²⁹. Elle s'est avérée très active mais n'est pas stable en solution. Des dérivés de type glycinate de chlorhydrique tel que le composé C-55gly et -283gly (Figure 40), ont également été décrits pour gagner en stabilité¹²⁹.



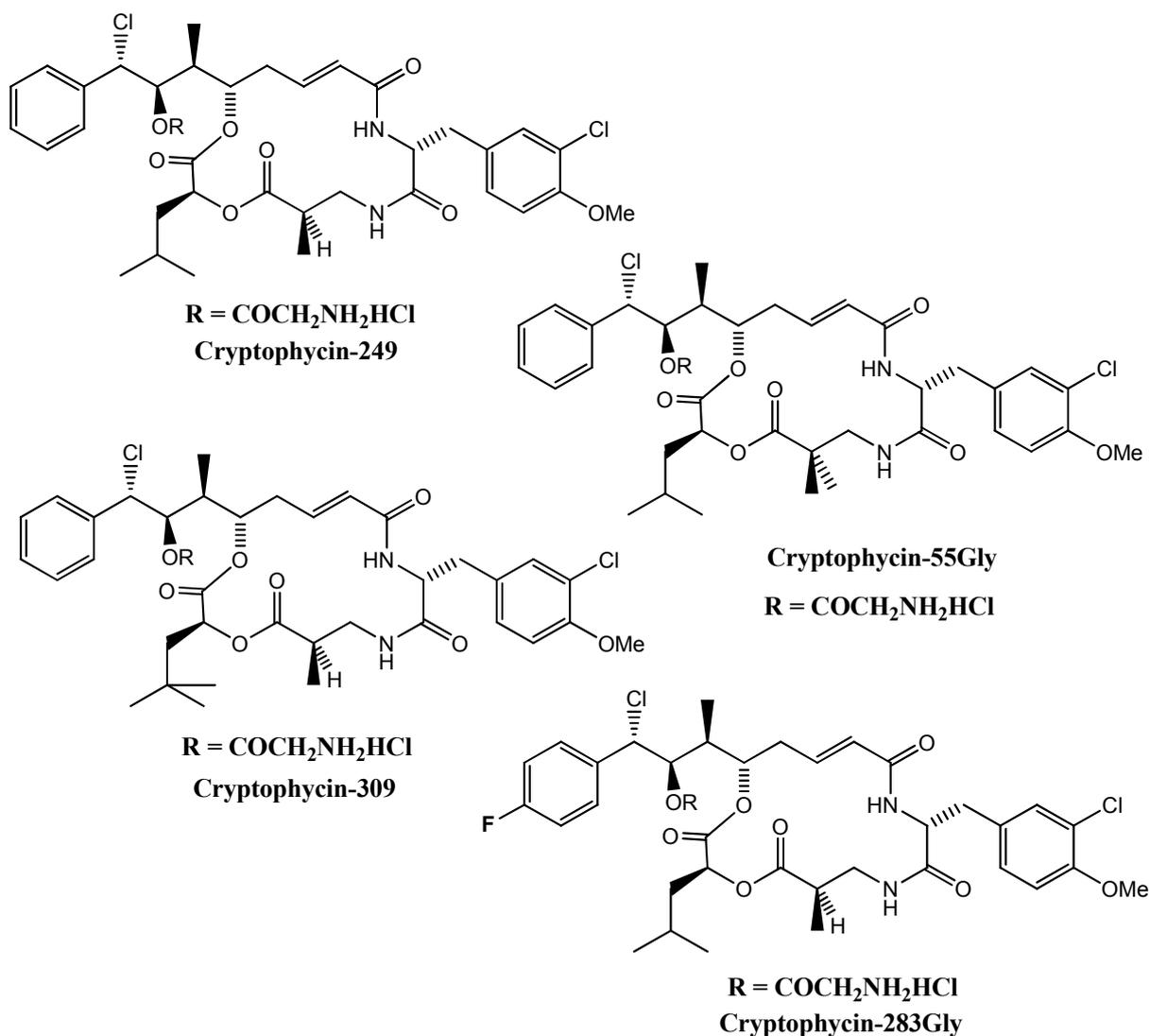
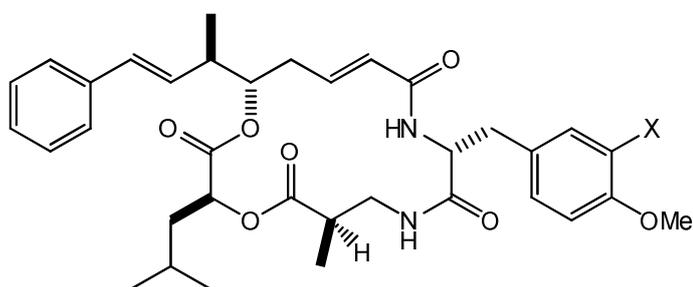


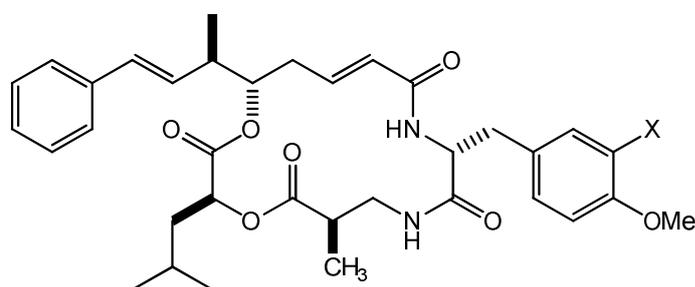
Figure 40 : Structures des cryptophycines à fonction chlorhydrine et de type glycinate de chlorhydrine.

1.3.3-Cryptophycines avec une insaturation sur l'unité A

Les cryptophycines-3 ou C, -4 ou -D et -51 représentées ci- dessous (Figure 41), et possédant une activité antitumorale, se caractérisent par la présence d'une insaturation en lieu et place de la fonction époxyde¹³¹⁻¹³³.



X = H, Cryptophycin-51

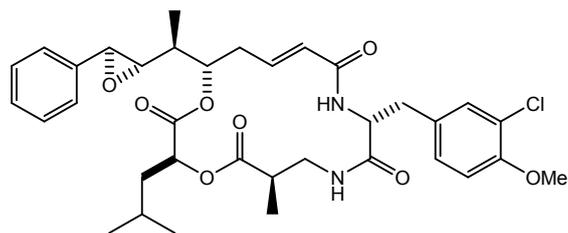


X = H, Cryptophycin D ou -4
X = Cl, Cryptophycin C ou -3

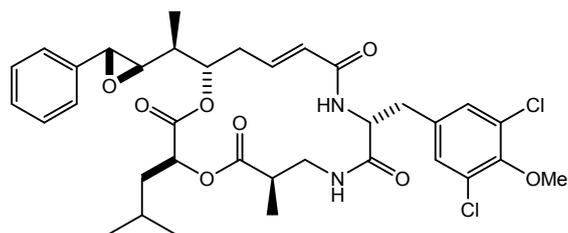
Figure 41 : Structure des cryptophycines-3, -4 et 51.

1.3.4-Autres Cryptophycines

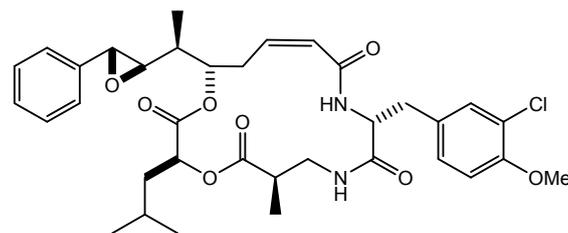
Quant aux cryptophycines-38, -326, et -327 (Figure 42), il s'agit de trois nouvelles substances isolées à l'état de traces à partir des mêmes algues citées précédemment (*Nostoc sp.*). La cryptophycine-38 est un stéréoisomère de la cryptophycine-1 et elle possède naturellement un époxyde de configuration (*S,S*) dans l'unité A. La cryptophycine-327 est un isomère géométrique de la cryptophycine-1, dont elle diffère par une double liaison *cis* dans l'unité A. La cryptophycine-326 (Figure 42), est relativement proche de la cryptophycine-21 (Figure 43) ; cependant, elle contient deux atomes de chlore en ortho par rapport au méthoxy dans l'unité B. Les stéréochimies absolue et relative du composé **2** (Figure 42) ont été liées à des cryptophycines connues par hémisynthèse et / ou l'analyse spectrale¹³⁴.



Cryptophycin-38



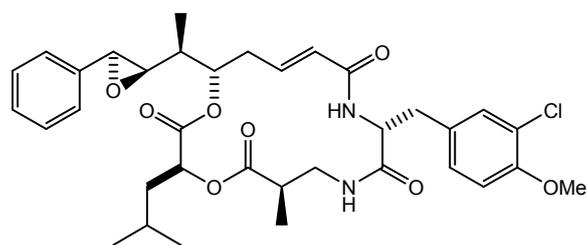
Cryptophycin-326



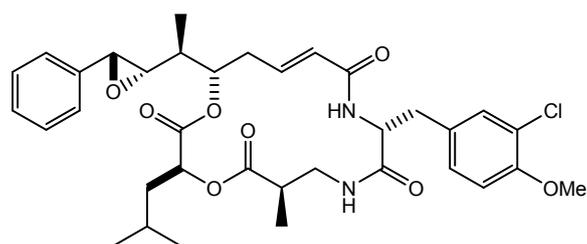
Cryptophycin-327

Figure 42 : Structure des cryptophycines-38, -326 et -327.

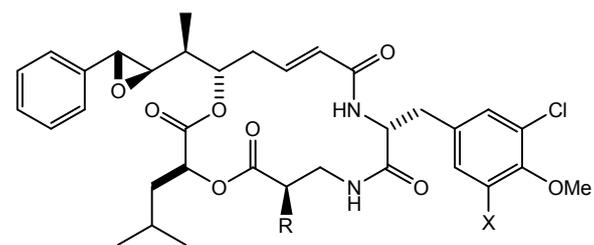
Des composés de structure apparentée à celle des cryptophycines-1, -39 et -77, (Figure 43), possèdent naturellement un époxyde de configuration (*R,S*) dans l'unité A. La Cryptophycine-31 (Figure 43), est assez semblable à la Cryptophycine-1 (Figure 42), mais elle présente deux atomes de chlore en ortho par rapport au méthoxy dans l'unité B. La cryptophycine-21 (Figure 43), de structure proche de celle de la cryptophycine-24 (Figure 39), présente un atome de chlore en ortho par rapport au groupe méthoxy dans l'unité B¹³⁴.



Cryptophycin-39



Cryptophycin-77

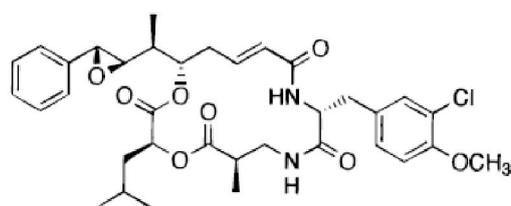


R = CH₃, X = Cl Cryptophycin-31
R = X = H Cryptophycin-21

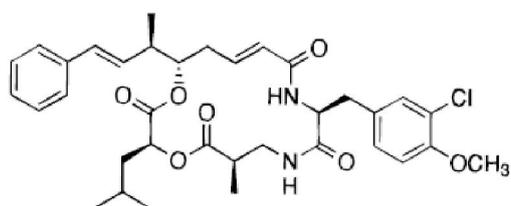
Figure 43 : Structure des cryptophycines-39, -77, -31 et -21.

Les cryptophycines -46 (2), -175 (3) et -176 (4) (Figure 44), ont été identifiées à l'état de traces comme trois nouveaux constituants de *Nostoc sp.* GSV 224. La cryptophycine-46 est un épimère de la cryptophycine-3 (5) (Figure 44), et à ce jour, elle constitue l'unique analogue naturel ayant une configuration (S) en C-10 (C-2 dans l'unité B)¹³⁵.

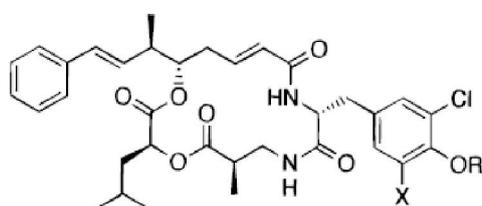
Les cryptophycines-175 et -176 (Figure 44), diffèrent également dans l'unité B, où 3 est l'analogue *O*-méthylé de la cryptophycine-45 (6), tandis que 4 est l'analogue *O*-déméthylé de la cryptophycine-21 (8). Les stéréochimies relatives et absolues des trois nouveaux analogues ont été établies par comparaison avec des cryptophycines connues, obtenues par synthèse¹³⁵.



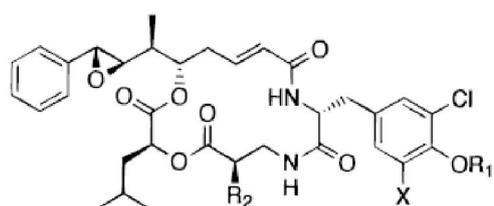
cryptophycin-1 1



cryptophycin-46 2



cryptophycin-175 3 R = CH₃ X = Cl
cryptophycin-3 5 R = CH₃ X = H
cryptophycin-45 6 R = H X = Cl



cryptophycin-176 4 R₁ = H X = H R₂ = H
cryptophycin-31 7 R₁ = CH₃ X = Cl R₂ = CH₃
cryptophycin-21 8 R₁ = CH₃ X = H R₂ = H
cryptophycin-16 9 R₁ = H X = H R₂ = CH₃
cryptophycin-23 10 R₁ = H X = Cl R₂ = CH₃

Figure 44 : Structure des cryptophycines-46, -175, -3, -45, 176, -16, -23.

2. SYNTHÈSE DES CRYPTOPHYCINES

La découverte des cryptophycines et la reconnaissance de leur activité exceptionnelle comme agents anti-microtubules a entraîné l'apparition d'un nombre relativement important de travaux indépendants les uns des autres, et visant des synthèses partielles ou totales. La complexité moléculaire des cryptophycines est modeste ; il semble donc probable que la plupart de l'activité de recherche ait été conduite par une prise de conscience du potentiel que ces composés constituaient une nouvelle classe d'agents chimiothérapeutiques contre les

tumeurs solides. Bien que les défis intellectuels de la conception et de la réalisation d'une synthèse à l'échelle du laboratoire aient également été modestes, on ne peut pas en dire autant de la conception d'une synthèse stéréosélective ayant pour objectif la mise au point de produits suffisamment efficaces à injecter dans des essais cliniques.

Un tel travail devait être en mesure de produire des quantités multi-kilogramme de matière, et il s'agit clairement de la limite supérieure de ce qui est actuellement possible dans le développement pharmaceutique. Que l'art et la pratique de la synthèse organique aient atteint leur maturité se reflète dans la diversité des méthodes et des stratégies qui ont été mises au point pour la construction de l'unité A. Celles-ci couvrent le spectre des réactions classiques d'aldolisation et de Diels-Alder à des approches chimioenzymatiques ainsi que des méthodes fondées sur liaison carbone-carbone, en ayant recours à la chimie des métaux de transition. Étant donné le potentiel clinique de ce groupe de produits naturels, il est sensé de s'attendre à ce que de nouvelles synthèses améliorées des cryptophycines continuent à être développées dans les années à venir.

2.1-Rétrosynthèse

Pour les besoins de la rétrosynthèse, la cryptophycine peut être décomposée en deux grandes unités. L'unité A, le seul fragment moléculaire polycétonique, représente le plus grand défi synthétique. L'unité inférieure est une séquence de trois acides aminés (Figure 45) que l'on peut facilement coupler les uns aux autres.

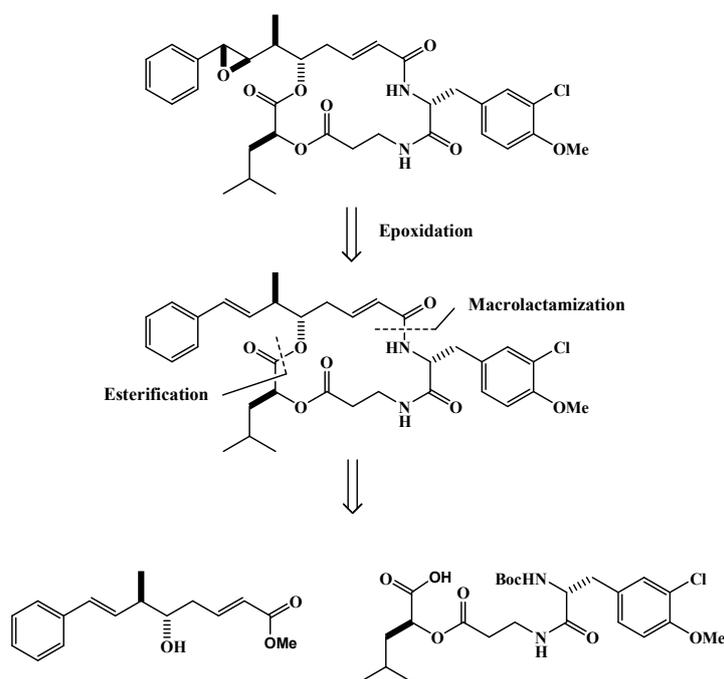


Figure 45: schéma rétro-synthétique de la cryptophycine.

2.2-Synthèse d'Hawaii

Le groupe Hawaii a été le premier à publier en 1994, la stéréochimie relative et absolue des cryptophycines¹³⁶. En 1995, cette première synthèse a corrigé les structures de cryptophycines

1 et 3. La nature modulaire de la structure de depsipeptide rend l'approche synthétique beaucoup plus simple qu'on ne le pensait auparavant.

L'unité **B** est la « *O*-méthyl-*D*-chlorotyrosine », alors que les unités C et D correspondent aux acides (*R*)-3-amino-2-méthylpropanoïque et (*S*)-2-hydroxy-4-méthylvalérique (acide L-leucique), respectivement. Il existe un certain nombre d'alternatives intéressantes pour réaliser la macrocyclisation. L'une des plus attrayantes consiste à joindre le bloc B à l'unité C avec une liaison amide au cours de l'étape clé. Cette approche tire profit de la faible gêne stérique du groupe amino primaire de l'unité C (Figure 46).

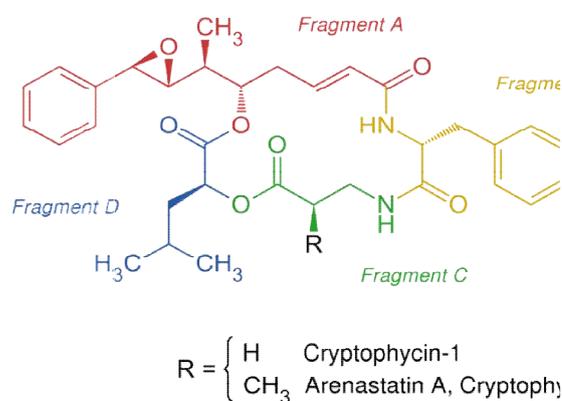


Figure 46: Déconnexion rétrosynthétique montrant les unités A, B, C et D.

La fonction époxyde de l'unité A pose problème. En effet, la forte réactivité de cet oxyde de styrène suggère qu'il serait plus prudent de le construire le plus tard possible dans la séquence synthétique, de préférence dans la dernière étape. On a supposé que dans un macrocycle du type cryptophycine, une face diastéréotopique, la double liaison styrénique, serait protégée par le volume de la molécule, laissant l'autre face ouverte pour une réaction sélective avec des réactifs électrophiles époxydation. Comme on le verra, cette hypothèse est fautive.

Le schéma 01 résume la première approche réussie de l'unité A : la réactivité similaire de l'atome de carbone benzylique de l'unité A est un motif récurrent dans la chimie de la cryptophycine.

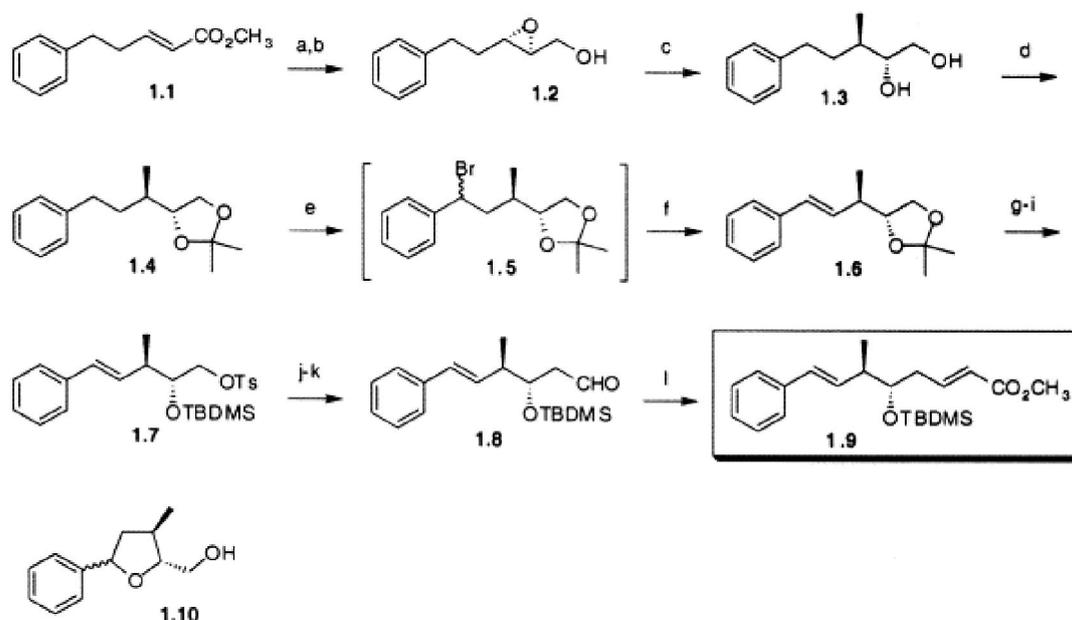


Schéma 01. (a) DIBAL-H, THF, -78 to 25°C , 90%; (b) L-(+)-DET, $\text{Ti}(\text{O}-i\text{Pr})_4$, $t\text{-BuOOH}$, CH_2Cl_2 , -20°C , 94%; (c) AlMe_3 , hexane/ CH_2Cl_2 , 0 – 25°C , 95%; (d) $(\text{MeO})_2\text{CMe}_2$, PPTS, CH_2Cl_2 , 25°C , 97%; (e) NBS, CCl_4 , $(\text{MeO})_2\text{CMe}_2$, $h\nu$, 25°C ; (f) DBU, 70°C , 80% (2 étapes); (g) 1% HCl/MeOH aqueux, 25°C , 93%; (h) $\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{OMe})_2$, PhMe, Dean-Stark; TsCl, Et_3N , 0 – 25°C , 82%; (i) TBSOSO $_2$ CF $_3$, Et_3N , CH_2Cl_2 , 25°C , 98%; (j) KCN, DMSO, 60°C , 92%; (k) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , -78 to 25°C , 95%; (l) $(\text{MeO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, TMG, THF, -78 to 25°C , 83%.

Cette première synthèse de l'unité A est assez longue ; cependant, le rendement global en aldéhyde dihydrocinnamique est élevé (29%). En outre, aucune de ces étapes ne nécessite l'utilisation de réactifs spéciaux ou des conditions extrêmes, et on dispose là d'une synthèse éminemment pratique de l'unité A. Pour ces raisons, la synthèse totale constitue le seul moyen de disposer du matériel pour des essais cliniques. Le schéma 02 montre l'assemblage des unités A et B.

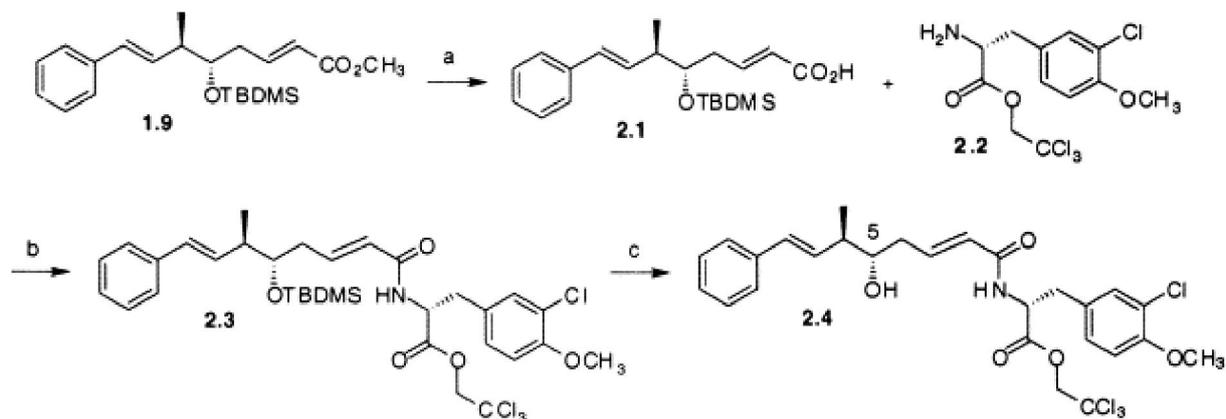


Schéma 2: (a) LiOH, acétone, 25°C , 95%; (b) FDPP, DIEA, DMF, 25°C , 73%; (c) MeCN, 50% HF aqueux (95/5), 25°C , 90%.

La synthèse Hawaii suit une stratégie très convergente par laquelle le composé 2.4 a été lié à l'unité C + D fragment 3.6 (schéma 03).

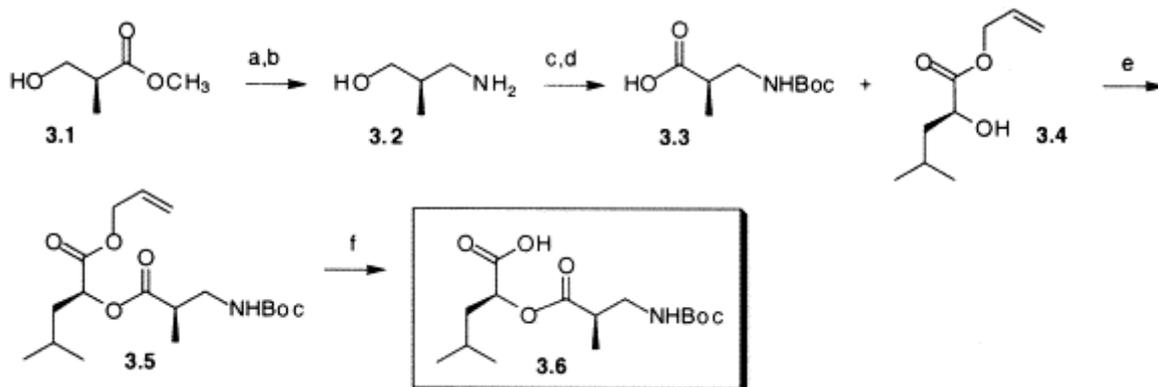


Schéma 3 : (a) NH_3 , MeOH, 50°C, tube scellé, 7 jours, 66%; (b) BH_3 -THF, THF, de 0°C à reflux, 77%; (c) $(\text{Boc})_2\text{O}$, Et_3N , MeOH, 25°C, 100%; (d) RuCl_3 , NaIO_4 , CCl_4 , MeCN, H_2O , 25°C, 74%; (e) DMAP, DCC, CH_2Cl_2 , 0–25°C, 92%; (f) THF, morpholine, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 25°C, 100%.

L'assemblage des deux grands fragments et le macrolactamisation sont résumés dans le schéma 4.

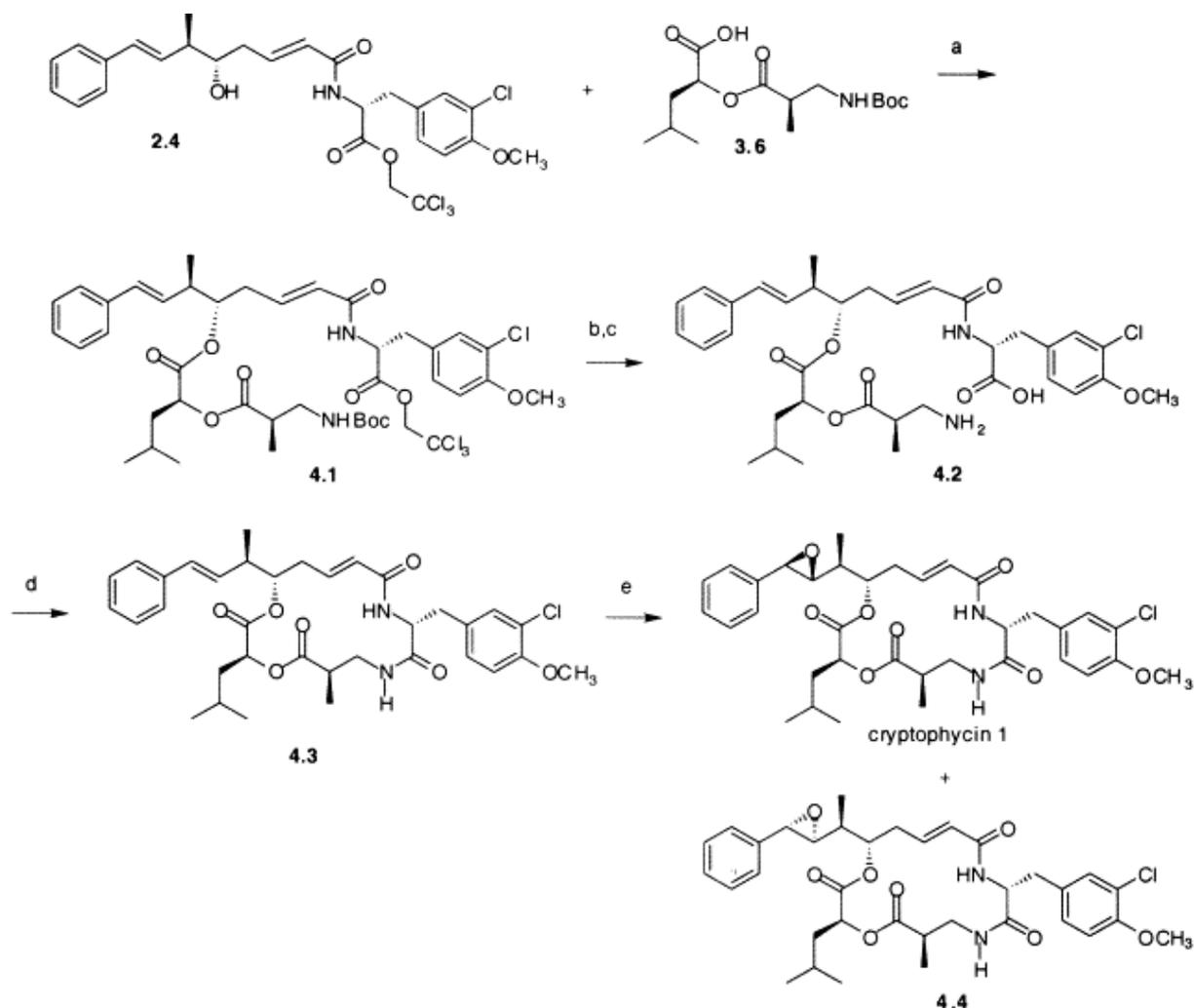


Schéma 04. (a) DMAP, DCC, CH_2Cl_2 , 0–25°C, 94%; (b) Zn, THF, AcOH, sonicate, 25°C; (c) TFA (neat), 25°C, 89% (2 étapes); (d) FDPP, DIEA, DMF, 25°C, 64%; (e) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , 0°C, ca. 2/1 cryptophycine 1/4.4.

La synthèse Hawaii a été discutée en détail parce que les synthèses suivantes ont invariablement, et à de degrés divers, emprunté ce même schéma.

2.3-Synthèse de Leahy-Gardinier

La première synthèse ayant comme objectif de résoudre le problème posé par la stéréochimie de l'époxyde est l'œuvre de Leahy et Gardiner¹³⁷ et elle est résumée dans le schéma 05. Il s'agit de la première synthèse très efficace de l'unité A avec contrôle de stéréochimie au niveau des atomes de carbone C7 et C8. Un diol a été utilisé comme équivalent synthétique de l'époxyde et la stéréochimie au niveau des atomes de carbone C7 et C8 a été établie dès le départ, ce qui évite toute ambiguïté quant à la stéréochimie de l'époxyde final. Il existe une limitation à cette stratégie, à savoir que la réaction de l'aldol d'Evans est sensible à la quantité de réactifs utilisés. Sur une plus grande échelle, des quantités croissantes de l'isomère indésirable **5.7** sont générées, ce qui a fait limiter les quantités de réactifs injectés dans la réaction à environ 2 g.

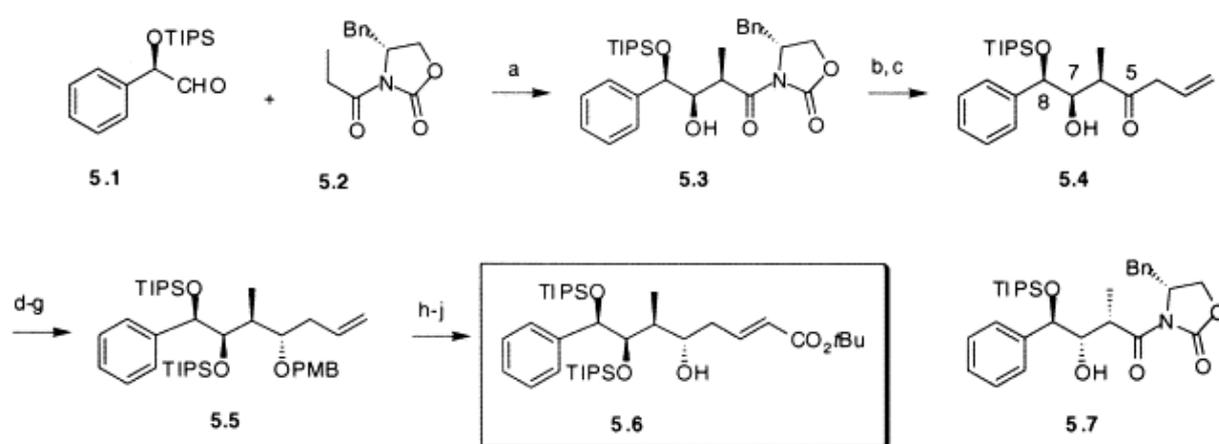


Schéma 05. (a) Bu_2BOTf , DIEA, 84%; (b) Me_3Al , $\text{MeONHMe}\cdot\text{HCl}$, 93%; (c) $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{MgBr}$, 92%; (d) MeCHO , SmI_2 , 96%; (e) $\text{PMBOC}(\text{NH})\text{CCl}_3$, cat. TfOH , 70%; (f) DIBAL-H , 90%; (g) TIPSOTf , DIEA, 93%; (h) OsO_4 , NMO ; NaIO_4 , 91%; (i) $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{tBu}$, DBU , LiCl , 90%; (j) DDQ , 95%.

Leahy et Gardinier suivent une stratégie un peu différente pour l'assemblage des unités B, C, et D. L'aminoalcool protégé **6.1** (Schéma 06) a été préparé à partir de la réduction d'un amide connu¹³⁸.

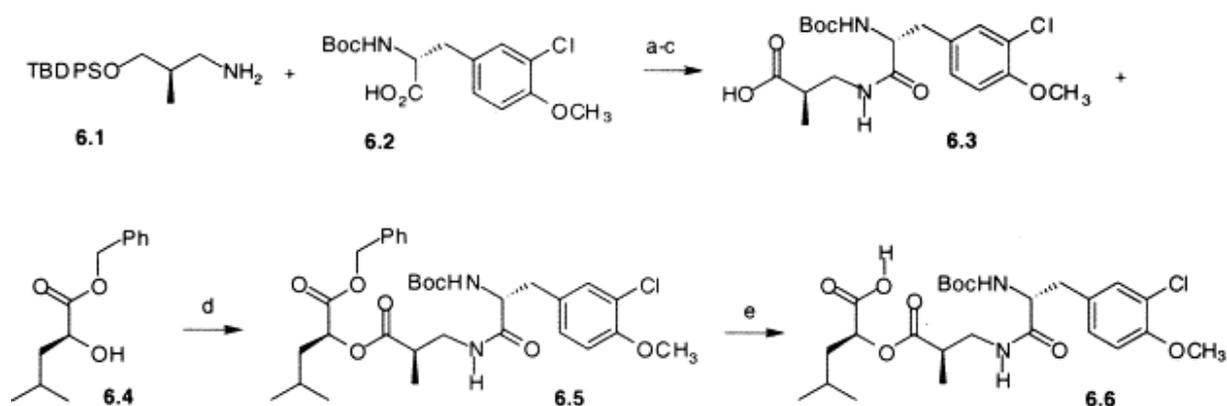


Schéma 06. (a) EDC , HOBT , 97%; (b) TBAF , 96%; (c) RuCl_3 , NaIO_4 , 83%; (d) DCC , 95%; (e) Ra/Ni , H_2 , 84%.

Les dernières étapes de la synthèse de Leahy-Gardinier sont résumées dans le schéma 07. L'exposition de **7.4** à la triphénylphosphine en présence d'eau conduit à une réaction de Staudinger avec génération d'un groupe amino primaire qui subit ensuite une réaction intramoléculaire de lactamisation pour produire la chlorhydrique C7-C8. Une brève exposition de la chlorhydrique au carbonate de potassium dans l'acétone conduit à cryptophycine 1 (Schéma 07).

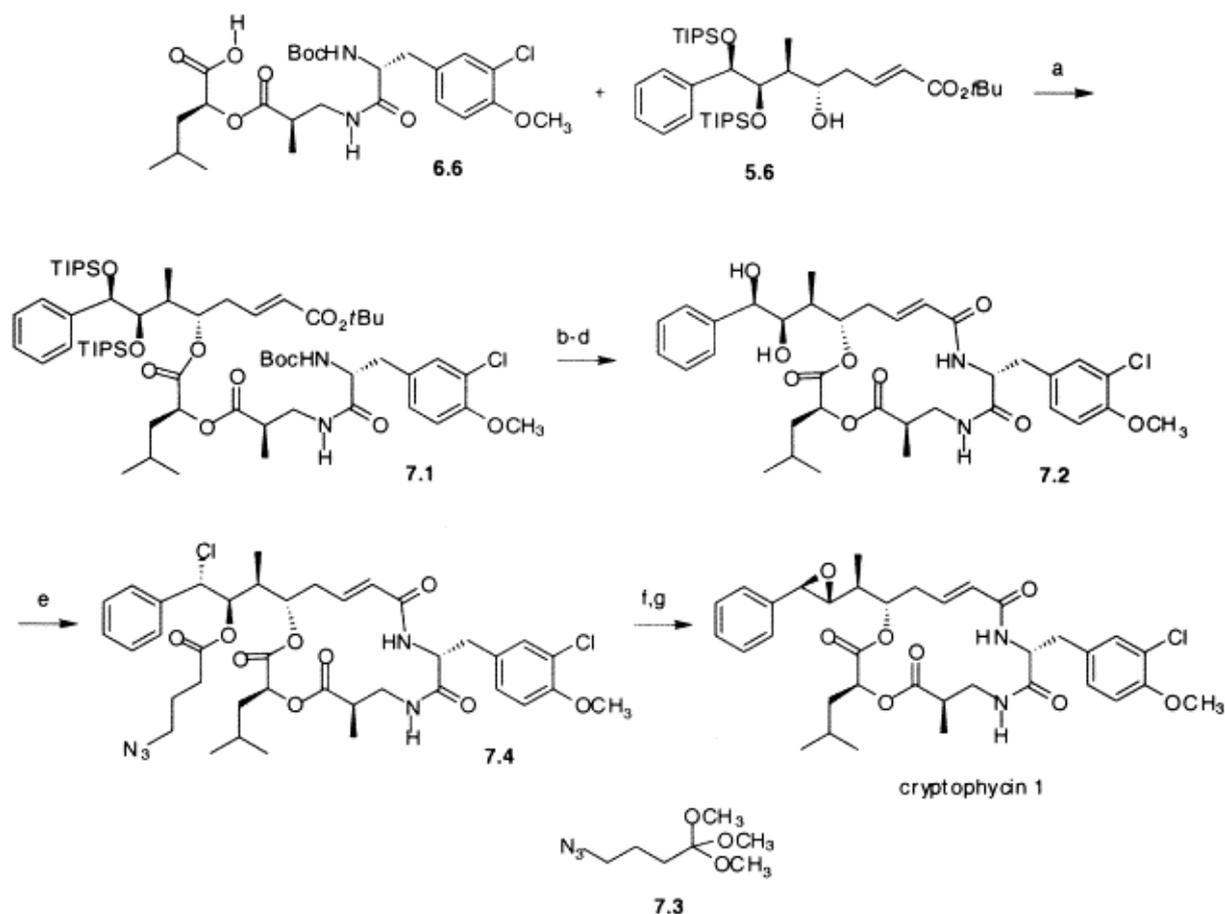


Schéma 07. (a) DIPEA, chlorure de 2,4,6-trichlorobenzoyl, 91%; (b) HCl, EtOAc; (c) hexafluorophosphate *O*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-bis(pentaméthylène)uronium, 76% (2 étapes); (d) TBAF, 95%; (e) **7.3**, TMS-Cl, 63%; (f) PPh₃, H₂O, 63%; (g) K₂CO₃, acétone, 98%.

La synthèse de Leahy-Gardinier est exceptionnellement intelligente, et se prête remarquablement bien à la résolution de plusieurs problèmes qui sont posés par la structure des cryptophycines. En effet, elle consiste en l'utilisation de l'aldol d'Evans avec un dérivé du mandélaaldéhyde **5.1**, suivie de la réduction de Tishchenko du groupe cétone C5 et la conception de l'azidoester **7.3** afin de surmonter les limites de la procédure de Sharpless conventionnelle.

2.4-Synthèse de Tius-Li :

L'acide (R)-mandélique est la matière première de départ dans la synthèse de l'unité A. Il est apparu possible d'élaborer cette unité en utilisant l'acide mandélique comme seule source d'asymétrie¹³⁸ (schéma 08).

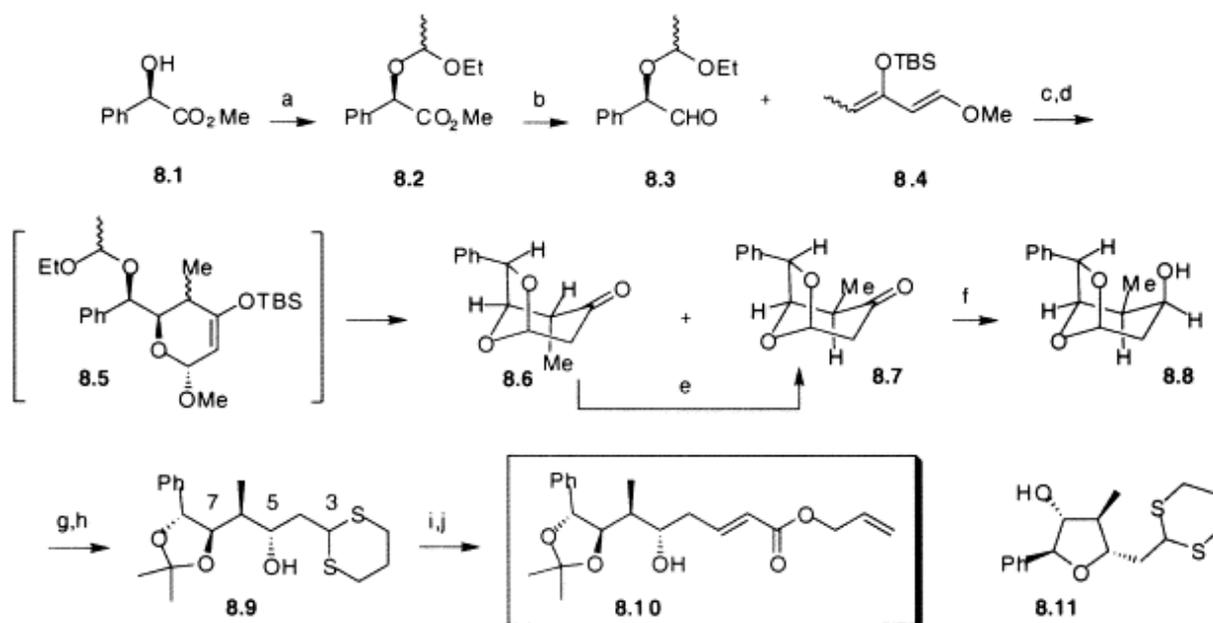


Schéma 08. (a) éther éthyl vinylique, PPTS; (b) DIBAL-H, éther, -78°C ; (c) MgBr_2 , THF, $36-42^{\circ}\text{C}$; (d) TFA, THF, **8.6/8.7**=10/1; (e) KF, alumine, MeCN, **8.6/8.7**=1/4, 48% (rendement global de **8.7** à partir de **8.1**); (f) L-selectride, THF, -78°C , 93%; (g) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , $\text{HS}(\text{CH}_2)_3\text{SH}$, 0°C , 85%; (h) $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, TsOH, acétone, 93%; (i) MeI, CaCO_3 , MeCN, H_2O , 70°C ; (j) LiClO_4 , DIPEA, MeCN, $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, 68% from **8.9**.

La réaction de Horner-Emmons avec l'allyldiéthylphosphonoacétate conduit à l'unité **8.10** à 68% de rendement global pour les deux étapes de **8.9**. Il est à noter que le groupe hydroxyle C5 n'a, en aucun moment, été protégé au cours de cette synthèse. L'ester allylique de **8.10** a été clivé avec un rendement quantitatif en présence d'une quantité catalytique de palladium (0) et de morpholine (schéma 09)¹³⁹. Le groupe de protection trichloréthyle dans l'unité B sert à activer l'ester au cours de la macrolactamisation. Les conditions de Lilly pour la macrolactamisation ne nécessitent pas de réactifs de couplage peptidique coûteux, et sont bien adaptés aux travaux à grande échelle.

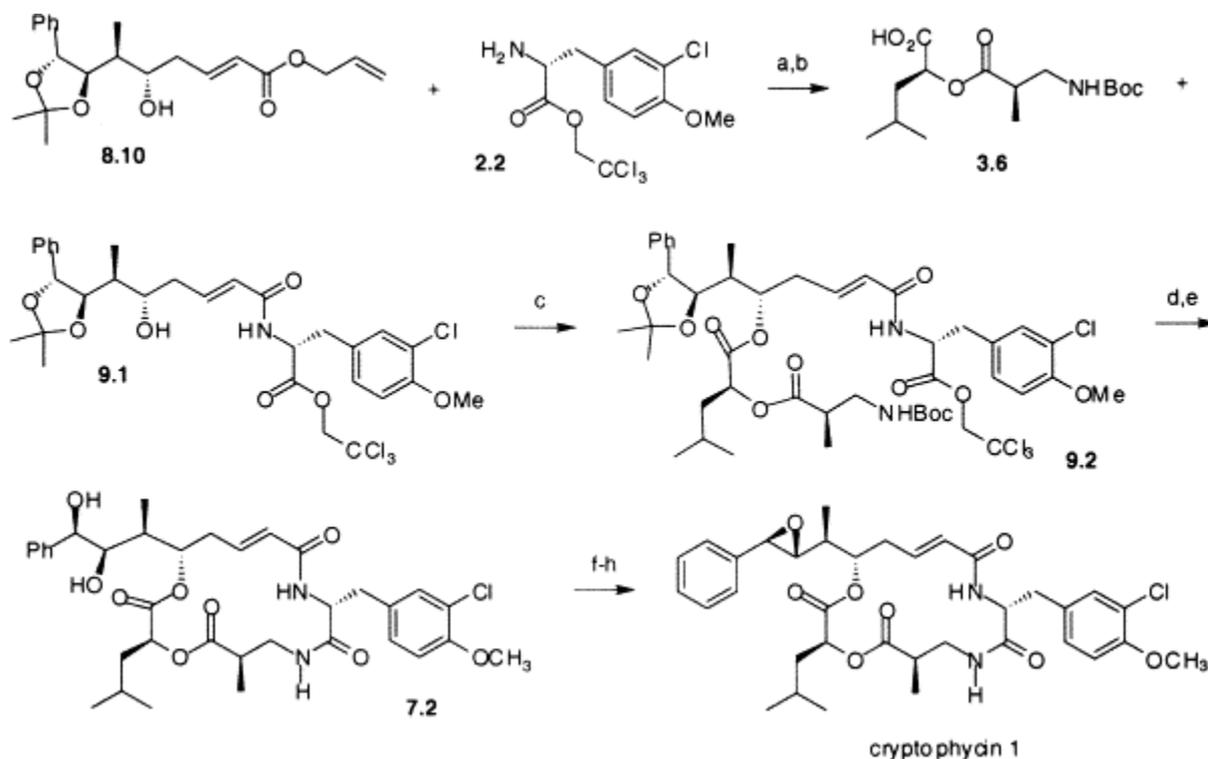


Schéma 09. (a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, morpholine, 100%; (b) Et_3N , EDCl, CH_2Cl_2 , 0°C to rt, 81%; (c) DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , 81%; (d) TFA, CH_2Cl_2 , 0°C ; (e) 2-hydroxypyridine, PhMe, rt, 62% à partir de **9.2**; (f) $(\text{MeO})_3\text{CH}$, PPTS, CH_2Cl_2 , rt; (g) AcBr, CH_2Cl_2 , rt; (h) KHCO_3 , DME/EtOH/MeOH (6/4/1), 40°C , 70% à partir de **7.2**.

Comme l'un des objectifs des auteurs consistait à développer une synthèse de cryptophycine aussi simple que possible, ils décidèrent de ne pas faire usage de l'azido orthoformiate **7.3** (Schéma 07) pour obtenir le diol clé lors de la transformation de l'époxyde. Tius-Li étaient conscients de la labilité de la liaison ester entre l'unité C et l'unité D vis-à-vis des bases. C'est pourquoi ils utilisèrent une modification du procédé de Sharpless. Cela consistait en un traitement de **7.2** par l'orthoformiate et PPTS triméthyle, suivi par le bromure d'acétyle, pour conduire à un formiate de bromhydrine sensible, qui n'a pas été purifié.

L'exposition de ce produit intermédiaire au bicarbonate de potassium en poudre dans un mélange 6/4/1 de DME / éthanol / méthanol à 40°C pendant 24 h conduit à la cryptophycine **1** avec 70% de rendement global à partir de **7.2**. Les conditions pour la conversion du formiate de la bromhydrine en époxyde ont été développées à travers un processus d'optimisation minutieuse. La petite quantité de méthanol présent dans le mélange réactionnel est nécessaire pour dissoudre partiellement le bicarbonate. Cependant, une plus grande proportion de méthanol conduit à la méthanolyse de l'ester formant la jonction entre l'unité C et l'unité D. En résumé, cette synthèse de la cryptophycine est à la fois efficace (6,8% de rendement global) et stéréospécifique (le (*R*)-mandelate de méthyle sert comme seule source de l'asymétrie de l'unité A). L'élément clé de cette synthèse est la réaction d'hétéro-Diels-Alder stéréoconvergente qui est utilisée pour assembler l'unité A.

2.5-Synthèse chimioenzymatique de Sih : Synthèse de l'unité A

La synthèse de l'unité A par Sih repose sur une hydrolyse enzymatique d'un ester racémique dans l'étape clé (Schéma 10)¹⁴⁰. Cette synthèse fournit une illustration de l'utilité synthétique d'une résolution cinétique médiée par des enzymes ; le rendement est inférieur à celui de la première synthèse Hawaii (29% pour l'unité A). En outre, la nécessité de séparer et recycler **10.6** à **10.7** en diminue l'utilité. Néanmoins, Sih note que « la synthèse d'Hawaii est relativement longue et n'est pas facilement adaptable à la synthèse de cryptophycines à l'échelle du gramme ».

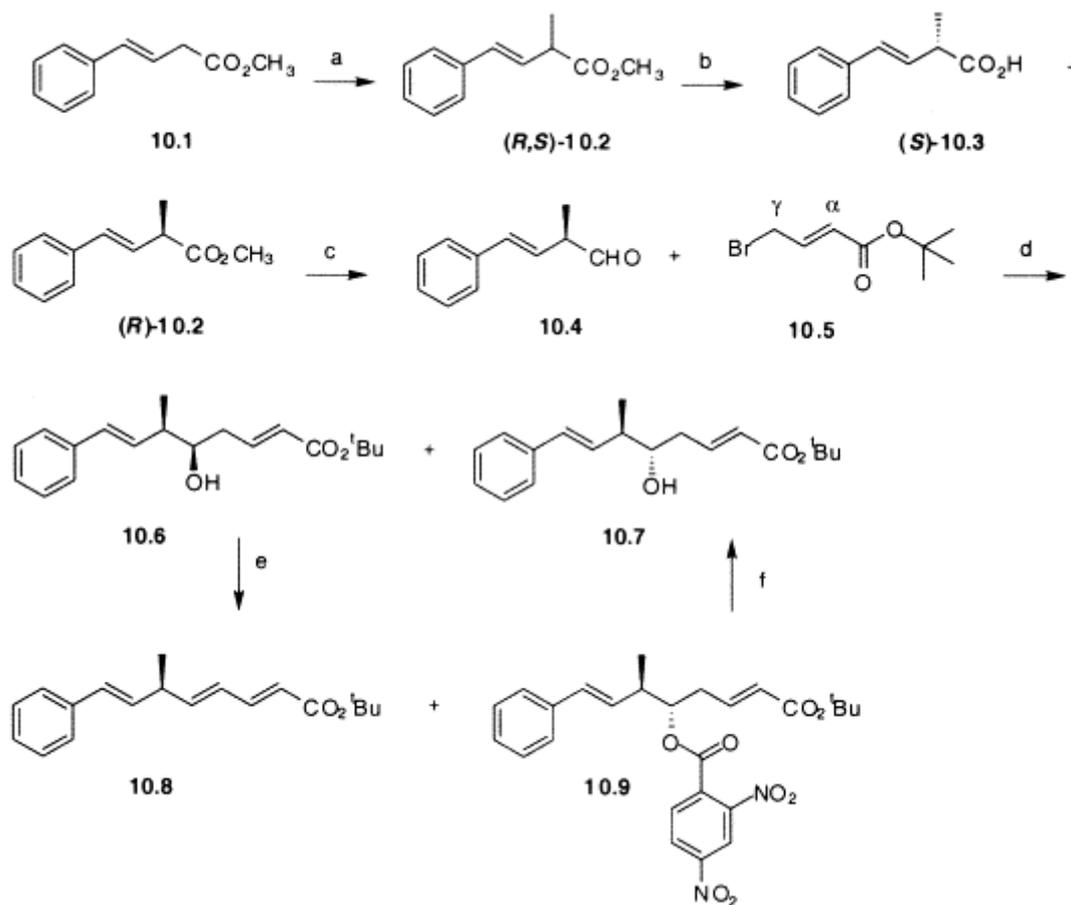


Schéma 10. (a) LDA, Me₂SO₄, THF, 92%; (b) *Candida rugosa* lipase traité par l'isopropanol, 0.2 M tampon phosphate, ta, (S)-**10.3** 45% (ee>96%), (R)-**10.2** 48% (ee>96%); (c) DIBAL-H, Et₂O, -70°C, 95%; (d) Zn-Pb, Et₂O/PhH (1/1), **10.6** 22% (ee>96%), **10.7** 18% (ee>96%), α-isomères 25%; (e) acide 2,4-dinitrobenzoïque, DEAD, PPh₃, **10.8** 15%, **10.9** 59%; (f) K₂CO₃, MeOH, 30 min, 92%.

La déclaration de Sih doit être interprétée à la lumière des commentaires suivants par Moher, Moore et leurs collègues : « Nous avons adopté la synthèse de Moore-Tius pour accéder à la synthèse de la cryptophycine 52. Ceci nous a permis d'obtenir des fragments et intermédiaires de **2** susceptibles d'être engagés dans des essais cliniques et des études SAR ». (Figure 39)¹⁴¹.

2.6-Synthèse chimioenzymatique de Lilly

Les chimistes de la société Eli Lilly ont décrit une approche chimioenzymatique réussie pour obtenir l'unité A (Schéma 11)¹⁴².

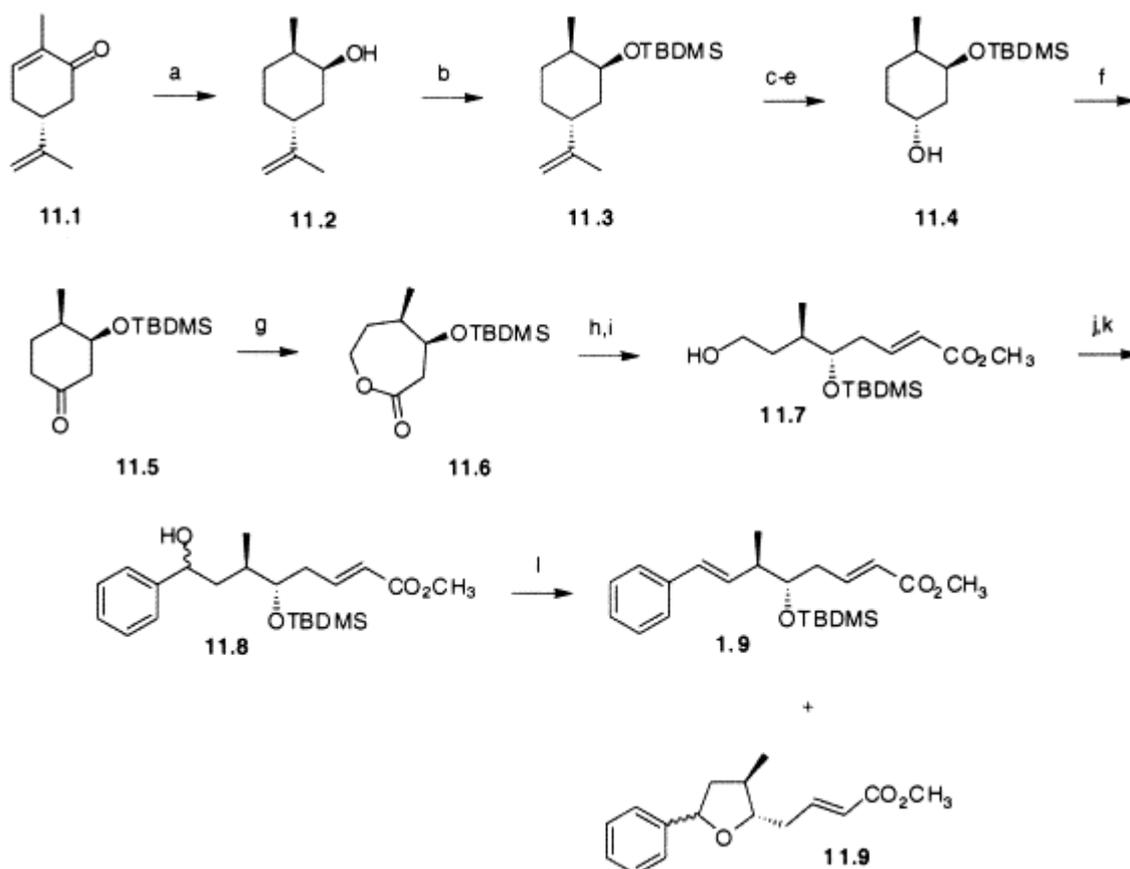


Schéma 11. (a) *Trigonopsis variabilis*, pH 7 tampon, glucose, 50–62%; (b) TBDMSCl, DBU, DMF, 87%; (c) O₃, MeOH, CH₂Cl₂; (d) Ac₂O, DMAP; (e) NaOH, MeOH, 73% (3 étapes); (f) TEMPO (cat.), NaOCl, CH₂Cl₂, 87%; (g) CF₃CO₃H, CH₂Cl₂, TFA (1/4), -15°C, 2 h, 81%; (h) DIBAL-H, PhMe, -78°C; (i) (MeO)₂POCH₂CO₂Me, TMG, THF, 66% (2 étapes); (j) TEMPO (cat.), NaOCl, CH₂Cl₂; (k) PhMgBr, -78°C, 67% (2 étapes); (l) 3 equiv. Ms₂O, 9 equiv. Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, 42 h, 53%. 67% (2 étapes); (l) 3 equiv. Ms₂O, 9 equiv. Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, 42 h, 53%.

2.7-Synthèse de l'unité A via un réarrangement [2,3]-Wittig :

La synthèse via un réarrangement [2,3]-Wittig de l'unité A est résumée dans le schéma 12¹⁴³.

144.

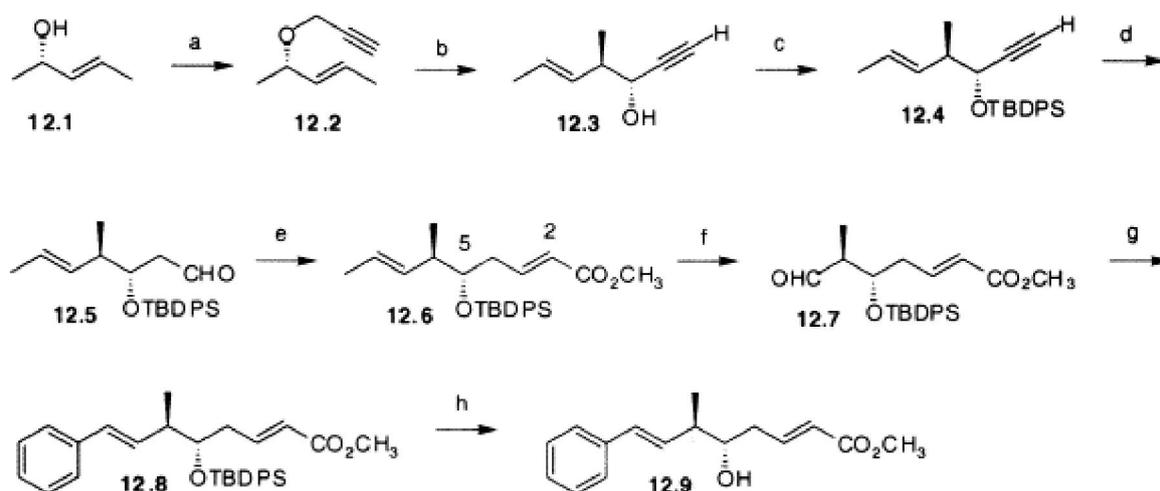


Schéma 12. (a) bromure de propargyle, 50% NaOH aq., *n*-Bu₄NHSO₄ (cat.), 86%; (b) *n*-BuLi, THF, de -90°C à ta, 71%; (c) TBDPSCl, DMF, imidazole, 92%; (d) 2-méthyl-2-butène, BH₃·THF, 0°C; H₂O₂, KH₂PO₄/K₂HPO₄ aq. (2.2 M), 0°C, 83%; (e) (MeO)₂POCH₂CO₂Me, TMG, THF, -78°C, 92%; (f) O₃, CH₂Cl₂, pyridine, Sudan 7B, -78°C; Zn, HOAc, 85%; (g) PhCH=PPh₃, THF, de -78°C à ta; PhSH, VAZO 88, PhMe, reflux, 82%; (h) HF aqueux, MeCN, rt, 93%.

Cette synthèse de l'unité A, comme la synthèse chimioenzymatique de Lilly, suit une stratégie de «dernier phényle». Bien qu'elle soit bien adaptée à la préparation de divers analogues du cycle phényle de l'unité A à partir d'un précurseur commun, on peut se demander si, dans le cas présent, une synthèse plus efficace de **12.9** n'aurait pas été possible en intégrant le groupe phényle au début de la séquence (Schéma 13). L'éther propargylique racémique **13.1** a été préparé d'une manière simple à partir de la propenyl phénylcétone en deux étapes. Dans ce cas, toutes les tentatives pour effectuer le réarrangement anionique [2,3] de Wittig ont échoué.

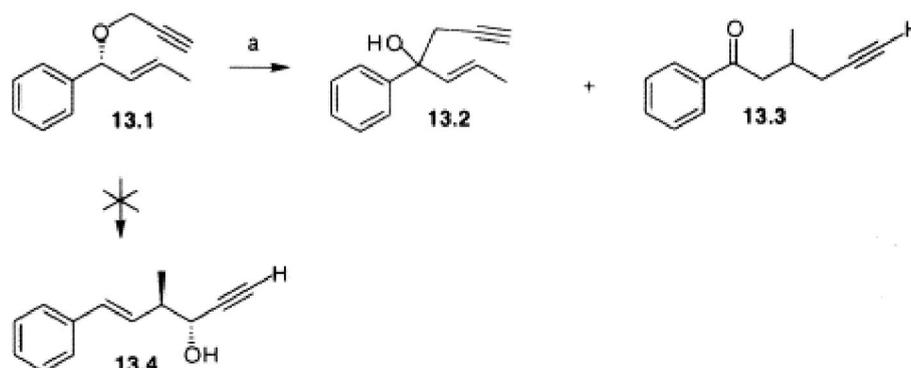


Schéma 13. (a) *n*-BuLi, PhLi or *t*-BuLi, **13.2/13.3** ca. 1/2.5.

2.8-Crotylboration asymétrique.

La réaction de crotylboration asymétrique fournit un excellent moyen pour contrôler la stéréochimie relative et absolue sur C5 et C6 de l'unité A¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Michael Martinelli et

collègues au sein du Groupe des procédés chimiques à Eli Lilly Company ont décrit une très brève synthèse de l'unité A à base de cette stratégie (schémas 14 et 15).

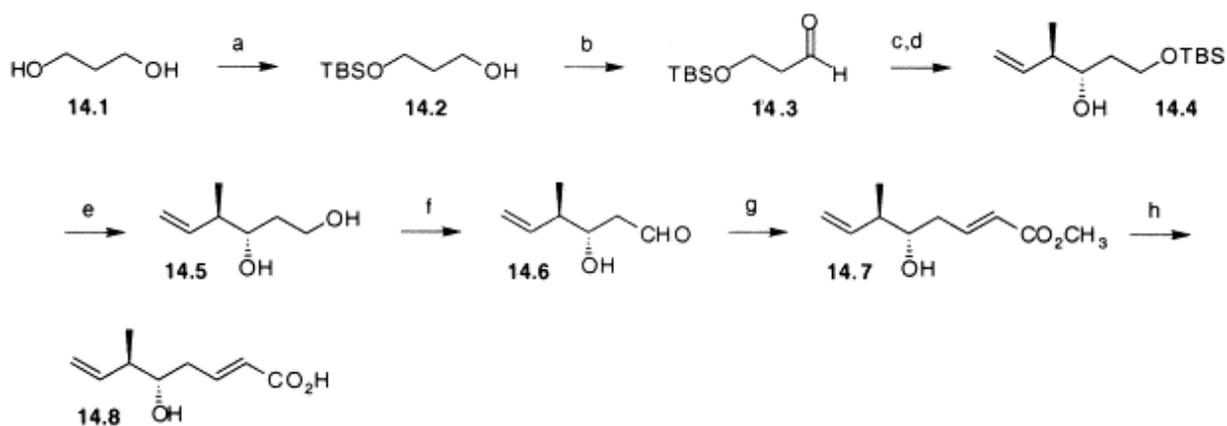


Schéma 14. (a) NaH, TBSCl, THF, 0°C, 95%; (b) TEMPO (cat.), NaOCl, NaHCO₃, CH₂Cl₂, (pH 9.0–9.2), 91%; (c) (*E*)-crotyldiisopinocampheylborane, Et₂O, –78°C; (d) H₂O₂, NaOAc, 67% à partir de **14.3**; (e) TBAF, 100%; (f) TEMPO (cat.), NaOCl, NaHCO₃, CH₂Cl₂, (pH 9.0–9.2), 100%; (g) (MeO)₂POCH₂CO₂Me, base; (h) KOH, 85% à partir de **14.4** (4 étapes).

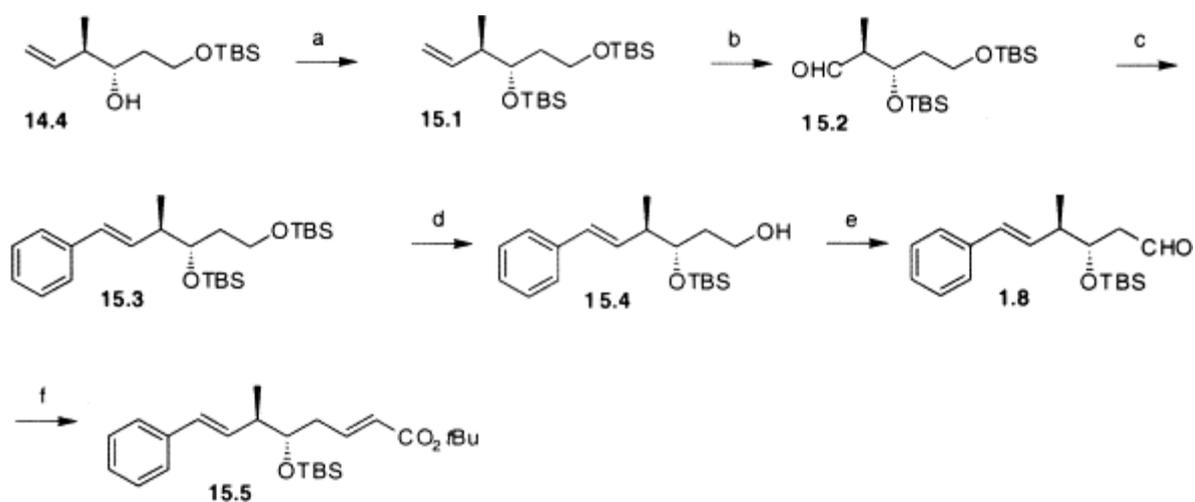


Schéma 15. (a) TBSCl, imidazole, DMF, rt, 93%; (b) O₃, –78°C; Me₂S, TA, 62%; (c) PhCH₂PO(OEt)₂, *n*-BuLi, THF, –78°C to rt, 79%; (d) HF–pyridine, THF, 99%; (e) Dess–Martin, CH₂Cl₂, 98%; (f) Ph₃PCHCO₂*t*Bu, CH₂Cl₂, 85%.

La synthèse de White est remarquable pour plusieurs raisons. Le rendement global est élevé: 20%. En outre, l'utilisation du diéthylbenzylphosphonate définit une alternative intéressante au réactif de Wittig classique lors de l'introduction de la fonction de styrène. En plus de l'approche crotylboration énantiosélective, White a également mis en lumière une stratégie connexe, basée sur une allylation diastéréosélective d'un aldéhyde chiral non racémique.

2.9-Allylstannation diastéréosélective

La synthèse de l'allylstannation de l'unité A par White et ses collègues a eu recours à l'aldéhyde (*R*) **16.1** (Schéma 16)¹⁴⁸.

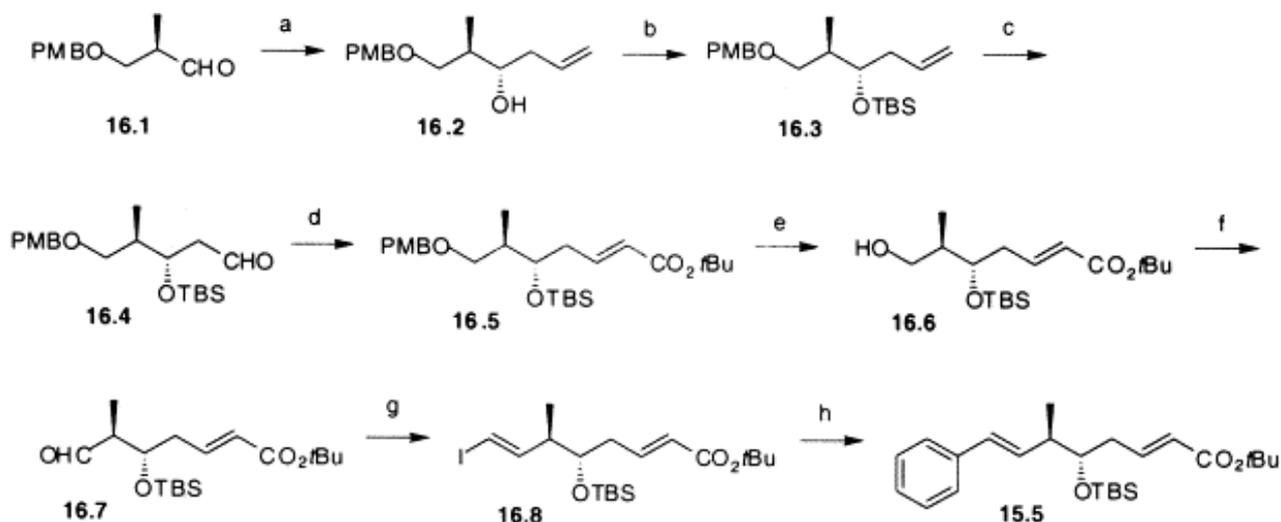


Schéma 16. (a) $\text{Bu}_3\text{SnCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, SnCl_4 , CH_2Cl_2 , -100°C , 76% (20/1); (b) TBSCl, DMF, imidazole, 91%; (c) cat. OsO_4 , NaIO_4 , THF aqueux, 76%; (d) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2t\text{Bu}$, CH_2Cl_2 , 95%; (e) DDQ, CH_2Cl_2 , H_2O , 0°C , 92%; (f) Dess–Martin, CH_2Cl_2 , 92%; (g) CHI_3 , CrCl_2 , THF, 0°C , 92%; (h) PhSnMe_3 , $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, DMF, 67%.

Bien que l'allylation de l'unité A ait été réussie (14% de rendement global à partir de **16.1**), la modeste diastéréosélectivité de l'étape clé, et la nécessité de séparer le diastéréoisomère mineur du mélange, ont contribué à diminuer l'attrait de ce schéma, ce qui a incité White et ses collaborateurs à développer la synthèse du schéma 15.

2.10-Synthèse en passant par un auxiliaire chiral

Une stratégie distincte pour la synthèse de l'unité A a été développée par Kobayashi et ses collaborateurs dans le cadre de l'amélioration de leur synthèse de l'arenastatine A¹⁴⁹. Les arenastatines ont été isolées à partir de l'éponge *Dysidea arenaria* d'Okinawa, et elles sont structurellement similaires aux cryptophycines.

Leur unité B est constituée par la D-*O*-méthyltyrosine, qui est facilement préparée à partir de l'acide aminé non naturel disponible dans le commerce, alors que l'unité C est achirale (β -alanine). Pour ces raisons, la synthèse d'arenastatines est plus abordable que celle des cryptophycines. Bien que les arenastatines aient une bonne activité anti-tumorale in vitro, elles sont essentiellement inactives in vivo. C'est certainement dû en grande partie à leur plus grande propension à la scission hydrolytique de la liaison ester (unité C-unité D). En raison de cette activité moindre, leur synthèse s'est limitée à se focaliser sur leur utilité en tant que

simples analogues des cryptophycines. La synthèse de Kobayashi et ses collègues est résumée dans le schéma 17.

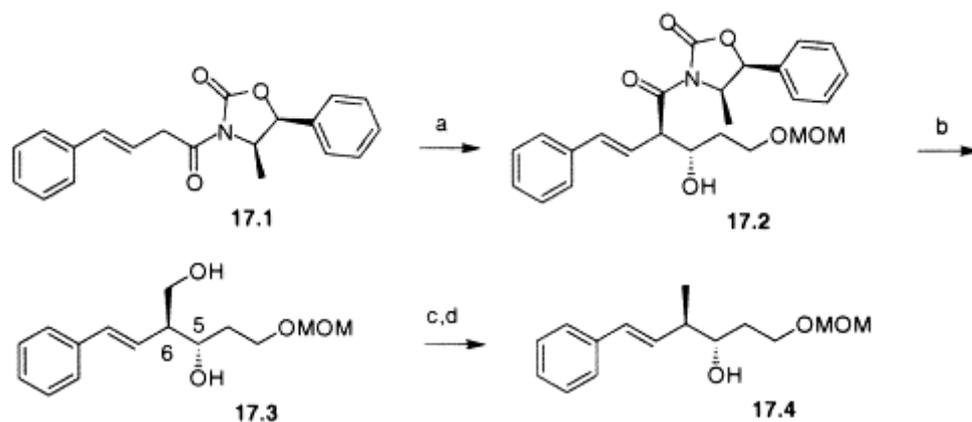


Schéma 17. (a) Bu_2BOTf , Et_3N , CH_2Cl_2 ; $\text{MeOCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$, 95% (de>99%); (b) Bu_3B , AcOH , LiBH_4 , THF , 80%; (c) TsCl , pyr ; (d) LiEtEt_3H , THF , 88% (2 étapes).

Une synthèse de l'unité A, étroitement liée à la précédente, a été décrite par Ghosh et Bischoff, le principal point de différence avec les autres travaux étant l'utilisation de (+) - (1*R*, 2*S*) - 1 - (N-tosylamino)-2-indanol¹⁵⁰.

2.11-Hydrogénation de Noyori-alkylation Fráter

Georg et ses collègues¹⁵¹ ont fait un usage intelligent de l'hydrogénation asymétrique de Noyori afin de contrôler la stéréochimie absolue au C5 de l'unité A (Schéma 18)¹⁵².

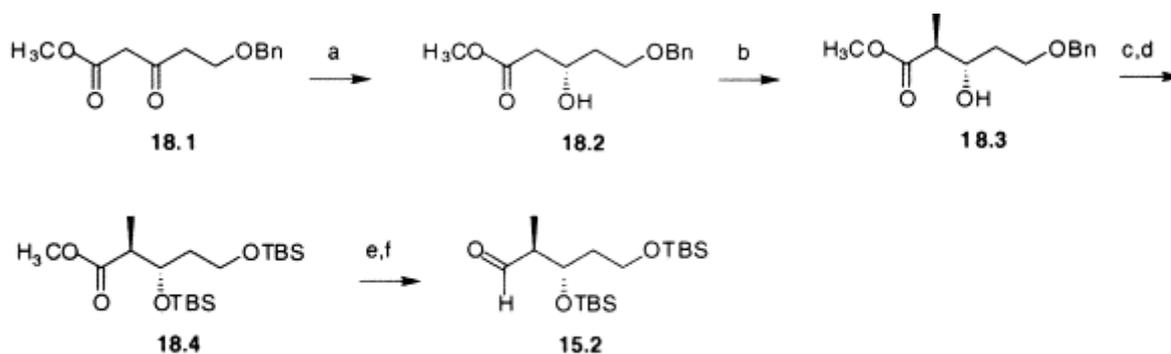


Schéma 18. (a) H_2 , (*S*)-BINAP- RuBr_2 , 97% (97% ee); (b) LDA , HMPA , MeI , THF , 74% (92% de); (c) H_2 , Pd/C , THF ; (d) TBSCl , DMF , imidazole, 93% (2 étapes); (e) DIBAL-H , THF , -78 to -10°C , 90%; (f) TPAP , NMO , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeCN}$ (10/1), 4 Å tamis, 88%.

La synthèse de Georg fournit une belle illustration de l'utilité durable de cette méthode dans la synthèse.

2.12-L'anhydride (*S*) - (-)-2-Acétoxysuccinique en tant que matériau de départ pour l'unité A.

Une autre synthèse a été décrite par Lavallée et ses collègues à BioChem Therapeutics, Inc. (Schéma 19)¹⁵³.

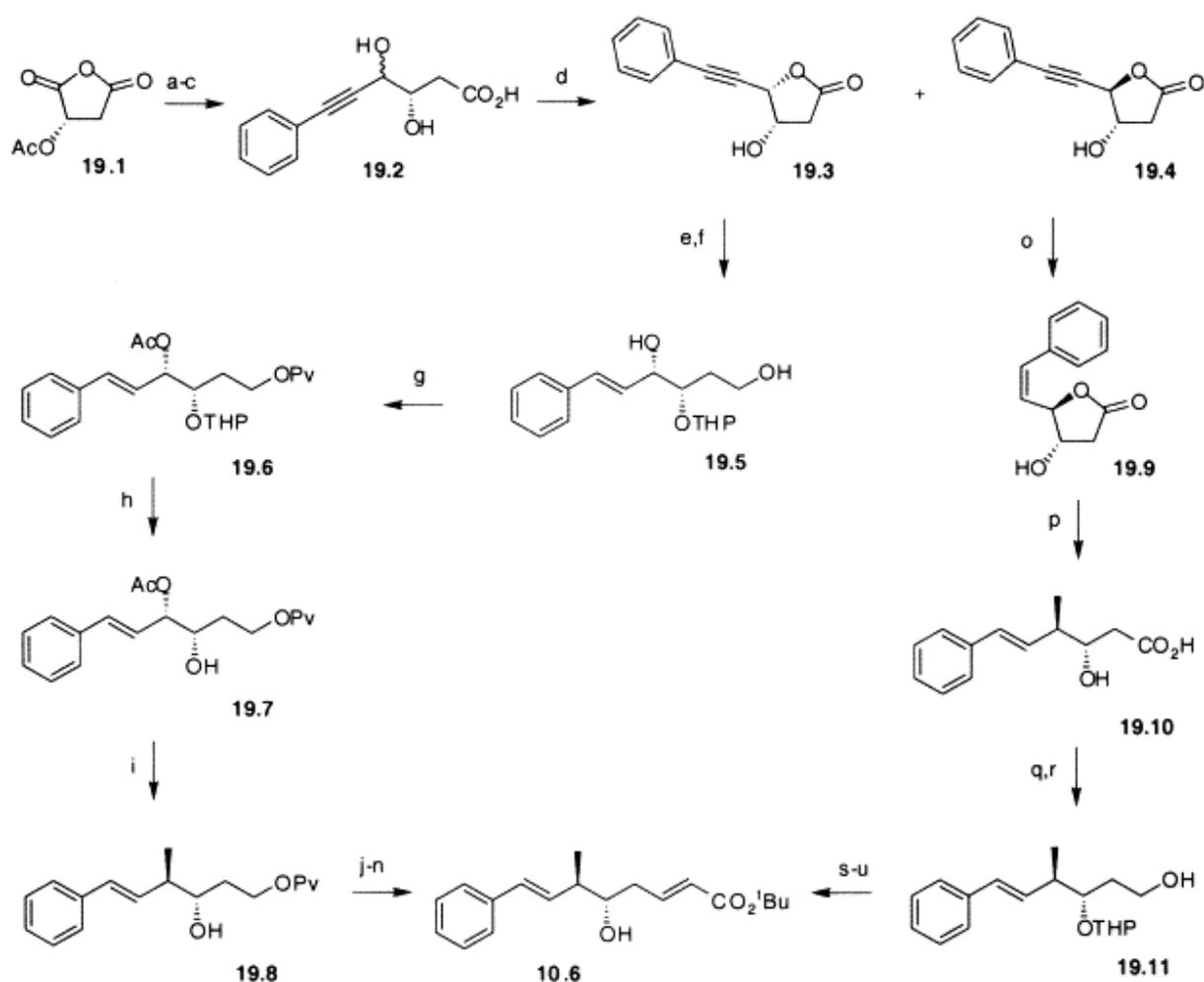


Schéma 19. (a) Li-phénylacétylure, THF, -78°C ; (b) NaBH_4 , EtOH, -78°C ; (c) NaOH, 0°C , 73% (3 étapes); (d) TsOH, PhH, 50°C , 63% à partir de phenylacetylene; 43% for **19.3**, 45% for **19.4**; (e) DHP, TsOH, THF, rt, 92%; (f) LAH, Et₂O, rt, 100%; (g) PivCl, pyr, DMAP, 0°C to rt; Ac₂O, 59%; (h) HOAc, H₂O, rt, 3 h, 100%; (i) Me₂CuLi, Et₂O, 0°C , 34%; (j) DHP, TsOH, THF, rt, 98%; (k) LAH, THF, 0°C , 97%; (l) DMSO, TEA, (COCl)₂, CH₂Cl₂, -78 to 0°C ; (m) Ph₃P=CHCO₂tBu, CH₂Cl₂, 73% (2 étapes); (n) HOAc, H₂O, 40°C , 80%; (o) H₂, Lindlar, quinoline, EtOAc, MeOH, 0°C , 85%; (p) MeLi, CuBr·Me₂S, Et₂O, -35°C ; (q) DHP, TsOH, THF, TA; (r) LAH, 0°C ; (s) DMSO, TEA, (COCl)₂, -78 to 0°C ; (t) Ph₃P=CHCO₂tBu, CH₂Cl₂; (u) HOAc, H₂O, 40°C , 23% à partir de **19.9**.

Certaines synthèses totales sont remarquables en raison de leur brièveté et/ou de leur efficacité, tandis que d'autres se distinguent par une stratégie non évidente, ou par l'utilisation de réactifs inhabituels ou des conditions de réaction relativement dures ou compliquées. La synthèse de Lavallée tombe dans la deuxième catégorie. L'utilisation d'anhydride acétoxysuccinique non racémique constitue une synthèse unique à ce groupe de recherche. On soupçonne qu'il y a d'autres synthèses de l'unité A à découvrir, ce qui rend l'utilisation de ce matériau de départ assez complexe.

Enfin, les deux voies d'accès à l'unité A qui ont été résumées dans le schéma 19 auraient probablement pu être un peu plus courtes en renonçant à la protection-déprotection de la C5

hydroxyle (Schéma 19), des mesures de protection (j) et (q), et les étapes de déprotection (n) et (u). À savoir, l'oxydation sélective du groupe hydroxyle primaire dans le diol **14.5** (Schéma 14) par les hypochlorites / TEMPO produit des réactifs avec un bon rendement, de même que la réaction de Horner-Emmons ultérieure qui mène à **14.7**. Ces résultats suggèrent que la protection à C5 à 19.8 et 19.10 n'est pas indispensable.

2.13-Réduction de l'époxyde de vinyle

Cette synthèse est résumée dans le schéma 20¹⁵⁴ :

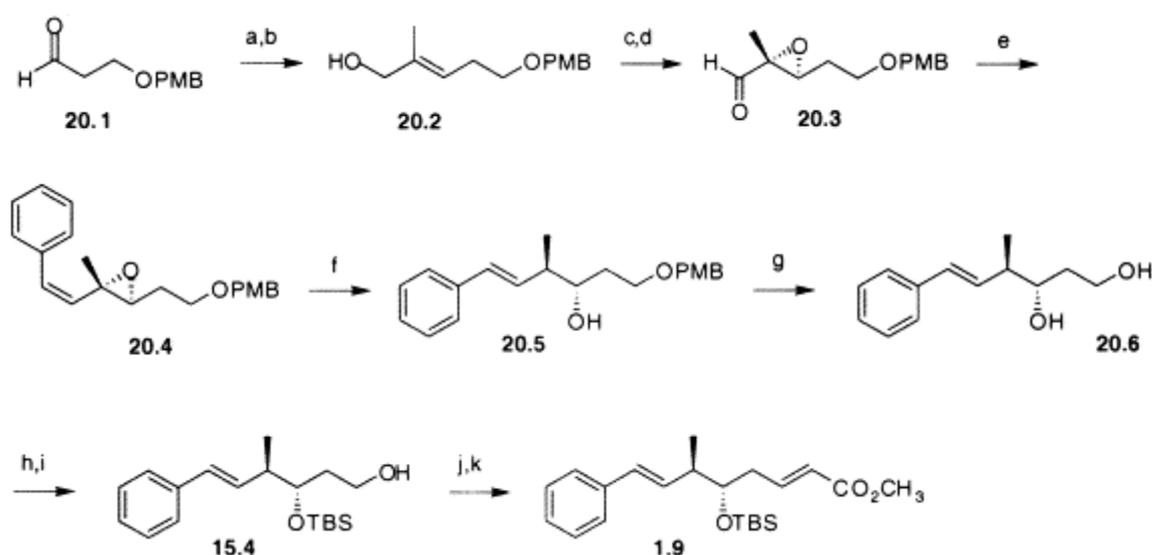


Schéma 20. (a) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CMeCO}_2\text{Et}$, THF, 0°C , >74%; (b) DIBAL-H, Et_2O , 0°C , 97%; (c) $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$, (+)-DET, *t*-BuOOH, CH_2Cl_2 , -25°C , 4 Å tamis, 95%; (d) DMSO, TEA, $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , -78°C , 1.5 h; Et_3N , rt, 1.5 h, 80%; (e) $\text{PhCH}=\text{PPh}_3$, -100°C , THF, 10 h, rt, 67%; (f) $\text{Pd}_2\text{dba}_3 \cdot \text{CHCl}_3$, *n*Bu₃P, HCO₂H, TEA, 1,4-dioxane, TA, 10 h, 91%; (g) AlCl_3 , CH_2Cl_2 , rt, 30 min, 75%; (h) TBSCl, DMAP, imidazole, DMF, rt, 8 h, 94%; (i) HOAc, H₂O, THF (1/1/2), 72 h, rt, 85%; (j) DMSO, TEA, $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , -78°C , 1 h; Et_3N , TA, 1 h; (k) $(\text{MeO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, NaH, THF, TA, 4 h, 72% (2 étapes).

2.14-Le complexe chiral cationique Planar de molybdène

L'une des synthèses les plus insolites de l'unité A est due à Kocienski et ses collègues¹⁵⁵. Il se sert du (*S*)-malate comme matériau de départ; cependant, le centre stéréochimique dans le malate est utilisé comme un élément de commande pour une étape d'alkylation diastéréosélective d'un complexe de molybdène cationique chiral plan, et ne figure pas dans l'unité A (schéma 21).

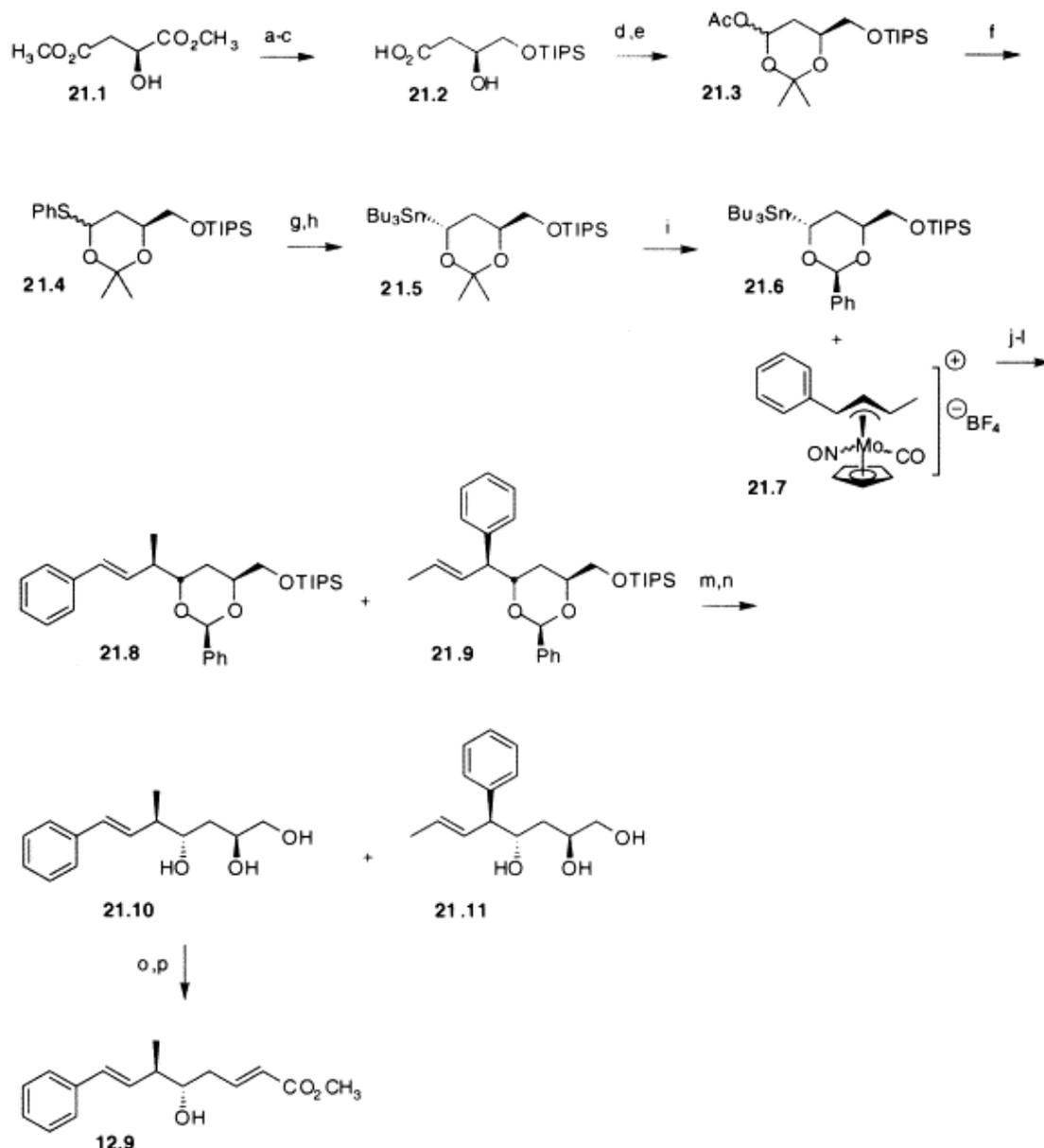


Schéma 21. (a) $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$, THF, TA; NaBH_4 , THF, TA, 89%; (b) TIPSCl, imidazole, DMF, -30°C , 71%; (c) K_2CO_3 , MeOH, chaleur, 70%; (d) $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{Me})\text{OMe}$, PPTS, CH_2Cl_2 , 84%; (e) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , -78°C ; pyr, DMAP, Ac_2O , 84%; (f) PhSH, ZnCl_2 , CH_2Cl_2 , -30°C , 87%; (g) LDBB, Li, THF, -78°C ; (h) Bu_3SnCl , THF, -78°C , 71% à partir de **21.4**; (i) $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$, TsOH, CH_2Cl_2 , rt, 89%; (j) *n*BuLi, THF, -78°C ; (k) $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$, -78°C ; add **21.7**; (l) O_2 , CHCl_3 , rt, 71% from **21.6**; **21.8/21.9**=1.2/1; (m) TsOH, MeOH, rt, 63%; (n) separation sur chromatographie; (o) NaIO_4 , MeOH, H_2O (3/1), rt; (p) $(\text{MeO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, TMG, THF, -78°C to rt, 83% (2 étapes), (*E/Z*≥25/1).

L'unité A synthétisée par Kocienski et collègues devrait être évaluée dans cette optique. L'absence de régiosélectivité dans le l'étape clé diminue l'utilité de préparation de cet intermédiaire.

2.15-Addition diastéréosélective du (R)-mandéaldéhyde

Une synthèse de l'unité A qui contrôle la stéréochimie au C7 et C8 est due à Larchevêque et ses collègues¹⁵⁶. La matière de départ était l'éther méthoxyméthyle 22.1 de (*R*)-méthyl mandélate (Schéma 22).

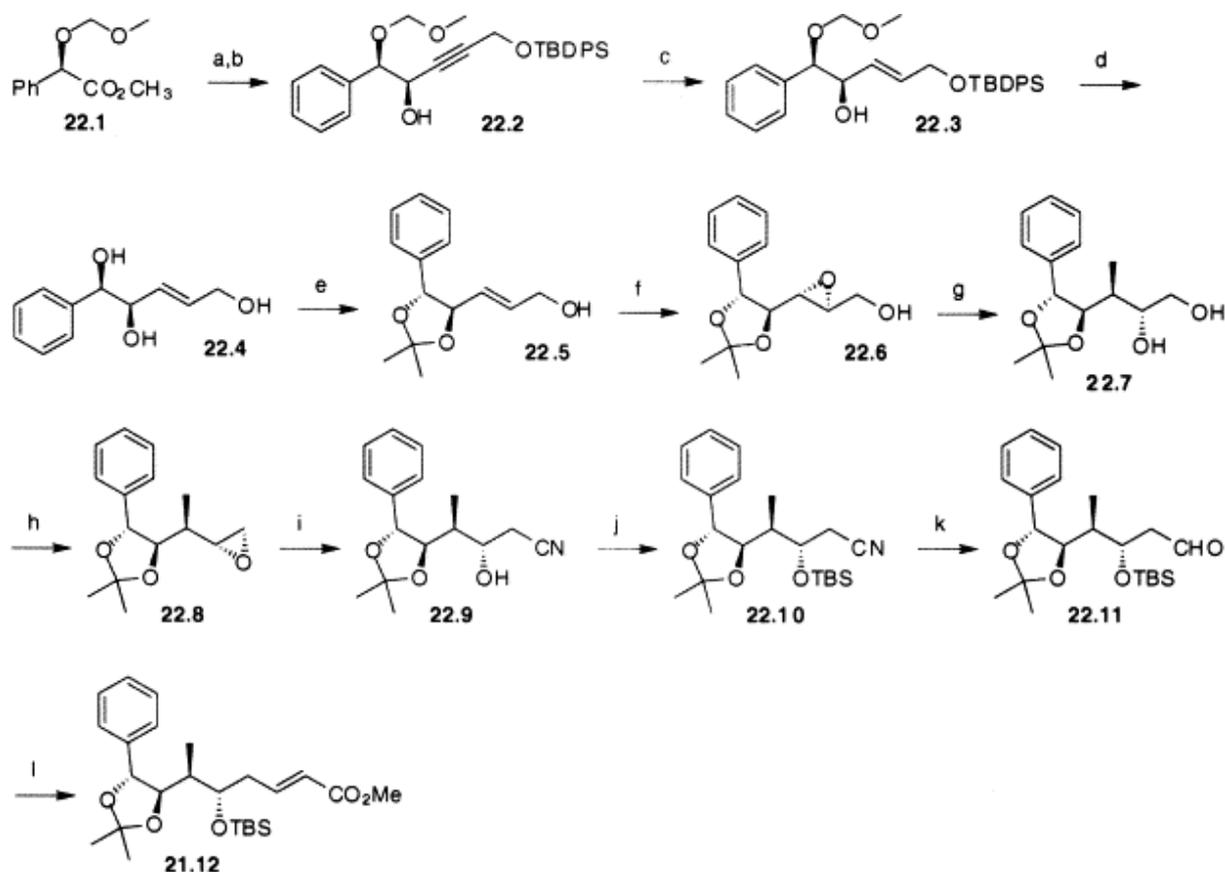


Schéma 22. (a) DIBAL-H, Et₂O/pentane (1/1), -78°C; (b) BrMgCCCH₂OTBDPS, Et₂O, 87% (2 étapes); (c) Red-Al, Et₂O, -25°C, 72%; (d) 2 M HCl, MeOH, 40°C, 2 d, 92%; (e) CuSO₄ (anh), TsOH, acétone, TA, 2 d, 91%; (f) Ti(O*i*Pr)₄, (+)-DIPT, -20°C, 4 Å tamis, CH₂Cl₂, *t*BuOOH, 4 d, 76% (95/5); (g) hexane/CH₂Cl₂, (5/1), Me₃Al, -10°C, 1 h; TA, 20 h, 44+18% **22.6**; (h) TMSCl, MeC(OMe)₃, CH₂Cl₂, 0°C, 1h, MeOH, K₂CO₃, 2 h, 65%; (i) MeCN (anh), LiClO₄, KCN, 70°C, 6 h, 70%; (j) TBSOTf, 2,6-lutidine, CH₂Cl₂, 0°C, 92%; (k) PhMe, DIBAL-H, -78°C, 58%; (l) (MeO)₂POCH₂CO₂Me, TMG, THF, -78°C to rt, 78%.

L'avantage de cette synthèse est de pouvoir contrôler la stéréochimie C7-C8 dès le début.

2.16-Dihydroxylation de la séco-cryptophycine 52

Une solution au problème posé par la stéréochimie de l'époxyde dans l'unité A a été fournie dans le cadre de la synthèse totale de la cryptophycine 52, un analogue stable à l'hydrolyse (Schéma 23)¹⁵⁷.

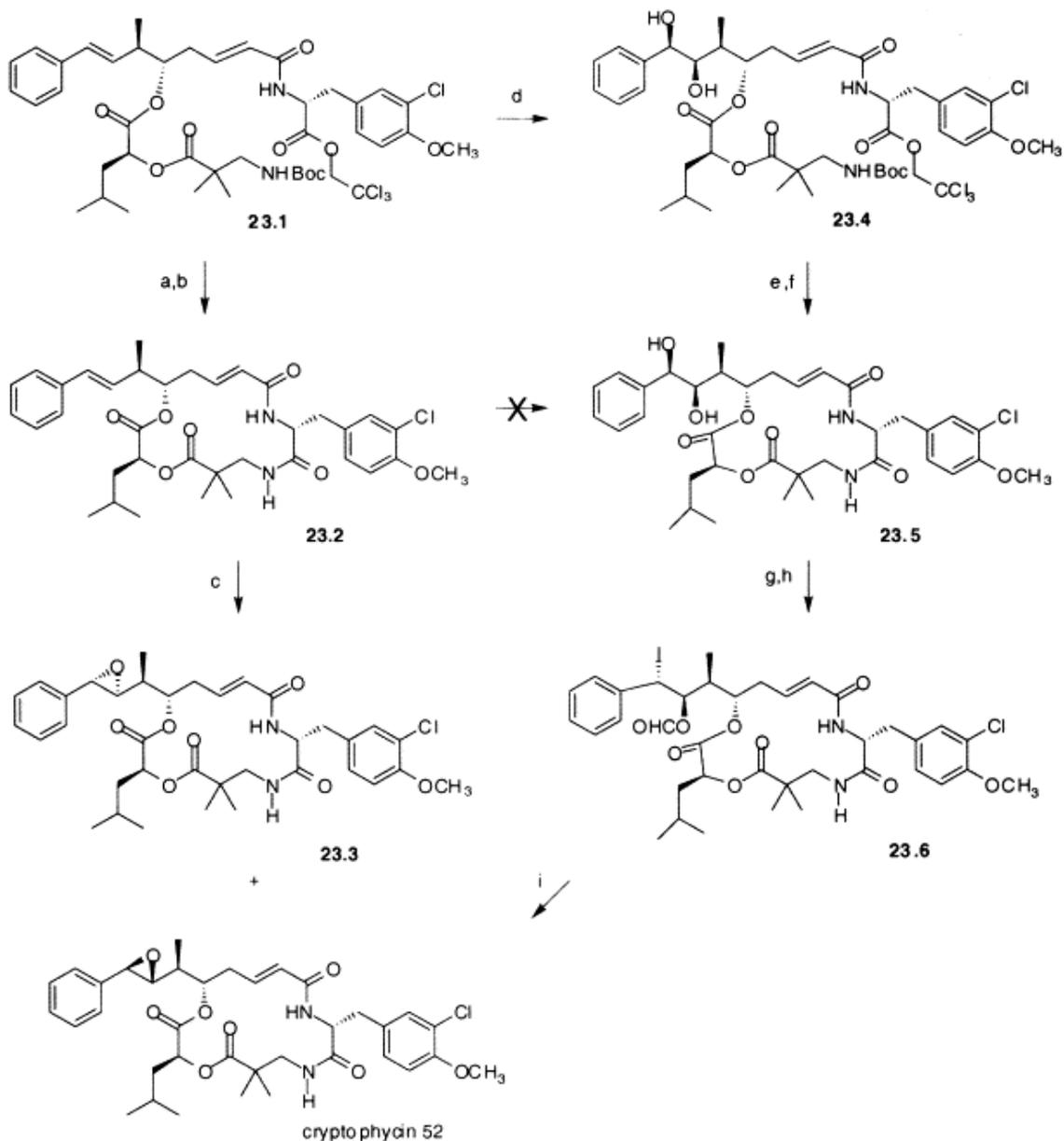


Schéma 23. (a) TFA (neat), rt, 15 min, 0.5 M NaOH; (b) 2-hydroxypyridine (2.0 equiv.), PhMe, 0.02 M, 20°C, 80% à partir de **23.1**; (c) *m*-CPBA, CH₂Cl₂, **23.3**/cryptophycin 52=1/2, 51% of cryptophycin 52 à partir de **23.1**; (d) K₂OsO₂(OH)₂, (DHQD)₂PHAL, K₂CO₃, K₃Fe(CN)₆, MeSO₂NH₂, *t*BuOH/H₂O (1/1), rt, 20.5 h, 61%; (e) TFA, CH₂Cl₂, 0°C, 1.5 h; K₂CO₃ aqueux; (f) 2-hydroxypyridine (2.0 equiv.), MeCN/PhMe (1/1), 40°C, 21 h, 82% (2 étapes); (g) PPTS, CH₂Cl₂, (MeO)₃CH, rt; aqueous NaHCO₃; (h) CH₂Cl₂, 0°C, TMSI, 45 min; 10% Na₂S₂O₃ aqueux, 93% (2 étapes) (i) THF/MeOH (1/1), K₂CO₃, 0°C, 6 h, 98%.

Les protocoles qui sont résumés dans le schéma 23 soulignent une caractéristique inattendue de la réactivité des cryptophycines, notamment que la fonction styrène est maintenue à proximité de l'unité D dans les composés cycliques, et n'est pas facilement accessible pour les espèces électrophiles.

2.17-1-Aza-cryptophycine 1, une cryptophycine instable.

L'importance des cryptophycines comme agents chimiothérapeutiques contre le cancer et leur propension à une désactivation *in vivo* par clivage hydrolytique des liaisons ester a poussé les chercheurs à concevoir la synthèse d'analogues qui permettraient de conserver l'activité élevée du produit naturel tout en lui conférant une stabilité vis-à-vis de l'hydrolyse. La cryptophycine 52 atteint cet objectif en introduisant un encombrement stérique dans l'unité C, ce qui stabilise la liaison entre l'unité C et l'unité D. Une stratégie alternative pour stabiliser les cryptophycines contre le clivage hydrolytique consiste à remplacer les liens amide de liaisons ester. Dans cette section, la synthèse d'Hawaii et les aspects de la réactivité de la 1-aza-cryptophycine 1 est discutée¹⁵⁸. Le schéma 24 résume la synthèse de 24.11, l'analogue aza de l'unité A. Cette synthèse contrôle la stéréochimie époxyde, dès le début, en utilisant le (*R*)-mandélate de méthyle 24.1 comme matière première et comme source unique de l'asymétrie de l'unité A.

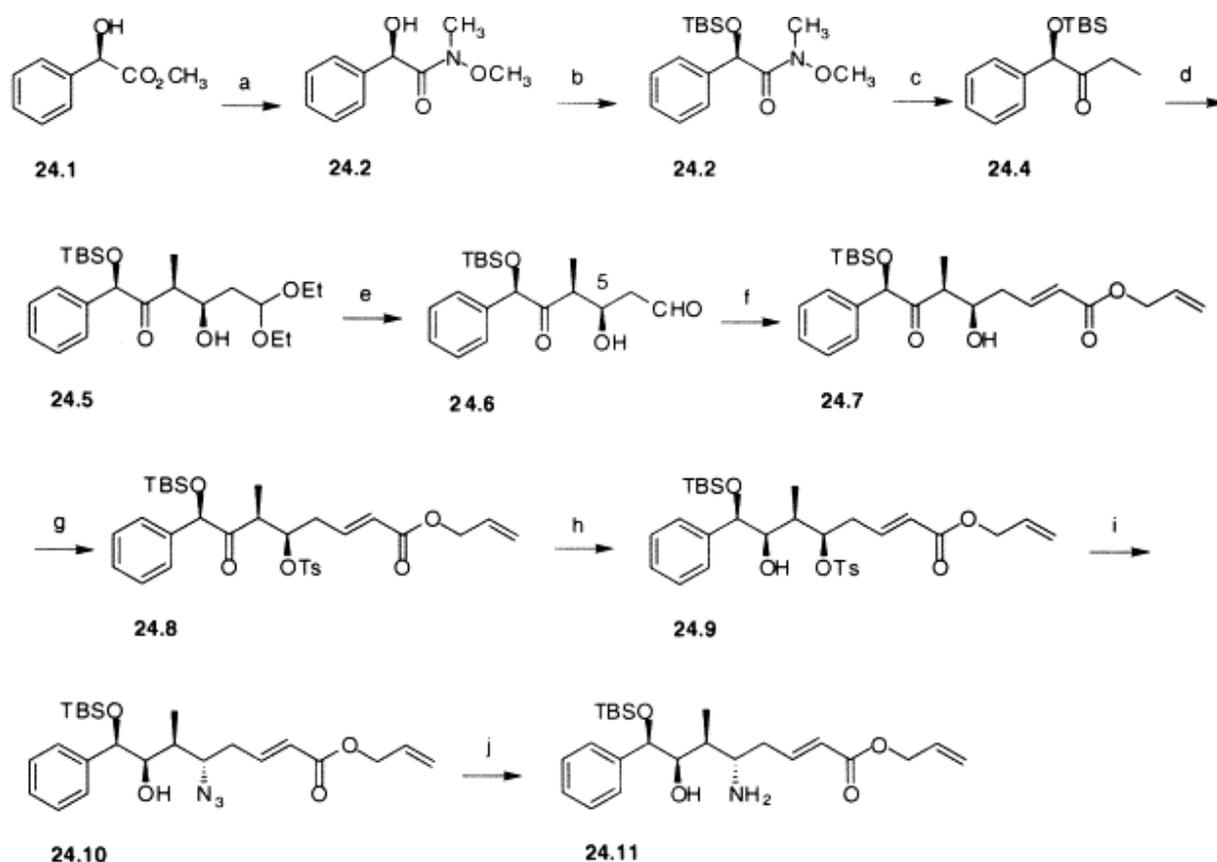


Schéma 24. (a) HNMe(OMe)·HCl, Me₃Al, PhH, 0–5°C, 2 h; ajouter **24.1**, rt, 12 h, 93%; (b) TBSOTf, Et₃N, CH₂Cl₂, 0°C, 3 h, 93%; (c) EtMgBr, THF, 5 h, 94%; (d) Bu₂BOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, –78°C, 15 min; 0°C, 2 h; ajouter 3,3-diéthoxypropanal, –78°C, 1 h, 0°C, 2 h, MeOH, H₂O₂, 0°C, 2 h, 65%; (e) Cl₃CCO₂H, CH₂Cl₂/H₂O (20/1), TA, 1 h, 87%; (f) (EtO)₂POCH₂CO₂CH₂CH=CH₂, LiCl, DIPEA, MeCN, TA, ca. 4 h, 63%; (g) TsCl, KOH (s), THF, 0°C to rt, 86%; (h) NaBH₄, CeCl₃·7H₂O, EtOH, 0°C, 96%; (i) l'azide de tétraméthylguanidinium, MeNO₂, 70–80°C, 5 h, 69%; (j) PPh₃, THF, H₂O, 50–60°C, 12 h.

L'ensemble des unités de 1-aza-cryptophycine 1 est représentée dans le schéma 25.

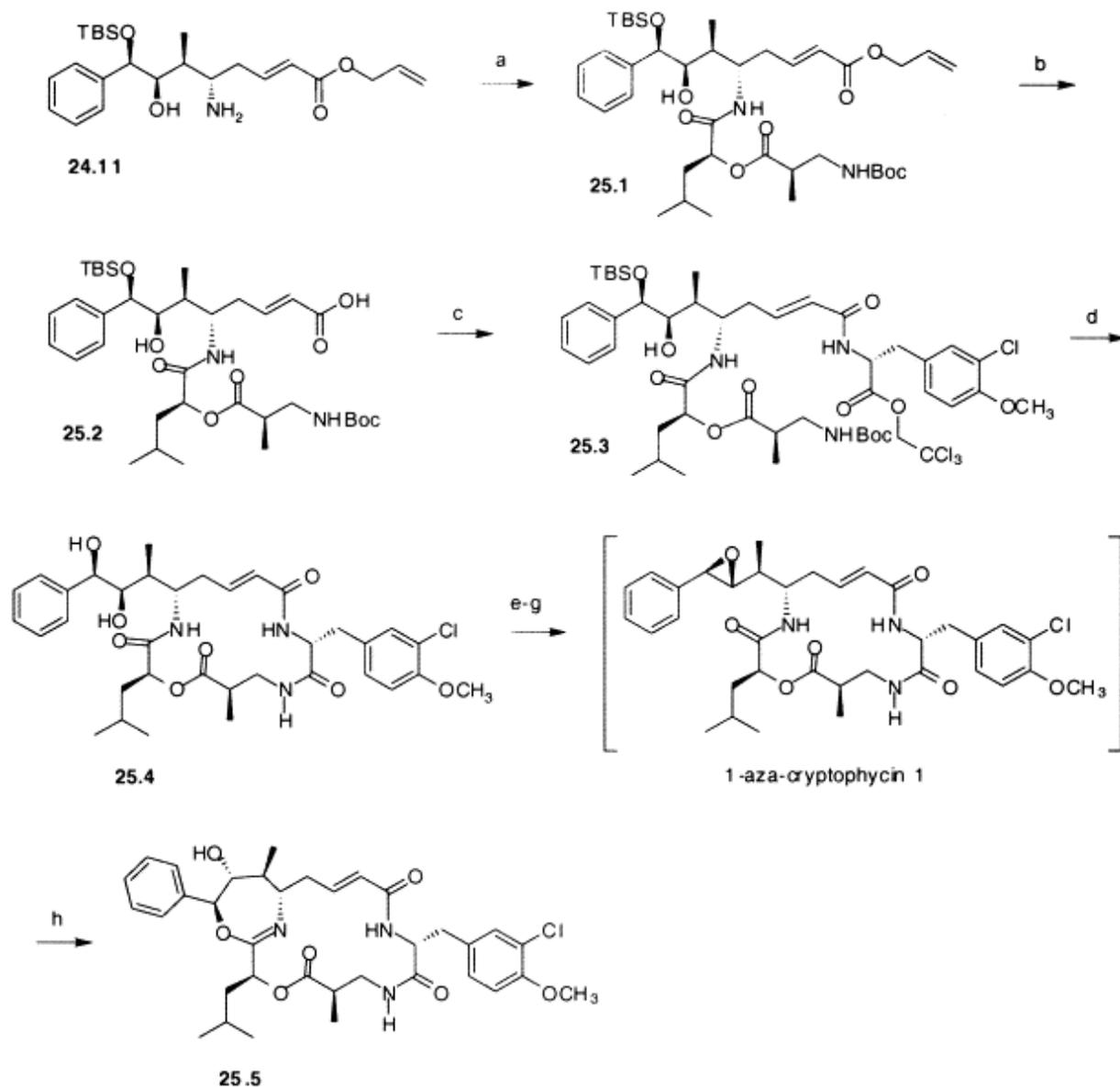


Schéma 25. (a) **3.6**, DMF, FDPP, DIPEA, TA, 5 min, add **24.11**, rt, 4 h, 74% à partir de **24.10**; (b) Pd(PPh₃)₄, THF, morpholine, TA, 4 h, 91%; (c) FDPP, DMF, ajouter **2.2**, Et₃N, rt, 5 h, 69%; (d) TFA (anhydre), 0°C to rt, 1 h; evaporate to dryness; 2-hydroxypyridine, PhMe, rt, 20 h, 50%; (e) PPTS, (MeO)₃CH, CH₂Cl₂, rt, 2 h; (f) MeCOBr, CH₂Cl₂, 6 h, rt; (g) aqueous NaHCO₃; DME, MeOH, EtOH, KHCO₃, 40°C, 15 h; (h) chromatographie sur gel de silice, 62% à partir de **25.4**.

Le réarrangement de la 1-aza-cryptophycine 1 en **25.5** n'était certainement pas prévu, toutefois, le mécanisme suit probablement la voie indiquée dans le schéma 25. L'activation de l'époxyde est suivie par l'ouverture du cycle par l'oxygène du carbonyle de l'amide de l'unité D, ce qui conduit à l'imino éther **25.5** sous forme d'un cycle à sept chaîons. Une telle réorganisation a lieu avec la cryptophycine 1. Par exemple, le traitement de la cryptophycine 1 avec le chlorure ferrique conduit à la cétone C7.

3. Synthèse des analogues de cryptophycine

Analogue de la benzophénone de cryptophycine-24

Une synthèse efficace de la chaîne latérale en C16, analogue de la benzophénone de la cryptophycine-24 (figure 47), en utilisant une réaction de crotylboration et couplage de Heck comme principales étapes est décrite par Ramdas Vidya et ses collègues¹⁵⁹. Dans un essai d'assemblage de la tubuline *in vitro*, l'analogue de la benzophénone b isomère (CI50 = 7,4 mM) est deux fois plus actif que la cryptophycine-24 (IC50 = 15 mM). Ci-dessous dans la figure 29, est indiquée la structure de l'analogue benzophénone de la cryptophycine-24.

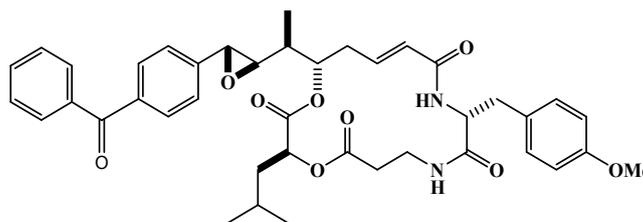
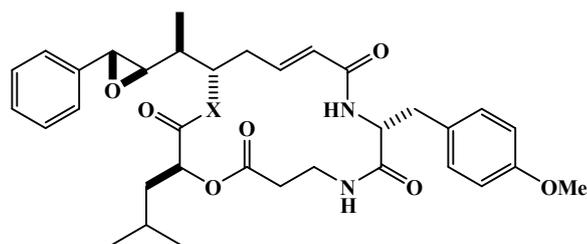


Figure 29 : analogue de la benzophénone de cryptophycine-24

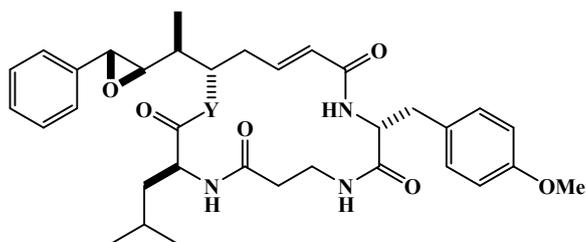
Analogues amide de l'arenastatine A

Afin de sonder le métabolisme de l'arenastatine A, un depsipeptide cytotoxique de l'éponge marine *Dysidea arenaria*, Murakami et collaborateurs ont synthétisé trois analogues dans lesquels les liaisons ester ont été remplacées par des liaisons amide.

Parmi les trois analogues d'amide, seul le triamide II présentait une activité cytotoxique contre les cellules KB (figure 30)¹⁶⁰.



X = O Cryptophycin-24 or Arenastatin A
X = NH triamide analogue-I



Y = O triamide analogue-II
Y = NH tetraamide analogue

Figure 30 : analogues amides de l'arénastatine A

4. Objectifs de notre travail

L'objectif majeur de notre travail est la synthèse de dérivés aziridinyle de la cryptophycine (figures 31 et 32), ainsi que celle des analogues glucosylés correspondants. Ces derniers seront traités plus en détail plus loin.

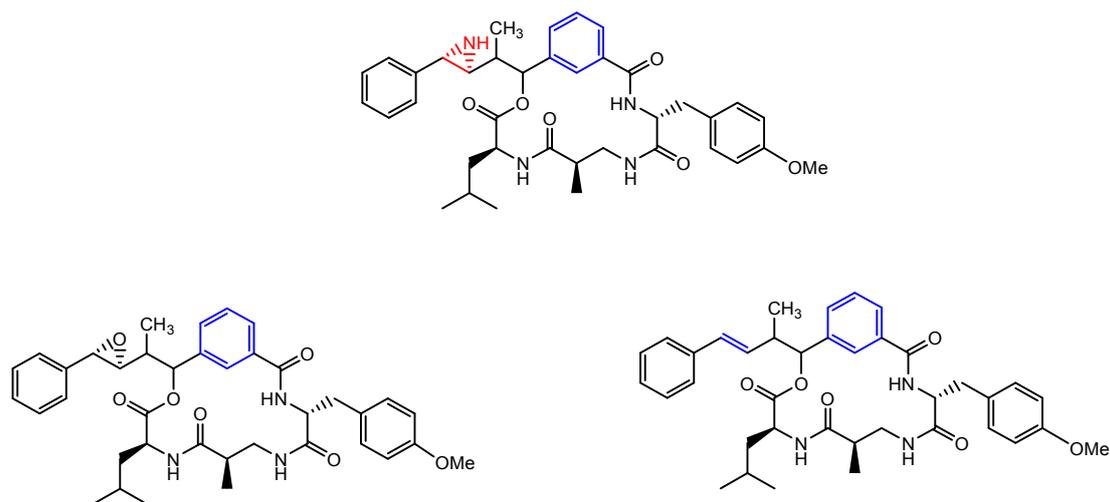


Figure 31

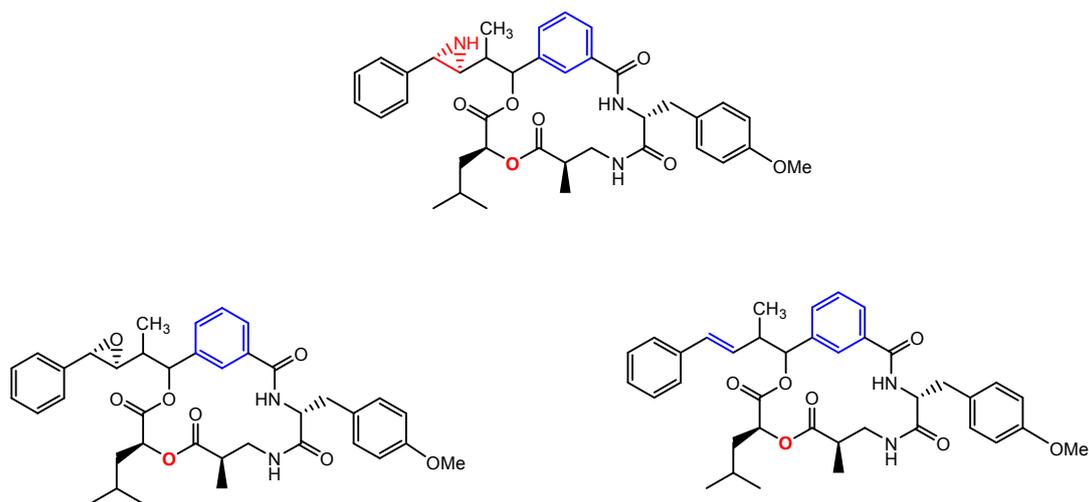


Figure 32

Vinod F. Patel et collaborateurs¹⁶¹ ont synthétisé des analogues de la Cryptophycine possédant une bonne activité cytotoxique en modifiant leur unité B. Ci-dessous dans la figure 33, est indiqué l'examen retro synthétique décrite par ce groupe.

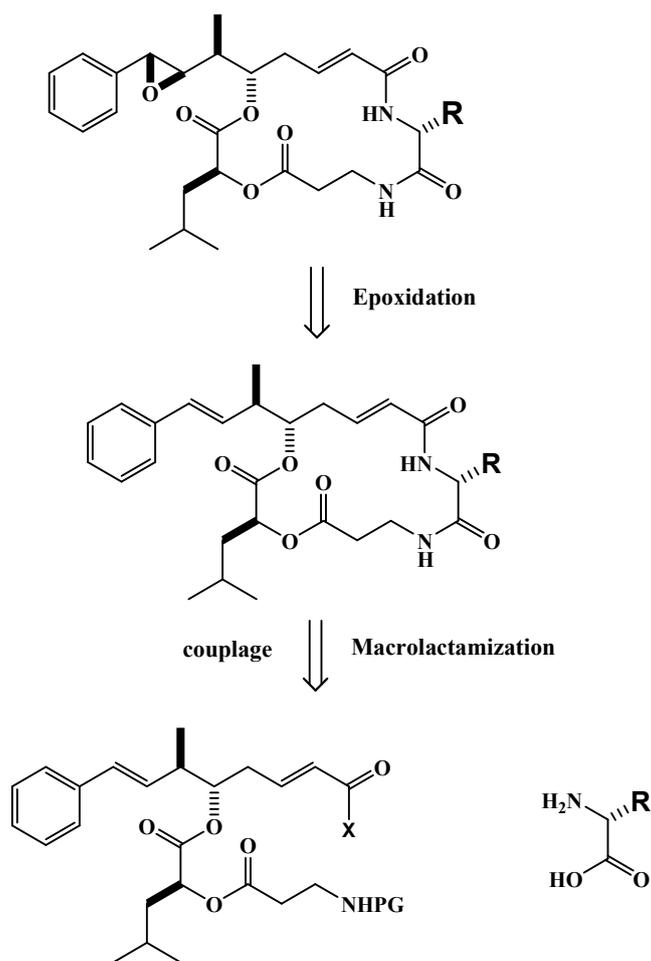


Figure 33

En nous basant sur le travail du groupe de Vinod F. Patel, nous nous sommes proposé de synthétiser des dérivés glucidiques de fragments de la cryptophycine (figure 34), ainsi que celle d'autres fragments par modification du fragment B en utilisant des acides aminés différents de ceux de la structure naturelle (L-phénylalanine, L-proline, L-tryptophane...) (figure 35).

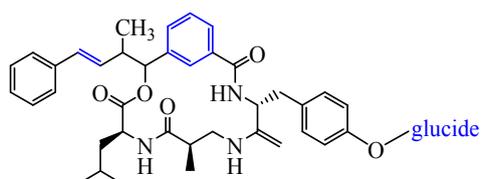


Figure 34

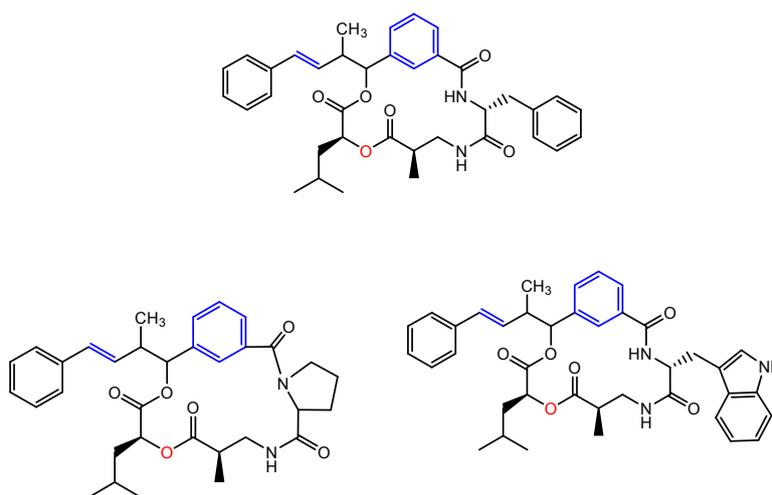


Figure 35

Par référence au travail de Vinod F. Patel et collaborateurs¹⁶¹ ainsi qu'à celui de Murakami et collaborateurs, nous nous sommes fixé comme objectif de synthétiser aussi des dérivés semblables à ceux du schéma 35, mais avec une liaison amide entre le fragment C et D (figure 36),

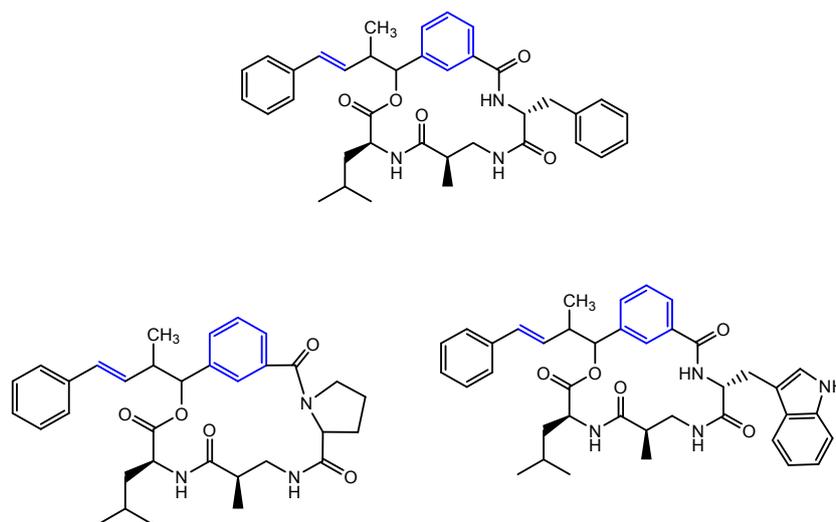


Figure 36

L'analogue aziridinyle de l'unité **A** constituait notre plus grand défi synthétique (figure 37). En effet, notre schéma réactionnel est relativement long, mais à sa décharge, le rendement global à partir du cinnamaldéhyde est bon. En outre, aucune des étapes ne nécessite l'utilisation de réactifs très spéciaux ou des conditions de réactions particulières.

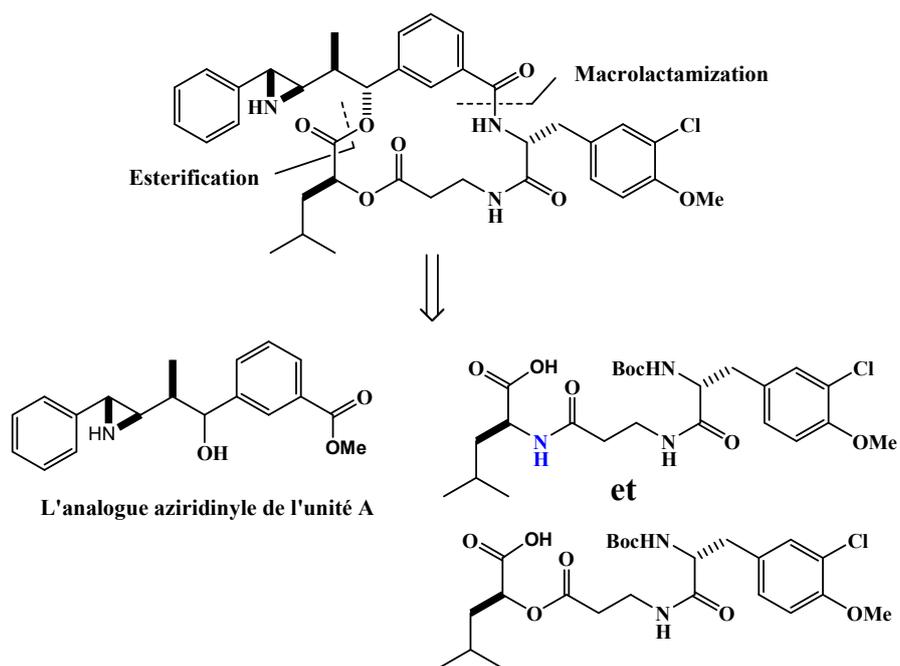


Figure 37

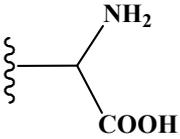
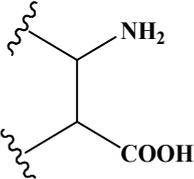
CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSION

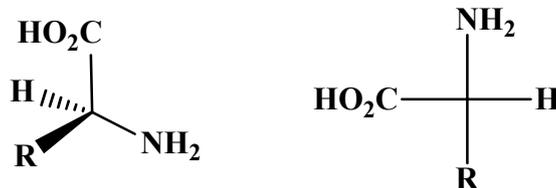
PREMIERE PARTIE : PROTECTION DES AMINO-ACIDES

1. Généralités

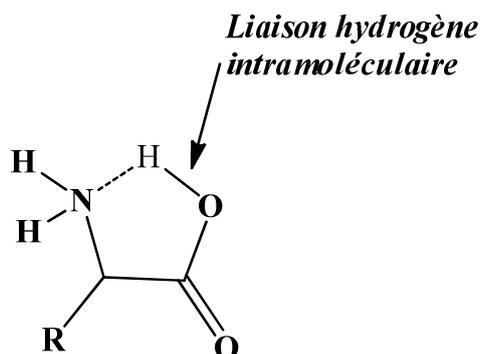
Les acides aminés sont des composés qui possèdent une fonction amine (basique) et une fonction acide carboxylique (acide). Il existe deux familles importantes d'acides aminés : les α -amino-acides (les fonctions amines et acides carboxyliques sont portées par le même carbone) et les β -amino-acides (la fonction acide est en β de la fonction amine).

α -amino-acides	β -amino-acides
	

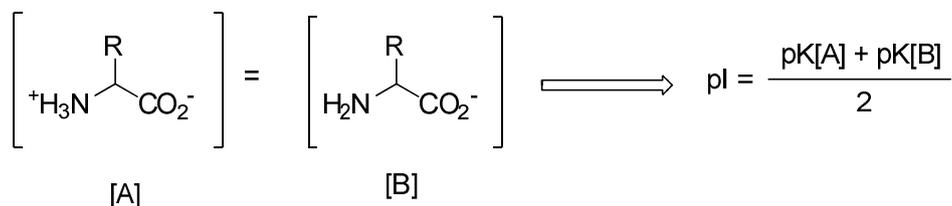
Les amino-acides sont fondamentaux en chimie thérapeutique, biochimie et en biologie, car c'est à partir eux que sont formés les protéines et plusieurs molécules naturelles biologiquement actives ou à potentiel thérapeutique. Il est à noter que les amino-acides naturels ont une configuration absolue *S* ou *L* en présentation de Fischer, à l'exception de la cystéine.



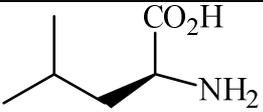
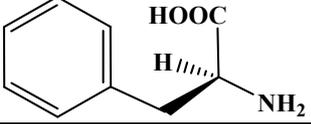
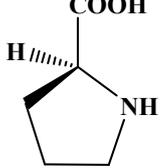
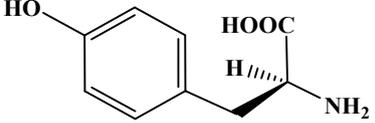
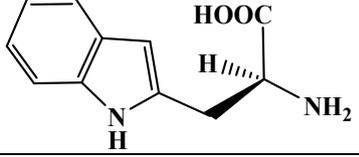
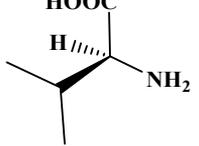
Souvent, les amino-acides sont présentés sous forme ionique à cause de l'échange acido-basique intramoléculaire entre le groupe carboxyle et le groupe amino. Par conséquent, ces composés sont en général plus acides que les acides carboxyliques ordinaires.



Le tableau suivant présente les amino acides naturels que nous avons utilisés avec leur pH isoélectrique (pI), c'est-à-dire le pH auquel les concentrations des formes acides et basiques sont égales. De façon générale, la valeur de pI est déterminée par la relation :



La détermination de cette valeur est très importante puisqu'on détermine ce point pour les protéines afin de les cristalliser. C'est au point isoélectrique que les molécules s'agrègent. Si le pH augmente ou diminue, il y a apparition de charges, ce qui provoque une répulsion électrostatique entre entités chargées, avec comme conséquence un éloignement de chaînes protéiques les unes des autres, empêchant toute cristallisation.

Formule	Nom Code à 3 lettres Code à 1 lettre	pKa (COOH)	pKa (NH ₂)	pI
	Leucine Leu L	2.4	9.6	6.0
	Phénylalanine Phe F	1.8	9.1	5.5
	Proline Pro P	2.0	10.6	6.3
	Tyrosine Tyr Y	2.2	9.1	5.6
	Tryptophane Try W	2.8	9.4	5.9
	Valine Val V	2.3	9.6	6.0

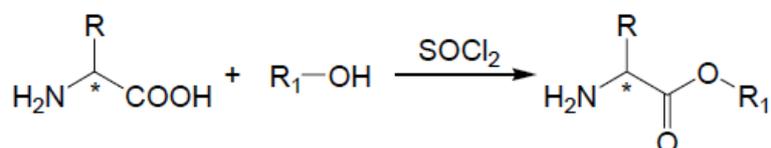
On peut cependant constater que la valeur du pI n'est pas toujours vérifiée car l'acidité ou labasicité de R influe sur l'acidité totale de l'acide aminé.

2. Protection des acides aminés.

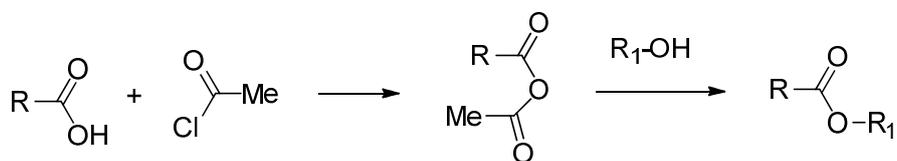
2.1-Protection de la fonction acide

A cause de la présence simultanée des fonctions acide et amino sur les acides aminés, il est souvent nécessaire de protéger au préalable la fonction acide carboxylique lorsqu'on souhaite effectuer des transformations ou des synthèses à partir du groupe amino. Une des méthodes d'obtention quasiment quantitative des esters des acides carboxyliques consiste à traiter ces derniers avec le chlorure de thionyle (SOCl₂) pour former un chlorure d'acyle intermédiaire qui est ensuite traité avec un alcool. Ce processus peut parfois conduire à une racémisation du produit de réaction.

Pour éviter ou réduire la racémisation, on peut traiter le mélange d'acide et d'alcool par le chlorure de thionyle.



Une méthode plus douce et qu'on utilise souvent consiste à traiter l'acide aminé avec le chlorure d'acétylène en présence de l'alcool.



2.2-Estérification de la L-leucine et β-alanine:

L'estérification de la L-leucine et la β-alanine a été effectuée conformément à ce dernier procédé et les rendements de la réaction sont élevés (schéma 26)

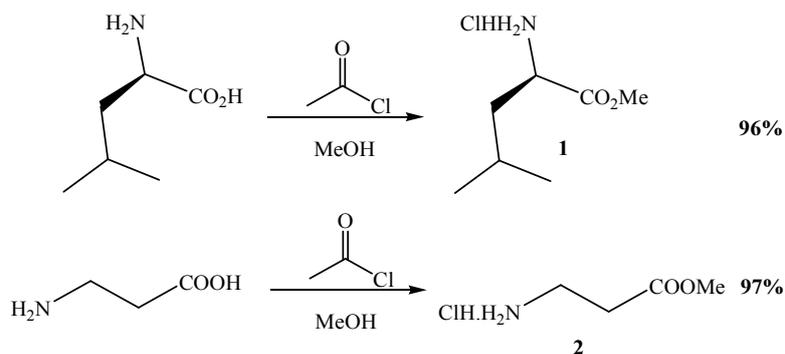


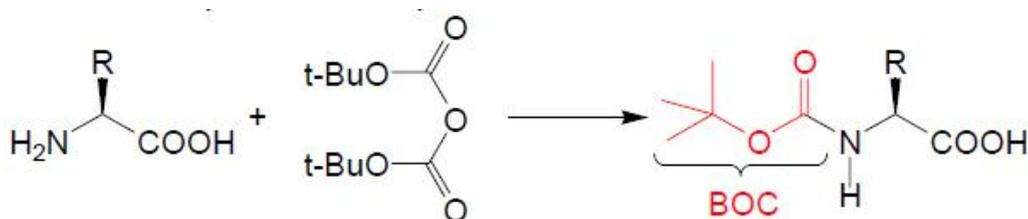
Schéma 26

2.3-Protection de la fonction amine

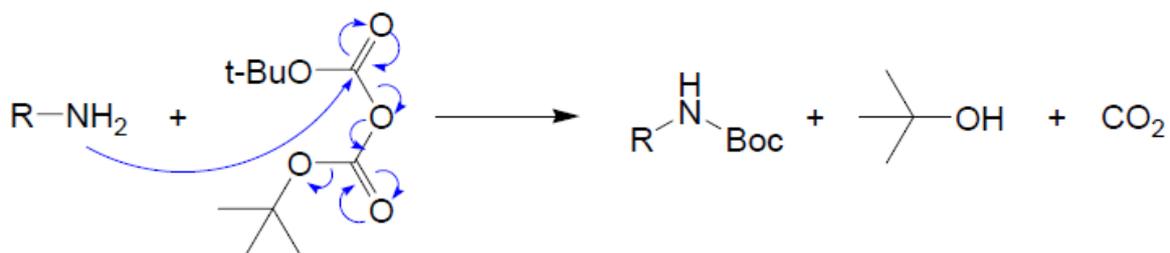
Il existe plusieurs groupements protecteurs dont chacun présente des atouts et des inconvénients en fonction des conditions opératoires.

2.3.1-Protection par le t-butoxycarbonyle (Boc)

Dans notre travail, nous avons utilisé des amino-acides protégés avec le groupe tertibutyloxycarbonyle (Boc)¹⁶². Ce groupe se prête bien à la protection du groupe amino comme le montre le schéma suivant :

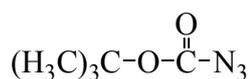


Le mécanisme de la protection par le Boc :

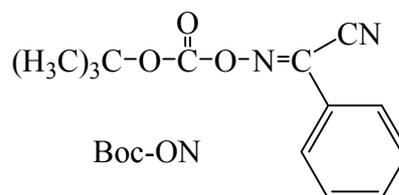


Le groupe Boc est stable vis-à-vis d'une hydrogénation catalytique, du sodium dans l'ammoniac liquide, des bases et de l'hydrazine¹⁶². Cependant, son clivage s'effectue facilement dans des conditions acides douces et à ce titre, l'acide trifluoroacétique convient parfaitement.

Deux autres réactifs peuvent être utilisés pour introduire le groupe Boc sur une fonction amino, il s'agit du t-butylazidoformiate (Boc-azide)^{163, 164} et du t-(butoxycarbonyloxyimino)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON)^{165, 166}. Signalons qu'il est nécessaire de prendre des précautions lors de l'utilisation du Boc-azide à cause de sa forte tendance à exploser lors de la distillation qui suit le processus de protection¹⁶⁷.



Boc-azide



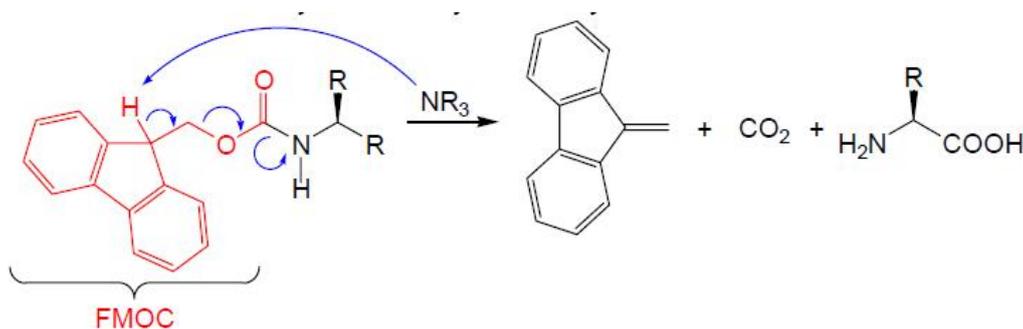
Boc-ON

La déprotection de groupe Boc se fait dans les conditions opératoires impliquant l'utilisation de l'eau, l'acide trifluoroacétique (TFA) et l'acide bromhydrique dans le dichlorométhane.

2.3.2-Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc)

La stratégie Fmoc utilise le fluoreneméthoxycarbonyle, labile en milieu nucléophile ; il est enlevé en quelques secondes par une solution de pipéridine dans le DMF dans des conditions douces¹⁶⁸.

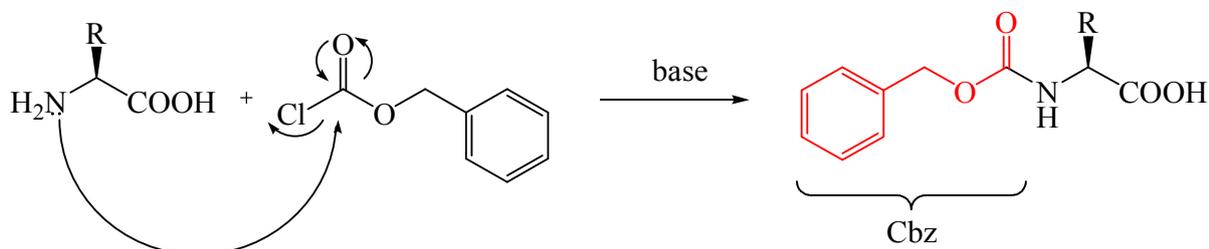
Les dérivés fluorenylméthoxycarbonyle-aminoacides (Fmoc-AA) sont plus coûteux que les Boc AA, mais l'ensemble des opérations de clivage est plus doux pour le peptide et l'utilisateur. Cette stratégie est la plus souvent employée et elle donne entière satisfaction. La déprotection de groupe Fmoc se fait selon le schéma suivant :



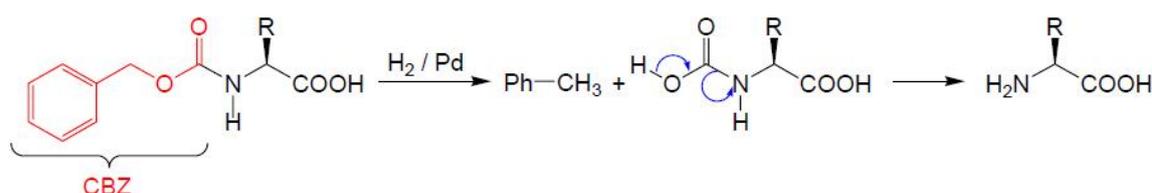
2.3.3-Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz)

Nous avons également utilisé des amino acides protégé avec le groupe Cbz. Ce groupe est le groupe protecteur le plus utilisé actuellement pour la fonction amino. Le processus de protection est réalisé par l'addition à l'amine d'un équivalent de chloroformiate de benzyle et d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N, suivi d'un reflux¹⁶⁹.

A la place de la soude caustique, d'autres bases comme le bicarbonate de sodium¹⁷⁰ ou de potassium¹⁷¹ peuvent être utilisées. Dans ce cas, les rendements en aminoacides protégés sont sensiblement améliorés.



D'autre part, le groupe Cbz est relativement stable dans des conditions acides mais facilement enlevé par hydrogénation catalytique. La déprotection de groupe Cbz se fait dans les conditions opératoires : hydrogénolyse, HBr, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$.



2.3.4-Protection par l'anhydride phtalique et l'anhydride acétique

Dans notre laboratoire, les aminoacides sont protégés par l'anhydride phtalique en solution dans l'acide acétique glacial¹⁷², et par l'anhydride acétique dans les mêmes conditions opératoires (schéma 27).

Le choix de l'anhydride phtalique n'a pas été fait hasard, ce réactif est utilisé dans cette protection pour deux raisons, premièrement parce qu'il est disponible dans notre laboratoire et qui n'est pas onéreux, et deuxièmement, il présente une bonne stabilité dans les conditions opératoires utilisées dans ce travail.

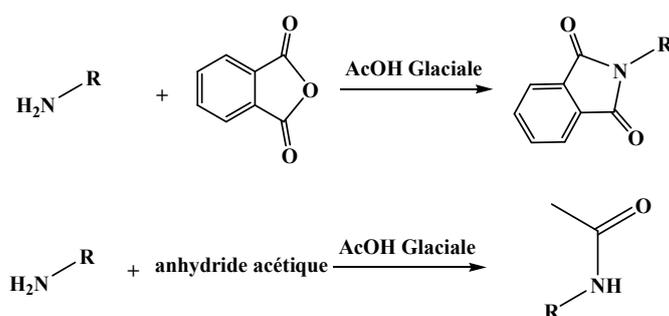
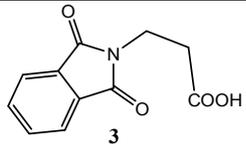
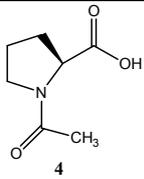
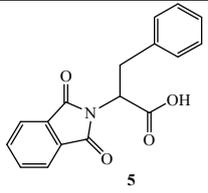
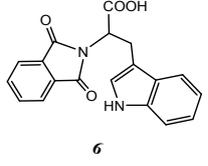
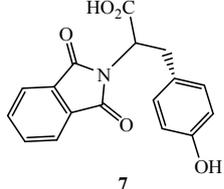
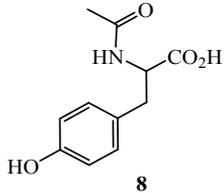
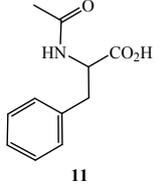
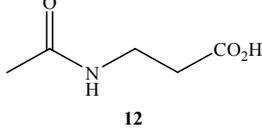


Schéma 27

3. Protections effectuées.

Le tableau suivant résume les conditions opératoires, les rendements obtenus et les méthodes de purification des amino acides protégés :

Produit	structure	Conditions opératoires	Purification	Rendement
<i>N</i> -phtalimido-β-alanine		Anhydride phtalique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation mélange eau-éthanol (4 : 1)	85%
<i>N</i> -acétyl-L-proline		Anhydride acétique, AcOH, -reflux 2h	Cristallisation dans le THF	88%
<i>N</i> -phtalimido-L-Phénylalanine		Anhydride phtalique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation : mélange eau-éthanol (4 : 1)	94%
<i>N</i> -phtalimido-L-tryptophane		Anhydride phtalique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation: mélange eau-éthanol (4 : 1) ou éther	92%
<i>N</i> -phtalimido-L-tyrosine		Anhydride phtalique, AcOH, -reflux 24h	Recristallisation : mélange eau-éthanol (3 : 1)	70%
<i>N</i> -acétyl-L-tyrosine		Anhydride acétique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation : mélange eau-éthanol (4 : 1)	74%
<i>N</i> -acétyl-L-phénylalanine		Anhydride acétique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation : mélange eau-éthanol (4 : 1)	90%
<i>N</i> -acétyl-β-alanine		Anhydride acétique, AcOH, -reflux 2h	Recristallisation : éther	88%

4. Récupération de l'amine libre à partir du chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-leucine.

La récupération classique de l'amine libre à partir d'un chlorhydrate de l'ester méthylique de l'acide aminé est très difficile si on utilise comme base le NaOH, parce que l'amine libre est très soluble dans la phase aqueuse, et cela réduit considérablement les rendements. Une méthode originale et très efficace que nous avons développée dans notre laboratoire consiste à traiter une suspension du chlorhydrate dans le THF anhydre avec un équivalent de triéthylamine (TEA). Le mélange est agité pendant 30min puis, on filtre le chlorure de triéthylammonium et on évapore le filtrat pour récupérer l'amine libre.



Dans notre cas l'amine libre de l'ester méthylique de la L-leucine **13** (schéma 28) a été obtenue avec un rendement de 90% à partir de composé **1**.

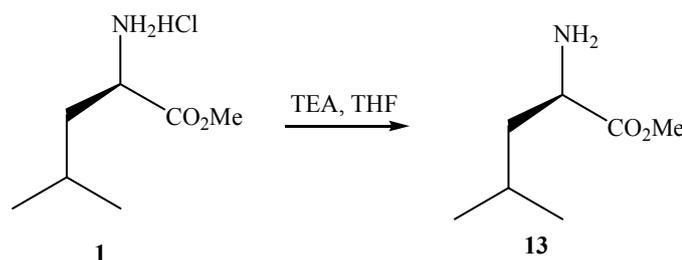


Schéma 28

5. Méthoxylation de la fonction -OH de la L-tyrosine.

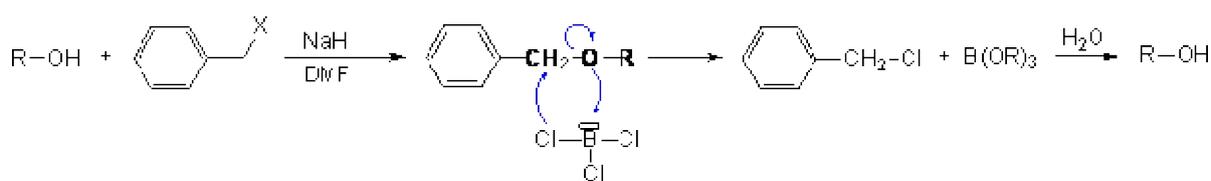
5.1-Conversion des alcools en fonction éther oxyde.

Le but d'une protection est de préserver une fonction intacte de toute réaction non souhaitée, ce qui permet d'effectuer un certain nombre d'étapes de synthèse et d'aménagement fonctionnel sur d'autres parties de la molécule. Ainsi, lors d'une ultime étape de déprotection, on récupère, libre, la fonction protégée précédemment. Il apparaît alors que les étapes de protection et de déprotection sont des étapes qui doivent se dérouler avec des rendements proches de 100% pour que le processus soit viable et économiquement rentable. Le tableau suivant résume les différentes méthodes de protection des alcools en fonction éther oxyde ainsi que leur déprotection.

Protection	Déprotection
$R-O^- + H_3C-I \longrightarrow R-O-CH_3$	HI : Température ambiante HBr : En chauffant ou BCl_3 (inconvenient c'est un électrophile)
	 <i>La protection ne résiste pas : H^+, anhydride acétique + $FeCl_3$, BBr_3</i>
Trityle 'TrCl' $Ph_3C-Cl + R-OH \xrightarrow{\text{pyridine}} R-O-CPh_3$ Méthode sélective des alcools primaires par rapport aux alcools secondaires. Mécanisme de type S_N1	CH_3COOH chaud <i>La protection ne résiste pas : H^+, H^+ / H_2O, $[H_2]$ catalytique</i>
$R-OH + \text{allyl bromide} \xrightarrow{NaH} R-O-allyl$	 <i>La première étape réside dans l'isomérisation de la double liaison, pour cela il existe deux méthodes. Puis l'énol vinylique est facilement hydrolysé en milieu acide.</i>

5.2-Conversion en fonction éther benzylique

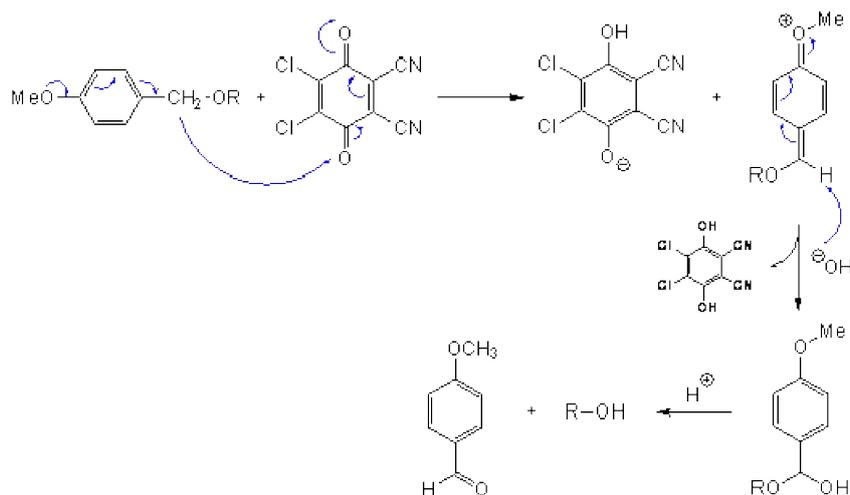
La protection est une réaction de substitution nucléophile classique et le meilleur solvant pour cela reste le DMF. En ce qui concerne la déprotection, il existe plusieurs méthodes dont notamment l'hydrogénolyse ou bien encore l'action d'un acide de Lewis ou l'action des métaux dissous (Na/NH_{3liq} , $-40^\circ C$).



La protection résiste aux bases, H^+ , oxydants (pas tous), radicaux (pas tous), $RMgX$

La protection ne résiste pas à $[H_2]$ catalytique, BCl_3 , acides de Lewis ($FeCl_3$, $SnCl_4$)

Cas du groupement *PMB* (*paraméthoxybenzyle*) : la déprotection de ce groupement se fait en milieu aqueux ou biphasique à l'aide de CAN (donner le nom complet et la référence, idem pour le schéma ci-dessous) ou bien par le DDQ (dichlorodicyanoquinone).



5.3-Méthoxylation effectuée

Nous avons d'abord commencé par essayer la méthylation sur la L-tyrosine en utilisant le diméthyle sulfate en présence de NaOH (schéma 29).

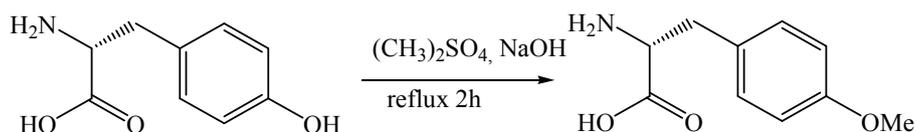


Schéma 29

La réaction n'a pas bien marché et nous avons obtenu un très faible rendement ; par conséquent, nous avons effectué cette méthylation après protection de la fonction amine (schéma 30). Et là, le rendement s'est sensiblement amélioré.

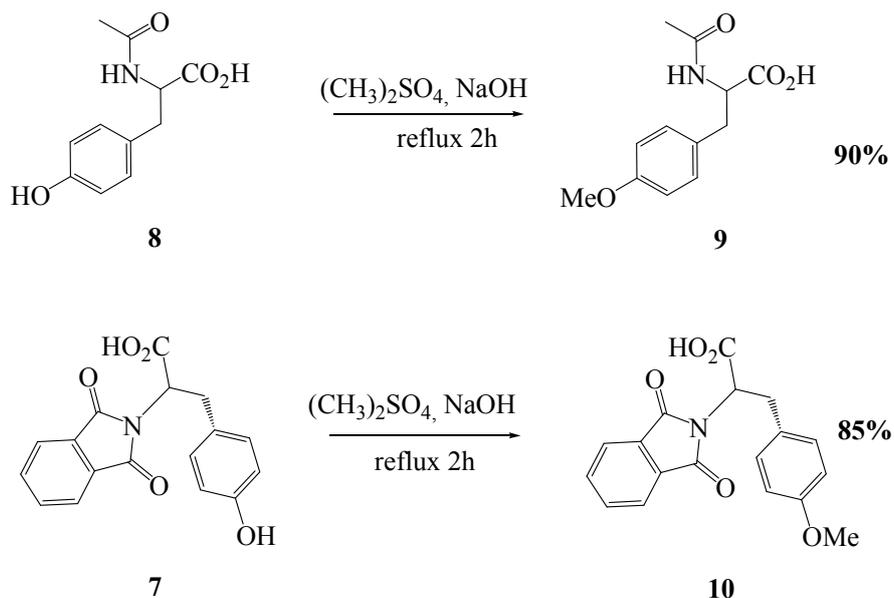


Schéma 30

La méthylation sur les composés **7** et **8**, réalisée après la modification mentionnée ci-dessus, nous a permis d'obtenir les produits **9** et **10** avec des bons rendements.

6. DESCRIPTIF GENERAL POUR TOUS LES PROTOCOLES DE SYNTHESE

INDICATIONS GENERALES

Distillation des solvants

Les solvants anhydres sont préparés soit par distillation, en présence d'un desséchant juste avant l'emploi, soit par conservation après purification sur tamis moléculaire 4Å (200 - 300 mesh). Pour d'autres solvants, la distillation s'effectue sous atmosphère inerte, ou sous pression réduite (16 mbar). L'éther éthylique et le toluène sont distillés sur sodium et benzophénone, après coloration de cette dernière en bleu-roi. Le DMF, le CH₂Cl₂ et l'acétonitrile sont distillés sur CaH₂, tandis que la pyridine est distillée et gardée sur KOH.

Suivi des réactions et détection de produits

Lors des synthèses et purifications, la détection et l'avancement des réactions sont réalisés par chromatographie analytique sur couche mince. Le support utilisé est le gel de silice sur support d'aluminium (MERCK DC - Autofolien Kiesegel 60 F₂₅₄) et l'élution est réalisée avec différents mélanges en proportions variables selon le cas : AcOEt - hexane, AcOEt - cyclohexane, AcOEt - toluène, AcOEt - MeOH, CH₂Cl₂ - Et₂O, cyclohexane - CH₂Cl₂ - Et₂O.

La révélation est effectuée suivant quatre méthodes différentes (qui peuvent être combinées) :

- observation en ultraviolet ;
- immersion de la plaque dans un mélange : éthanol - acide *o*-phosphomolybdique à 20% dans l'éthanol - H₂SO₄ à 96% (200 mL/5 mL/5 mL) ; séchage, puis chauffage jusqu'à carbonisation des tâches ;
- immersion de la plaque dans un mélange eau - H₂SO₄ à 96% - (NH₄)₄Ce(SO₄)₄.2H₂O - (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O (188 mL/12 mL/2,1 g/5,3 g), séchage puis chauffage jusqu'à carbonisation des tâches ;
- immersion de la plaque dans un mélange eau - NaOH à 5% dans l'eau - K₂CO₃ - KMnO₄ (300 mL/5 mL/20 g/3 g), séchage puis jusqu'à disparition de la coloration rose des tâches.

Purifications

-Chromatographie flash

Les séparations sont effectuées sur des colonnes en verre remplies de gel de silice ; ce dernier est préparé en mélangeant la silice (GEDURAN SI 60, granulométrie 0,040 - 0,062 mm, MERCK) avec l'hexane, le cyclohexane ou le CH₂Cl₂, selon le cas. Le brut est dissous dans un minimum de solvant, ou adsorbé sur silice, puis déposé en tête de colonne. L'élution est réalisée par passage d'un gradient d'éluant, sous pression d'air.

Fabrication de CCM préparatives

Les CCM préparatives sont fabriquées à partir de plaques de verre de 20 × 20 cm, et du gel de silice 60 GF₂₅₄ (silice avec plâtre, référence MERCK 1.07730), dans des moules permettant de déposer et d'égaliser l'épaisseur de silice à 3,0 mm. Pour la fabrication de trois plaques CCM, 160 g de gel de silice et 400 mL d'eau distillée sont agités très vigoureusement. On laisse reposer la suspension obtenue 10 min jusqu'à l'obtention d'une pâte beaucoup plus épaisse ; cette dernière est versée sur les plaques de verre disposées dans des moules.

Les moules sont ensuite dégazées en tapotant légèrement dessus, ce qui permet également l'égalisation de la surface de la silice. Les plaques sont laissées 6h dans leurs moules dans un placard, à l'abri de la lumière et des courants d'air. Elles sont ensuite démoulées, déposées sur du papier absorbant, et on les laisse durcir de 12 à 16 heures à l'abri de la lumière et des courants d'air. Les bords de la silice, sur la plaque de verre, sont ensuite coupés en biseau à l'aide d'une règle. Enfin, les plaques finies sont placées dans une étuve à 85°C pendant 12 à 14 heures. Pour éviter toute craquelure sur la surface de silice, il est préférable, une fois les plaques introduites dans l'étuve, de faire monter graduellement la température de l'étuve jusqu'à 85°C, puis après séchage, de laisser diminuer cette température avant de les sortir de l'étuve.

Utilisation des CCM préparatives

Le brut réactionnel en solution est déposé sur la plaque CCM à l'aide d'un « pinceau » fabriqué à partir de coton dans une pipette Pasteur. La plaque est alors disposée dans une cuve contenant 200 mL d'éluant, dans laquelle une des parois est entièrement recouverte d'une feuille de papier Joseph imbibée par le même éluant. L'éluion est réalisée sur les 20 cm de la plaque, la révélation se fait uniquement en ultraviolet.

Identification des composés

Point de fusion : Les points de fusion sont mesurés à l'aide d'un appareil automatique Büchi 535 (Laboratoire des Glucides-Amiens), les valeurs étant données sans correction, ou avec un fusionomètre digital de la série IA 9000 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires (Laboratoire COSNA).

Pouvoirs rotatoires (Laboratoire des Glucides-Amiens) : Les pouvoirs rotatoires spécifiques sont mesurés à l'aide d'un micro-polarimètre digital Perkin-Elmer modèle 343. La longueur d'onde utilisée est 589 nm (raie D du sodium). Les solutions sont préparées par dissolution de 1 à 5 mg de produit dans 1 mL de méthanol ou de chloroforme de grande pureté (pour HPLC). Les concentrations (c) sont exprimées en grammes pour 100 mL de solvant.

Spectroscopie infrarouge : Les spectres dans l'infra-rouge ont été obtenus au Centre de mesures du laboratoire COSNA sur un appareil Mattson Genesis II FTIR. Les échantillons

étaient traités soit en solution dans le dichlorométhane (DCM) ou sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm^{-1}).

Spectrométrie de masse (Laboratoire des Glucides-Amiens) : Les spectres de masse sont enregistrés sur un appareil simple quadropôle (Micromass - Waters ZQ), équipé d'une source électrospray, sur un intervalle de masses de 0 à 4000 Da.

Les spectres de masse haute résolution sont enregistrés sur un appareil hybride quadropôle - temps de vol (Micromass - Waters Q-TOF Ultima Global) qui combine un analyseur quadropôle (MS1), une cellule de collision et un deuxième analyseur (MS2) à temps de vol (TOF). Le balayage est de 45 à 32000 Da en mode TOF-MS et de 40 à 40000 Da en mode MS-MS. Cet appareil est équipé d'une source électrospray et d'une source MALDI.

Analyse RMN (Laboratoire de polymères, Université d'Oran Es-Sénia, et Laboratoire des Glucides-Amiens)

Les spectres RMN sont obtenus sur un spectromètre BRUCKER AG 300 MHz avec une sonde QMP (^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P) de 5 mm avec gradient, ou sur un spectromètre BRUCKER AG 500 MHz, équipé d'une sonde TXI (^1H , ^{13}C , ^{15}N) de 5 mm avec gradient pour les expériences liquides, ou d'une sonde HRMAS de 4 mm pour les expériences solides.

Tous les composés sont caractérisés par acquisition et tracés de spectres en une dimension : ^1H , ^{13}C et DEPT 135. Les spectres ^{13}C sont enregistrés en découplage ^{13}C - ^1H par découplage pulsé (CPD : Composite Pulse Decoupling). Les spectres DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfer) sont obtenus à partir d'un programme permettant de répartir de part et d'autre de la ligne de base, d'un côté les groupements CH et CH_3 , de l'autre les groupements CH_2 , tout en supprimant des carbones quaternaires.

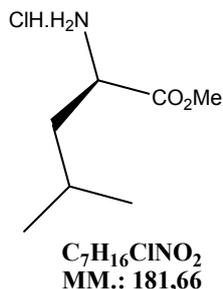
Nous avons également réalisé des acquisitions et tracés de spectres en deux dimensions en vue d'obtenir des corrélations de type ^1H - ^1H et ^1H - ^{13}C . Les expériences les plus utilisées sont la COSY (COrrélation SpectroscopY) pour déterminer les couplages ^1H - ^1H , la HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence) pour déterminer les couplages ^1H - ^{13}C , et en cas de difficultés ou d'ambiguïtés, l'utilisation de l'expérience INADEQUATE ^1H - ^1H et/ou de l'expérience J résolue a été nécessaire.

Analyse élémentaire : Les microanalyses ont été effectuées sur un appareil (LECO CHN-900).

- étalonnage : acétanilide
- température four de réduction : 650°C
- température four oxydation : 1000°C
- gaz vecteur : hélium à une pression de 40 psi

Partie expérimentale relative à la protection des amino-acides

H-L-Leucine-OMe.HCl (1)



Solide blanc, Pf = 153 °C ;
Litt.⁶⁶ : Pf = 151-153 °C.
[α]²²/D +13°, c = 2 dans H₂O.
CAS : 7517-19-3

Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit du méthanol (150ml) ; la solution est refroidie à 0°C. On y ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle (14,71ml). La solution est agitée 5 min. Ensuite, la L-leucine (10g, 72,9mmol) est ajoutée en une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite. 13,3 g (96%) du composé **1** sont obtenus après évaporation et séchage.

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1738,61; 2872,52; 2923,49; 2958,13; 3466,37.

H- β -alanine -OMe.HCl (2)



Solide blanc, Pf = 104-106 °C.
litt. : Pf = 103-105°C.
CAS : 3196-73-4

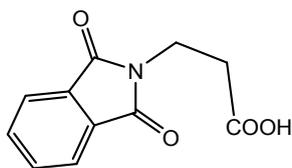
La synthèse se déroule selon le même protocole que pour la synthèse précédente, mais avec les proportions suivantes de réactifs :

Méthanol : 150 ml ; Chlorure d'acétyle : 22,45 ml, β -alanine : 10g (72,9mmol).

Après séchage et évaporation finale du solvant, on obtient 15.2g (97%) du composé **2**.

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1737.22, 2873.57, 2922.19, 2958.46, 3465.31.

N-phtalimido-β-alanine (3)



$C_{12}H_9NO_4$
MM: 219.19 g.mol⁻¹

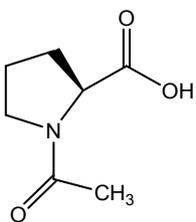
Solide blanc, Pf = 138-140 °C ;
recristallisation éthanol-eau 1 :4.

On distille l'anhydride acétique peu avant de commencer la réaction (eb=134°C). On recristallise ensuite l'anhydride phtalique dans cet anhydride acétique fraîchement distillé. Dans un bicol, on introduit la β-alanine (10g, 112,24 mmol). On ajoute l'anhydride phtalique recristallisé (16,62g, 112,24 mmol), suivi d'acide acétique glacial (AcOH) (100 ml). On porte à reflux pendant 2 h. On laisse refroidir et le produit cristallise à froid ; on filtre à la trompe à eau en faisant des lavages avec l'eau froide pour entraîner AcOH. 20,9 g (85%) du composé **3** sont obtenus après recristallisation dans un mélange eau-éthanol (4 :1).

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 242.04 valeur calculée pour C₁₂H₉NO₄Na,
241.9 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1063.85, 1712.67, 1770.67, 3205.87.

N-acétyl-L-proline (4)



$C_7H_{11}NO_3$
MM: 157,17g.mol⁻¹

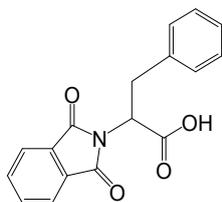
Solide blanc, Pf = 117°C.
Litt : Pf = 115-117 °C.
[α]_D²⁰ = -86 (c 1 ; EtOH).
CAS : 68-95-1

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit la L-proline (5g, 43,42mmol), l'anhydride acétique (43,42mmol) dans l'acide acétique glacial (40ml), et on porte à reflux pendant 2h. On chasse le solvant sous pression réduite à l'évaporateur rotatif. On obtient un produit pâteux. Une cristallisation dans le THF permet d'isoler 8,3g (88%) de cristaux blancs.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 180.16 valeur calculée pour C₇H₁₁NO₃Na,
179.9 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3500-2500 (O-H acide), 1680 (C=O acétyle), 1730 (C=O carboxyle).

***N*-phtalimido-L-phénylalanine (5)**



$C_{17}H_{13}NO_4$
MM.: 295,29 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 162°C.
[α]_D²⁵ = - 30.4 (c: 0.5, CHCl₃)

Même protocole que pour la synthèse du produit 3, mais avec les proportions suivantes de réactifs

- L-Phénylalanine : 10g (60,53mmol) ;
- Anhydride phtalique recristallisé 8,97g (60,53mmol) ;
- AcOH (100 ml).

A la fin, on obtient 17,9 g (94%) du composé **5** après recristallisation dans un mélange eau éthanol (4 :1).

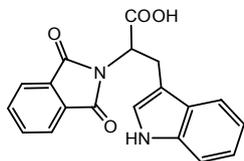
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 318.07 valeur calculée pour C₁₇H₁₃NO₄Na,

318.1 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, *J* : Hz, CDCl₃) : 3, 6 (d, 7,5, 2H), 5, 24 (t, 7,5, 1H), 7,25 (m, 5H), 7, 79 (m, 4H), 9,71 (s, 1H).

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1669.00, 1748.75, 1771.95, 3269.29.

***N*-phtalimido-L-tryptophane (6)**



$C_{19}H_{14}N_2O_4$
MM: 334,33g.mol⁻¹

Solide jaune, Pf = 178 °C.

Première méthode : Même protocole que ci-dessus, mais avec le L-tryptophane (5g, 24,48mmol) ; l'anhydride phtalique recristallisé (4,43g, 24,48mmol) ; AcOH (100 ml). 7,7 g (92%) du composé **6** sont obtenus après recristallisation dans un mélange eau éthanol (4 :1).

Deuxième méthode: Même protocole et même concentrations des réactifs. Cependant, comme la cristallisation prend beaucoup de temps, AcOH et une recristallisation dans l'éther permet d'isoler 6,9g (92%) de cristaux jaunes.

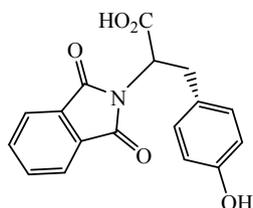
ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 357,32$ valeur calculée pour $C_{19}H_{14}N_2O_4Na$,

357,3 valeur expérimentale.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, **DMSO-d₆**): 1,5 (s, 1H) 3,02 (d, 7.0, 2H), 4,3 (t, 7.00, 1H), 7,01 (m, 1H), 7,39 (m, 4H), 7,79 (m, 4H), 10,72(s, large, 1H).

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1707.51, 1742.75, 1778.46, 3284.37.

***N*-phtalimido-L-tyrosine (7)**



Solide blanc, Pf = 178 °C.

$C_{17}H_{13}NO_5$
MM: 311.28 g.mol⁻¹

Protocole identique à celui de la synthèse de dérivés phtaloyles, sauf que le reflux est de 24h avec une légère modification du processus de purification.

- L-tyrosine 10g (55,19mmol).
- Anhydride phtalique recristallisé 8,17g (55,19 mmol),
- AcOH (100 ml).
- Reflux : 24 h. On chasse le solvant sous vide. Ensuite, on fait bouillir le produit dans 50ml d'eau (un trouble se produit), puis on ajoute goutte à goutte l'éthanol à chaud jusqu'à ce que toute la L-Ft-tyrosine passe en solution, puis on filtre à chaud. On laisse se déposer le solide et on filtre à froid. Une recristallisation dans un mélange eau-éthanol (3-1) permet d'isoler 12g (70%) de composé 7.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 334.28$ valeur calculée pour $C_{17}H_{13}NO_5$,

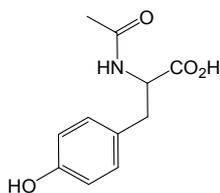
334.3 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : 3, 33 (d, 7,6, 2H), 4,99 (t, 7,5, 1H), 5,05 (s, 1H), 6,53 (d, 7,8, 2H), 6,95 (d, 7,8, 2H), 7, 86 (m, 4H), 9,14 (s, 1H).

¹³C RMN (75,5 MHz, DMSO-d₆) : 33.62, 53.68, 115.59, 123.84, 127.48 (2C), 130.08 (2C), 131.21 (3C), 135.40 (2C), 156.44, 167.44 (2C), 170.60.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1725.16, 1694.64, 1771.78, 3360.82, 3663.42 (OH de phénol).

N-acétyl-L-tyrosine (8)



$C_{11}H_{13}NO_4$,
MM= 223.23 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 147-149°C.

litt : Pf = 149 °C.

Cas : 537-55-3

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit la L-tyrosine (0,13 mol) et l'anhydride acétique (0,13mol) dans AcOH glacial (40ml) ; on porte à reflux pendant 2h. Ensuite, on laisse refroidir le mélange et le solide cristallisé est filtré sous vide en faisant des lavages à l'eau pour entraîner l'acide acétique.

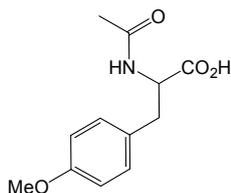
On fait porte à reflux le produit dans 80ml d'eau jusqu'à l'obtention d'un trouble, puis on ajoute goutte à goutte l'éthanol à chaud jusqu'à ce que toute le solide passe en solution, puis on filtre à chaud. On laisse cristalliser, on filtre à froid. Une recristallisation dans un mélange eau-éthanol (4-1) permet d'isoler 21,4 g (74%) de composé **8**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 246.21 valeur calculée pour C₁₁H₁₃NO₄Na,

246.2 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3500-2500 (O-H de l'acide), 1680 (C=O acétyl), 1730 (C=O carboxyle).

N-acétyl-L-tyrosine-OMe (9)



$C_{12}H_{15}NO_4$
MM: 237,25g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 203-205 °C.

Synthèse à partir du composé **8** :

Dans un bicol, on introduit la N-acétyl-L-tyrosine (2,82g, 11,89mmol) **8**. On ajoute goutte à goutte et sous agitation une solution de NaOH (3g de NaOH dans 25 ml d'eau). On ajoute goutte à goutte, et durant 1h, du diméthylsulfate (2,46ml, 19,5mmol) avec une forte agitation. On porte à reflux pendant 2h (une masse se forme).

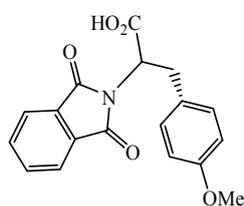
On refroidit dans la glace. On acidifie avec HCl concentré jusqu'à pH = 3. On dissout le produit dans le dichlorométhane (DCM). On filtre le solide. On évapore le DCM. On sèche sur MgSO₄, on filtre et on évapore le solvant. Une recristallisation dans l'éther permet d'isoler 2,53 g (90%) de composé **9**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 260.09 valeur calculée pour C₁₂H₁₅NO₄Na,

260.1 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3500-2500 (O-H de l'acide), 1682 (C=O acétyl), 1731 (C=O carboxyle).

***N*-phtalimido-L-tyrosine-OMe (10)**



C₁₈H₁₅NO₅
MM: 325,32g.mol⁻¹

liquide jaune très visqueux.

Synthèse à partir du composé **7** : Dans un bicol, on introduit *N*-phtalimido-L-tyrosine (73,37g, 10,825mmol). On ajoute sous agitation et goutte à goutte une solution de NaOH (3g de NaOH dans 25 ml d'eau) (le minimum pour dissoudre la *N*-phtalimido-L-tyrosine. On ajoute du diméthyle sulfate (2,1 ml, 16,64mmol) goutte à goutte pendant 1h et sous une forte agitation.

On porte à reflux pendant 2 h (une masse se forme). On refroidit dans la glace. On acidifie avec HCl concentré jusqu'à pH = 3. On dissout le produit dans le DCM. On filtre le solide, on évapore le solvant. On sèche avec MgSO₄, on filtre et on évapore le solvant.

↳ Obtention de 3 g (85%) du composé **10**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 348.31 valeur calculée pour C₁₈H₁₅NO₅Na,

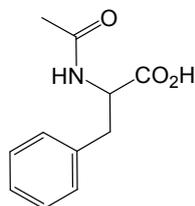
348.2 Valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 3.24 (d, 7,5, 2H), 3.73 (s, 1H), 4.85 (t, 7,6, 1H), 5.05 (s, 1H), 7.05-7.19 (m, 4H), 7.83 (m, 4H), 9,95 (s, 1H).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 33.85, 55.4, 56.11, 114.23 (2C), 127.32 (2C), 129.66 (2C), 131.8, 132.2 (2C), 133.12 (2C), 157.54, 167.68 (2C), 174.52

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 1775.12, 1742.27, 1715.72, 1613.07, 1249.11 (O-Me).

***N*-acétyl-L- phénylalanine (11)**



$C_{11}H_{13}NO_3$,
MM= 207.23 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 172-174°C.

litt : Pf = 171-173 °C.

$[\alpha]^{22}_D +39.9^\circ$, c = 1 dans le méthanol

litt $[\alpha]^{22}_D +40.0^\circ$, c = 1 dans le méthanol

Cas : 2018-61-3

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit 0,1 moles de L-phénylalanine, 0,1 moles d'anhydride acétique dans 40ml d'acide acétique glacial, et on porte à reflux pendant 2h. Ensuite, on laisse refroidir le mélange et le solide cristallisé est filtré sous vide en faisant des lavages à l'eau pour entraîner l'acide acétique.

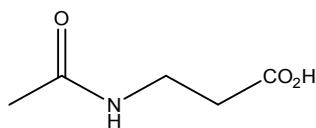
On fait bouillir le produit dans 80ml d'eau (un trouble apparaît), puis on ajoute goutte à goutte l'éthanol à chaud jusqu'à ce que toute la L-Ft-phénylalanine passe en solution, puis on filtre à chaud. On laisse cristalliser et on filtre à froid. Une recristallisation dans un mélange eau-éthanol (4-1) permet d'isoler 18,2 g (88%) de composé **11**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 230.22$ valeur calculée pour $C_{11}H_{13}NO_3Na$,

230.1 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3500-2500 (O-H de l'acide), 1681 (C=O acétyl), 1732 (C=O carboxyle)

***N*-acétyl- β -alanine (12)**



$C_5H_9NO_3$
MM: 131.13 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 60-62°C ;

Cas : 3025-95-4

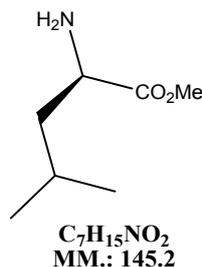
Dans un bicol, on introduit 5g de β -alanine (52,12mmol) dans 50 ml d'AcOH. On ajoute 5,73g d'anhydride acétique fraîchement distillé (56,12mmol) et on porte à reflux pendant 2 h. Après évaporation du solvant, une recristallisation dans l'éther permet d'isoler 7,6g (88%) du produit **12**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 154.12$ valeur calculée pour $C_5H_9NO_3Na$,

154 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3346,69 ; 3106,20; 1707,56 ; 1619,43.

L-Leucine-OMe (13)



Solide blanc, Pf = 178 °C.

Synthèse à partir du composé 1 :

A une suspension de chlorhydrate de L-leucinate de méthyle (2g, 15,24 mmol) dans le THF (30ml), on ajoute la triéthylamine (TEA) (1,3g, 16,77mmol, 1.1 equiv.) et le mélange est agité pendant 1h. On filtre et on évapore le solvant pour récupérer l'amine libre. Une recrystallisation dans l'éther permet d'isoler 2,53 g (90%) de composé **13**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 168,19$ valeur calculée pour $C_7H_{15}NO_2Na$,

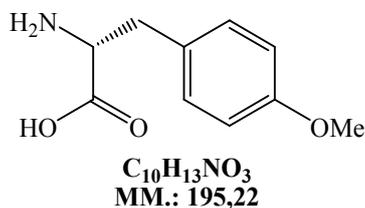
168,2 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J: Hz, $CDCl_3$): 1,1 (d, 7.5, 6H), 1,83 (sl, 2H), 1.86 (m, 3H), 3.47 (d, 7.00, 1H), 3.71 (s, 3H).

¹³C RMN (75,5 MHz, $CDCl_3$) : 22.41, 22.86 (2C), 42.98, 50.44, 51.93, 171.52.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1738.26(C=O de l'ester), 3379.63 (NH₂).

Acide (*R*)-2-amino-3-(4-méthoxyphényl) propanoïque (14)



Solide blanc, Pf = 136°C.

Dans un bicol, on introduit la L-tyrosine (10mmol). On ajoute sous agitation et goutte à goutte une solution de NaOH (3g de NaOH dans 25 ml d'eau). On ajoute du diméthyle sulfate (2,1ml, 16 mmol) goutte à goutte pendant 1h de dans la solution précédente avec une forte agitation. On porte à reflux pendant 2h (une masse se forme). On refroidit dans la glace. On acidifie avec HCl concentré jusqu'à pH = 3. On dissout le produit dans le DCM. On filtre le solide, on évapore le solvant. On sèche avec $MgSO_4$, on filtre et on évapore le solvant.

↳ Obtention de du composé **14** avec un rendement de 32%.

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1249.11 (O-Me) en plus par rapport au spectre de la L-tyrosine.

CHAPITRE II

SYNTHESE DES ANALOGUES DES FRAGMENTS INFERIEURS (B-C-D) DE LA CRYPTOPHYCINE

1. STRATEGIES DE SYNTHÈSE

En nous basant sur le travail du groupe de Vinod F. Patel¹⁷³, nous nous sommes proposé de synthétiser des analogues des fragments (B-C-D) par modification du fragment B, en utilisant des amino acides différents de ceux de la structure naturelle (L-phénylalanine, L-proline, L-tryptophane...). Ci-dessous dans la figure 38, est indiqué l'examen retro synthétique proposé.

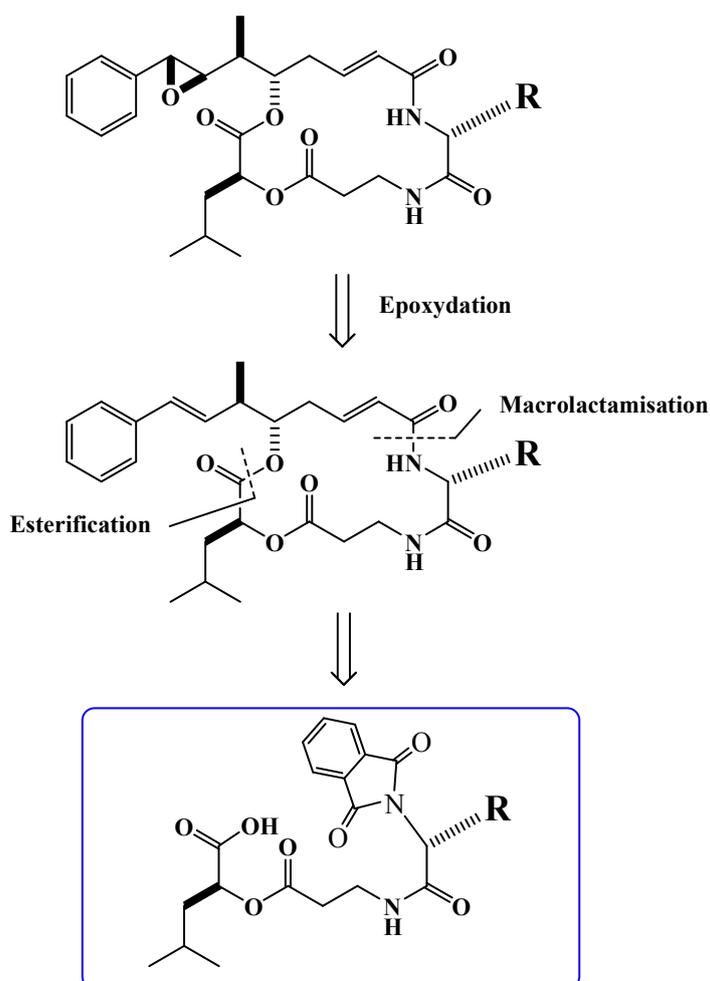


Figure 38 : examen retrosynthétique

Par référence au travail de Vinod F. Patel et collaborateurs¹⁷³ ainsi qu'à celui de Murakami et collaborateurs, nous nous sommes fixé de synthétiser les dérivés semblables à ceux du schéma 38, mais avec une liaison amide entre le fragment C et D. Ci-dessous dans la figure 39, est indiqué l'examen retro synthétique proposé.

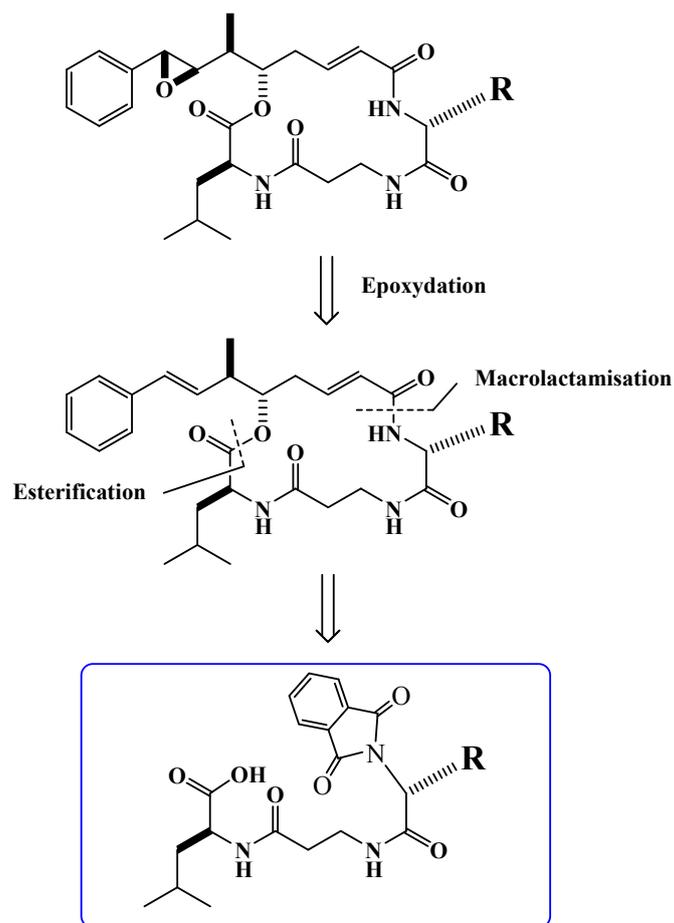


Figure 39 : examen retro synthétique

Pour effectuer cette synthèse, nous avons suivi deux chemins réactionnels. Le premier (schéma 31) permet d'obtenir des analogues du fragment inférieur (B-C-D) et comporte quatre étapes. Nous avons choisi la L-leucine comme réactif de départ. Le couplage de l'ester méthylique de la L-leucine avec N-phthalimido- β -alanine ou n-acétyl- β -alanine donne le dipeptide protégé. Ensuite, le dipeptide déprotégé est couplé avec différents amino acides pour générer un tripeptide dont on libère la fonction acide pour la coupler finalement avec le fragment A.

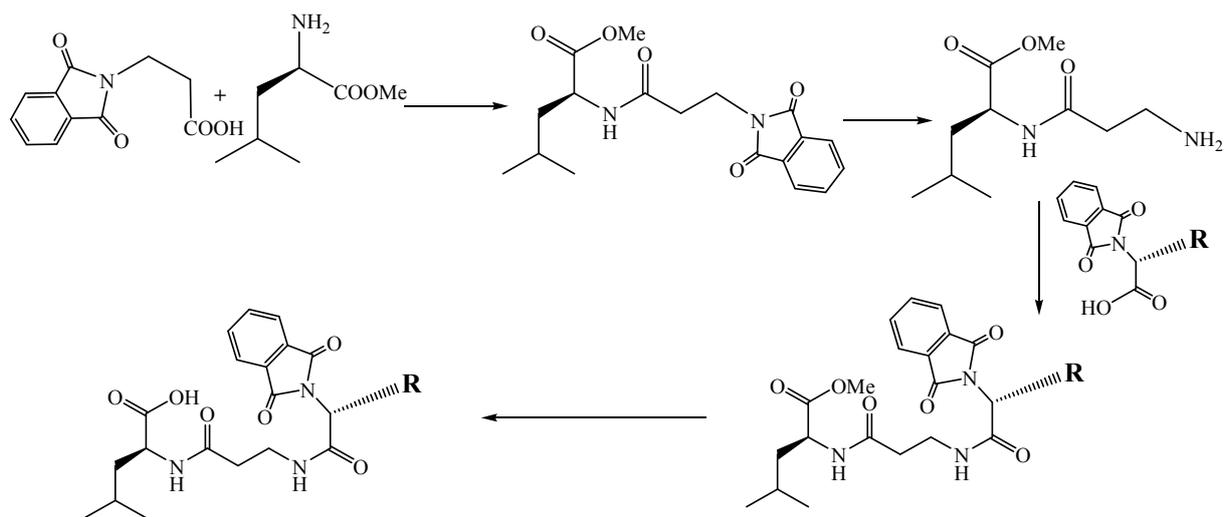


Schéma 31

Nous avons suivi le même chemin réactionnel décrit auparavant, en partant de l'acide L-leucique comme produit de départ pour avoir d'autres analogues du fragment inférieur (B-C-D) (schéma 32).

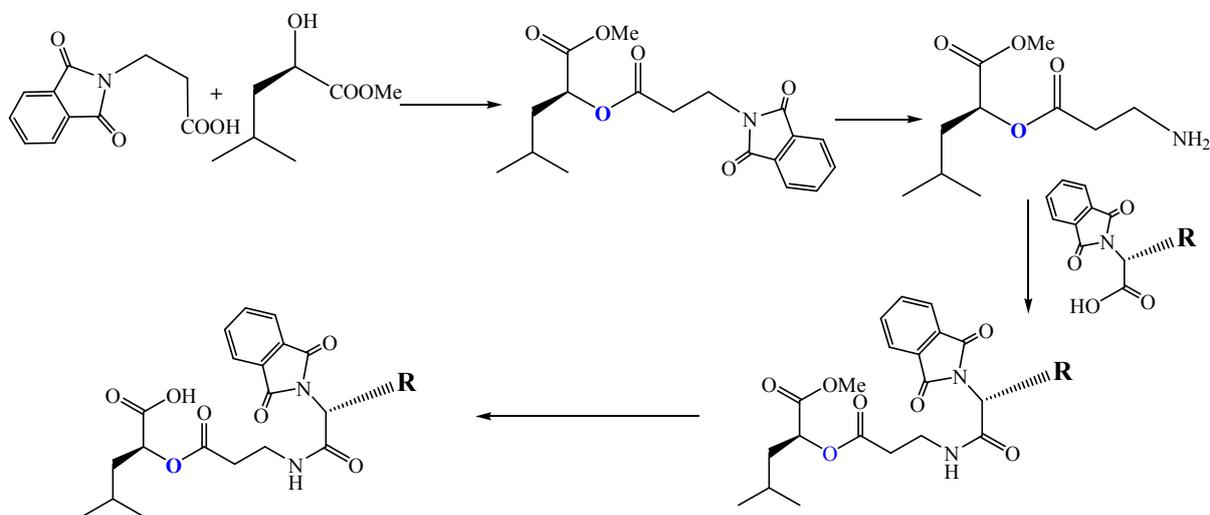


Schéma 32

Le deuxième chemin réactionnel pour obtenir des analogues du fragment inférieur (B-C-D) comporte quatre étapes (schéma 33). Premièrement, nous avons commencé par la préparation des différents dipeptides ; ensuite, la libération de la fonction acide de ces dipeptides permet de les coupler avec l'ester méthylique de la L-leucine. Enfin, on libère la fonction acide de ces tripeptides pour les coupler avec le fragment A de la cryptophycine.

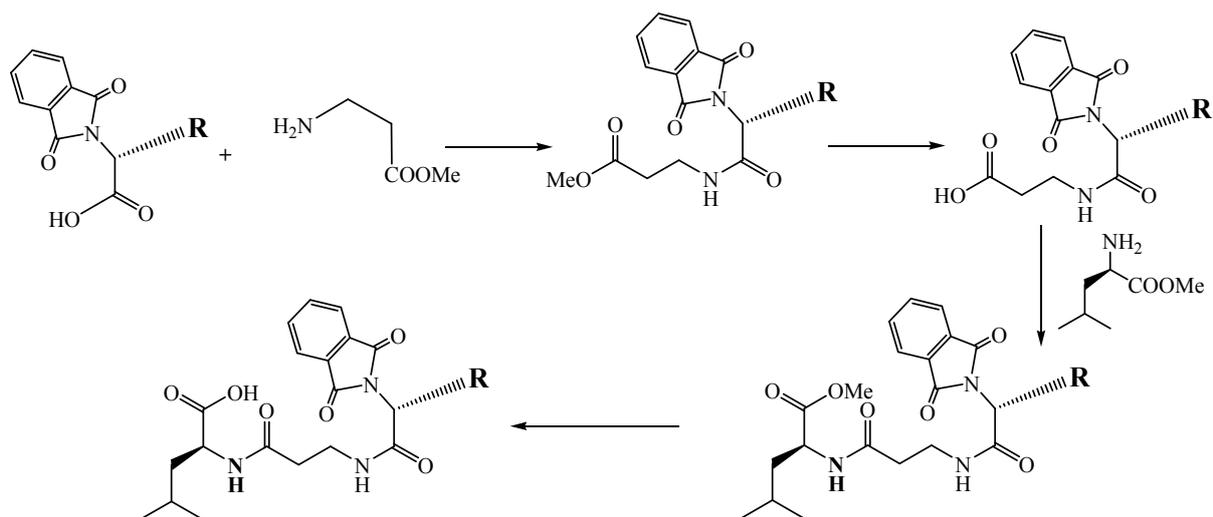


Schéma 33.

Comme dans le cas précédent, l'acide L-leucine a été choisi comme réactif de départ afin de concrétiser le schéma 34.

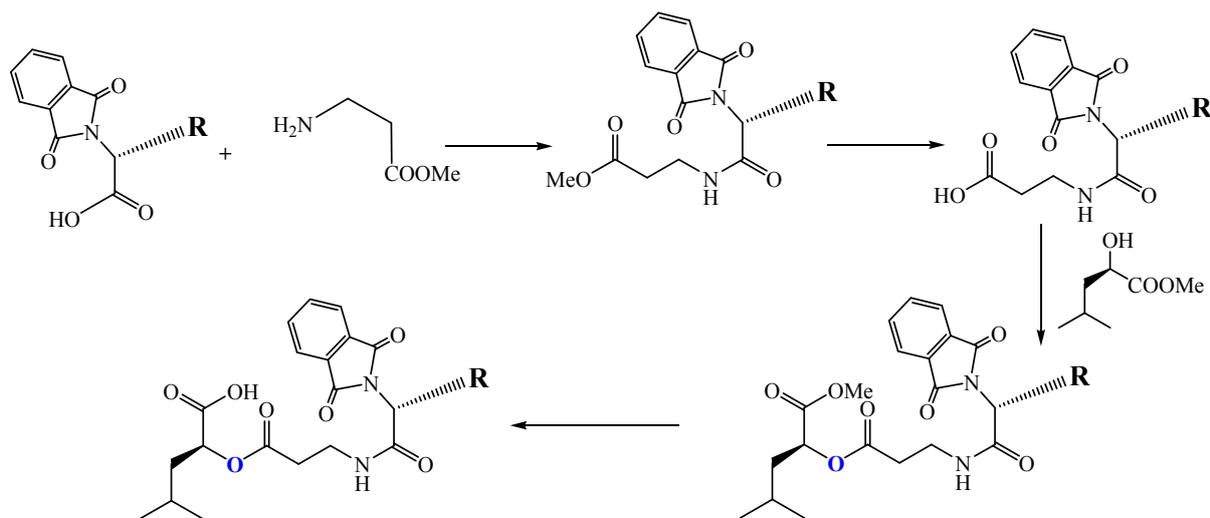
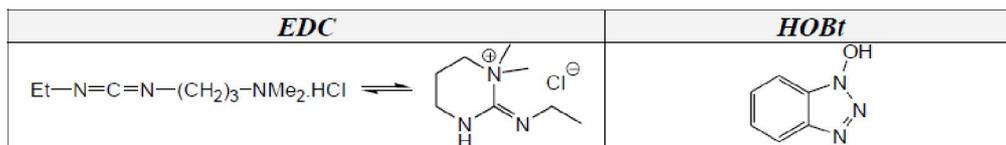


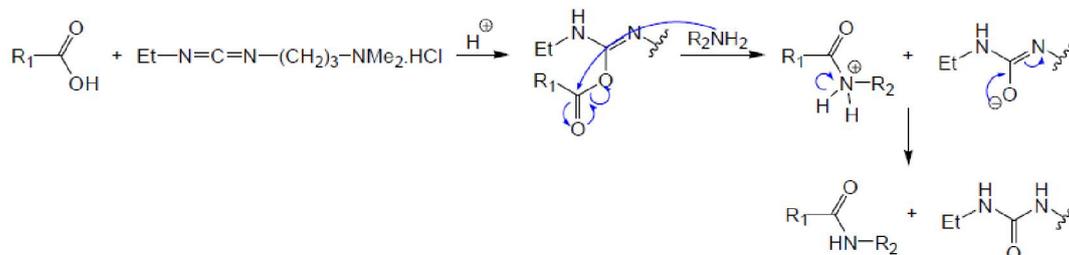
Schéma 34

2. Couplage peptidique

Les aminoacides sont utilisés lors de la synthèse peptidique dont ils sont les "monomères". Lors d'une réaction de couplage peptidique, il est nécessaire de rajouter un agent de couplage. L'EDC est un bon exemple d'un tel agent, mais d'autres composés comme le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sont aussi utilisés. Parfois, on ajoute aussi au milieu réactionnel *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt) afin d'éviter toute épimérisation des centres stéréogènes.



Le mécanisme d'application dans ce cas est le suivant :



3. Synthèse de 2-(3-*N*-phtalimido-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (15)

Le couplage de la *N*-phtalimido-β-alanine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-leucine dans le dichlorométhane en utilisant le DCC et la triméthylamine pour libérer la fonction amine *in situ* (schéma 35), conduit au dipeptide **15**. Cette manière de procéder évite l'isolation de l'ester avec la fonction amino libre, pour la condenser ensuite avec le groupe carboxyle de la phtalimido alanine.

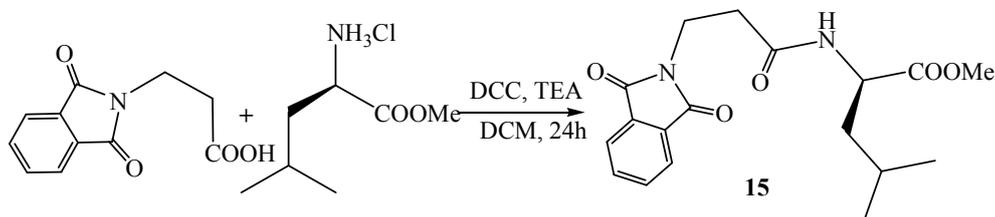


Schéma 35

Le tableau suivant résume les différents essais réalisés pour effectuer la réaction, avec mention des rendements en fonction de nombre d'équivalents de TEA.

Nombre d'équivalents de TEA/ 1	Temps de réaction	Rdt (%)
1.1	24h	28
1.5	24h	36
3	24h	63
3.5	24h	67
5	24h	90

Par la suite, nous avons reconduit la même réaction avec l'amine libre de l'ester méthylique de la L-leucine **13** au lieu de chlorhydrate de l'ester méthylique. On a obtenu le produit **15**, le 2-(3-*N*-phthalimido-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle avec un bon rendement (schéma 36).

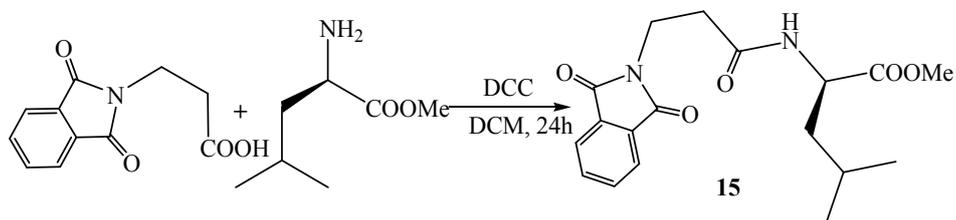


Schéma 36

4. Synthèse du 2-(3-*N*-acétyl-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (**16**)

Le couplage de la *N*-acétyl-β-alanine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine dans le dichlorométhane en présence du DCC est effectué en utilisant 5 équivalents de triméthylamine pour libérer l'amine libre *in situ*. On obtient le produit **16** avec un bon rendement (schéma 37).

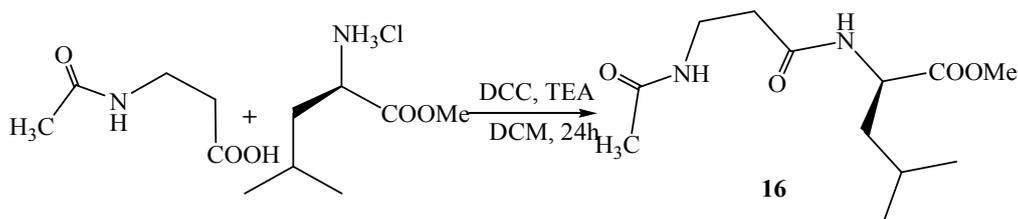


Schéma 37

Le même processus est reconduit avec l'amine libre de l'ester méthylique de L-leucine **13** pour conduire au produit **16** avec un bon rendement (schéma 38).

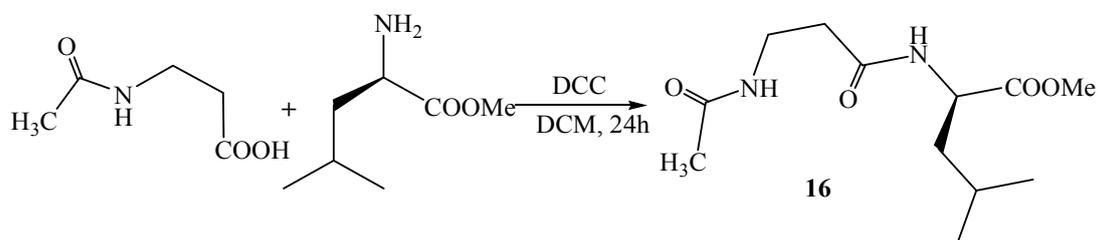


Schéma 38

5. Synthèse de l'ester méthylique de l'acide L-leucique (**41**)

Deux voies de synthèse sont développées pour obtenir le produit final **41**. Dans la première, l'estérification de la L-leucine est effectuée en présence du chlorure d'acétyle dans le

méthanol. Dans l'étape suivante, l'action du NaNO_2 sur le composé **1** n'affecte que la fonction amino de l'ester méthylique, tout en préservant la stéréochimie du produit de départ. Le produit **41** a été obtenu avec un bon rendement global (schéma 39).

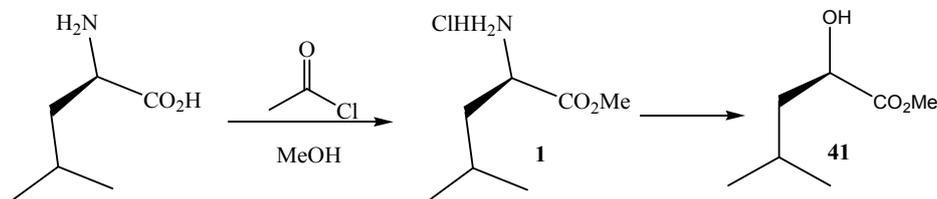


Schéma 39

Dans la deuxième voie, l'action du NaNO_2 sur le composé **1** ne peut affecter que la fonction amine, ce qui permet d'accéder à l'acide L-leucique avec un bon rendement. Dans l'étape suivante, l'estérification de la L-leucine est réalisée avec le chlorure d'acétyl dans le méthanol pour obtenir le produit **41** avec un bon rendement global (schéma 40).

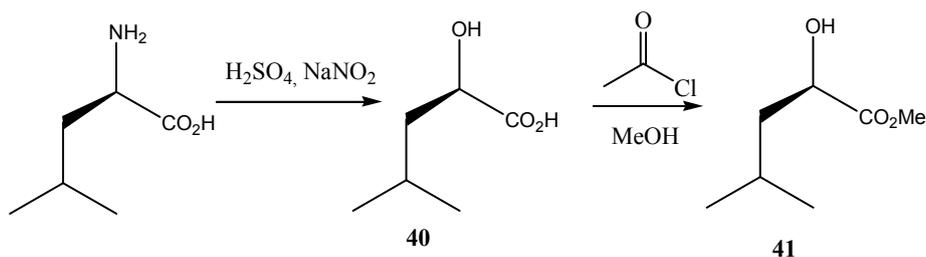


Schéma 40

6. Synthèse du 2-(3-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (**42**)

La *N*-phtalimido- β -alanine (**3**) est couplée avec le (*R*)-2-hydroxy-4-méthylpentanoate **41** de méthyle dans le dichlorométhane en utilisant le DCC comme agent de couplage pour donner le produit **42** avec un rendement de 86% (schéma 41).

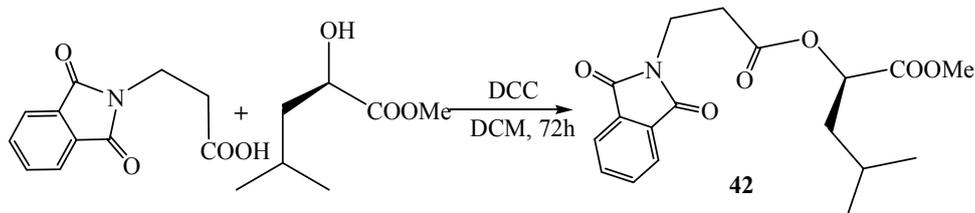
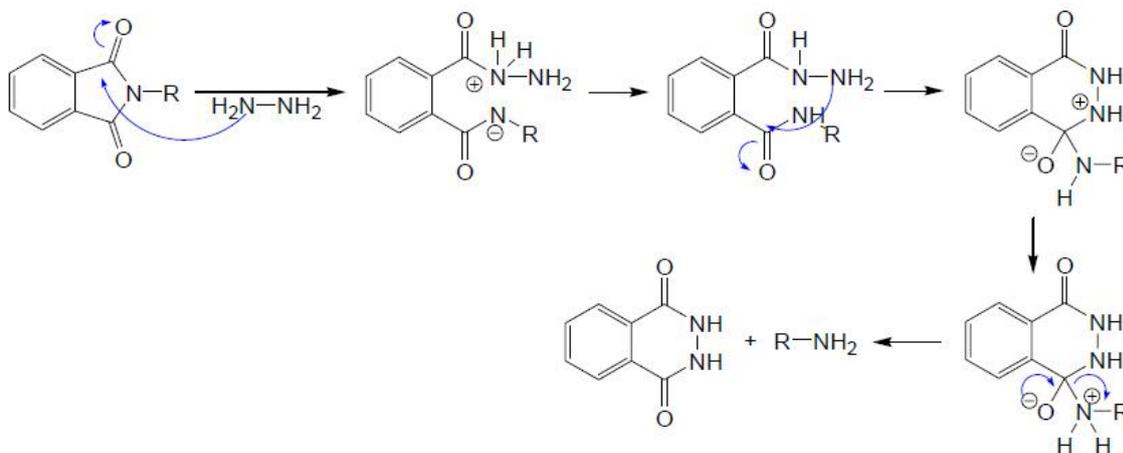


Schéma 41

7. Déprotection de groupe phtalimido

Sous l'action de l'hydrazine (NH_2NH_2) sur le phtalimide on peut libérer l'amine selon le mécanisme ci-dessous :



8. Hydrolyse de la fonction ester

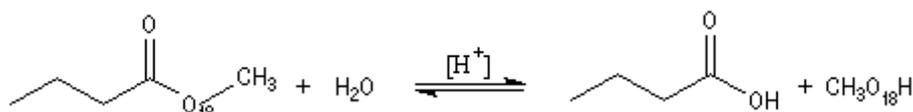
L'hydrolyse d'un ester est la réaction inverse de l'estérification de Fischer. Elle conduit à un acide carboxylique ou un ion carboxylate et un alcool. En l'absence de catalyse, l'état d'équilibre est atteint au bout d'un temps très long. Comme un catalyseur catalyse aussi bien la réaction directe que la réaction inverse, on peut utiliser les mêmes catalyseurs que pour l'estérification. Le plus simple est l'ion H^+ . En milieu acide, on obtient l'acide carboxylique. La transformation conduit à un équilibre :



En milieu basique, le produit final est l'ion carboxylate. Les ions OH^- ne sont pas des catalyseurs car ils sont consommés dans la réaction. La transformation est totale :



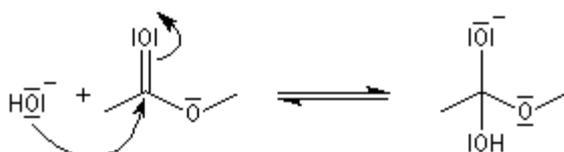
L'hydrolyse des esters en milieu acide suit habituellement un mécanisme AAC2. Il s'agit de la réaction inverse de l'estérification de Fischer.



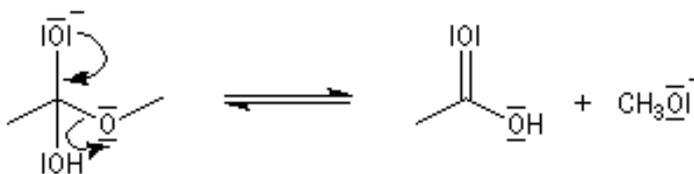
Certains esters comme le 2,4,6-triméthylbenzoate de méthyle ou mésitoate de méthyle sont hydrolysés en milieu acide selon un mécanisme AAC1.

Le mécanisme habituel de l'hydrolyse basique des esters est de type BAC2. Les étapes sont les suivantes :

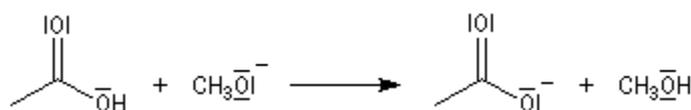
- addition de l'ion hydroxyde sur le groupe carboxyle de l'ester avec formation d'un intermédiaire tétraédrique. Cette étape bimoléculaire est cinétiquement déterminante. Comme les ions hydroxyde sont de bien meilleurs nucléophiles que l'eau, la saponification est plus rapide que l'hydrolyse :



- fragmentation de l'intermédiaire tétraédrique avec élimination d'un ion éthanolate ;



- déprotonation de l'acide carboxylique par l'ion éthanolate avec formation d'un ion carboxylate. Cette réaction quantitative rend la transformation globale totale.



9. Première voie de synthèse des analogues du fragment inférieur (B-C-D)

9.1-Synthèse des composés 28, 29, 30, 31, 32, et 33.

Le premier chemin (schémas 42 et 43) permet d'obtenir des analogues du fragment inférieur (B-C-D) et comporte trois étapes avec des bons rendements globaux. Le couplage de la *N*-phtalimido- β -alanine (2) avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (1) dans le dichlorométhane en présence de DCC et de la triméthylamine conduit au produit **15** avec un rendement de 90%. Sous l'action de l'hydrate d'hydrazine sur le produit **15** dans le dichlorométhane, on récupère le produit **17** avec un rendement de 86%. Puis, le couplage de ce dernier avec les composés **5**, **10**, **6**, **4**, **11**, et **9** dans le dichlorométhane en présence de DCC conduit aux produits correspondants **28**, **29**, **30**, **31**, **32**, **33** avec des rendements respectifs de 92, 93.5, 90, 94, 97 et 92.5% (schéma 42).

Ces mêmes produits **28**, **29**, **30**, **31**, **32**, **33** sont obtenus avec des rendements globaux respectifs de 71.2, 72.37, 69.66, 72.75, 75.1, et 71.6% à partir de la *N*-phthalimido-β-alanine **2**.

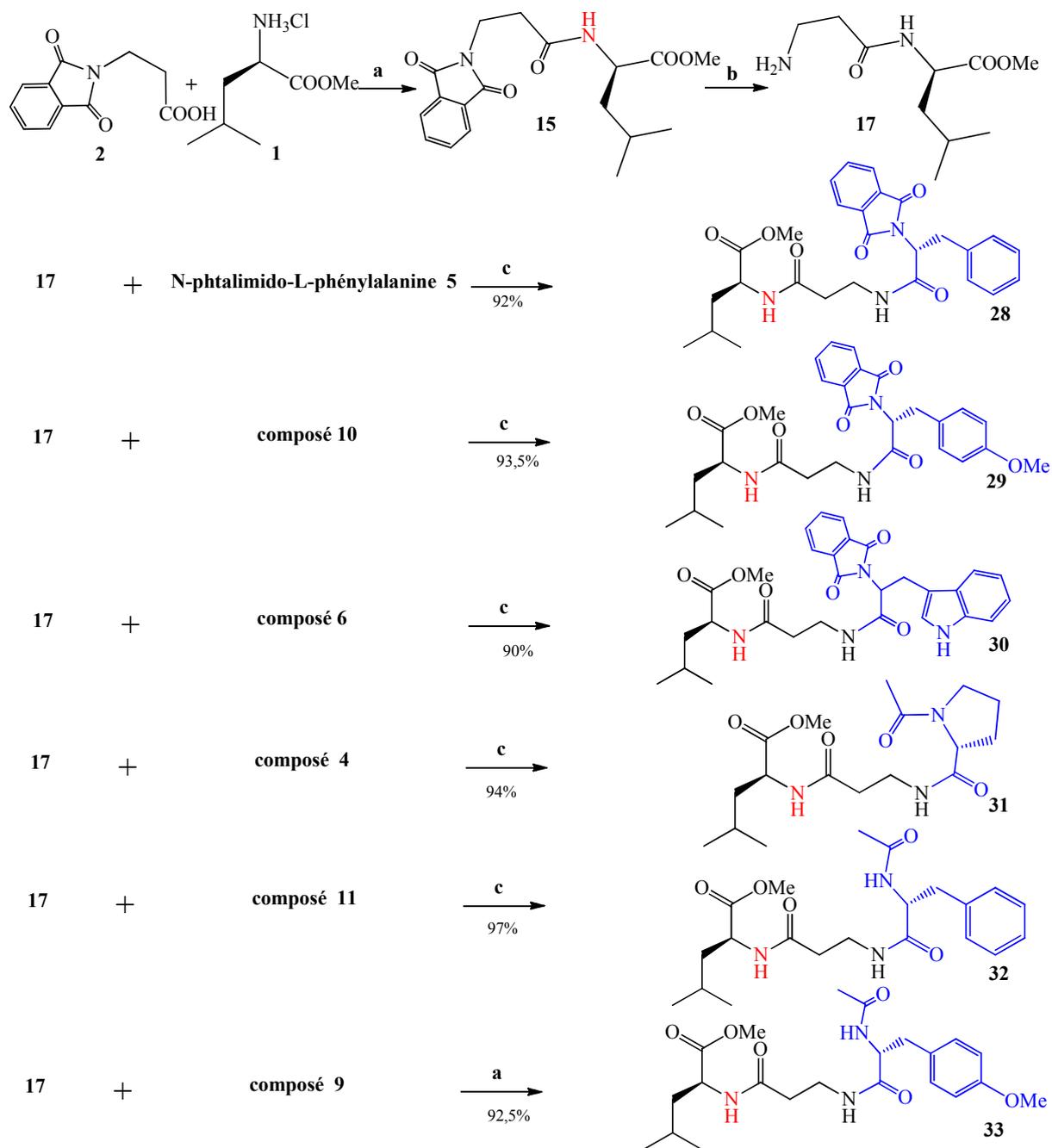


Schéma 42: (a) DCC, TEA, CH_2Cl_2 , TA, 90%; (b) NH_2NH_2 , CH_2Cl_2 , TA, 86%; (c) DCC, CH_2Cl_2 .

9.2-Synthèse des composés 44, 45, 46, 47, et 52.

Nous avons suivi le même chemin réactionnel décrit auparavant, en partant de l'acide L-leucique comme produit de départ pour avoir d'autres analogues du fragment inférieur (B-C-D) (schéma 43). Le couplage de la *N*-phtalimido- β -alanine **2** avec le (*R*)- 2-hydroxy-4-méthylpentanoate de méthyle **41** dans le dichlorométhane donne le produit **42** avec un rendement de 86%. L'hydrate d'hydrazine convertit ce dernier en **43** avec un rendement de 83%. Puis le couplage de ce dernier avec les composés **5**, **10**, **6**, **4**, et **9** dans le dichlorométhane en présence de DCC donne les produits **44**, **45**, **46**, **47**, et **52** avec des rendements respectifs de 86, 79, 90, 95 et 94% (schéma 43).

Les produits **44**, **45**, **46**, **47**, et **52** sont obtenus avec des rendements globaux respectifs de 61.38, 56,4, 64.2, 67.81, 67.1% à partir de la *N*-phtalimido- β -alanine **2**.

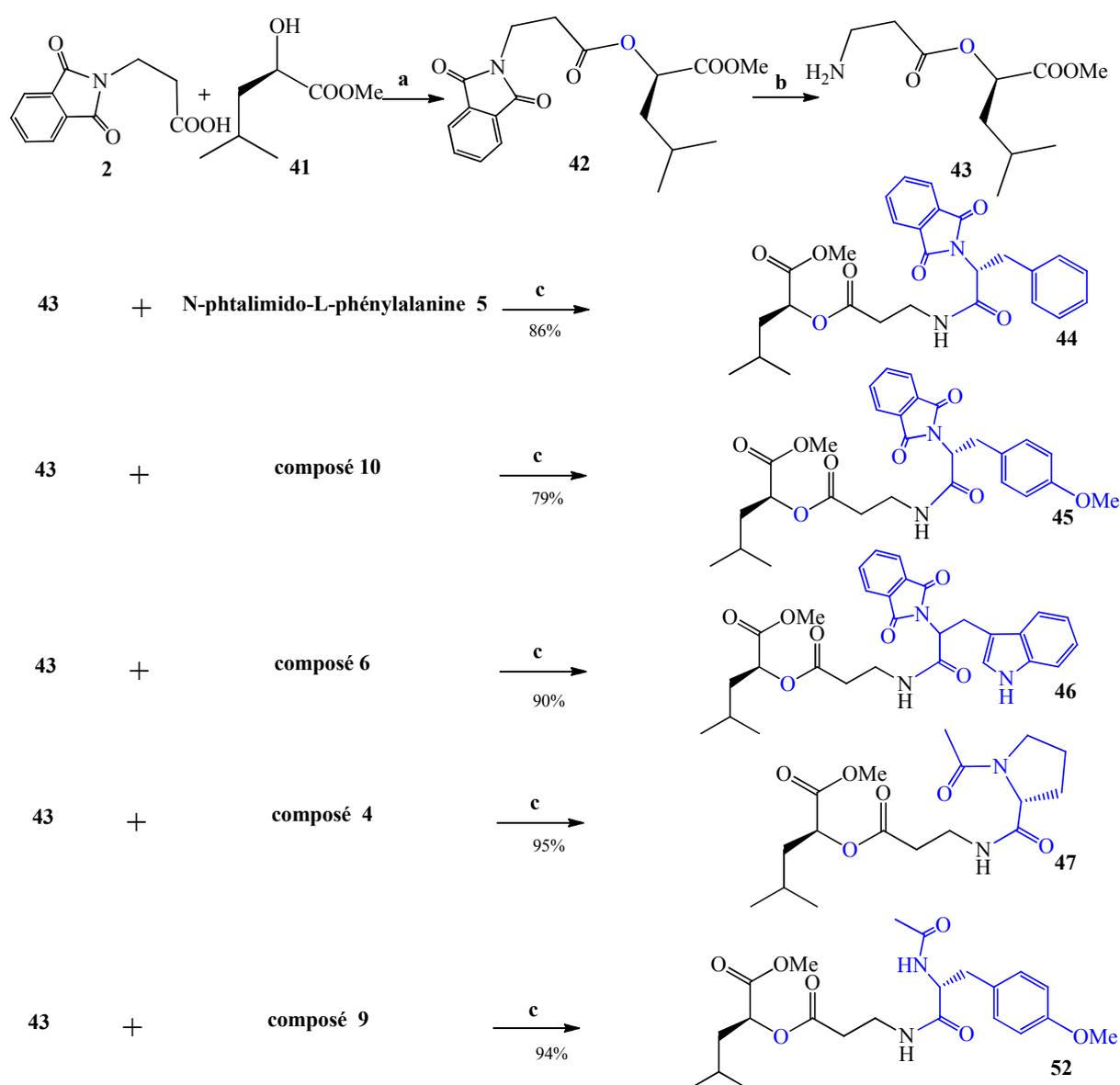


Schéma 43: (a) DCC, TEA, CH₂Cl₂, TA, 86%; (b) NH₂NH₂, CH₂Cl₂, 83%; (c) DCC, CH₂Cl₂, TA,

Deuxième voie de synthèse des analogues du fragment inférieur (B-C-D)

10.1-Synthèse des composés 28, 29, 30, 31, et 32

Le deuxième chemin réactionnel pour obtenir des analogues du fragment inférieur (B-C-D) comporte trois étapes (schéma 44). Premièrement, le couplage des composés **5**, **10**, **6**, **4**, et **11** avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de β -alanine dans les mêmes conditions opératoires décrites ci-dessus donne les produits **19**, **18**, **21**, **22**, et **20** avec des rendements respectifs de 76, 70, 76, 80 et 85% (schéma 44). Sous l'action d'une solution aqueuse 0,2M d'hydroxyde de lithium sur les produits **19**, **18**, **21**, **22**, et **20** dans un mélange THF/eau (2/1), on récupère les produits **24**, **27**, **25**, **26**, et **23** avec des rendements respectifs de 46,3, 78, 73, 52 et 41% (schéma 44).

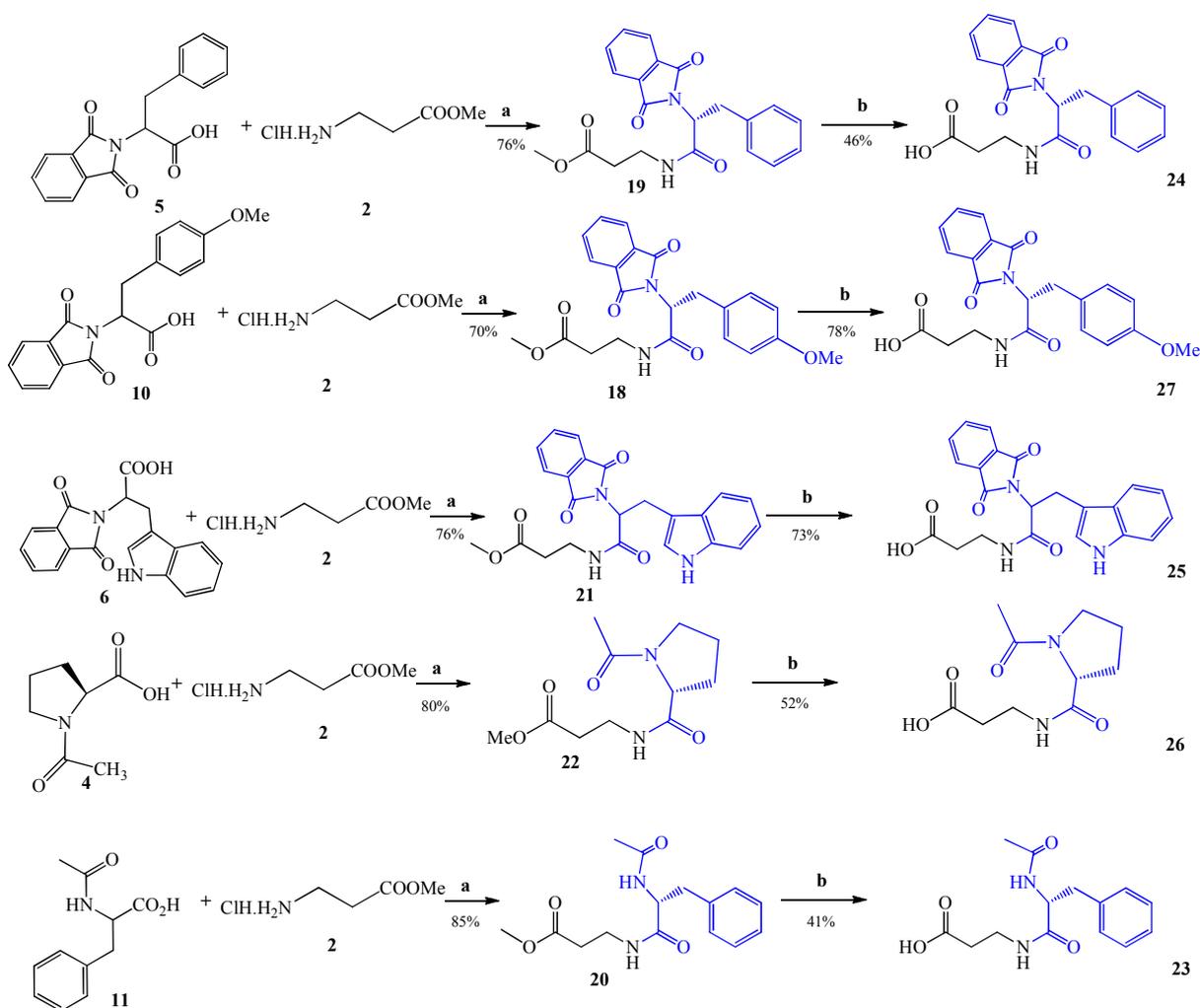


Schéma 44: (a) DCC, TEA, CH₂Cl₂, TA, (b) LiOH 0.2N, THF-H₂O, TA.

Ensuite, le couplage des composés **24**, **27**, **25**, **26**, et **23** avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine **1** dans les mêmes conditions opératoires décrites ci-dessus donne les produits **28**, **29**, **30**, **31**, et **32** avec des rendements respectifs de 54, 74, 70, 62.5 et 71.4% (schéma 45).

De cette manière les produits **28**, **29**, **30**, **31**, et **32** sont obtenus avec des rendements globaux respectifs de 19, 40.4, 38.83, 26, et 24.88% à partir de l'ester méthylique de β -alanine.

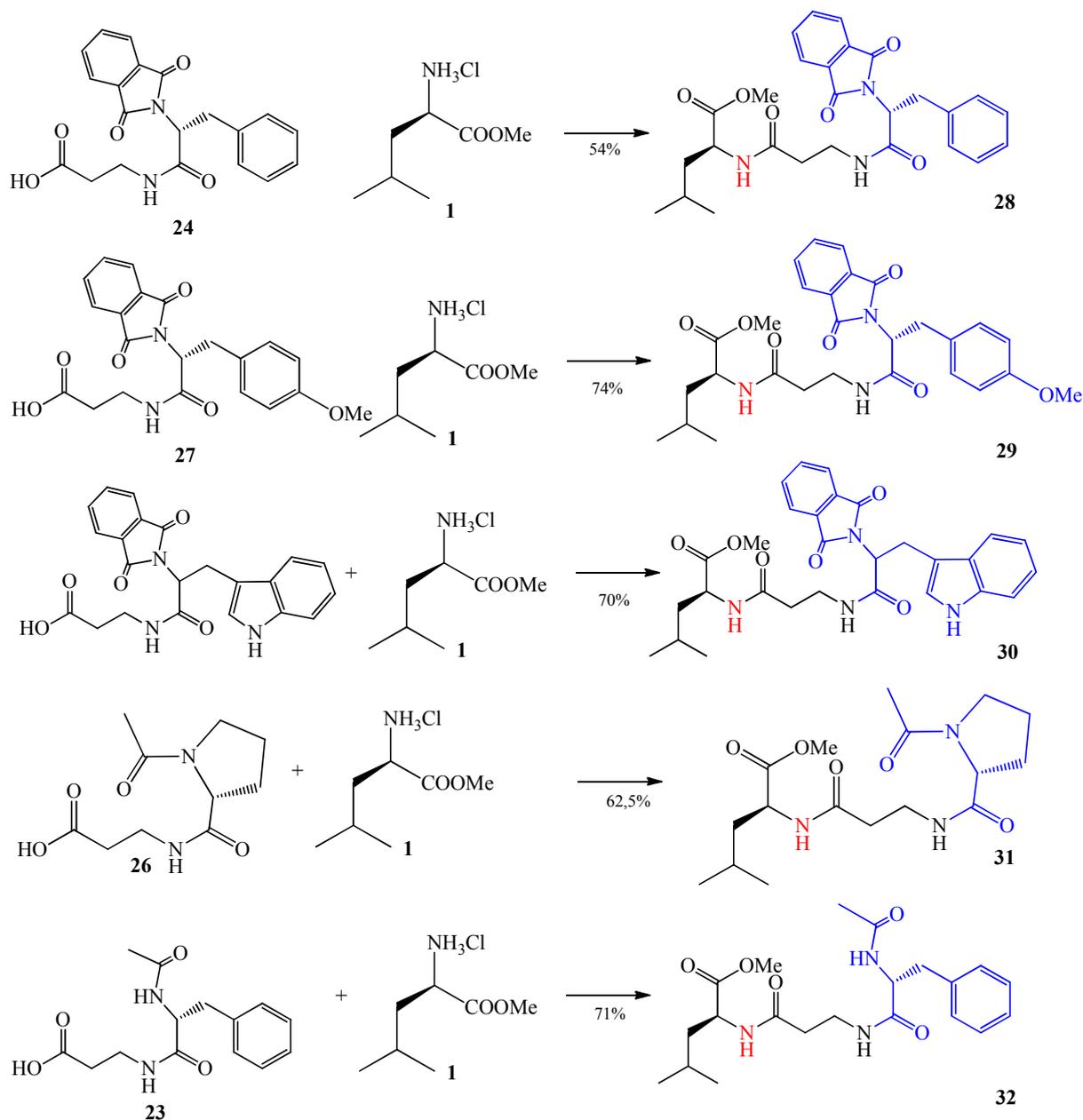


Schéma 45: DCC, TEA, CH_2Cl_2 .

10.2-Synthèse des composés 44, 45, 46, et 47.

Le couplage des composés **24**, **27**, **25**, et **26** avec le composé **41** dans les mêmes conditions opératoires décrites ci-dessus donne les produits avec des rendements respectifs de 77, 74, 68, 82% (schéma 46). De cette manière les produits **44**, **45**, **46**, et **47** sont obtenus avec des rendements globaux respectifs de 27.1, 40.4, 39.7, et 34.1% à partir de l'ester méthylique de la β -alanine.

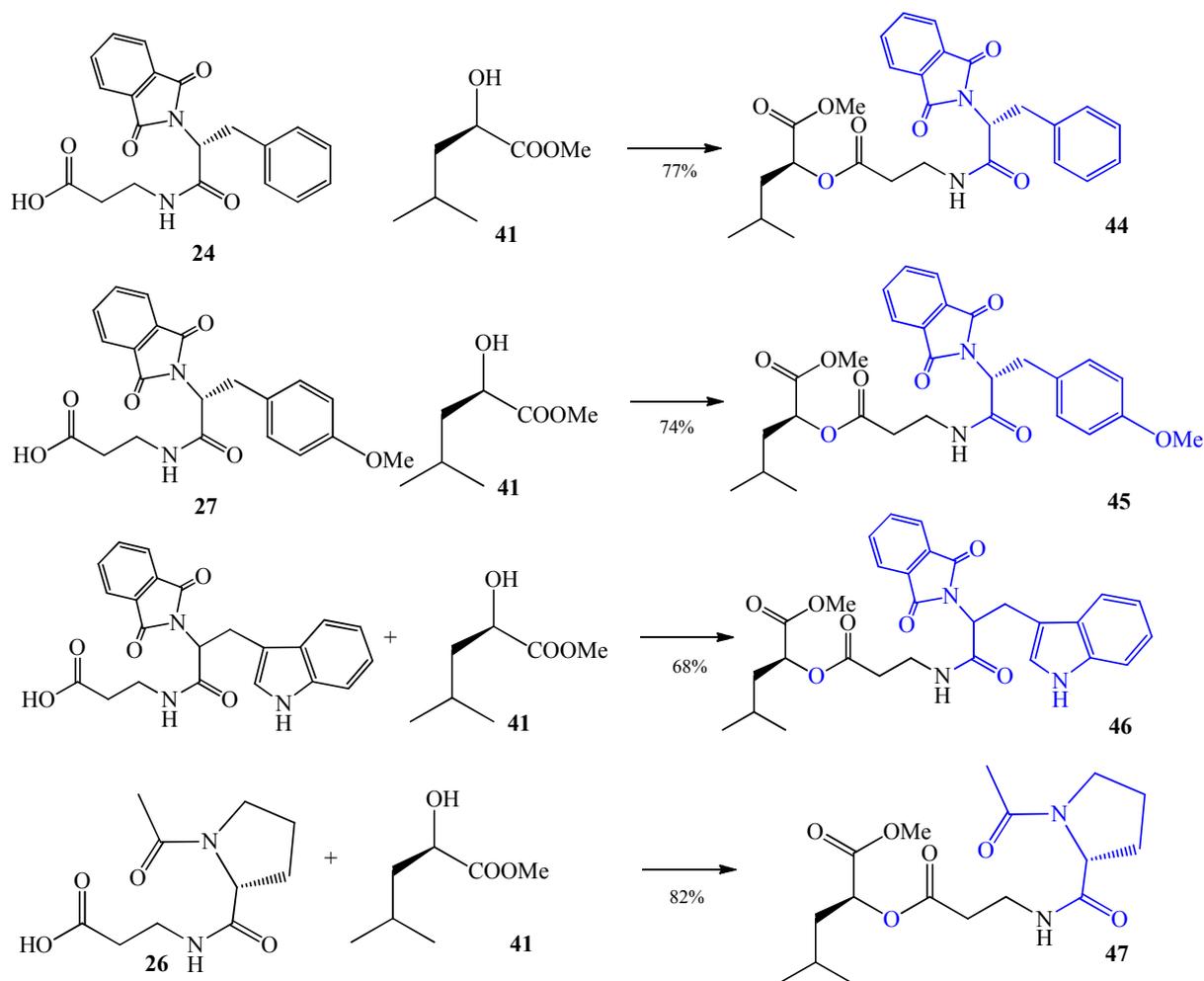


Schéma 46: DCC, TEA, CH_2Cl_2 .

10.3-Synthèse des composés 34, 35, 36, 37, 38, et 39.

Par l'action de d'hydroxyde de lithium 0.2M sur les composés **28**, **29**, **30**, **31**, **32**, et **33** dans un mélange THF/eau (2-1), les composés **34**, **35**, **36**, **37**, **38**, et **39** sont obtenus avec des rendements respectifs de 88, 88, 83, 84, 82, et 82% (schéma 47).

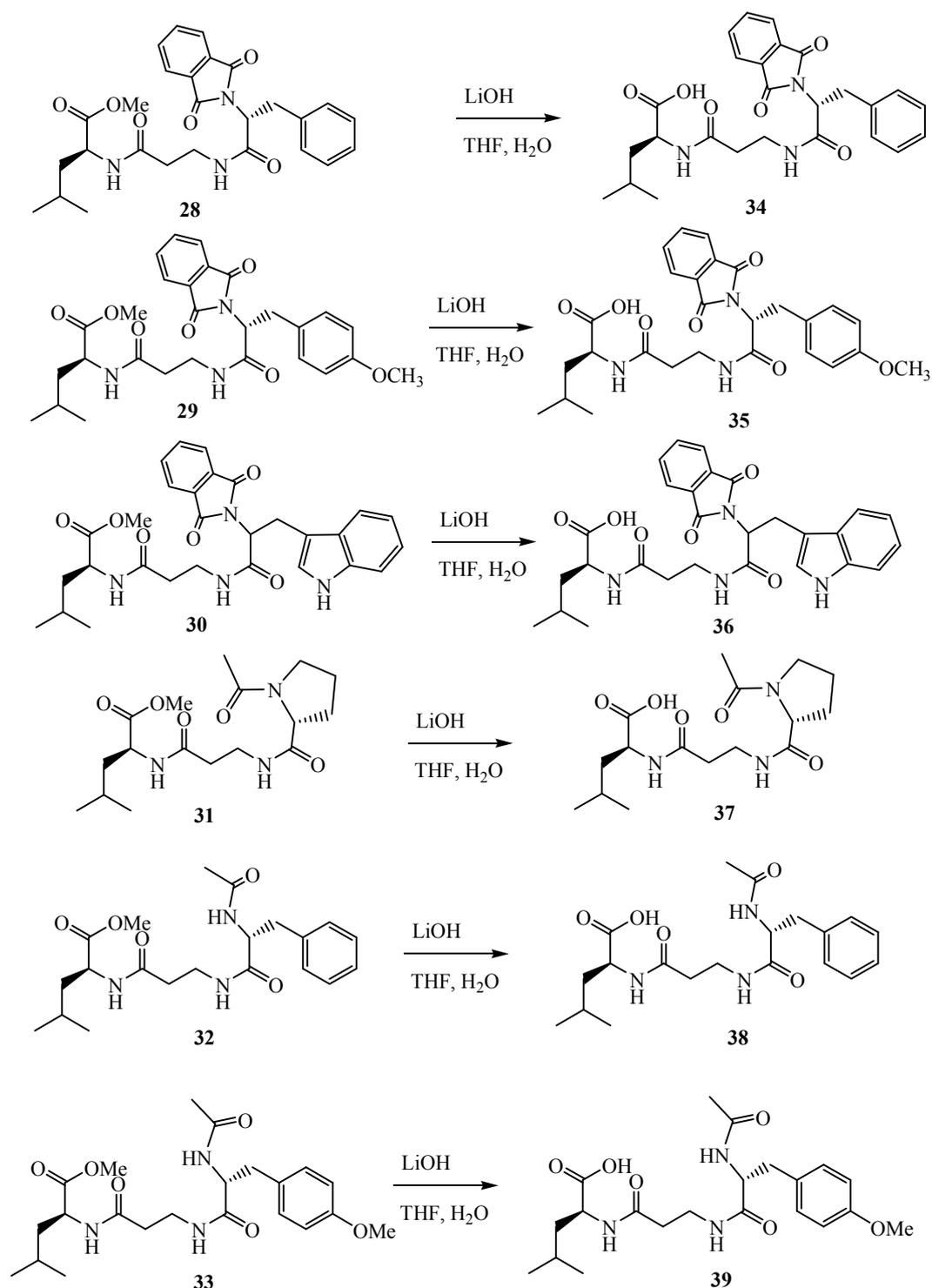


Schéma 47

10.4-Synthèse des composés 48, 49, 50, 51, et 53

Par l'action de d'hydroxyde de lithium 0.2N sur les composés 44, 45, 46, 47, et 52 dans un mélange THF/eau (2-1), les composés 48, 49, 50, 51, et 53 sont obtenus avec des rendements respectifs de 81, 87, 83, 84, et 78% (schéma 48).

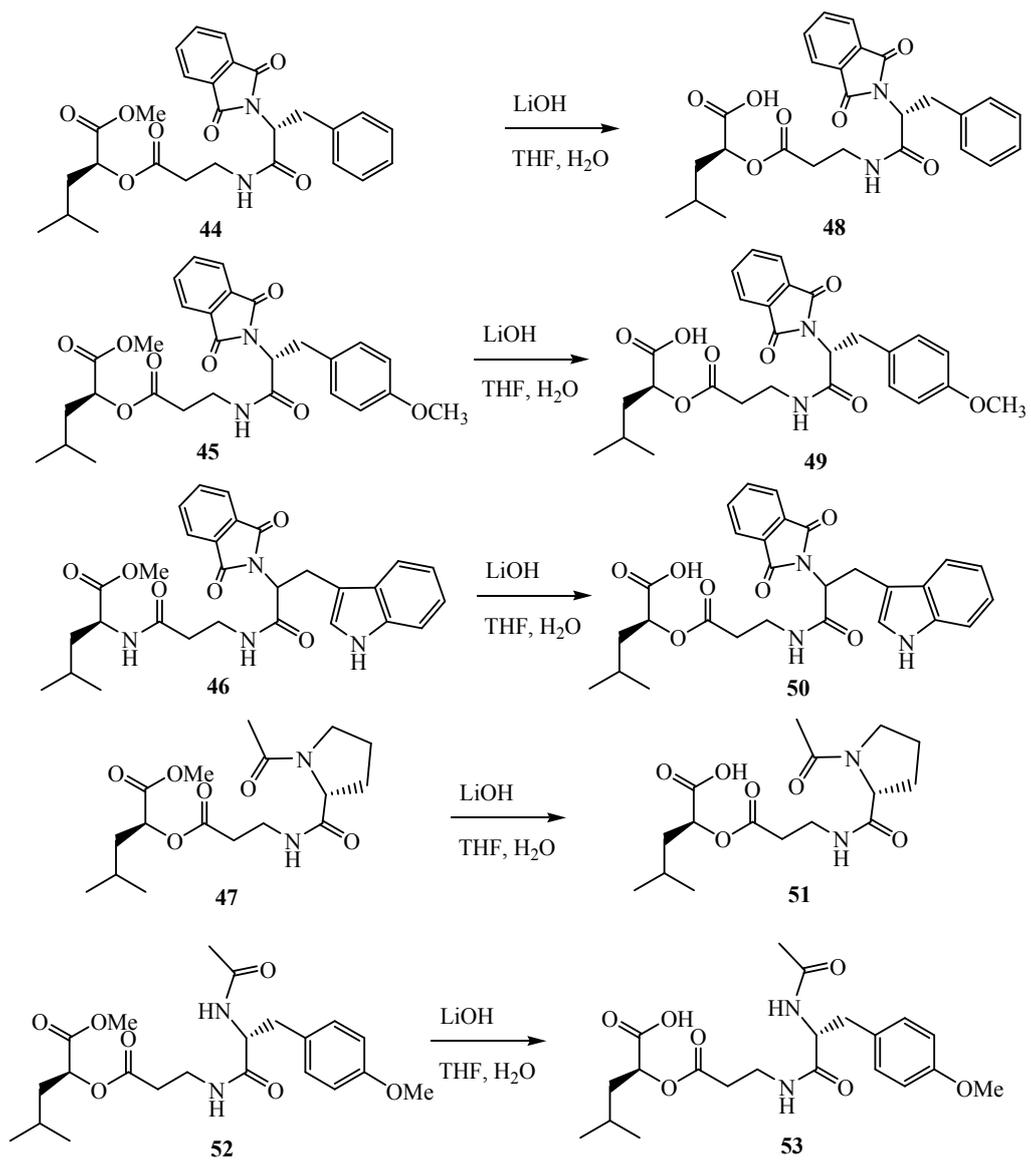
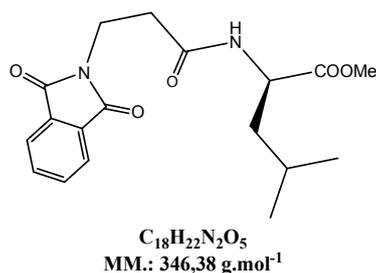


Schéma 48

**Partie expérimentale relative à la synthèse
des analogues du fragment (B-C-D) de la
cryptophycine.**

2-(3-*N*-phthalimido-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (15)



Solide blanc, Pf =150-152°C.

Procédé A

Synthèse à partir des composés 1 et 3 :

Dans un bicol refroidi à 0°C, on mélange la *N*-phthalimido-β-alanine **3** (8,44g, 38,53 mmol) et le chlorhydrate de L-leucinate de méthyle (7 g, 38,53 mmol) dans le DCM. On ajoute la TEA (20ml ; 192,65mmol ; 5éq). Une solution de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (7,95g, 38,53mmol) dans le DCM (20ml) est additionnée goutte à goutte sous une forte agitation. Le mélange est agité à 0°C 1h, puis 24h à température ambiante. À la fin la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration. On sèche, on filtre puis on évapore le solvant. Une recristallisation dans l'éthanol permet d'isoler 12 g (90%) de composé **15**.

Nombre d'équivalents de TEA/ 1	Temps de réaction	Rdt (%)
1.1	24h	28
1.5	24h	36
3	24h	63
3.5	24h	67
5	24h	90

Procédé B

Synthèse à partir des composés 3 et 13 :

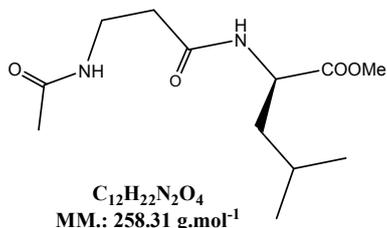
Dans un bicol refroidi à 0°C, on mélange la *N*-phthalimido-β-alanine **3** (8,44g, 38,53 mmol) et l'ester méthylique de L-leucine **13** (38,53 mmol) dans le DCM. On ajoute la TEA pour solubiliser la *N*-phthalimido-β-alanine **3**. On maintient la température à 0°C grâce à un bain de glace. Une solution de DCC (7,95g ; 38,53mmol) dans 20ml de DCM est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation durant 1h à 0°C, puis 24h à température ambiante. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration. On sèche, on filtre puis on évapore le solvant. Une recristallisation dans l'éthanol permet d'isoler 10,54 g (79%) de composé **15**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 369.37 valeur calculée pour C₁₈H₂₂N₂O₅Na,

369.3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1531.44, 1657.90, 1681.41, 1771.98, 3320.09 (-N-H)

2-(3-*N*-acétyl-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (16)



Solide blanc, $\text{Pf}=154^\circ\text{C}$.

Procédé A

Synthèse à partir des composés 1 et 12 :

Dans un bicol refroidi à 0°C , on mélange la *N*-acétyl- β -alanine **12** (0,3 mol) et l'ester méthylique de L-leucine.HCl **1** (0,3 mol) dans le DCM. On ajoute la TEA (1,5 mol, 5 éq) et on refroidit à 0°C dans un bain de glace. Une solution de DCC (0,3 mmol) dans 20ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation durant 1h à 0°C , puis 24h à température ambiante. À la fin, la DCU formée est éliminée par filtration. On sèche le filtrat, le filtre puis on le débarrasse du solvant. Le solide qui se dépose est recristallisé dans l'éthanol, ce qui permet d'isoler le composé **16** avec un rendement de 95%.

Procédé B

Synthèse à partir des composés 12 et 13 : Dans un bicol à 0°C , on mélange la *N*-acétyl- β -alanine **12** (0,1 mmol) et l'ester méthylique de L-leucine **13** (0,1 mmol) dans le DCM. On refroidit à 0°C dans un bain de glace. Une solution de DCC (0,1 mmol) dans 20ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité à 0°C 1h, puis 24h à température ambiante. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration.

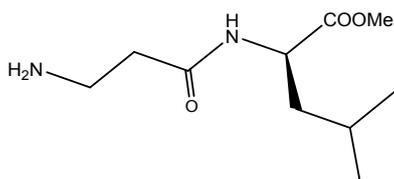
On sèche, on filtre puis on évapore le solvant. Une recristallisation dans l'éthanol permet d'isoler le composé **16** avec un rendement de 98%.

ES-LRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 281.3 valeur calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$,

281.3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3300,13 ; 1743,53 ; 1687,27 ; 1653,52 ; 1215,75

(R)-méthyl 2-(3-aminopropanamido)-4-méthylpentanoate (17)



$C_{10}H_{20}N_2O_3$
MM : 216.28 g.mol⁻¹

liquide jaune très visqueux.

Synthèse à partir du composé 15 :

On ajoute sous agitation 2,1 ml d'hydrate d'hydrazine (2,14g, 2 equiv.) à une solution de 7,8g (21,4mmol) de 2-(3-N-phthalimido-propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle **15** dissous dans un mélange de DCM et de méthanol (1/1, 40ml), à température ambiante pendant une nuit. On filtre et on évapore le mélange pour obtenir un solide. On ajoute 5 ml d'eau distillée, puis le résidu est alcalinisé à pH=11 avec une solution de NaOH à 0,1M, et extrait avec le DCM. On obtient 4g (86%) de composé 17.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 239.27 valeur calculée pour C₁₀H₂₀N₂O₃Na,

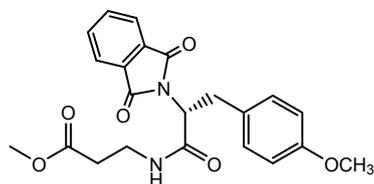
239.2 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) : 0.99 (d, 7.1, 3H), 1.03 (d, 7.1, 3H), 1.36-1.98 (m, 3H), 2.1 (s, 2H, NH₂), 2.20-2.99 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 4.20 (t, 7.5, 1H), 7.90 (d, 6.8, 1H, NH).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 24.84, 25.41, 25.85, 32.24, 36.17, 40.91, 44.02, 50.68, 162.54, 176.84.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹ : 1648.97, 1685.46, 1534.60, 3298.72 large (-N-H et NH₂)

3-(2-N-phthalimido-2-méthoxybenzyl-acétamido)propanoate de méthyle (18)



$C_{22}H_{22}N_2O_6$
MM : 410.42 g.mol⁻¹

Pâteux.

Synthèse à partir des composés 2 et 10 :

Dans un ballon, on introduit à 0°C la N-phthalimido-L-tyrosine-OMe **10** (1,5g; 4,61 mmol) et le chlorhydrate de 3-aminopropanoate de méthyle **2** (0,64g; 4,61mmol) dans 30ml de

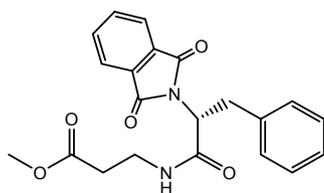
dichlorométhane, on ajoute la triéthylamine (3,27ml ; 23,5mmol ; 5 $\acute{e}q$) goutte à goutte avec une forte agitation. Une solution de DCC (0,95g ; 4,61mmol) dans 10ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 3 jours. À la fin, la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. 1,32 g (70%) du composé **18** sont obtenus.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 433,41 valeur calculée pour C₁₇H₁₃NO₄Na,

433,3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3417,97(N-H amide), 1651,90 (C=O amide), 1715,69 (C=O ester), 1732,35 (C=O phtalimido).

3-(2-N-phtalimido-2-méthoxybenzyl-acétamido)propanoate de méthyle (**19**)



C₂₁H₂₀N₂O₅
MM : 380,39 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 114°C.

Synthèse à partir des composés **2** et **5** : synthèse identique à celle du composé **18** avec :

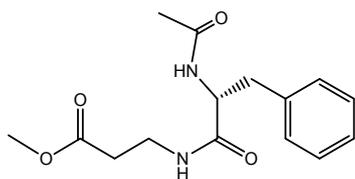
- 2,5 g (8,46 mmol) du composé **5**,
 - 1,18 g (8,46 mmol) de composé **2**,
 - 60 ml de DCM,
 - 3,1 ml (42,3 mmol, 5 $\acute{e}q$) de TEA,
 - 1,71 g (8,46 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 4,35 g (76%) du composé **19**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 403,38 valeur calculée pour C₂₁H₂₀N₂O₄Na,

403,3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3391,31 (N-H amide), 1651,55 (C=O amide), 1717,81 (C=O ester), 1773,30 (C=O phtalimido).

3-(2-Benzyl-2-N-acétyl-acétamido) propanoate de méthyle (20)



$C_{15}H_{20}N_2O_4$
MM : 292,33 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 88°C.

Synthèse à partir des composés 2 et 11 : synthèse identique à celle du composé 18 avec :

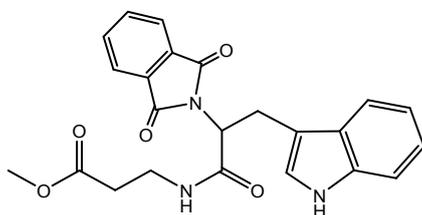
- 2,96 g (14,32 mmol) du composé 11,
- 2,00 g (14,32 mmol) de composé 2,
- 60 ml de DCM,
- 5,26 ml (71,6 mmol, 5^{éq}) de TEA,
- 2,95 g (14,32 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
- Cristallisation dans l'éther,
- ↳ Obtention de 3,55g (85%) du composé 20.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 315,32 valeur calculée pour C₁₅H₂₀N₂O₄Na,

315,3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3259,86(N-H amide), 1639,07(C=O amide), 1669,15(C=O acetyl), 1738,83(C=O ester).

3-(2-N-phthalimido-3-(1H-indol-3-yl)propanamido)propanoate de méthyle (21)



$C_{23}H_{21}N_3O_5$
MM : 419,43

Solide jaune, Pf = 107°C.

Synthèse à partir des composés 2 et 6 : synthèse identique à celle du composé 18 avec :

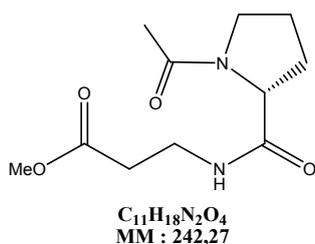
- 4,78 g (14,32 mmol) du composé 6,
- 2,00 g (14,32 mmol) de composé 2,

- 60 ml de DCM,
 - 5,26 ml (71,6 mmol, 5 $\acute{e}q$) de TEA,
 - 2,95 g (14,32 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 4.8g (80%) du composé **21**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 442,42 valeur calculée pour C₂₃H₂₁N₃O₅Na,
442,3 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3343,75 (N-H amide) 1649,32 (C=O amide) 1715,86 (C=O ester)
1772,87 (C=O phtalimido).

3-(2-N-phtalimido-3-(1H-indol-3-yl)propanamido)propanoate de méthyle (**22**)



Solide blanc, Pf = 148 C.

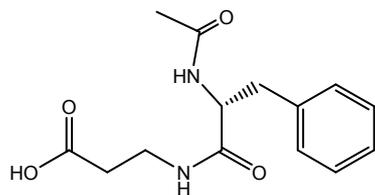
Synthèse à partir des composés **2** et **4** : synthèse identique à celle du composé **18** avec :

- 2,25 g (14,32 mmol) du composé **6**,
 - 2,00 g (14,32 mmol) de composé **2**,
 - 60 ml de DCM,
 - 5,26 ml (71,6 mmol, 5 $\acute{e}q$) de TEA,
 - 2,95 g de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 2,78 g (80%) du composé **22**.

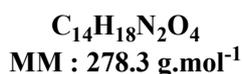
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 265,26 valeur calculée pour C₁₁H₁₈N₂O₄Na,
265,26 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) cm⁻¹: 3394,99 (N-H amide), 1617,95 (C=O amide), 1715,51 (C=O ac etyyle),
1734,47 (C=O ester)

Acide-3-(2-benzyl-2-*N*-acétyl-acétamido)propanoïque (23)



Solide blanc, Pf = 137°C



Synthèse à partir du composé **20**:

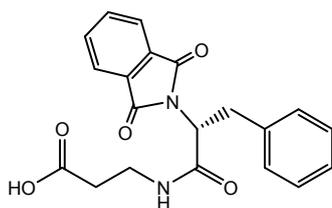
A une solution de de 3-(2-benzyl-2-*N*-acétyl-acétamido) propanoate de méthyle **20** (1g, 3,42 mmol, 1 équiv.) dans un mélange de THF/eau (2/1) refroidi à 0°C, sont ajoutés 172,2mg (4,104mmol, 1,2 équiv.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2M). Après une nuit d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl 1N. La solution est alors extraite trois fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une recrystallisation du produit dans l'éther permet d'isoler 0,38g (41%) du composé **23**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 301.29 valeur calculée pour C₁₄H₁₈N₂O₄Na,

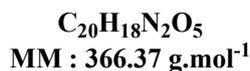
301 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3293,14 ; 3030,57; 1713,50; 1650,55 ; 1231,52.

Acide-3-(2-benzyl-2-*N*-phthalimido-acétamido) propanoïque (24)



Solide blanc, Pf = 107°C



Synthèse à partir du composé **19**: synthèse identique à celle du composé **23** avec :

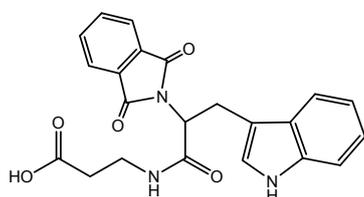
- 1,00 g (2,62 mmol, 1 éq.) du composé **19**,
- 15 ml d'une solution THF/eau (2/1),
- 15,75 ml (3,15 mmol, 1.2éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2M),
- 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,

- Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,44 g (46,3%) du composé **24**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 389.36$ valeur calculée pour $C_{20}H_{18}N_2O_5Na$,
389.1 valeur trouvée.

IR ν_{max} (**KBr**) cm^{-1} : 3036,173(N-H amide), 1663,35(C=O amide), 1714,19(C=O acide),
3282,26(O-H acide). 1232,60(C-O-C).

Acide-3-(2-N-phthalimido-3-(1H-indol-3-yl)propanamido) propanoïque (25)



$C_{22}H_{19}N_3O_5$
MM.: 405.4

Solide jaune, Pf = 109°C

Synthèse à partir du composé **22**:

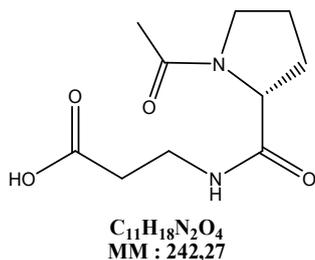
La synthèse est identique à celle du composé **23** avec :

- 1,00 g (2,38 mmol, 1 éq.) du composé **22**,
- 15 ml d'une solution THF/eau (2/1),
- 0,12 g (2,86 mmol, 1.2 éq) de LiOH, dans une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2M),
- 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
- Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,7 g (73%) du composé **25**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 428.39$ valeur calculée pour $C_{22}H_{19}N_2O_5Na$,
428.3 valeur trouvée.

IR ν_{max} (**KBr**) cm^{-1} : 3057,67(N-H amide), 1624,85(C=O amide), 1713,67(C=O acide),
3359,28 (O-H acide), 1771,78(C=O phthalimido).

Acide-3-(1-acétylpyrrolidine-2-carboxamido)propanoïque (26)



Solide blanc, Pf = 107°C

Synthèse à partir du composé 21:

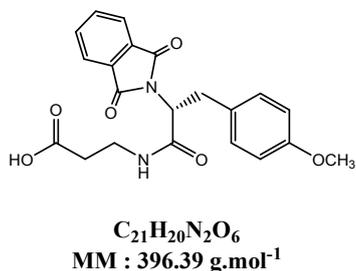
La synthèse est identique à celle du composé 23 avec :

- 2,9 g (11,97 mmol, 1 éq.) du composé 21,
 - 15 ml d'une solution THF/eau (2/1),
 - 0,6 g (14,36 mmol, 1.2 éq) de LiOH, dans une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 1,4 g (52%) du composé 25.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 251.23$ valeur calculée pour $C_{10}H_{16}N_2O_4Na$,
251.2 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3293,14 (N-H amide), 1626,60 (C=O amide), 1713,50 (C=O acide).
3328,21(O-H acide).

Acide-3-(2-N-phthalimido-2-méthoxybenzyl-acetamido)propanoïque (27)



Pâteux,

Synthèse à partir du composé 18:

La synthèse est identique à celle du composé 23 avec :

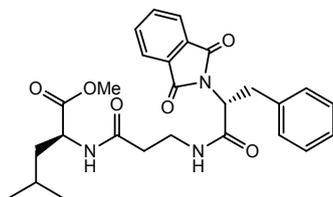
- 0.71 g (1,74 mmol, 1 éq.) du composé 18,
- 15 ml d'une solution THF/eau (2/1),

- 0,074 g (1,76 mmol, 1.2 $\acute{e}q$) de LiOH, dans une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2M),
 - 2 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de (78%) du composé 27.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 419.38 valeur calculée pour C₂₁H₂₀N₂O₆Na,
419.3 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3321,09 (N-H amide), 1631,09 (C=O amide), 1732,35 (C=O phtalimido), 1711,73(C=O acide), 3463,25 (O-H acide).

2-(3-(2-benzyl-2-N-phtalimido-acétamido)propionamido)4-méthylpentanoate de méthyle (28)



solide blanc, Pf = 132 C

C₂₇H₃₁N₃O₆
MM : 493.55 g.mol⁻¹

Procédé 1 :

Synthèse à partir des composés 24 et 1 :

Dans un ballon on introduit l'acide-3-(2-benzyl-2-N-phtalimido-acétamido) propanoïque **28** (0,2g; 0,54 mmol) et le chlorhydrate de 2-amino-4-méthylpentanoate de méthyle **1** (0,1g ; 0,54mmol) dans 30ml de DCM   0 C, on ajoute la TEA (0,076ml ; 2,73mmol ; 5 q) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,1126g ; 0,54mmol) avec 10ml de dichlorométhane est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0 C jusqu'à température ambiante pendant 24h.   la fin la DCU form e est  limin e par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est termin e après 12 jours d'agitation. Une recristallisation du produit dans l'éther permet d'isoler 0,14g (54%) du produit **28**.

Procédé 2 :

Synthèse à partir des composés 17 et 5 :

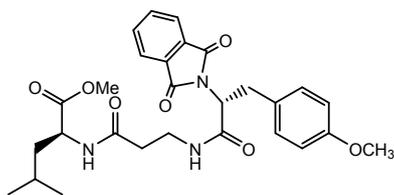
Dans un bicol et à 0 C, on introduit **17** (1g, 4,62mmol) dans le DCM. On ajoute la N-phtalimido-L-phénylalanine **5** (1,365g, 4,62mmol). On ajoute goutte à goutte 0,952g de DCC (4.62mmol) dans 20ml de DCM. On laisse agiter pendant 24 h. on filtre le solide. On sèche,

on filtre puis on évapore le DCM. Une recrystallisation dans l'éther permet d'isoler 0,14g (92%) produit **28**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 516.54$ valeur calculée pour $C_{27}H_{31}N_3O_6Na$,
516.5 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm^{-1} : 1640.21, 1666.62, 1715.55, 1775.06, 3290.13, 3380.07

2-(3-(2-*N*-phtalimido-2-méthoxybenzyl-acétamido)propionamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (29)



Solide solide gris-vert, Pf = 102°C.

$C_{28}H_{33}N_3O_7$
MM : 523.58 $g \cdot mol^{-1}$

Procédé 1 :

Synthèse à partir des composés **1** et **27** :

La synthèse est identique à celle du composé **28** avec :

- 0,3g (0,75 mmol) du composé **27**,
 - 0,13g (0,75mmol) de composé **1**,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,52ml (3,78mmol, 5ég) de TEA,
 - 0,15g (0,75mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 72h de réaction,
 - recrystallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,29 g (74%) du composé **29**.

Procédé 2 :

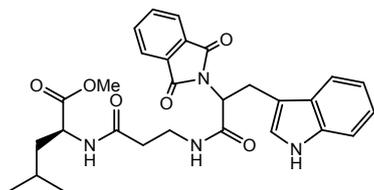
Synthèse à partir des composés **17** et **10** :

La synthèse est identique à celle du composé **28** avec :

- 1 g (4,62mmol) du composé **17**,
 - 1,5 g (4,62mmol) du composé **10**,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,95 g (4,62mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - recrystallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 2,4g (93,5%) du composé **29**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 546.57$ valeur calculée pour $C_{28}H_{33}N_3O_7Na$,
546.5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3267.22, 1774.50, 1737.54, 1715.30, 1647.21, 1248.25 (O-Me)
2-(3-(2-N-phthalimido-3-(1H-indol-3-yl) propanamido)propanamido)4-méthylpentanoate de méthyle (30)



Solide jaune, Pf = 104-106°C.

$C_{29}H_{32}N_4O_6$
MM : 532.59 $g \cdot mol^{-1}$

Procédé 1 : Synthèse à partir des composés 1 et 25 :

La synthèse est identique à celle du composé 28 avec :

- 0,4g (0,98 mmol) du composé 25,
- 0,18g (0,98 mmol) de composé 1,
- 60 ml de DCM,
- 0,1375ml (4.93 mmol, 5 $\acute{e}q$) de TEA,
- 0,203g (0,98 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 72h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de 0,36 g (70%) du composé 30.

Procédé 2 : Synthèse à partir des composés 17 et 6 :

Même protocole que celui du composé 28 avec :

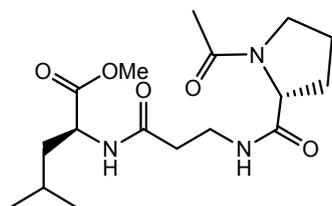
- 1 g (4.62mmol) du composé 17,
- 1,57 g (4,62mmol) de composé 6,
- 60 ml de DCM,
- 0,952 g (4,62mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de 2,21g (90%) du composé 3

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 555.58$ valeur calculée pour $C_{29}H_{32}N_4O_6Na$,
555.5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1651.64, 1714.78, 1775.29, 1629.84, 3333.22, 3356.49, 3346.66.

**2-(3-(1-acétylpyrrolidine-2-carboxamido) propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle
(31)**



Solide gris, Pf = 82°C.

$C_{17}H_{29}N_3O_5$
MM : 355.43 g.mol⁻¹

Procédé 1 : Synthèse à partir des composés 1 et 26 :

La synthèse est identique à celle du composé 28 avec :

- 0,536g (2,34 mmol) du composé 26,
- 0,46 g (2,34 mmol) de composé 1,
- 60 ml de DCM,
- 1,6 ml (11,74 mmol, 5 $\acute{e}q$) de TEA,
- 0,48 g (2,34 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 72h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de 0,5 g (62,5%) du composé 31.

Procédé 2 : Synthèse à partir des composés 17 et 4 : synthèse identique à celle du composé 28 avec :

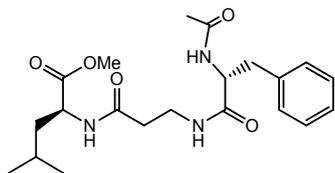
- 1,19 g (5,50 mmol) du composé 17,
- 0,63 g (5,50 mmol) de composé 4,
- 60 ml de DCM,
- 1.13 g (5,50 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de (94%) du composé 31.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 378.42 valeur calculée pour C₁₇H₂₉N₃O₆Na,
378.3 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3336,87 ; 1747,92 ; 1698,08 ; 1627,03 ; 1260,14.

2-(3-(2-benzyl-2-N-acétylacétamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (32)



Solide blanc, Pf = 136°C.

$C_{21}H_{31}N_3O_5$
MM : 405.49 g.mol⁻¹

Procédé 1 : Synthèse à partir des composés **1** et **23** : synthèse identique à celle du composé **28** avec :

- 0,1g (0,36 mmol) du composé **23**, (0,1g; 0,36 mmol)
- 0,065 g (0,36 mmol) de composé **1**,
- 60 ml de DCM,
- 0,05 ml (1,79 mmol, 5 \acute{e} q) de TEA,
- 0,074 g (0,36 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 72h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de 0,1 g (71,4%) du composé **32**.

Procédé 2 : Synthèse à partir des composés **17** et **11** : synthèse identique à celle du composé **28** avec :

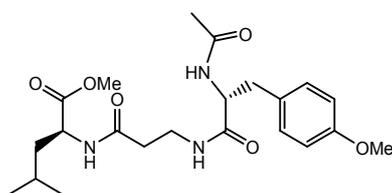
- 1,19 g (5,50 mmol) du composé **17**,
- 1,14 g (5,50 mmol) de composé **11**,
- 60 ml de DCM,
- 1,13 g (5,50 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
- recristallisation dans l'éther.

↳ Obtention de 2,16g (97%) du composé **32**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 428.48 valeur calculée pour C₂₁H₃₁N₃O₅Na,
428.4 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3317,47 ; 1749,27 ; 1684,21; 1649,45; 1229,76.

2-(3-((R)-2-acétamido-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (33)



Solide blanc, Pf = 136°C.

$C_{22}H_{33}N_3O_6$
MM : 435.51 g.mol⁻¹

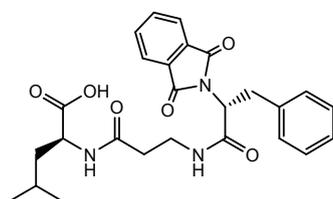
Synthèse à partir des composés 17 et 9 : synthèse identique à celle du composé 28 avec :

- 1,00 g (4,62mmol) du composé 17,
 - 1,1 g (4,62mmol) de composé 11,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,95 g (4,62mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 1,86g (92,5%) du composé 33.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 458.5 valeur calculée pour C₂₂H₃₃N₃O₆Na,
458.5 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3266.21, 1773.89, 1738.24, 1715.38, 1648.11.

Acide (S)-2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-phénylpropanamido)propanamido)-4-méthylpentanoïque (34)



solide blanc, Pf = 120°C

$C_{26}H_{29}N_3O_6$
MM : 479,52 g.mol⁻¹

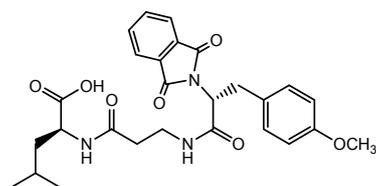
Synthèse à partir des composés 28 :

A une solution de tripeptide protégé (1 g, 2,026mmol, 1 équiv.) dans 10 ml d'un mélange de THF/eau (1/1) refroidi à 0°C, sont ajoutés 2,03 ml (2,03 mmol, 1,01 équiv.) d'une solution aqueuse 1M d'hydroxyde de lithium (2,4g de LiOH dans 100ml). Après 4 h d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl (1N). La solution est alors extraite trois fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle, puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une recristallisation dans l'éther du résidu qui reste après évaporation permet d'isoler 0,85g (88%) du produit **34**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 502.51 valeur calculée pour C₂₆H₂₉N₃O₆Na,
502.2 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) **cm⁻¹**: 30361,33(N-H amide), 1663,40(C=O amide), 1714,20 (C=O acide), 3282,26(O-H acide). 1232,80(C-O-C).

Acide (S)-2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido) -4-méthylpentanoïque (35)



Solide blanc, Pf=112°C.

C₂₇H₃₁N₃O₇
MM: 509,55 g.mol⁻¹

Procédé 1 :

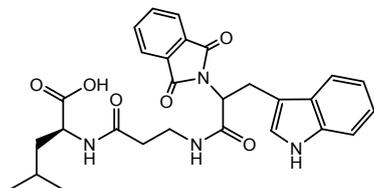
Synthèse à partir du composé 29 : synthèse identique à celle du composé **34** avec :

- 1,7 g (3,24 mmol, 1 éq.) du composé **19**,
 - 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
 - 3,27 ml (3,27 mmol, 1.01éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 1,45 g (88%) du composé **35**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 532.54 valeur calculée pour C₂₇H₃₁N₃O₇Na,
532.5 valeur trouvée.

IR ν_{\max} (KBr) **cm⁻¹**:
3321,19 (N-H amide), 1631,04 (C=O amide), 1732,32 (C=O phtalimido), 1711,49(C=O).

Acide (2*S*)-2-(3-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(1*H*-indol-3-yl)propanamido)propanamido) - 4-méthylpentanoïque (36)



Solide jaune, Pf = 110°C.

$C_{28}H_{30}N_4O_6$
MM : 518.56 g.mol⁻¹

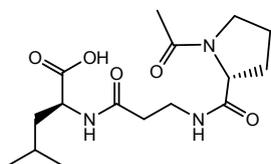
Synthèse à partir des composés 30 : synthèse identique à celle du composé 34 avec :

- 0,79 g (1,48 mmol, 1 éq.) du composé 30,
 - 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
 - 1,49 ml (1,49 mmol, 1,01 éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - reristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,64 g (83%) du composé 36.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 541.55 valeur calculée pour C₂₈H₃₀N₄O₆Na,
541.5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3057,67(N-H amide), 1624,85(C=O amide), 1713,67(C=O acide),
3359,28 (O-H acide), 1771,78(C=O phtalimido).

Acide (S)-2-(3-((R)-1-acétylpyrrolidine-2-carboxamido)propanamido)-4-méthylpentanoïque (37)



Solide gris, Pf = 88°C.

$C_{16}H_{27}N_3O_5$
MM : 341.4 g.mol⁻¹

Synthèse à partir du composé 31 : La synthèse est identique à celle du composé 34 avec :

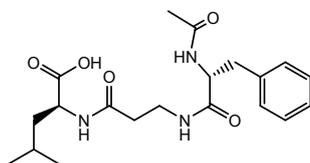
- 1,3 g (2,81 mmol, 1 éq.) du composé 31,
- 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
- 2,82 ml (2,82 mmol, 1,01 éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),

- 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - reristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,8 g (84%) du composé **37**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 364.39$ valeur calculée pour $C_{17}H_{27}N_3O_5Na$,
364.3 valeur trouvée.

IR ν_{max} (**KBr**) cm^{-1} : 3293,14 (N-H amide), 1626,60 et 1627.22 (C=O amide), 1713,50 (C=O acide). 3328,21(O-H acide).

2-(3-(2-benzyl-2-N-acétylacétamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (**38**)



Solide blanc, Pf = 140°C.

$C_{20}H_{29}N_3O_5$
MM : 391.46 $g \cdot mol^{-1}$

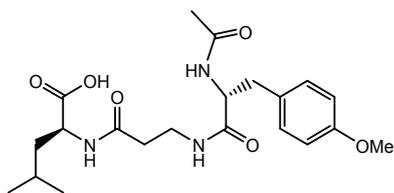
Synthèse à partir du composé **32** : synthèse identique à celle du composé **34** avec :

- 1,14 g (2,81 mmol, 1 éq.) du composé **32**,
 - 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
 - 2,82 ml (2,82mmol, 1,01éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - reristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,88 g (82%) du composé **38**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 414.45$ valeur calculée pour $C_{20}H_{29}N_3O_5Na$,
414.4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (**KBr**) cm^{-1} : 3292.3 (N-H amide), 1625.22 et 1626.88 (C=O amide), 1713,42 (C=O acide). 3328,65(O-H acide).

2-(3-(2-benzyl-2-N-acétylacétamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (39)



Solide blanc, Pf = 140°C.

$C_{21}H_{31}N_3O_6$
MM : 421.49 g.mol⁻¹

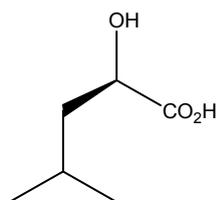
Synthèse à partir du composé **33** : synthèse identique à celle du composé **34** avec :

- 1 g (2,3 mmol, 1 éq.) du composé **33**,
 - 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
 - 2,32 ml (2,32 mmol, 1.01 éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,79 g (82%) du composé **39**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 444.48 valeur calculée pour C₂₁H₃₂N₃O₆Na,
444.4 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3292.35 (N-H amide), 1625.35 et 1626.56 (C=O amide), 1714.15 (C=O acide). 3328,44 (O-H acide), 1247.81 (O-Me).

Acide (R)-2-hydroxy-4-méthylpentanoïque (40)



$C_6H_{12}O_3$
MM : 132,16g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 80-82 °C ;
Litt. : Pf = 81°C.
CAS : 7517-19-3

Dans un tricol, on introduit de l'eau (40 ml) et on ajoute lentement sous agitation du H₂SO₄ concentré (7,6ml); la solution est ensuite refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace. On y ajoute la L-leucine (10g, 76,28mmol).

Ensuite, on ajoute goutte à goutte du NaNO₂ (7g, 101,25mmol) dissous dans l'eau (15ml) en maintenant la température entre 0 à 5°C. A la fin de l'addition, on continue l'agitation à 0°C pendant 45minutes, puis on chauffe à 95°C pendant 15 minutes. On laisse refroidir à température ambiante. On neutralise avec une solution de NaOH à 50% jusqu'à pH=6.5-7 (un solide se dépose). On filtre le solide, et on le laisse sécher à l'air libre.

↳ Obtention de 9,6 g (95%) du composé **20**.

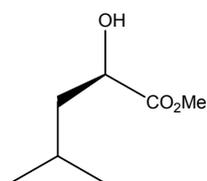
ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 155,15 valeur calculée pour C₆H₁₂O₃Na,
155,1 valeur trouvée.

¹H-RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.02 (d, 7.5, 6H), 1.68 (m, 2H), 4.33(m, 1H), 4.34 (d, 7.5, 1H).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 21.47, 23.19, 24.52, 43.26, 68.88, 167.5.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1111.46, 1517.16, 1584.06, 1609.028, 2957.46, 3419.83.

(*R*)-méthyl 2-hydroxy-4-méthylpentanoate (**41**)



C₆H₁₄O₃
MM : 146.18 g.mol⁻¹

produit pâteux.

Procédé 1: Synthèse à partir du composé **40**:

Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit du MeOH (50ml); la solution est refroidie à 0°C, puis l'acide (*R*)-2-hydroxy-4-méthylpentanoïque **40** (5g, 37,83mmol) est ajouté en une seule portion. Ensuite, on ajoute goutte à goutte du SOCl₂ fraîchement distillé (4,5g, 3ml, 37,83, *lequiv.*). La solution est agitée pendant 2 h, puis le solvant est chassé sous pression réduite.

↳ Obtention de 5,1g (92%) du composé **41**.

Procédé 2: Synthèse à partir du composé **1**:

Dans un tricol on verse 50ml d'eau, on ajoute lentement du H₂SO₄ concentré (14g, 7,7ml; la solution obtenue est refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace. On ajoute 10g (55,05 mmol) de produit **1**. Ensuite, on ajoute goutte à goutte une solution de NaNO₂ (5,04g ; 73,07mmol) dans l'eau (15ml) en maintenant la température de 0 à 5°C. A la fin de cette addition, on continue l'agitation à 0°C pendant 45min, puis on chauffe vers 95°C pendant 15 min. On laisse refroidir à température ambiante. On neutralise avec une solution de NaOH à 50% à pH=6.5-7, puis on chauffe vers 60°C. On extrait la solution obtenue avec l'acétate d'éthyle (4x50ml).

On sèche avec CaSO₄. On filtre et on chasse le solvant sous pression réduite.

↳ Obtention de 5,63 g (70%) du composé **41**.

Procédé 3: Synthèse à partir du composé 13:

Dans un tricol, on verse 50ml d'eau et on y ajoute lentement 7,6ml de H₂SO₄ concentré ; puis la solution obtenue est refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace. On ajoute 5g (34,43mmol) de produit **13**. On ajoute ensuite goutte à goutte une solution de 3,15g (45,70mmol) de NaNO₂ dans 15ml d'eau en maintenant la température de 0 à 5°C. A la fin de l'addition, on continue l'agitation à 0°C pendant 45minutes, puis on chauffe vers 95°C pendant 15 minutes. On laisse refroidir à température ambiante. On neutralise avec une solution de NaOH à 50% jusqu'à pH=6,5-7, puis on chauffe vers 60°C. On extrait la solution obtenue avec l'acétate d'éthyle (4x50ml). On sèche avec CaSO₄. On filtre et on chasse le solvant sous pression réduite.

↳ Obtention de 3.97 g (79%) du composé **41**.

Procédé 4: Synthèse à partir du composé 40:

Dans un ballon sec et sous courant d'argon, on introduit du MeOH (10ml); la solution est refroidie à 0°C. On ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle (1,53 ml). La solution est agitée 5 min. Ensuite, de l'acide L-leucique (1g, 7,57mol) est ajouté en une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h.

On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite. 1.02g (92%) du composé **41** sont obtenus après évaporation et séchage.

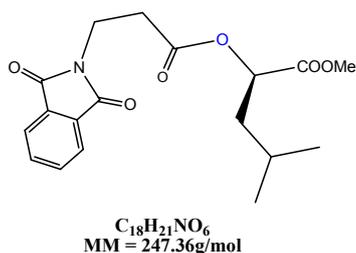
ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 169,17 valeur calculée pour C₆H₁₄O₃Na,
169,1 valeur trouvée.

RMN-¹H (**δ** : ppm, **J** : Hz, CDCl₃) : 1,03 (d, 7,5, 6H), 1,65-1,80 (m, 3H), 3,68 (s, 3H), 4,05 (t, 7.1, 1H).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 21.36, 23.23, 24.56, 44.12, 50.98, 69.12.88, 173.25.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 1752.15, 3392.25.

(R)-méthyl 2-(3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (42)



Solide blanc, Pf = 69°C ;

Synthèse à partir des composés 3 et 41:

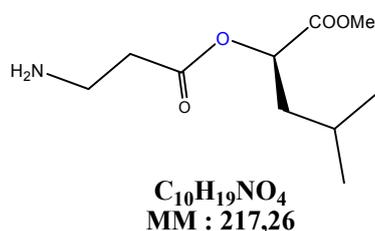
Dans un bicol, à 0°C, on mélange la β -alanine protégée 3 (2,16g ; 9,82mmol) et le produit 41 (1,44g ; 9,82mmol) dans le DCM. On ajoute la TEA pour solubiliser la β -alanine. On ajoute ensuite goutte à goutte le DCC (2,03g ; 9,82mmol) dans le DCM (20ml). On laisse agiter pendant 24 h. On suit la réaction avec l'infrarouge, et après 72h, on filtre la DCU, puis on sèche le filtrat et on finit par évaporer le solvant. Le solide obtenu est recristallisé dans l'éther.

↳ Obtention de (86%) du composé 42.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ m/z = 260,35 valeur calculée pour $C_{18}H_{21}NO_6Na$,
260,3 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1719.66, 1775.05, 1626.45, 3332.79, 3494.67, 3473.59, 719.33.

(R)-méthyl 2-(3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (43)



produit pâteux.

Synthèse à partir du composé 42:

On ajoute sous agitation l'hydrate d'hydrazine (1,02 equiv.) à une solution de produit 42 (4g, 16,2mmol) dissous dans un mélange de DCM et de MeOH (1/1, 40ml). L'agitation est maintenue à température ambiante pendant une nuit. On filtre et on évapore le solvant et un résidu solide reste dans le ballon d'évaporation. On lui ajoute 5 ml d'eau distillée, puis on

alcalinise à pH=11 avec une solution de NaOH à 0.1M. La nouvelle solution est extraite avec le DCM et les extraits sont réunis, séchés, puis débarrassés du solvant..

↳ Obtention de 2,91g (83%) du composé **43**.

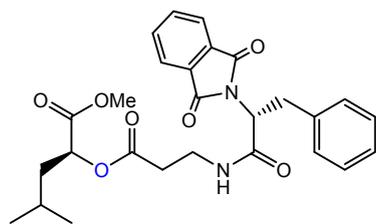
ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 240,25$ valeur calculée pour $C_{10}H_{19}NO_4Na$,
240,1 valeur trouvée.

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) : 1.00 (d, 7.2, 3H), 1.04 (d, 7.2, 3H), 1.76-1.88 (m, 3H), 2.03 (s, 2H, NH_2), 2.45-2.96 (m, 4H), 3.79 (s, 3H), 4.79 (t, 7.5, 1H).

^{13}C -RMN (75,5 MHz, $CDCl_3$) : 24.52, 25.22, 25.92, 37.22, 37.77, 40.92, 50.7, 80.1, 170.24, 173.45.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1715.25, 1657.51, 3220.26, 720.28.

(S)-méthyl 2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-phénylpropanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (44)



solide blanc, Pf = 105°C

$C_{27}H_{30}N_2O_7$
MM = 494.54g/mol

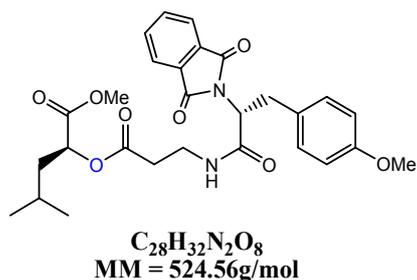
Synthèse à partir des composés **43** et **5** :

Dans un bicol, à 0°C, on introduit le composé **43** (1g, 4,60mmol) dans le DCM. On ajoute la *N*-phtalimido-*L*-phénylalanine **5** (1,36g ; 4,60mmol). Puis, on ajoute goutte à goutte du DCC (0,947g, 4,60mmol) dissous dans le DCM (20ml). On laisse agiter pendant 24 h, puis on filtre le solide. On sèche le filtrat, le filtre, puis on évapore le DCM. Une recristallisation dans l'éther permet d'isoler 0,14g (86%) produit **44**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 517.53$ valeur calculée pour $C_{27}H_{30}N_2O_7Na$,
517.4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1641.01, 1665.54, 1714.98, 1778.12, 3290.55, 3381.24.

(S)-méthyl 2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-phénylpropanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (45)



Solide solide blanc, Pf = 98 °C.

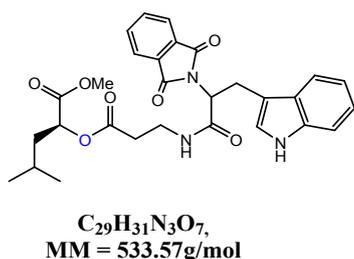
Synthèse à partir des composés 43 et 10 : synthèse identique à celle du composé 44 avec :

- 1 g (4,60mmol) du composé 43,
 - 1,49 g (4,60mmol) de composé 10,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,94 g (4,60mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 2,4g (79% de rendement) du composé 45.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ m/z = 547.55 valeur calculée pour $C_{28}H_{32}N_2O_8Na$,
547.5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3267.22, 1775.01, 1736.89, 1716.11, 1647.81, 1248.44 (O-Me).

(2S)-méthyl-2-(3-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (46)



Solide jaune, Pf=101°C.

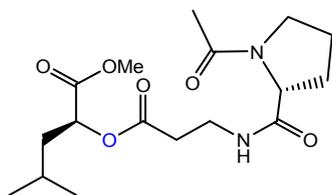
Synthèse à partir des composés 43 et 6 : La synthèse est identique à celle du composé 44 avec :

- 1 g (4,60) du composé 43,
 - 1,54 g (4,60 mmol) de composé 6,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,947 g (4,60 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 24h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 2,21g (90%) du composé 46.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 556,56$ valeur calculée pour $C_{29}H_{31}N_3O_7Na$,
556,5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1651.58, 1715.01, 1775.29, 1628.99, 3333.35, 3357.01, 3347.01 .

(S)-méthyl 2-(3-((R)-1-acétylpyrrolidine-2-carboxamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (47)



Solide blanc, Pf = 86°C.

$C_{17}H_{28}N_2O_6$
MM : 356.19 $g \cdot mol^{-1}$

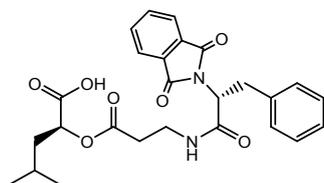
Synthèse à partir des composés 43 et 4 : synthèse identique à celle du composé 44 avec :

- 1g (4,60 mmol) du composé 43,
 - 0,719 g (4,60 mmol) de composé 4,
 - 60 ml de DCM,
 - 0,94 g (4,60 mmol) de DCC dans 5 ml de DCM ; 72h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 1,55g (95%) du composé 47.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 379.18$ valeur calculée pour $C_{17}H_{28}N_2O_7Na$,
379.1 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3336.74, 1748.88, 1698.12, 1627.12, 1260.25.

Acide (S)-2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-phénylpropanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoïque (48)



$C_{26}H_{28}N_2O_7$
MM : 480.51 g.mol⁻¹

solide blanc, Pf = 112°C

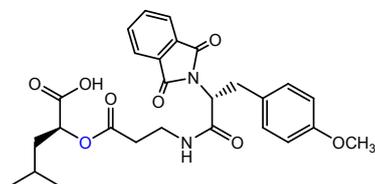
Synthèse à partir des composés 44 :

A une solution de composé **44** protégé (1g, 2,02mmol, 1 équiv.) et placé dans un mélange de THF/eau (1/1) (10ml) refroidi à 0°C, est ajoutée une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium 1M (4ml, 4,04mmol, 2 équiv.). Après 4h d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl 1N. La solution résultante est alors extraite trois fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle, puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une recrystallisation dans l'éther permet d'isoler 0,85g (81%) du produit **47**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 503.50 valeur calculée pour C₂₆H₂₈N₂O₇Na, 503.4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 30361,27(N-H amide), 1663,38(C=O amide), 1715.01 (C=O acide), 3282,23 (O-H acide). 1232,77(C-O-C).

Acide (S)-2-(3-((R)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoïque(49)



$C_{27}H_{30}N_2O_8$
MM : 510.54 g.mol⁻¹

Solide blanc, Pf = 105°C.

Synthèse à partir du composé 45 : synthèse identique à celle du composé **48** avec :

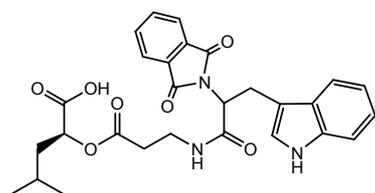
- 1 g (1,90 mmol, 1 éq.) du composé **45**,
- 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
- 3,81 ml (3,81 mmol, 2éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
- 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,

- recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 1,49 g (87%) du composé **49**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 523,53$ valeur calculée pour $C_{27}H_{30}N_2O_8Na$,
523,4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3321,21 (N-H amide), 1631,15(C=O amide), 1733.02(C=O phtalimido),
1711,42(C=O acide), 3463,39 (O-H acide), 1248.19 (O-Me)

Acide (2S)-2-(3-(2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoïque (50)



Solide jaune, Pf = 105°C.

$C_{28}H_{29}N_3O_7$
MM : 519.55 $g \cdot mol^{-1}$

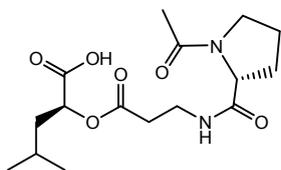
Synthèse à partir du composé **46** : La synthèse est identique à celle du composé **48** avec :

- 1 g (1.87 mmol, 1 éq.) du composé **46**,
- 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
- 374 ml (3.74 mmol, 2 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
- 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
- Cristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,64 g (83%) du composé **50**.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 542,54$ valeur calculée pour $C_{28}H_{29}N_3O_7Na$,
542,5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3057,52 (N-H amide), 1624,77 (C=O amide), 1713,63 (C=O acide),
3359,11 (O-H acide), 1772.01 (C=O phtalimido).

Acide (S)-2-(3-((R)-1-acétylpyrrolidine-2-carboxamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoïque(51)



Solide blanc, Pf = 94°C.

$C_{16}H_{26}N_2O_6$
MM : 342.39 g.mol⁻¹

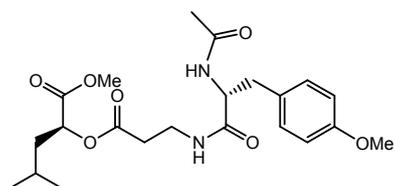
Synthèse à partir des composés 47 : synthèse identique à celle du composé 48 avec :

- 1 g (2,80 mmol, 1 éq.) du composé 47,
 - 10 ml d'une solution THF/eau (1/1),
 - 5,61 ml (5,61 mmol, 2éq) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1M),
 - 5 ml d'une solution aqueuse de HCl (1N); 12h de réaction,
 - recristallisation dans l'éther.
- ↳ Obtention de 0,8 g (84%) du composé 51.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 364,39 valeur calculée pour C₁₇H₂₇N₃O₅Na,
364,3 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3293,25 (N-H amide), 1627.24 (C=O amide), 1714.33 (C=O acide).
3328.65 (O-H acide).

(S)-méthyl 2-(3-((R)-2-acétamido-3-(4-méthoxyphenyl)propanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (52)



solide blanc, Pf = 127°C

$C_{22}H_{32}N_2O_7$
MM= 436.5g/mol

Synthèse à partir des composés 43 et 9 :

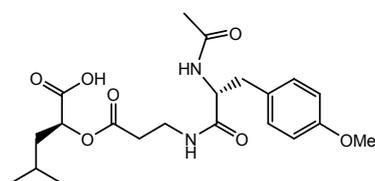
Dans un bicol refroidi à 0°C, on introduit 43 (1g, 4,60mmol) dans le DCM. Ensuite, on ajoute le produit 9 (1,1g ; 4,60mmol). Puis, on ajoute goutte à goutte le DCC (952mg, 4,60mmol) dans le DCM (20ml). La réaction est suivie par infrarouge ; on laisse agiter pendant 24 h et on filtre le solide. On sèche, on filtre puis on évapore le DCM. On rajoute le DCM, on sèche sur

MgSO₄, on filtre, et on chasse le solvant sous pression réduite. Une recristallisation dans l'éther permet d'isoler (94%) de produit **52**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 559,49 valeur calculée pour C₂₂H₃₂N₂O₇Na, 559,4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3266,21, 1773,89, 1738,24, 1715,38, 1648,11.

(S)-méthyl 2-(3-((R)-2-acétamido-3-(4-méthoxyphenyl)propanamido)propanoyloxy)-4-méthylpentanoate (53)



solide blanc, Pf = 122°C

C₂₁H₃₀N₂O₇
MM= 422,47 g/mol

Synthèse à partir du composé **52**:

A une solution de tripeptide **52** (1g, 2,3mmol, 1 équiv.) dans un mélange de THF/eau (1/1) (10 ml) refroidi à 0°C, sont ajoutés 2,3ml (2,3mmol, 1 équiv.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium 1M. Après 4h d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl 1N. La solution est alors extraite trois fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle, puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une recristallisation dans l'éther permet d'isoler (78%) de produit **52**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 445,46 valeur calculée pour C₂₁H₃₀N₂O₇Na, 545,4 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3292,22 (N-H amide), 1625,35 (C=O amide), 1715,21(C=O acide). 3328,42(O-H acide), 1247,69 (O-Me).

CHAPITRE III

SYNTHESE STEREOSELECTIVE D'UN ANALOGUE AZIRIDINYLE DU FRAGMENT « A » DE LA CRYPTOPHYCINE

1. Introduction

Il existe huit familles d'agents alkylants dont nous avons déjà parlé au chapitre 01¹ notamment les moutardes à l'azote, les oxazaphosphorines (cyclophosphamide et ifosfamide), **les aziridines** (thiotépa, mitomycine azinomycins, azicemicins et maduropeptin, les nitrosourées (carmustine, lomustine), les sulfonates d'alkyle, les triazènes, **la mitomycine C**, et les complexes du platine.

La figure 40 représente la structure chimique de la mitomycine C, appartenant à la famille d'antibiotiques à activité antitumorale extraits du milieu de fermentation de *Streptomyces caespitosus*.

Figure 40: Structure chimique de la mitomycine C

L'importance des aziridines comme agents chimiothérapeutiques contre le cancer (thiotépa, mitomycine, azinomycins, azicemicins, et maduropeptin, et la mitomycine C...) nous a poussé à concevoir la synthèse des analogues de la cryptophycine qui contiennent une fonction aziridine sur le fragment A. Notre objectif est d'améliorer l'activité et la sélectivité du produit naturel par insertion d'une certaine rigidité dans sa structure. L'analogue aziridinyle de l'unité A constituait notre plus grand défi synthétique (Cf. figure 41). En effet, notre schéma réactionnel est relativement long, mais à sa décharge, il convient de signaler que le rendement global à partir du cinnamaldéhyde est bon. En outre, aucune des étapes ne nécessite l'utilisation de réactifs compliqués ou des conditions de réactions extrêmes.

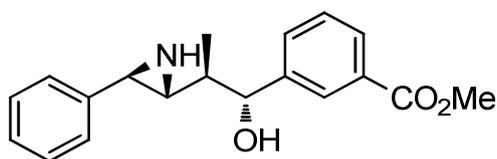
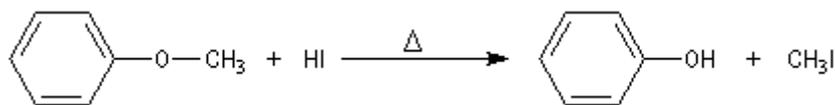


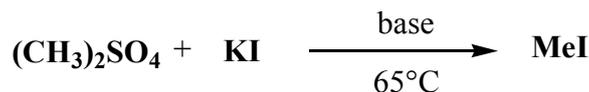
Figure 41 : dérivé aziridinyle de fragment A de la Cryptophycine

1.1-Synthèse de l'iodure de méthyle 54.

La fonction méthyle aryle est souvent utilisée pour protéger la fonction phénol lors de réactions sur le cycle benzénique. Il est clivé en phénol et iodure de méthyle, sous l'action de HI, par une réaction de type S_N2 qui implique l'atome de carbone du méthyle :



Dans notre cas, la réaction du diméthyle sulfate avec l'iodure de potassium dans un milieu basique (carbonate de potassium), donne l'iodure de méthyle avec un rendement de 57%.



1.2-Synthèse des produits 55 et 56.

L'estérification de l'acide isophtalique et d'acide benzoïque a été effectuée avec le chlorure d'acétyle en présence de méthanol, et les composés **55** et **56** sont obtenus avec des rendements respectifs de 91 et 56% (schéma 49) :

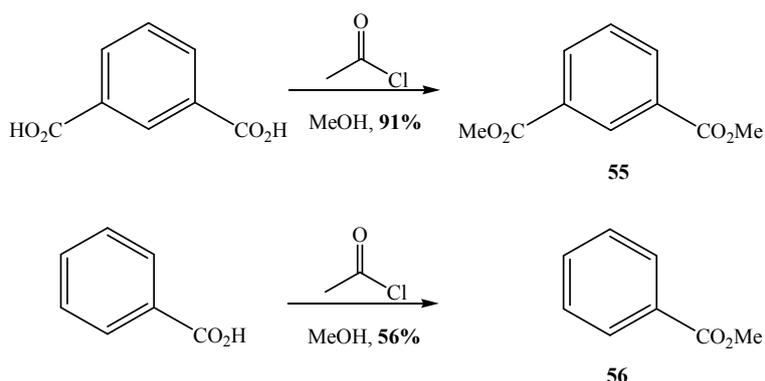


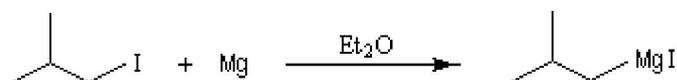
Schéma 49

1.3-Synthèse de benzoate de *E* (*R*)-méthyl 3-(2-méthyl-4-phénylbut-3-énoyle 65.

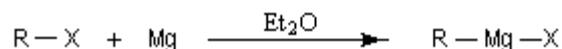
Pour effectuer cette synthèse, nous avons suivi trois approches synthétiques différentes qui, toutes, commencent à partir du *trans*-cinnamaldéhyde commercial. La première permet d'obtenir le produit **65** en 6 étapes.

1.3.1-Première approche

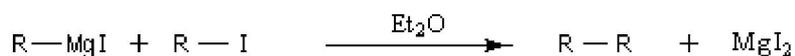
En 1901, le chimiste français V. Grignard synthétisa le premier composé organomagnésien en faisant réagir l'iodure d'isobutyle et le magnésium dans l'éther ordinaire anhydre ou éthoxyéthane¹⁷⁴.



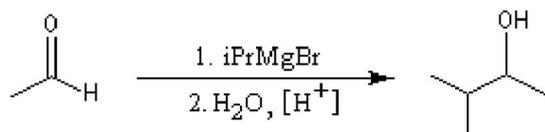
Cette découverte lui valut le prix Nobel de chimie en 1912 conjointement avec P. Sabatier. Les organomagnésiens iodés, bromés et chlorés sont obtenus la plupart du temps par insertion du magnésium dans la liaison carbone-halogène, en présence d'un solvant donneur d'électrons, le plus souvent un éther comme l'éthoxyéthane ou le THF anhydre :



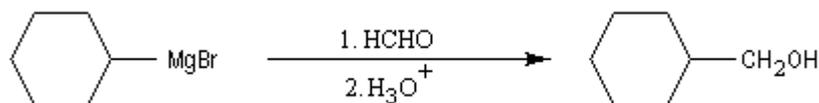
Au cours de cette réaction, il se produit souvent une réaction indésirable entre l'organométallique et le substrat qui a servi à le préparer, cette dernière appartient à la même catégorie que la réaction de couplage de Wurtz :



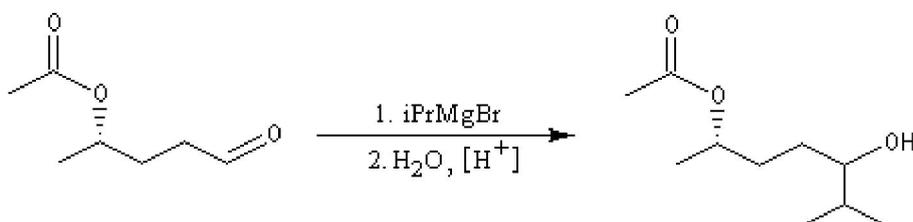
La réaction entre un organomagnésien et un aldéhyde, suivie d'une hydrolyse acide, conduit à un alcool secondaire.



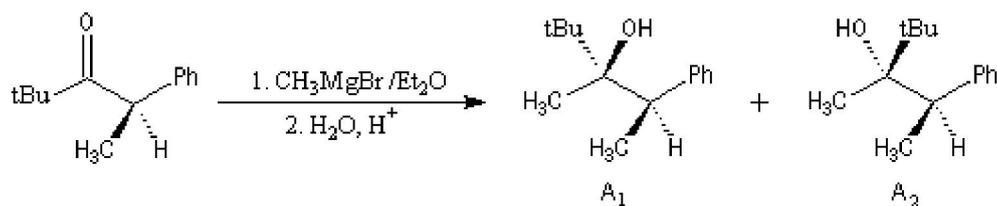
Notons, d'un point de vue expérimental, que les aldéhydes entre en ébullition à des températures assez basses : 21 °C pour l'éthanal, - 21 °C pour le méthanal. Avec cet aldéhyde, l'alcool obtenu est primaire :



Les aldéhydes sont plus réactifs que les esters. La réaction suivante, effectuée à basse température, suivie d'une hydrolyse, est une étape de la synthèse du sulcatol, une phéromone d'insecte. La fonction ester sert ici à protéger une fonction alcool secondaire :



La stéréochimie de l'addition d'un organométallique sur les faces diastéréotopiques d'un composé carbonylé peut être prévue en utilisant le modèle de Felkin-Anh sauf quand la présence d'un groupe jouant le rôle de base de Lewis sur le substrat entraîne un contrôle par chélation de l'addition. L'excès diastéréoisomérique en faveur du composé I vaut 92 %.



En application de l'utilisation des réactifs de Grignard, la réaction du *trans*-cinnamaldéhyde avec l'iodure de méthylmagnésium dans le THF conduit au brut du (*E*) - (\pm) - 4 phénylbut-3-en-2-ol **58**. Ce dernier est traité avec une solution de bisulfite de sodium aqueux afin d'éliminer l'aldéhyde restant. La couche organique est ensuite séchée sur le sulfate de calcium anhydre et évaporée sous pression réduite pour donner le composé **58** avec rendement de 83% (schéma 50).

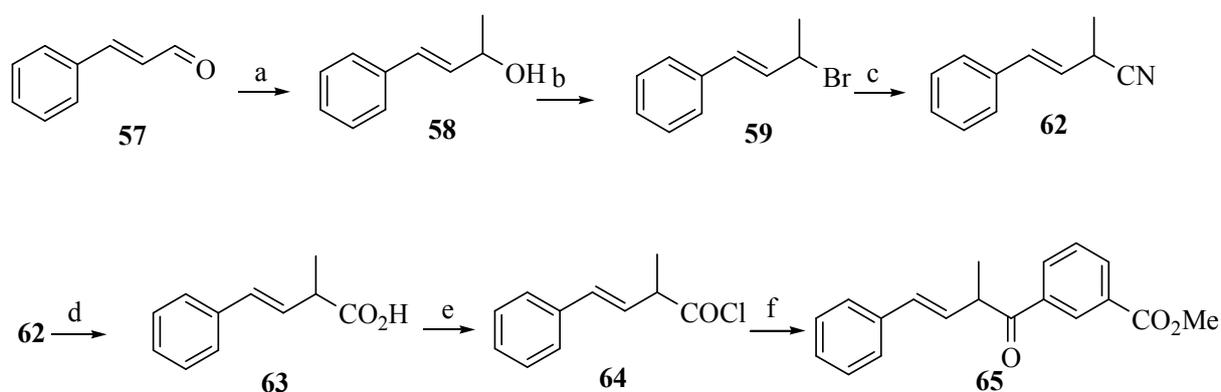
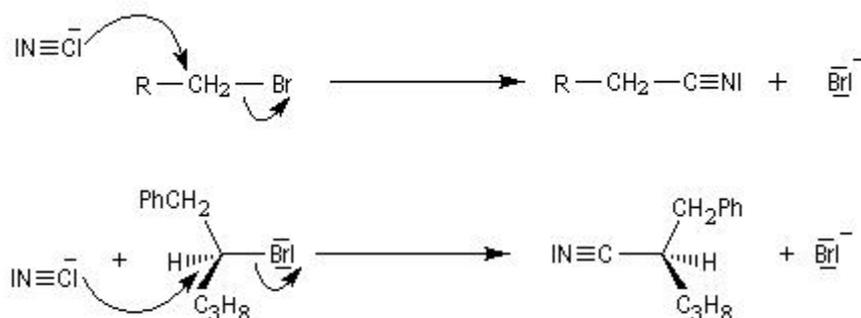


Schéma 50: (a) MeMgI, I₂, THF, 0°C, 83%; (b) PPh₃.Br₂, CH₃CN, 120°C, 73%; (c) KCN, DMF, 90-150°C, H₂O, 89%; (d) 15% NaOH, EtOH, 120°C, H₃O⁺, 85%; (e) SOCl₂, reflux 2h, 89%; (f) **56**, I₂-DMF, 140°C 12h, 84%.

La réaction de **58** avec la triphénylphosphine et le brome dans l'acétonitrile conduit au (*E*) - (\pm) - 1 - (3-bromobut-1-ényl) benzène **59** avec un rendement de 73%, après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec un mélange cyclohexane: EtOAc (7/3, v/v).

Un exemple de greffage d'une fonction nitrile est donné par la synthèse des nitriles de Kolbe^{175, 176}.



Dans notre cas, nous avons engagé le composé **59** dans une réaction avec du KCN dans le DMF ; après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec comme éluant le mélange cyclohexane/Et₂O (19/1, v/v), nous avons abouti au (*E*) - (±)-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïtrile **62** avec un rendement de 89%. Signalons que la synthèse de l'énantiomère (*R, E*)- de **62** par hydrocyanation des 1,3-diènes a été précédemment décrite par Babu et ses collaborateurs¹⁷⁷ et les données qu'ils ont fournies nous ont aidés à identifier ce composé (schéma 50).

Afin d'accéder à l'acide à partir du composé **62**, nous avons procédé à l'hydrolyse de sa fonction nitrile avec l'hydroxyde de sodium éthanolique suivie d'une acidification ; cela nous permis d'obtenir l'acide **63** avec un rendement de 85% (schéma 50). Ici également, il convient de mentionner les travaux de Hanekamp et ses collaborateurs¹⁷⁸. En effet, ce groupe a décrit la synthèse de l'énantiomère (*S, E*)- de **63** et fourni ses données RMN, alors que Salamonczyk et collaborateurs¹⁷⁹ ont effectué la même synthèse pour l'analogue (*R, E*), sans fournir les informations RMN correspondantes. Les données disponibles dans la littérature ont servi de support à l'identification spectrale de notre acide. Par la suite, ce dernier, l'acide (*E*) -2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïque **63** est converti en **64** par traitement avec le chlorure de thionyle en excès. Après élimination de l'excès de réactif et de solvant, le composé **64** est obtenu avec un rendement brut de 89% (schéma 50).

Par la suite, ce composé a été immédiatement converti in situ en cétone **65** (84%) en utilisant le complexe iode-diméthylformamide (I₂.DMF) comme catalyseur d'acylation, selon un procédé décrit dans la littérature (schéma 50)¹⁸⁰. Avec cette manière de travailler, le composé **65** est obtenu avec un rendement global de 37.27% à partir du trans-cinnamaldéhyde (schéma 50).

1.3.2-Deuxième approche.

Dans la deuxième approche que nous avons choisie et qui devait aussi nous mener à la cétone **65**, nous avons traité le *trans*-cinnamaldéhyde avec l'iodure de méthylmagnésium dans le THF pour avoir l'alcool (*E*) - (±) - 4 phénylbut-3-en-2-ol **58**. Comme purification avant engagement dans d'autres étapes, le produit obtenu est traité avec une solution de bisulfite de sodium aqueux afin d'éliminer l'aldéhyde restant. La couche organique est ensuite séchée sur le sulfate de calcium anhydre et évaporée sous pression réduite pour donner le composé **58** avec rendement de 83% (schéma 51). La différence par rapport à l'approche précédente consiste à convertir l'alcool **58** en tosylate correspondant, avant d'effectuer la substitution de ce groupe par les ions cyaure.

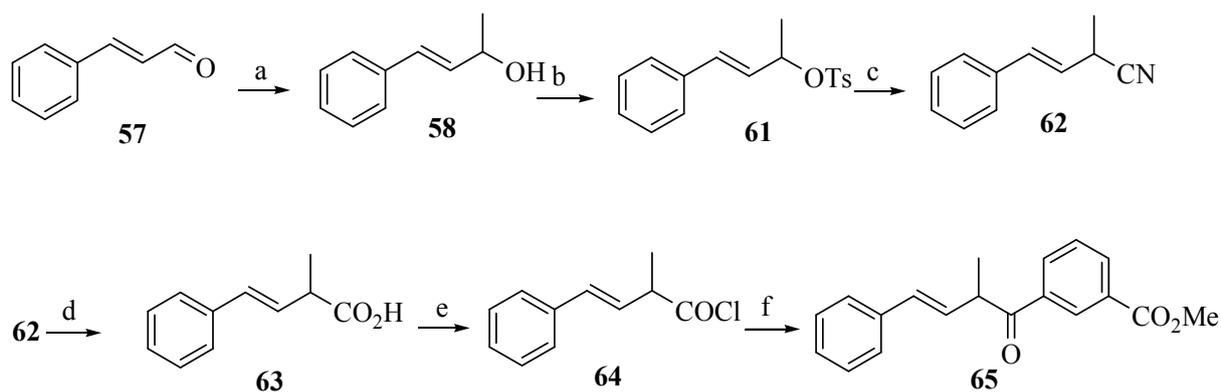
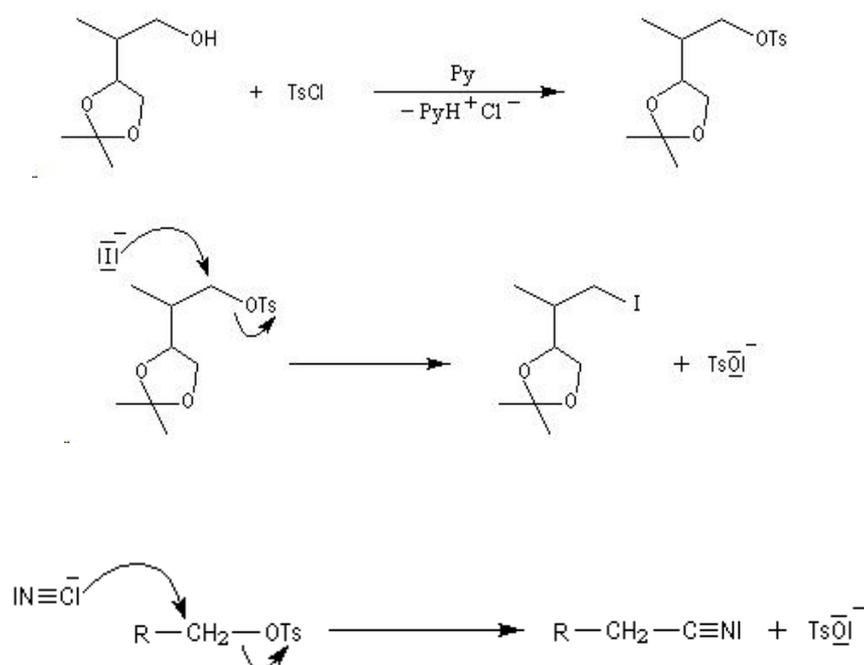


Schéma 51: (a) MeMgI, I₂, THF, 0°C, 83%; (b) chlorure de *p*-toluènesulfonyle, TEA, TA, 95%; (c) KCN, DMF, 90-150°C, H₂O, 85%; (d) 15% NaOH, EtOH, 120°C, H₃O⁺, 85%; (e) SOCl₂, reflux 2h, 85%; (f) **56**, I₂-DMF, 140°C 12h, 84%.

Les ions tosylate sont de très bons nucléofuges, ce qui peut être mis en relation avec leur caractère de bases très faibles donc très stables qui peuvent être déplacés par de nombreux nucléophiles. Ainsi, ils peuvent être remplacés par les ions iodure, ou encore par des ions cyanure dans la synthèse de Kolbe comme le montre le schéma suivant.



Notons que cette réaction ne serait pas possible en milieu acide car l'ion cyanure serait protoné pour donner HCN. La méthode est surtout valable pour les alcools primaires et secondaires. En milieu biologique, les composés contenant des groupes hydroxyle peuvent être activés par transformation en groupes phosphates comme par exemple, par formation d'uridinediphosphoglucose (UDPG).

Pour notre part, nous avons mis à profit le bon caractère nucléofuge du tosylate pour introduire la fonction nitrile sur le squelette de **58**. En effet, la réaction du (*E*) - (\pm) - 4 phénylbut-3-en-2-ol **58** avec le chlorure de *p*-toluènesulfonyl en présence de triméthylamine donne le (*E*)-4-phénylbut-3-en-2-yl 4-méthylbenzènesulfonate **61** avec un rendement de 95%. Ensuite, la réaction de ce dernier avec le KCN dans le DMF et après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange cyclohexane/Et₂O (19/1, v/v), nous a permis d'accéder au (*E*)-(\pm)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enenitrile **62** avec un rendement de 85%. Ce dernier est hydrolysé avec de l'hydroxyde de sodium éthanolique, suivie d'une acidification, pour conduire à l'acide (*E*) -2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïque correspondant **63** avec un rendement de 85% (schéma 51).

Cet acide est ensuite converti en **64** par traitement avec le chlorure de thionyle en excès. Après élimination de l'excès de réactif et de solvant, le composé **64** est obtenu avec un rendement brut de 89%. Ce dernier est immédiatement converti in situ en cétone **65** (84%) en utilisant le complexe iode-diméthylformamide (I₂.DMF) comme catalyseur d'acylation, selon la littérature¹⁸⁰. De cette manière, le composé (**65**) est obtenu avec un rendement global de 40.67% à partir du trans-cinnamaldéhyde (schéma 51).

1.3.3-Troisième approche

La troisième approche pour arriver au composé **65** ressemble sensiblement aux deux premières en ce qui concerne le passage par l'alcool **58** (obtenu avec 83% de rendement) ainsi que par le dérivé bromé **59**. Par conséquent, nous avons ensuite engagé le (*E*) - (\pm) - 4 phénylbut-3-en-2-ol **58** dans une réaction avec la triphénylphosphine et le brome, dans l'acétonitrile; après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec un mélange cyclohexane: EtOAc (7/3, v/v), on obtient le (*E*) - (\pm) -1 - (3-bromobut-1-ényl) benzène **59** avec un rendement de 73%. Contrairement aux deux approches précédentes, c'est ce dernier dérivé qui est transformé en organomagnésien pour pouvoir réagir avec l'ester isophthalique et conduire ainsi à la cétone **65** (schéma 52). Ce schéma est plus court que les deux autres.

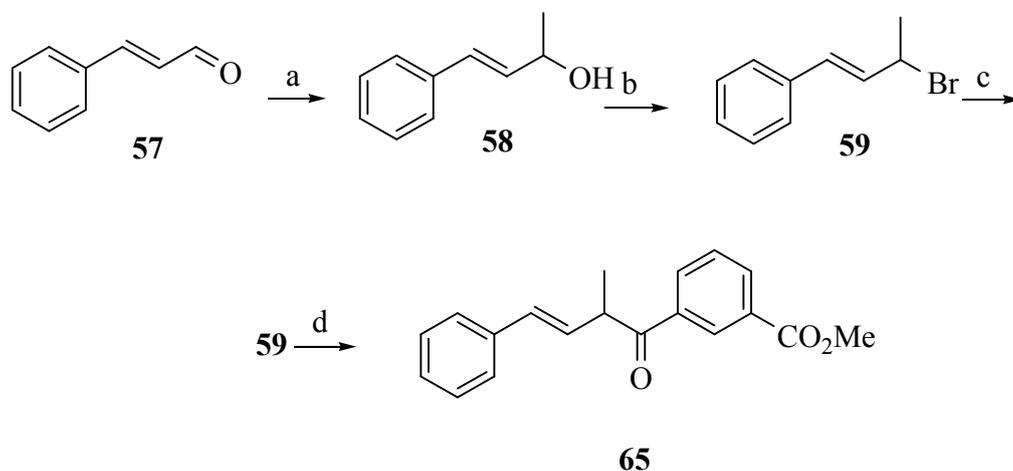
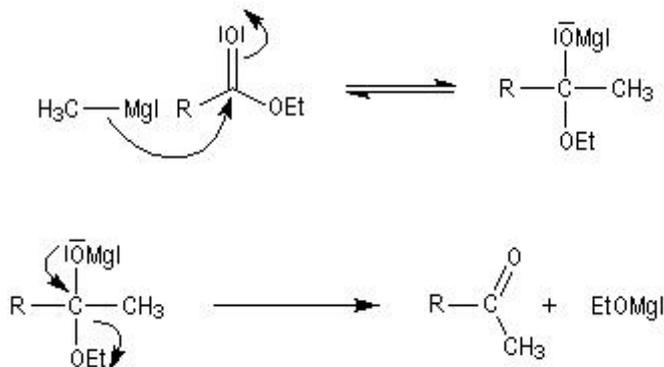
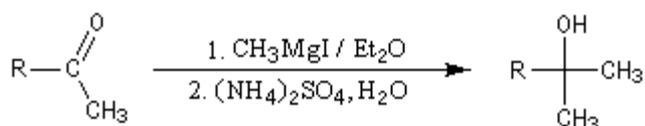


Schéma 52: (a) MeMgI, I₂, THF, 0°C, 83%; (b) PPh₃.Br₂, CH₃CN, 120°C, 73%; (c) Mg, THF, **55**, -80 °C, H₃O⁺, 77%

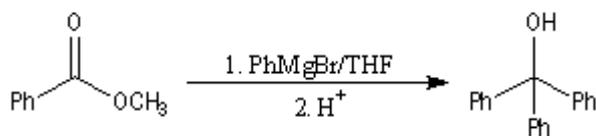
Nous ouvrons une parenthèse pour signaler que la réaction entre un ester et un organomagnésien, conduit à un intermédiaire tétraédrique instable car l'ion éthanolate est un nucléofuge moyen¹⁸¹.



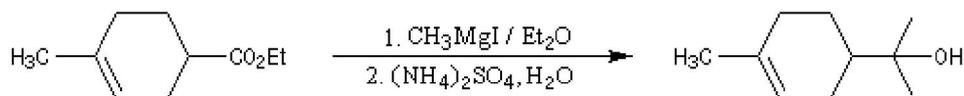
La cétone qui provient de la fragmentation de cet intermédiaire réagit plus vite avec l'organométallique que l'ester de départ et conduit ainsi à un alcool tertiaire dans lequel on retrouve deux fois la chaîne carbonée de l'organomagnésien.



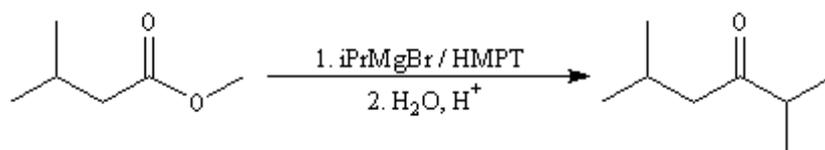
Un exemple d'application est la synthèse du triphénylméthanol. Notons que cet alcool tertiaire est facilement identifiable en milieu acide grâce au carbocation triphénylméthyle auquel il conduit



W. H. Perkin utilisait cette méthode dans sa synthèse historique du terpinéol (1904).



On peut cependant préparer des cétones à partir des esters en opérant dans un solvant de forte constante diélectrique, très polarisant et très solvatant comme le HMPT. Dans ce solvant, la cétone est transformée en énol. La réaction subséquente avec l'organométallique n'a plus lieu.



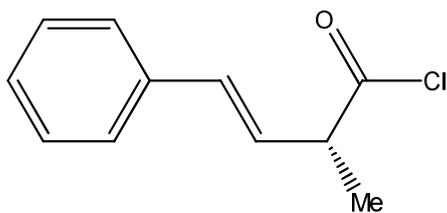
Dans notre cas, et pour minimiser le contrôle cinétique sur l'addition de l'organomagnésien sur l'ester, nous avons procédé à $-80\text{ }^\circ\text{C}$ dans le THF et obtenu le composé **65** avec 77% de rendement (schéma 52).

De cette manière, le composé **65** est obtenu avec un rendement global de **46.65%** à partir du *trans*-cinnamaldéhyde.

1.3.4-Examen stéréochimique du composé 65.

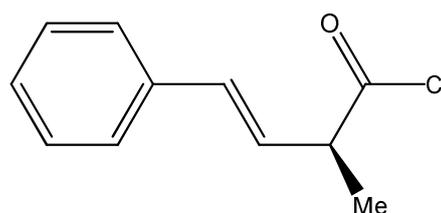
Au début, nous avons prévu en toute logique, que le composé **65** serait un racémique. Cependant, une analyse par HPLC chirale des échantillons provenant de deux voies a montré que ces deux voies synthétiques étaient stéréosélectives. En effet, le chromatogramme montre dans chaque cas deux pics avec des temps de rétention (Tr) 3.016 (Tr 1, composé majeur) et 5.783 (Tr2) minutes respectivement (88,9 % ee pour la voie au complexe $\text{I}_2\cdot\text{DMF}$ et 74,8 % ee pour la réaction avec l'organomagnésien). Qui plus est, des échantillons de chaque procédé ont affiché des valeurs de rotations spécifiques similaires dans l'acétate d'éthyle : $[\alpha]_{20}^{\text{D}} -5.3^\circ$ (complexe $\text{I}_2\cdot\text{DMF}$) et $[\alpha]_{20}^{\text{D}} -5.2^\circ$ (addition du réactif de Grignard) respectivement, pour une concentration égale (c 0,1 AcOEt).

La seule explication valable de l'induction asymétrique dans le cas de l'addition de l'organomagnésien ne peut provenir que de la différence dans la taille des substituants du carbonyle, tout comme de la présence d'un atome de carbone chiral au voisinage du groupe carbonyle. Cependant, cela ne pouvait pas être vérifié sur des modèles moléculaires. Par contre, quand nous utilisons un catalyseur dans la réaction de Friedel-Crafts, et parce que l'électrophile est un complexe, il nous a été possible de recourir aux modèles moléculaires ainsi qu'aux règles de Cram- Felkin-Anh afin d'attribuer une configuration raisonnable à la cétone **65** comme le montre la figure 42. Après avoir examiné les deux stéréoisomères (*R*) - et (*S*) -, énantiomères de l'électrophile, il s'est avéré que l'acylation est plus favorisée pour l'énantiomère (*R*) - que pour son analogue (*E*) -, suite à l'existence d'interactions stériques majeures dans ce dernier. C'est pourquoi nous proposons la configuration prépondérante (*R,E*) pour le composé **67**.



Chlorure de (*R,E*)-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoyle

Electrophile "R"



Chlorure de (*S,E*)-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoyle

Electrophile "S"

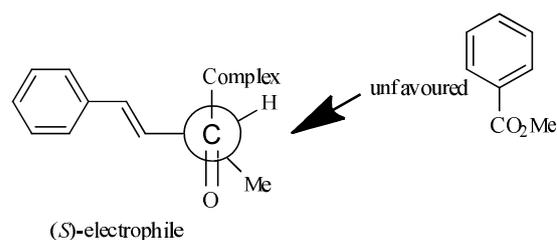
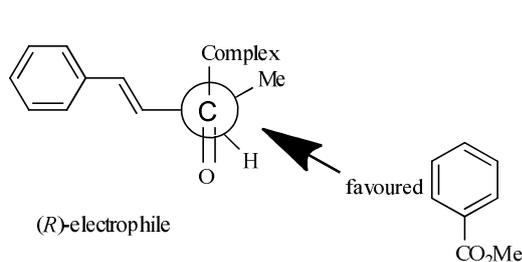


Figure 42

Il est important de souligner qu'avant d'effectuer toute analyse HPLC, l'instrument avait été calibré avec des solvants analytiquement purs de telle manière que seuls les pics des échantillons à analyser soient affichés. Cela nous a permis d'observer les pics des produits mineurs sans aucune interférence possible avec ceux des solvants.

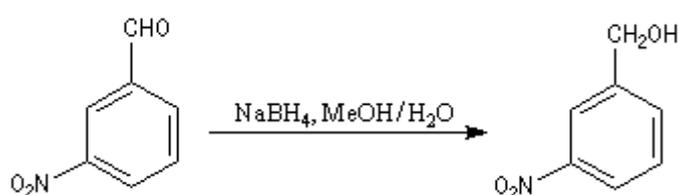
1.3.5-Synthèse des composés 66 et 67.

L'ion hydruide contient l'élément hydrogène au degré (-I). C'est donc un réducteur potentiel de fonctions insaturées. Les hydrures alcalins LiH, NaH, KH sont connus depuis longtemps. Cependant ces composés ne sont guère utilisables comme réducteurs car ce sont des bases très fortes et l'ion H⁻ n'y manifeste pas de propriétés nucléophiles. En revanche, les complexes d'hydrures d'aluminium ou de bore, réactifs gros et polarisables, permettent de transférer l'ion H⁻ vers un substrat insaturé en exaltant sa capacité nucléophile.

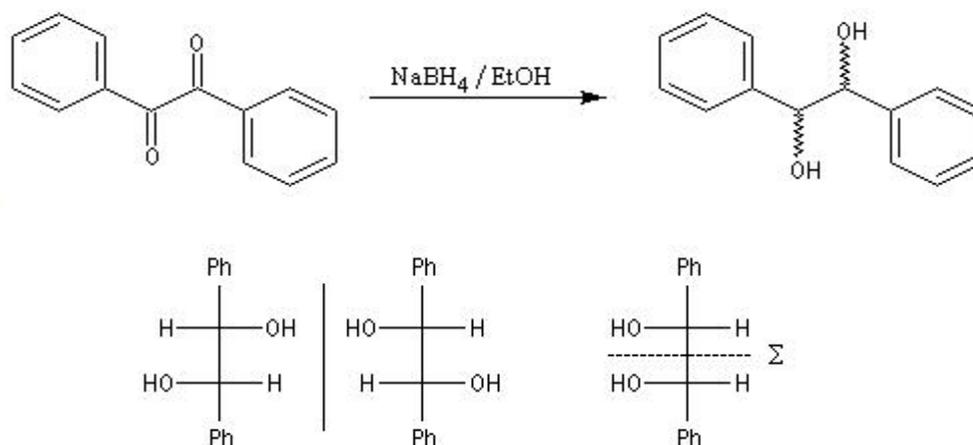
L'hydruide de lithium aluminium (LiAlH₄) est un composé ionique qui se présente sous la forme d'un solide blanc, stable dans l'air sec mais extrêmement réactif. Il a été préparé en 1947 par H. J. Schlesinger. On l'utilise dans l'éther diéthylique ou le THF. Il est *absolument incompatible* avec l'eau avec laquelle il réagit avec explosion à cause du dégagement brutal d'hydrogène et du caractère très exothermique de la réaction. On peut le préparer par la réaction suivante :

Le borohydrure de sodium (NaBH_4), *beaucoup moins réactif* que LiAlH_4 , offre, de ce fait, l'avantage d'une *bien plus grande sélectivité*. Pour les groupes carbonyle, l'ordre de réactivité est le suivant : α -étones < cétones < α -énals (aldéhydes conjugués) < aldéhydes. En général, un certain type de groupement carbonyle peut être réduit sélectivement en présence d'un autre groupe carbonyle d'une catégorie moins réactive. On réalise ces réactions en utilisant un excès de NaBH_4 à -78°C , dans des mélanges de solvants tels que le méthanol ou l'éthanol avec du dichlorométhane. A la différence de LiAlH_4 , il est compatible avec l'eau dans laquelle il se dissout assez bien¹⁸³.

Dans l'exemple suivant, le groupe *nitro* du substrat n'est pas altéré alors qu'il serait réduit en groupe amino par LiAlH_4 .



La réduction d'un composé dicarboxylé fournit au maximum quatre stéréoisomères. Dans le cas du dibenzyle, du fait de la symétrie de la molécule de départ, il se forme deux énantiomères et un composé méso¹⁸².

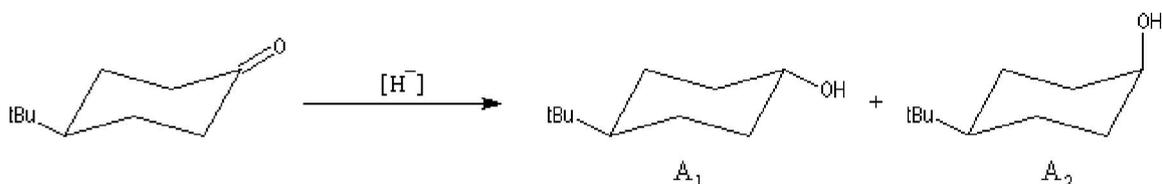


De nombreux réactifs permettant le transfert d'hydrure ont été préparés au cours des dernières décennies. Ainsi, le K-sélectride est un hydrure fortement encombré utilisé dans les réductions diastéréosélectives. A ces réactions, on peut rattacher la réaction de Meerwein, Ponndorf et Verley dans laquelle l'isopropylate d'aluminium permet le transfert d'un ion hydrure vers un composé carbonyle. Les réactions de réduction des carbonyles impliquant des organomagnésiens encombrés procèdent d'un mécanisme assez comparable.

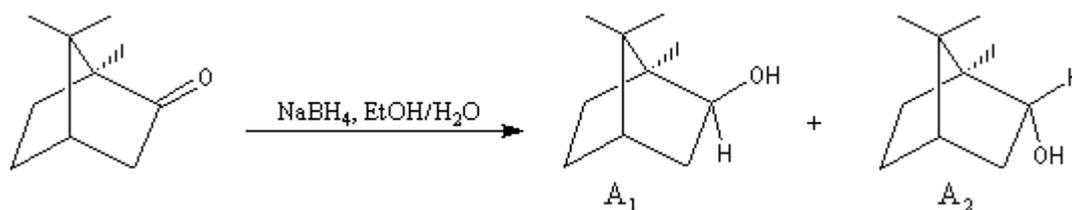
Lorsque le groupe carbonyle est adjacent à un atome de carbone asymétrique, les faces prochirales du carbonyle sont diastéréotopiques. L'influence exercée par cet atome de carbone sur la stéréochimie de l'addition s'appelle induction asymétrique. Pour prévoir la stéréochimie de l'addition, plusieurs modèles de l'état de transition sont utilisés :

- en l'absence d'interaction d'acide-base de Lewis, on utilise le modèle de Felkin-Anh (1977) ;
- dans le cas contraire, il faut envisager un contrôle de la stéréochimie par chélation.

La réaction entre les hydrures métalliques et les cétones cycliques est diastéréosélective. La stéréochimie de l'addition est gouvernée par des facteurs stéréoélectroniques. Avec les hydrures non encombrés comme NaBH_4 ou LiAlH_4 , le facteur électronique est prédominant et la réaction normale se traduit par une approche axiale de l'ion hydruure, conduisant à l'alcool possédant un groupe OH équatorial. Avec les hydrures encombrés, l'attaque équatoriale peut devenir prédominante. L'alcool diastéréoisomère du précédent est alors majoritaire.



Le cas des composés bicycliques pontés est plus délicat. Expérimentalement, on constate que les facteurs stériques sont prédominants et l'hydruure est transféré de façon préférentielle sur la face la moins encombrée. L'exemple suivant concerne la réduction de la molécule de camphre qui donne un mélange dans lequel l'isobornéol (composé A_1) pour lequel le groupe OH, situé sur la même face que le pont (face *exo*), est largement majoritaire sur le bornéol (composé A_2) pour lequel le groupe OH est situé sur la face opposée au pont (face *endo*).



Composé	A_1	A_2
NaBH_4	86	14

L'excès diastéréoisomérique est de l'ordre de 72 %. Un mode opératoire pour cette réaction est donné à la référence¹⁸³.

En ce qui nous concerne, le composé **65**, obtenu par la réaction de Friedel-Craft a été réduit en alcools correspondants **66** et **67** (schéma 53). D'abord la réaction de **65** avec le NaBH₄ dans CH₂Cl₂ conduit, après recristallisation dans le méthanol, au composé **66** avec un rendement de 83%.

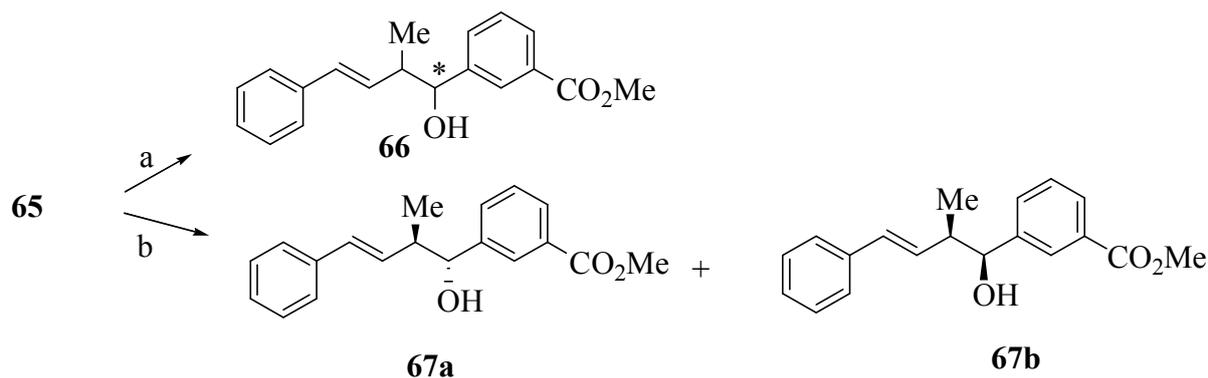


Schéma 53: (a) NaBH₄, CH₂Cl₂, 0°C, 83%; (b) NaBH₄, CH₂Cl₂/CH₃COOH, 0°C, 89%.

Le composé **66** a été soumis à une analyse par HPLC avec différentes proportions d'isopropanol / hexane. La meilleure séparation a été réalisée avec un mélange 5:95 (v / v) et a montré quatre pics chromatographiques avec des temps de rétention respectifs de 3.138 (Tr1) et 4,040 minutes (Tr 2) pour la première paire et 5.136 (Tr3) et 6.765 (Tr4, composé majoritaire). La première paire de stéréoisomères a été formée avec 73% d'ee tandis que la seconde était à 88% d'ee. Dans l'ensemble, l'échantillon a donné une rotation spécifique ($[\alpha]_D^{20} = -6,3^\circ$ (c 0,1 AcOEt)). Une tentative de recristalliser l'échantillon dans le méthanol a donné des cristaux blancs avec un point de fusion de 105 °C et une pureté optique de $[\alpha]_D^{20} = -6,2^\circ$ (c 0,1 AcOEt) (schéma 53).

Dans un autre essai distinct, la réduction de composé **65** a été réalisée avec un complexe NaBH₄-acide acétique dans le dichlorométhane ; ce complexe est bien connu comme agent de réduction énantiosélective, et largement utilisée lors des réductions énantiosélectives¹⁸⁴. C'est de cette manière que nous avons pu obtenir le benzoate de 3-(1*R*, 2*R*, *E*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-ényle sous forme d'un mélange de **67a** et **67b** avec un rendement de 89%. Une analyse par HPLC chirale avec un mélange isopropanol / n-hexane 5:95 offrait les mêmes temps de rétention que l'alcool racémique (Tr 1 = 4.040; Tr 2 = 6.767). Un échantillon a été recristallisé dans le méthanol pour obtenir des cristaux blancs avec un point de fusion de 102 °C et avec un $[\alpha]_D^{20} = -7,3^\circ$ (c 0,1 AcOEt). Cela suggère que les grands pics qui avaient été observés auparavant à 4.040 et 6,767 minutes ont été formés à partir du stéréoisomère (*R*,

E)- dont le composant principal serait le benzoate ((*1S*, *2R*, *E*) 3 - 1-hydroxy -2-méthyl-4-phénylbut-3-en-1-yl) **67b** (schéma 53).

La projection de Newman de chaque énantiomère a montré la face préférentielle de la cétone qui fixerait plus facilement l'hydrure que les autres, parce que le groupe de taille moyenne du substituant chiral n'est pas électro attracteur. Cette interprétation a été faite en conformité avec celle que Lodge et Heathcock ont faite sur le modèle de Felkin-Anh^{185, 186}. Tout cela nous a poussés à penser que l'addition d'hydrure sur l'énantiomère (*R*, *E*)- serait plus favorisée que celle faite par le même réactif sur son équivalent (*S*,*E*) (figure 43).

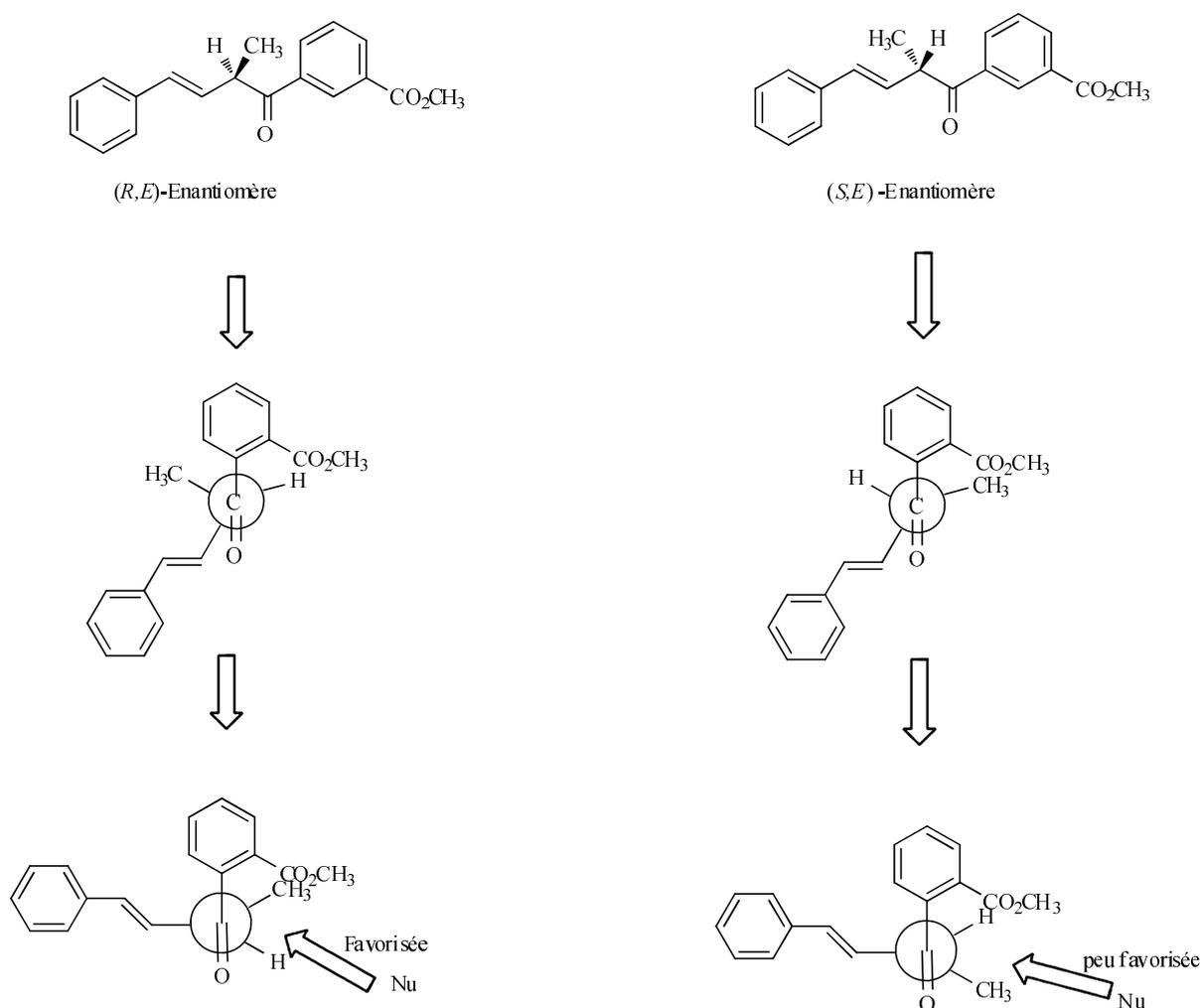


Figure 43

1.3.6-Synthèse de composé 68.

Les époxydes ou oxacyclopropanes sont des éthers cycliques à trois chaînons. Le plus simple des époxydes est appelé oxacyclopropane ou oxyde d'éthylène. Les autres peuvent être considérés comme des dérivés substitués du précédent. Les époxydes sont des intermédiaires très souvent utilisés en synthèse organique où l'on met à profit leur grande réactivité. Ils

combinent en effet l'intérêt de posséder une tension de cycle importante et d'avoir un atome d'oxygène nucléofuge. Ils peuvent être ouverts dans des conditions douces par de très nombreux réactifs en milieu basique et en milieu acide. Il existe plusieurs voies d'accès aux époxydes dont voici quelques-unes parmi les plus importantes.

- Le réactif est un peracide. La réaction est stéréospécifique et de stéréochimie *syn*. Notons que l'époxydation de liaisons éthyléniques d'alcools allyliques peut être rendue énantiosélective en utilisant un complexe de métal de transition (Ti) et un tartrate comme auxiliaire chiral.
- A partir des composés carbonylés. Le réactif est un ylure de soufre. Cette réaction dite de Corey-Chaykovsky a acquis une grande importance en synthèse organique du fait de sa stéréosélectivité.
- Les halohydrines sont des précurseurs d'époxydes quand elles sont traitées en milieu basique par réaction de Williamson intramoléculaire.
- A partir des α -halogénoesters. La réaction entre un carbanion formé à partir d'un α -halogénoester et un composé carbonylé est appelée réaction de Darzens. Il s'agit d'une méthode de préparation d'époxyesters (esters glycidiques).

Pour notre travail, l'époxydation du dérivé éthylénique avec une solution à 70% d'acide méta-chloroperoxybenzoïque (5g, 20,24mmol) dans 50 ml de dichlorométhane permet d'aboutir, après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange hexane/acétone (3/2, v/v), au 3-((1*R*,2*S*)-1-hydroxy-2-(3-phényloxiran-2-yl)propyl) benzoate de méthyle **68** avec un rendement de 89%. Quatre diastéréoisomères sont formés avec des temps de rétention respectifs 3.005 (Tr 1); 3.338 (Tr2 majoritaire), 5.819 (Tr 3) et enfin 6,303 minutes (Tr 4). Un excès énantiomérique de 86,5% a été observé au sein de la première paire alors qu'il était de 80% dans la dernière paire. L'excès énantiomérique global était de 80 % (schéma 54).

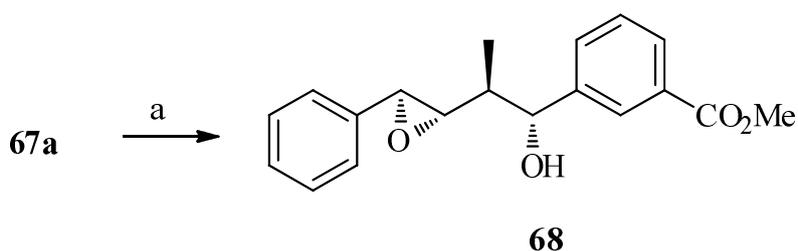


Schéma 54: (a) m-CPBA, CH₂Cl₂, reflux 20h, 93%.

1.3.7-Synthèse de composé 70

L'aziridine ou azacyclopropane est un composé organique cyclique de formule brute C₂H₅N. C'est aussi le composé parent des aziridines et du groupe fonctionnel qui correspond à

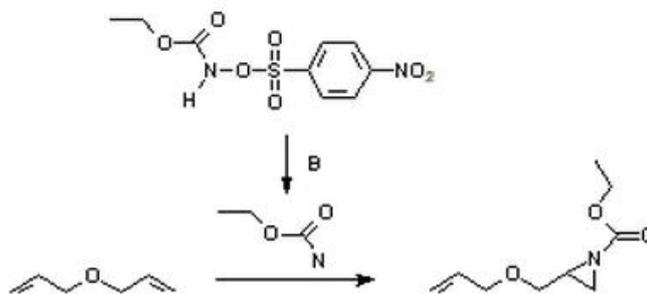
un hétérocycle à trois chaînons composé d'une amine et de deux groupes méthylène¹⁸⁷. Les aziridines peuvent être préparées de nombreuses façons :

- **Cyclisation d'haloamine et d'amino-alcools.**

Un groupe amine peut déplacer un halogénure adjacent en β dans une réaction de substitution nucléophile intramoléculaire pour former une aziridine. Les amino-alcools ont la même réactivité mais il faut tout d'abord convertir les groupes hydroxyde en meilleurs groupes partants, par exemple en tosylate. La cyclisation d'un amino-alcool est appelé synthèse de Wenker (1935) tandis que celle d'une d'haloamine en éthylèneimine constitue la méthode de Gabriel (1888).

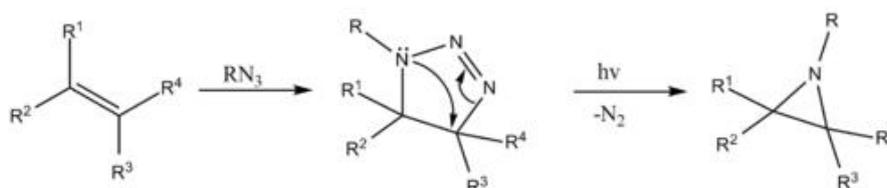
- **Addition de nitrène**

L'addition d'un nitrène sur un alcène est une méthode bien établie pour la synthèse des aziridines. Photolyse et thermolyse d'azotures constituent une méthode de choix pour la génération des nitrènes. Ceux-ci peuvent aussi être formés *in situ* à partir du diacétate d'iodobenzène et des sulfamides, sulfamates, ou de l'éthoxycarbonylnitrène d'un précurseur *N*-sulfonyloxy¹⁸⁸.



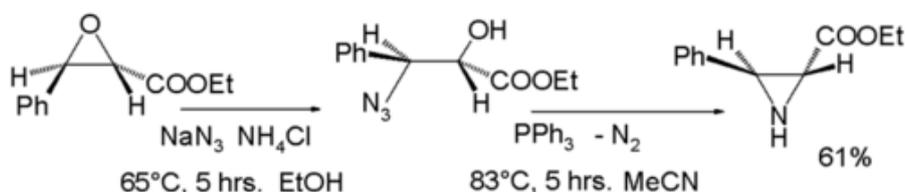
- **Décomposition des triazolines**

Sous traitement thermique ou par photolyse d'une triazoline, de l'azote est extrudé de la molécule de départ et il se forme une aziridine¹⁸⁹. La triazoline requise pour ce genre de réaction est obtenue par le biais d'une réaction de cycloaddition d'un azoture sur un alcène.



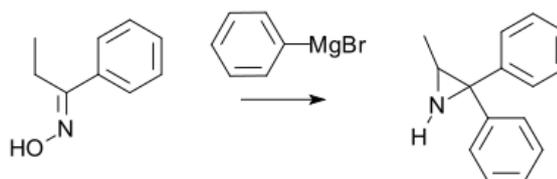
- Via l'ouverture d'un époxyde

Une autre méthode d'accès aux aziridines consiste à procéder à l'ouverture d'un cycle époxyde avec l'azoture de sodium, suivie d'une réduction organique de l'azoture obtenu avec la triphénylphosphine par expulsion d'azote gazeux¹⁹⁰.



- Réaction d'une oxime avec un réactif de Grignard

L'éthylénimine peut aussi provenir de la synthèse de Hoch-Campbell, cette dernière décrit la synthèse d'aziridines par la réaction de certaines oximes avec des réactifs de Grignard¹⁹¹.



1.3.8-Synthèse de notre aziridine

Pour notre part, nous avons réalisé la synthèse du motif aziridinyle de notre cible en traitant une solution du composé **68** dans l'éthanol et l'eau avec le chlorure d'ammonium et NaN_3 pour fournir d'abord l'azido alcool **69**. Ce dernier est ensuite mis à réagir avec une solution de triphénylphosphine dans le CH_3CN pour fournir le 3-((1*R*,2*R*)-1-hydroxy-2-(2*R*,3*R*)-3-phénylaziridin-2-yl)propyl benzoate de méthyle **70** avec un rendement de 90%. Ce composé a été préalablement purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice éluée avec un mélange du dichlorométhane -méthanol (v / v : 1:1). A la fin, on procède à une analyse par HPLC en utilisant un mélange 7:93 (v / v) isopropanol/n-hexane. Les temps de rétention observés sont les suivants : Tr1 = 2.981 ; Tr 2 = 3,334 ; Tr 3 = 5.800 (énantiomère majoritaire) et Tr 4 = 6,283 minutes. $[\alpha]_D^{20} = -1,9^\circ$ (c 0,1 AcOEt) (schéma 55).

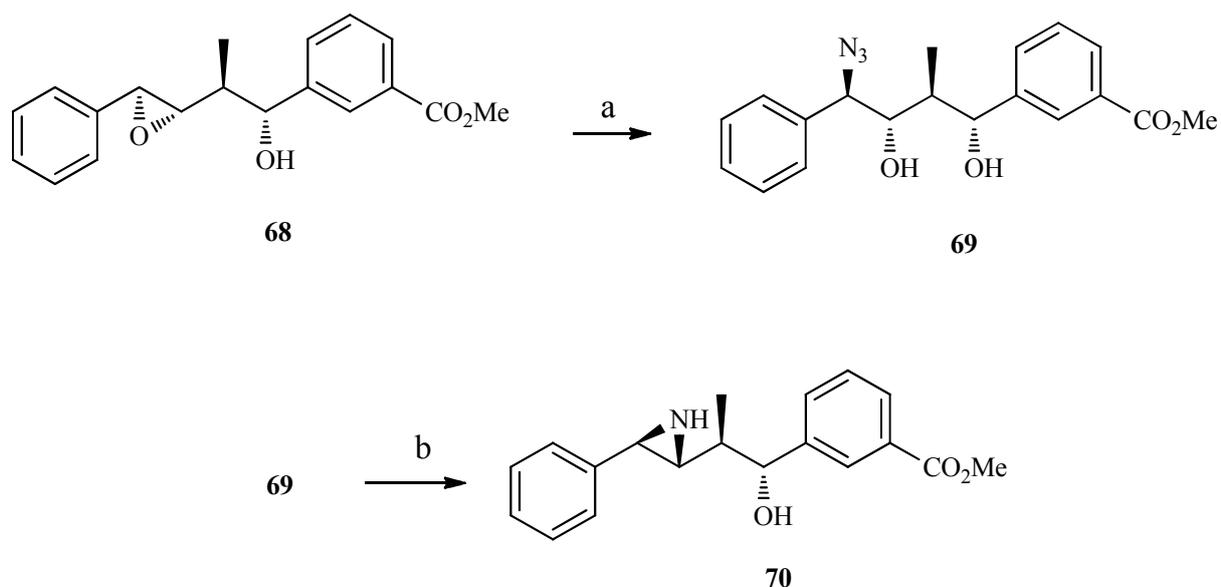


Schéma 55: (a) NH₄Cl, NaN₃, EtOH/H₂O, 18h, 57%; (b) PPh₃, CH₃CN, 38°C, 2h, 90%.

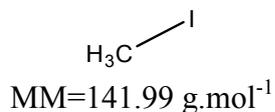
Il est évident que **77b** n'a pas la configuration souhaitée (*syn*) pour sa conversion dans la cible mentionnée au début de ce travail. Mais cela peut être réalisé par des méthodes enzymatiques, comme décrit précédemment dans la littérature.

Conclusion partielle

Nous avons conçu une synthèse stéréosélective d'un nouveau dérivé du fragment A de cryptophycine-1 avec un rendement global raisonnable. Les premières étapes de synthèse ont été effectuées en série racémique, alors que la stéréosélectivité de la voie de synthèse a été introduite plus tard. Cela a conduit à un anti-alcool intermédiaire comme stéréoisomère majoritaire à la place du dérivé *syn*. Notre intérêt principal dans ce travail était d'introduire une certaine rigidité dans la structure finale, car ce dernier pourrait rendre le produit final plus spécifique et sélectif, dans le cas où il aurait une certaine activité biologique.

Partie expérimentale relative à la synthèse stéréosélective d'un analogue aziridinyle du fragment « A » de la cryptophycine.

Iodure de méthyle (54)



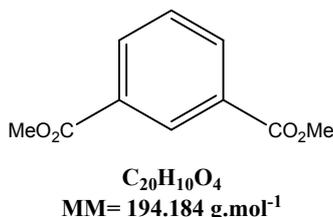
liquide transparent, $P_{eb} = 41-43\text{ }^{\circ}\text{C}$;
Litt. $P_{eb} : 42.5^{\circ}\text{C}$.
 $P_{eb} = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$.
CAS : 74-88-4

Dans un bicol (montage de distillation), on introduit du KI (160g, 0,96mol) dans 86ml d'eau, on ajoute du carbonate de potassium (K_2CO_3) (16,56g). On chauffe le mélange à 60-65°C sous agitation. La température est maintenue 60-65°C, et 100ml de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ sont progressivement ajoutés grâce à une ampoule à décanter, le débit de l'addition est telle que l'iodure de méthyle distille régulièrement. L'addition du diméthylsulfate nécessite environ deux heures pour se terminer.

A la fin de l'addition, on augmente la température entre 65-70°C pendant environ 40min pour compléter la distillation de MeI. Le produit est décanté et séché sur chlorure de calcium anhydre. On filtre, et on ajoute quelques grains d'iode et on distille en utilisant un bain d'eau.

13,3 g (57%) du composé **54** sont obtenus après évaporation et séchage.

Isophthalate de diméthyle (55)



Solide blanc, $P_f = 66-68\text{ }^{\circ}\text{C}$.
litt. : $P_f = 65-68^{\circ}\text{C}$.
 $P_f = 67.5^{\circ}\text{C}$.
CAS : 1459-93-4

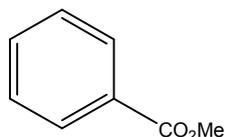
Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit du MeOH (200ml); la solution est refroidie à 0°C. On y ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle (33,43ml). La solution est agitée 5 min. Ensuite, l'acide isophthalique 11g (69,121) est ajouté en une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite.

↳ Obtention de 12,2 g (91%) du composé **55**.

ES-LRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 217.17$ valeur calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_4\text{Na}$,
216.9 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1722.30, 1441.66.

Benzoate de méthyle (56)



$C_8H_8O_2$
MM= 136.15 g.mol⁻¹

Huile jaune claire.

CAS : 93-58-3

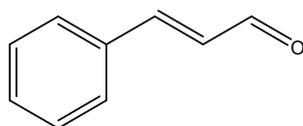
Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit du MeOH (150ml); le solvant est refroidi à 0°C. On lui ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle (14,82 ml) et la solution ainsi obtenue est agitée 5 min. Ensuite, l'acide benzoïque (10g, 73,44mmol) est ajouté en une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite.

↳ Obtention de 5.6 g (56%) du composé **56**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 159.14 valeur calculée pour C₈HO₂Na,
159.0 valeur trouvée.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 1723.56, 710.71, 687.81.

trans-Cinnamaldéhyde (57)



C_9H_8O
MM= 132.16 g.mol⁻¹

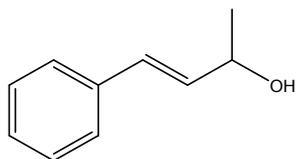
Liquide jaune, P_{éb} = 105°C à pression réduite.

▪ CAS : 104-55-2

Distillation du cinnamaldéhyde à pression réduite.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 1775.12, 1742.27, 1715.72, 1613.07, 1249.11 (O-Me).

(E)-4-phénylbut-3-en-2-ol (58)



$C_{10}H_{12}O$
MM = 148.202 g.mol⁻¹

Huile orange.

On distille le *trans*-cinnamaldéhyde **57** sous pression réduite. Entre temps, on lave le Mg avec le THF sec et on le laisse à l'étuve pendant une nuit. Dans un bicol et sous courant d'azote, on introduit du Mg (2,75g, 113,49mmol, 1,5 equiv), puis on verse dessus et sous courant d'azote du THF sec (50 ml) et deux cristaux d'I₂. Ensuite la solution est refroidie à -5°C. On ajoute à l'aide d'une ampoule à pression constante l'iodure de méthyle (16,11g, 113,49mmol, 1.5equiv, 191 mmoles) dans le THF 30 ml sec. On verse ¼ de la solution puis on ajoute goutte à goutte le reste. Il se développe un trouble blanc accompagné d'un dégagement de chaleur.

Après l'ajout de tout l'iodure de méthyle, on laisse agiter pendant 1h30 à une température comprise entre 0 et -10°C. Ensuite, on ajoute goutte à goutte le cinnamaldéhyde (10g, 75.66 mmol, 1equiv.) dissous dans le THF 40 ml avec une forte agitation, tout en maintenant la température entre 0 à -10°C. On porte à reflux pendant 5h. On refroidit, puis on verse cette solution dans 100g d'eau glacée, et on ajoute 100ml d'une solution de H₂SO₄ à 15%. On recueille la phase organique, puis on extrait la phase aqueuse 3 fois avec 50ml d'éther. On lave la phase organique 2 fois avec une solution de bicarbonate de sodium à 5%, puis avec une solution saturée de NaCl. On sèche sur CaSO₄, et le solvant est chassé sous pression réduite.

On dissout l'alcool cinnamique dans le chloroforme. On ajoute à cette solution 50ml d'une solution de bisulfite de sodium. On laisse agiter toute une nuit, un solide se dépose (le sel bisulfitique de l'aldéhyde qui reste). On filtre, on décante, on lave avec l'eau froide (pour éliminer le reste de solution bisulfitique). On sèche, et le solvant est chassé sous pression réduite.

↳ Obtention de 9,31 g (83%) du composé **58**.

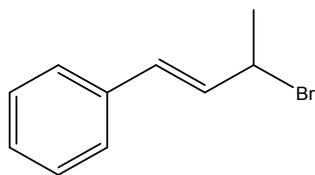
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 171,19 valeur calculée pour C₁₀H₁₂ONa,
172.2 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.25 (d, ³J = 7.8 Hz, 3H, Me), 2.37(brd, ³J = 3.5 Hz, 1H, OH), 4.33 (dq, ³J = 7.0 Hz, 7.7 Hz, 1H, CH-OH), 6.38 (dd, ³J = 8.6Hz, 15.9 Hz, 1H, -CH=), 6.58 (d, ³J = 15.9 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.24-7.39 (m, 5H, Ph).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 19.64, 58.84, 125.75, 126.36 (2C), 127.79, 128.68 (2C), 130.75, 136.74.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3393.64, 746.65, 691.10.

(E)-1-(3-bromobut-1-enyl)benzène (59)



$C_{10}H_{11}Br$
MM = 211.1 g.mol⁻¹

Pâteux marron.

CAS : 91861-49-3

Synthèse à partir du composé 58 :

Procédé A :

Dans un ballon rodé, on introduit le (E)-4-phénylbut-3-en-2-ol **5** (3 g, 20,24mmol.). On ajoute 6ml de HBr à 45% goutte à goutte et avec agitation, puis on ajoute 2ml de H₂SO₄ goutte à goutte avec une forte agitation. On porte à reflux pendant 3h. On observe la formation d'une pâte, séparée d'une solution jaune (le reste de HBr). On dissout l'ensemble dans le chloroforme. On lave 4 fois avec une solution de bicarbonate de sodium à 5%. On sèche et on évapore le solvant sous pression réduite.

↳ Obtention de 3,54 g (83%) du produit **59**.

Procédé B :

Dans un ballon rodé, on introduit la triphénylphosphine (8,97g ; 34,57mmol, 1,025 equiv) dans l'acétonitrile (CH₃CN) (100 ml). On refroidit la solution à 0°C, puis on ajoute du brome (8,87 g ; 33,73mmol, 1 equiv) par petites portions sur une période de 15-20 min. On enlève le bain de glace, puis on ajoute une solution de (E)-4-phénylbut-3-en-2-ol **58** (5g, 33,73mmol, 1 equiv) dans 25 ml de CH₃CN par portions durant 15 min. On porte à reflux pendant 3h en maintenant la température interne à 120°C grâce à un bain d'huile. On évapore le solvant, puis le produit est repris dans 100 ml d'éther, lavé 4 fois avec une solution de bicarbonate de sodium à 5%. On sèche et on évapore le solvant sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne sur gel de silice éluée avec un mélange cyclohexane: EtOAc (7/3, v/v), 5,2 g (73%) du composé **59** sont obtenus

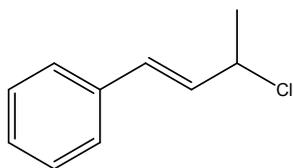
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 234,09 valeur calculée pour C₁₀H₁₁BrNa,
233,9 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.59 (d, ³J = 7.6 Hz, 3H, Me), 4.30 (dq, ³J = 6.9 Hz, 7.5 Hz, 1H, CH-OH), 6.40 (dd, ³J = 7.9 Hz, 15.4 Hz, 1H, -CH=), 6.62 (d, ³J = 15.4 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.21-7.45 (m, 5H, Ph).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 19.48, 54.89, 125.92, 126.37 (2C), 127.79, 128.54 (2C), 133.49, 134.73.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: disparition de la bande OH par rapport au produit **5** .

(E)-1-(3-chlorobut-1-enyl)benzène (60)



$C_{10}H_{11}Cl$
MM = 166.65 g.mol⁻¹

Pâte noire

Synthèse à partir du composé 58 :

Dans un bicol muni d'un réfrigérant, d'une garde et sous courant d'azote, on introduit le (E)-4-phénylbut-3-en-2-ol **5** (1,5 g, 10,12 mmol). On ajoute goutte à goutte le SOCl₂ fraîchement distillé à l'aide d'une ampoule d'addition à pression constante. On porte à reflux pendant 2h. On refroidit, puis on ajoute du CCl₄ et le solvant est chassé sous pression réduite.

On dissout le produit obtenu dans le 100 ml de CH₂Cl₂. On traite la solution précédente avec 3x30ml d'une solution de bicarbonate de sodium à 5%. On sèche, on évapore le solvant sous pression réduite.

↳ Obtention de 1.18 g (70%) du composé **60**.

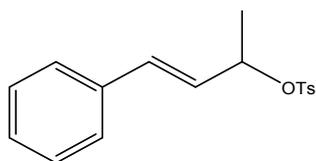
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 189,64 valeur calculée pour C₁₀H₁₁ClNa,
189,5 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.50 (d, 7.5, 3H), 4.22 (dq, 7.0, 7.5, 1H), 6.29 (dd, 7.7, 15.3, 1H), 6.60 (d, 15.7, 1H), 7.27-7.45 (m, 5H)

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 25.89, 61.41, 123.55, 126.33 (2C), 127.98, 128.7 (2C), 132.1, 135.2.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 755.76, 697.18 et disparition de la bande OH par rapport au produit **58**.

(E)-4-phénylbut-3-en-2-yl 4-méthylbenzènesulfonate (61)



$C_{17}H_{18}O_3S$
MM = 302.39 g.mol⁻¹

Pâte noire

Synthèse à partir du composé 58 :

Dans un bicol de 250 ml, on introduit le (*E*)-4-phenylbut-3-en-2-ol **5** (4 g, 26,99 mmol) dans 50ml de chloroforme. On refroidit la solution à 0°C et on ajoute sous agitation 5.5 ml de TEA, puis du chlorure de *p*-toluènesulfonyle (10,29g ; 53,98mmol) par portions pendant 20 min. On laisse agiter pendant 24h à température ambiante. On ajoute 30ml de chloroforme. On lave avec une solution de NH₄Cl, puis avec une solution saturée de NaCl. On sèche sur MgSO₄, puis on chasse le solvant sous pression réduite.

↳ Obtention de 7,75 g (95%) du composé **61**.

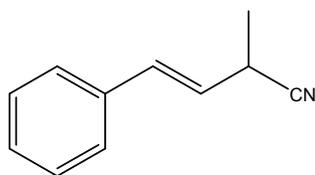
ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 325,38 valeur calculée pour C₁₇H₁₈O₃SNa,
325,2 valeur trouvée.

RMN-¹H (**δ** : ppm, **J** : Hz, CDCl₃) : 1.59 (d, 7.6, 3H), 2.35 (s, 3H), 5.45 (dq, 6.9, 7.5, 1H), 6.25 (dd, 7.8, 15.4, 1H), 6.58 (d, 15.6, 1H), 7.20-7.40 (m, 7H), 7.86 (d, 7.7, 2H)

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 19.9, 24.62, 65.71, 125.22, 126.28 (2C), 127.82, 128.74 (2C), 129.59 (2C), 129.79, 130.6 (2C), 135.1, 138.15, 144.23.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 753.12, 814.67, 1596.29, 1613.24, 3028.98, 3060.61 et disparition de la bande OH par rapport au produit **5**.

(E)-2-méthyl-4-phénylbut-3-ènenitrile (62)



C₁₁H₁₁N
MM = 157.21 g.mol⁻¹

Produit huileux

CAS : 913654-33-8

Synthèse à partir du composé 59 :

Sécher le CaSO₄ sur la flamme, puis laisser à l'étuve jusqu'au lendemain. Mettre le CaSO₄ dans le DMF et laisser reposer tout le weekend. Installer sur un bain d'eau dans un tricol de 500ml muni d'une agitation magnétique, d'un réfrigérant à reflux, d'un thermomètre ainsi que d'une garde à CaCl₂, 50 ml de DMF anhydre et y dissoudre du KCN anhydre (0,79g, 12,07mmol). Chauffer ce mélange à 90°C jusqu'à dissolution du sel, puis retirer le bain d'eau. Ajouter lentement pendant 10 min. le produit **59** (2,55g ; 12,139mmol) dissous dans 10ml de DMF grâce à une ampoule à décanter de telle manière que la température dans le ballon ne

dépasse pas les 150°C. À la fin de l'addition, continuer l'agitation jusqu'à ce la température descende à 50°C. Verser le mélange dans l'eau et extraire avec 3x30 ml d'éther.

Laver les extraits organiques réunis avec 2x20ml d'une solution saturée de sel ; sécher sur CaSO₄, puis chasser le solvant sous vide. L'analyse infrarouge montre qu'il ya toujours un reste de DMF (1670,99 cm⁻¹). On dissout le produit dans l'éther, on lave 3 fois avec 30ml d'une solution de HCl à 10%, puis avec 3 fois 30ml d'eau, puis avec une solution saturée de NaCl. Le produit obtenu est un liquide très visqueux rouge foncé. Son analyse infrarouge montre qu'il reste des traces de DMF. 3,31 g (89%) du composé **9** sont obtenus après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange cyclohexane/Et₂O (19/1, v/v).

Synthèse à partir du composé **61** :

Sécher le CaSO₄ sur la flamme, puis laisser à l'étuve jusqu'au lendemain. Mettre le CaSO₄ dans le DMF et laisser tout un weekend. Installer sur un bain d'eau dans un tricol de 500ml muni d'une agitation magnétique, d'un réfrigérant à reflux, d'un thermomètre ainsi que d'une garde à CaCl₂, 50 ml de DMF anhydre et y dissoudre du KCN anhydre (2g, 30.71mmol). Chauffer ce mélange à 90°C jusqu'à dissolution du sel, puis retirer le bain d'eau.

Ajouter lentement pendant 10 min. le (*E*)-4-phénylbut-3-en-2-yl 4-méthylbenzènesulfonate **61** (7,5g ; 24,80mmol) dissous dans 10ml de DMF grâce à une ampoule à décanter de telle manière que la température dans le ballon ne dépasse pas les 150°C. À la fin de l'addition, continuer l'agitation jusqu'à ce que la température descende à 50°C. Continuer l'agitation à 50°C pendant une nuit. Verser le mélange dans l'eau et extraire avec 3x50 ml d'éther. Laver les extraits organiques réunis avec 2x20ml d'une solution saturée de sel ; sécher sur CaSO₄, puis chasser le solvant sous vide. 1,68 g (85%) du composé **62** sont obtenus après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange cyclohexane/Et₂O (19/1, v/v)

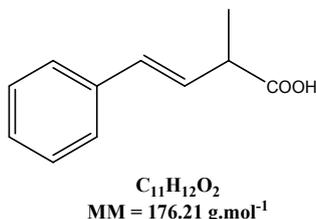
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 180,2 valeur calculée pour C₁₁H₁₁NNa,
179,9 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.53 (d, ³J= 7.5 Hz, 3H, Me), 3.52 (m, 1H, NC-CH-Me), 6.01 (dd, ³J= 6.5 Hz, 16 Hz, 1H, -CH=), 6.75 (d, ³J= 16Hz, 1H, Ph-CH=), 7.30-7.44 (m, 5H, Ph).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 19.04, 28.39, 120.91, 124.42, 126.56 (2C), 128.32, 128.75(2C), 132.59, 135.75.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 2245.63 cm⁻¹ (C≡N).

Acide (*E*)-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïque (63)



Solide blanc,

Pf=82°C

CAS: 143317-48-0 (2s)

Synthèse à partir du composé 62 :

On porte à reflux le (*E*)-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïle **62** (3g, 19,08mmol dans 25ml d'une solution de NaOH à 10% et 15 ml d'alcool dans un montage à reflux. Au bout d'environ 1h, le reflux est poursuivi pendant encore 1h30. Au bout de ce temps, enlever le réfrigérant à reflux et continuer le chauffage pendant quelques minutes sous la hotte pour éliminer l'ammoniac et l'alcool. Refroidir et ajouter du HCl concentré jusqu'à ce qu'un précipité se dépose complètement. Filtrer puis laver le produit avec le DCM (le solide blanc n'est pas l'acide obtenu). On sèche la partie dissoute dans le DCM, et on évapore.

↳ Obtention de 2,85 g (85%) du composé **63**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 199,2 valeur calculée pour C₁₁H₁₂O₂Na,
199,1 valeur trouvée.

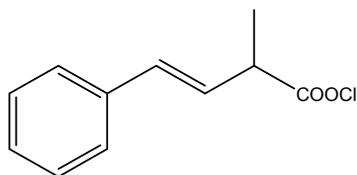
RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.38 (d, ³J = 7.0Hz, 3H, Me), 3.34 (dq, ³J = 7.0Hz, 7.8Hz, 1H, CH-CO₂H), 6.26 (dd, ³J = 7.8Hz, 15.9Hz, 1H, -CH=), 6.51 (d, ²J = 15.9 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.17- 7.45 (m, 5H, Ph).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 17.23, 40.18, 126.38 (2C), 127.67, 127.9 (2C), 128.6, 131.79, 136.74, 181.36.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1701.9, 755.95, 800.44, 3027.19, 3060.03.

Microanalyses: Calculé pour C₁₁H₁₂O₂ C 74.98 %, H 6.86 %. Trouvé C 74.88 %, H 7.06 %.

Chlorure de (*E*)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enoyle (64)



$C_{11}H_{11}ClO_2$
MM = 206.66 g.mol⁻¹

Pâte noire,

Synthèse à partir du composé 63 :

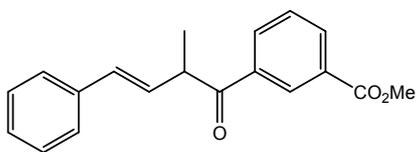
Dans un bicol muni d'un réfrigérant, d'une garde et lavé par un courant d'azote, on introduit l'acide *E*-2-méthyl-4-phénylbut-3-énoïque **63** (2,5 g ; 14,18 mmol, 1 equiv.). On ajoute goutte à goutte le SOCl₂ (5ml, 70,93 mmol, 5equiv.) fraîchement distillé à l'aide d'une ampoule d'addition à pression constante. On porte à reflux pendant 2h. On refroidit, puis on ajoute le CHCl₃. Le solvant est chassé sous pression réduite. On ajoute le CHCl₃, on lave avec une solution de carbonate de sodium à 10%, on sèche avec CaSO₄ et on chasse le solvant à pression réduite.

↳ Obtention de 2,45 g (89%) du composé **64**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 233.65 valeur calculée pour C₁₁H₁₁ClO₂Na,
233.5 valeur trouvée.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1727.62, 757.03, 805.00.

Benzoate de (*E*, *R*)-méthyl 3-(2-méthyl-4-phénylbut-3-énoyle) (65)



$C_{19}H_{18}O_3$
MM = 294.34 g.mol⁻¹

Pâteux noir

$[\alpha]_D = -5.3^\circ (c 0.1 \text{ AcOEt})$.

Synthèse à partir des composés 55 et 58 :

Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit du Mg (6,53 g, 25,75 mmol, 1.1 equiv.) avec un cristal de l'iode dans 50 ml de THF. La solution est refroidie à -5°C. On ajoute goutte à goutte le (*E*)-1-(3-bromobut-1-enyl)benzène **58** (5,43g, 25,75 mmol, 1.5equiv.) dans 30ml de THF pendant 1h. Ensuite, on refroidit le mélange dans un bain constitué par un mélange d'azote liquide-acétone à -96°C, puis on ajoute goutte à goutte, à -96°C, (5g, 25,75

mmol, 1equiv.) d'isophtalate de diméthyle **55** dans dans 10ml de THF avec une forte agitation pendant 1h. Ensuite, on laisse remonter la température puis on laisse agiter une nuit.

A la fin, on hydrolyse avec une solution aqueuse de H₂SO₄ à 10%. On extrait 3 fois avec 30ml d'éther. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, l'eau, et une solution saturée de NaCl. On sèche sur CaSO₄ et on chasse le solvant à pression réduite.

5,83g (77%) du composé **65** sont obtenus après purification par chromatographie sur colonne sur gel de silice dans un mélange hexane/Et₂O (20/1, v/v).

$[\alpha]_D = -5.3^\circ$ (c 0.1 AcOEt).

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 317,2 valeur calculée pour C₁₉H₁₈O₃Na,
317,1 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.24 (d, ³J=7.8 Hz, 3H, Me), 3.90 (dq, ³J=7.2 Hz, 7.7 Hz, 1H, CH-C=O), 3.95 (s, 3H, CO₂Me), 6.37 (dd, ³J = 8.1 Hz, 15.2 Hz, 1H, CH=), 6.86 (d, ³J=15.2 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.21-7.56 (m, 6H, Ph), 8.23 (dd, ³J = 7,6 Hz, 7.8 Hz, 2H, Ph), 8.74 (ddd, ⁵J = 2.0 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 2.4 Hz, 1H, Ph).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 17.04, 47.29, 51.48, 115.32, 126.38 (2c), 128.16, 128.64, 128.74 (2C), 128.87, 130.46, 131.10, 133.1, 133.39, 134.35, 136.35, 167.30, 193.91.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 1726.33, 1769.98, 1685.35, 3422.01, 1246.19, 730.61, 699.32

Synthèse à partir des composés **64** et **56** :

Sous courant d'azote et dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit de benzoate de méthyle **56** (4,19 g, 30,82mmol), le chlorure de (E)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enoyle **64** (3 g, 15,41mmol), l'iode (9,91g, 15,41 mmol) et 0,577 mL DMF. On chauffe à reflux (140°C), avec une forte agitation pendant 12h. Le mélange est refroidi puis traité avec une solution saturée de NaHCO₃ et extrait à l'AcOEt. La couche organique est lavée avec du thiosulfate de sodium, puis avec une solution saturée de NaCl, et séchée sur MgSO₄. On filtre et on chasse le solvant sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange hexane/Et₂O (20/1, v/v), 3,8g (84%) du composé **65** sont obtenus.

$[\alpha]_D = -5.3$ (c 0.1 AcOEt).

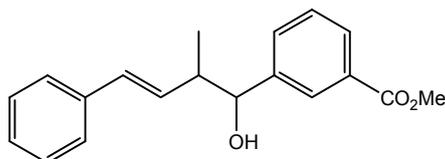
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 317,2 valeur calculée pour C₁₉H₁₈O₃Na,
317,1 valeur trouvée.

RMN-¹H (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.24 (d, ³J=7.8 Hz, 3H, Me), 3.90 (dq, ³J=7.2 Hz, 7.7 Hz, 1H, CH-C=O), 3.95 (s, 3H, CO₂Me), 6.37 (dd, ³J = 8.1 Hz, 15.2 Hz, 1H, CH=), 6.86 (d, ³J=15.2 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.21-7.56 (m, 6H, Ph), 8.23 (dd, ³J = 7,6 Hz, 7.8 Hz, 2H, Ph), 8.74 (ddd, ⁵J = 2.0 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 2.4 Hz, 1H, Ph).

^{13}C -RMN (75,5 MHz, CDCl_3) : 17.04, 47.29, 51.48, 115.32, 126.38 (2c), 128.16, 128.64, 128.74 (2C), 128.87, 130.46, 131.10, 133.1, 133.39, 134.35, 136.35, 167.30, 193.91.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1721.52, 1775.20, 1640.53, 1279.28, 3423.98, 713.40, 700.13

Rac Benzoate de $-(E)$ -Méthyl 3-((2*R*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyle) (66)



$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_3$
MM = 296.36 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Solide marron clair.

Pf= 105°C

$[\alpha]_{\text{D}} = -5.3$ (c 0.1 AcOEt).

Synthèse à partir du composé 65 :

Installer sur un bain d'eau un ballon de 100ml muni d'une agitation magnétique. On introduit le (*E*, *R*)-méthyl 3-(2-méthyl-4-phénylbut-3-ényle) **65** (5g, 16,98mmol, 1 equiv.) dans 30 ml de DCM. La solution obtenue est refroidie à 0°C. On ajoute le NaBH_4 (1,92g, 50,94mmol, 3 equiv.) par portions en maintenant la température en dessous de 10°C. On laisse remonter à température ambiante, puis on continue l'agitation pendant 12h.

On ajoute de l'eau acidulée en agitant pour détruire l'excès de NaBH_4 . On sépare la phase organique et on extrait la phase aqueuse 2 fois avec 30 ml de DCM. On réunit les phases organiques. On les lave avec une solution saturée de NaHCO_3 , puis avec une solution saturée de NaCl . On sèche avec MgSO_4 , on évapore le solvant sous pression réduite. Après recristallisation dans le méthanol, 4,17 g (83%) du composé **66** sont obtenus.

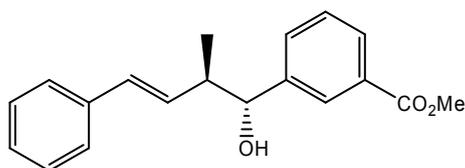
ES-LRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 319,35 valeur calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$,
319,3 valeur trouvée.

^1H -RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl_3) : 1.17 (d, 6.8 Hz, 3H, Me), 1.70 (brd, 3.5 Hz, 1H, OH), 2.27-2.51 (m, 1H, CH-CHOH), 3.88 (s, 3H, CO_2Me), 4.12 (d, 7.7 Hz, 1H, CH-OH), 6.39 (dd, $^3J = 8.8$ Hz, 16.0 Hz, 1H, CH=), 6.87 (d, $^3J = 16$ Hz, 1H, Ph-CH=), 7.19-7.49 (m, 6H, Ph), 8.16 (dd, $^3J = 7.7$ Hz, 7.8 Hz, 2H, Ph), 8.63 (ddd, $^5J = 2.0$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 2.4 Hz, 1H).

^{13}C -RMN (75,5 MHz, CDCl_3) : 15.62, 42.12, 51.53, 82.16, 125.12, 127.6, 127.93, 128.40 (2C), 128.62(2C), 128.76, 129.22, 130.3, 132.31, 132.44, 136.50, 138.38, 166.11.

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1724.22, 3438.86, 1609.32, 1635.99

Benzoate de 3-((2*R,E*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)méthyle (67a)



$C_{19}H_{20}O_3$
MM = 296.36 g.mol⁻¹

Solide marron clair.

Pf= 102°C

$[\alpha]_D = -7.3$ (c 0.1 AcOEt).

Synthèse à partir des composés 65 :

Installer sur un bain d'eau un ballon de 100ml muni d'une agitation magnétique et y introduire le benzoate de (*E,R*)-méthyl 3-(2-méthyl-4-phénylbut-3-enoyle) **65** (5g, (16,98mmol, 1 equiv.) dans 100 ml de DCM. La solution obtenue est refroidie à 0°C. On ajoute 25ml d'AcOH. Par la suite, du NaBH₄ (1,92g ; 50,94mmol, 3 equiv.) est ajouté par portions en maintenant la température en dessous de 10°C. On laisse remonter à température ambiante, puis on continue l'agitation pendant toute une nuit.

On ajoute l'eau acidulée en agitant pour détruire l'excès de NaBH₄. On sépare la phase organique et on extrait la phase aqueuse 2 fois avec 30 ml de DCM. On réunit les phases organiques qu'on lave avec une solution saturée de NaHCO₃, puis avec une solution saturée de NaCl. On sèche sur MgSO₄, on évapore le solvant sous pression réduite.

On ajoute 250 ml de dichlorométhane et la solution obtenue est refroidie à 0°C. On ajoute 25ml d'AcOH. Du NaBH₄ (1,52 g ; 40,25mmol, 1,0 equiv) est ensuite ajouté par portions en maintenant la température en dessous de 10°C. On laisse remonter à température ambiante, puis on continue l'agitation pendant 4h. La réaction est arrêtée par addition d'une solution de KHSO₄ à 10%. Après une recrystallisation dans le méthanol, 4,47 g (89%) du composé **67** sont obtenus.

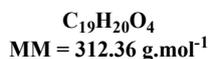
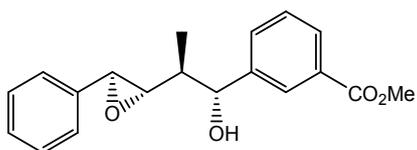
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 319,35 valeur calculée pour C₁₉H₂₀O₃Na,
319,3 valeur trouvée.

¹H-RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.17 (d, ³J = 6.9 Hz, 3H, Me), 1.70 (brd, ³J = 3.5 Hz, 1H, O-H), 2.28-2.43 (m, 1H, CH-CHOH), 3.88 (s, 3H, CO₂Me), 4.12 (d, ³J = 7.7 Hz, 1H, CH-OH), 6.37 (dd, ³J = 8.8 Hz, 16.0 Hz, 1H, CH=), 6.87 (d, ³J = 16 Hz, 1H, Ph-CH=), 7.21-7.49 (m, 6H, Ph), 8.15 (dd, ³J = 7.7 Hz, 7.8 Hz, 1H, Ph), 8.61 (ddd, ⁵J = 2.0 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 2.2 Hz, 1H, Ph).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 15.63, 42.1, 51.50, 82.12, 125.08, 127.56, 127.91, 128.39 (2C), 128.66 (2C), 128.74, 129.18, 130.37, 132.41, 132.44, 136.51, 138.34, 166.11.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1724.22, 3438.86, 1609.32, 1635.99

Benzoate de méthyl 3-((1*R*,2*S*)-1-hydroxy-2-(3-phényloxiran-2-yl)propyle) (68)



Pâteux noir.

$[\alpha]_D^{20} = +0.7^\circ$ (c 0.1 AcOEt).

Synthèse à partir des composés 67a :

Installer sur un bain d'eau un tricol de 250 ml muni d'une agitation magnétique et d'un réfrigérant à reflux, un thermomètre ainsi que d'une garde à CaCl₂. Introduire le mélange des diastéréoisomères composé majoritairement du benzoate de 3-(2*R*,*E*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)méthyle **67a** (4g, 13.49mmol), et une solution à 70% d'acide méta-chloroperoxybenzoïque (1,5équiv) (5g, 20,24mmol) dans 50 ml de dichlorométhane. Le mélange obtenu est chauffé au reflux sous agitation pendant 20h puis refroidi. On lave avec une solution saturée de NaCl. On sèche sur MgSO₄, on évapore le solvant sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un mélange hexane/acétone (3/2, v/v), 3,75g (89%) du composé **68** sont obtenus.

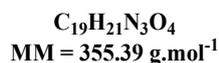
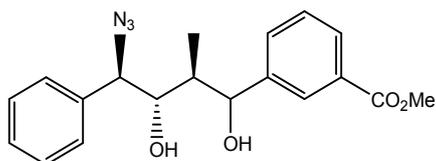
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 335,35 valeur calculée pour C₁₉H₂₀O₄Na,
335,3 valeur trouvée.

¹H-RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.04 (d, ³J = 7.0 Hz, 3H, Me), 1.73 (brd, ³J = 3.6 Hz, 1H, O-H), 2.38-2.49 (m, 1H, CH-CHOH), 2.88 (dd, ³J = 7.0 Hz, 7.1 Hz, 1H, CH-epoxide), 3.81 (d, ³J = 7.0 Hz, 1H, CH-epoxide), 3.88 (s, 3H, CO₂Me), 4.48 (d, ³J = 7.9 Hz, 1H, CH-OH), 7.20-7.49 (m, 6H, Ph), 8.17 (dd, ³J = 7.6 Hz, 7.8 Hz, 2H, Ph), 8.63 (ddd, ⁵J = 2.0 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 2.3 Hz, 1H).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 12.32, 37.49, 51.48, 56.13, 58.39, 73.34, 125.90, 127.16, 128.16 (2C), 128.38, 128.64 (2C), 129.37, 129.85, 133.31, 138.91, 139.24, 165.81.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 1724.22, 3438.86, 1609.32, 1635.99.

Benzoate de méthyl 3-(*1R,2S*)-4-azido-1,3-dihydroxy-2-méthyl-4-phénylbutyle (69)



Pâteux noir

$[\alpha]_D^{20} = +0.8^\circ$ (c 0.1 AcOEt).

Synthèse à partir des composés 68 :

Une solution de benzoate de méthyl 3-(*1R,2S*)-1-hydroxy-2-(3-phényloxiran-2-yl)propyle **68** (3g, 9,6mmol) dans l'éthanol (20ml) et l'eau (18ml) est traitée avec le chlorure d'ammonium (0,55g, 10,5mmol) et l'azide de sodium (0,68g, 10,5mmol). Le mélange obtenu est chauffé au reflux entre 70-75°C et sous agitation pendant 18h. Après refroidissement, on traite le mélange réactionnel avec une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 5%. On évapore l'éthanol sous pression réduite. On extrait avec l'acétate d'éthyle et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl, puis séchée sur MgSO₄. On évapore le solvant sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice dans un mélange hexane/AcOEt (7/3, v/v), 2,12 g (57%) du composé **69** sont obtenus

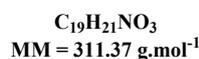
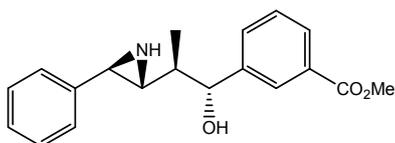
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 378,38 valeur calculée pour C₁₉H₂₁N₃O₄Na,
378,4 valeur trouvée.

¹H-RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 0.96 (d, ³J = 7.1 Hz, 3H, Me), 1.53 (brd, ³J = 3.6 Hz, 1H, OH), 2.19-2.32 (m, 1H, CH-Me), 2.91 (d, ³J = 6.9 Hz, 1H, CH-N₃), 3.65 (dd, ³J = 6.9 Hz, 7.1 Hz, 1H, N₃CH-CH-CHOH), 3.88 (s, 3H, CO₂Me), 4.44 (d, ³J = 7.8 Hz, 1H, CH-OH), 4.82 (brd, ³J = 3.4 Hz, 1H, N₃CH-CHOH), 7.20-7.54 (m, 6H, Ph), 8.17 (dd, ³J = 7.7 Hz, 7.8 Hz, 1H, Ph), 8.63 (ddd, ⁵J = 2.1 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 2.4 Hz, 1H, Ph).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 10.09, 39.21, 51.64, 62.13, 71.66, 75.14, 125.69, 127.34, 128.17 (2C), 182.48, 128.60 (2C), 129.30, 129.74, 132.35, 139.11, 140.23, 166.12.

IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3387.31 (O-H), 1177.09 (C-O).

Benzoate de méthyl 3-((*1R,2R*)-1-hydroxy-2-552R,3R)-3-phénylaziridin-2-yl)propyle (70)



Huile marron.

$[\alpha]_D^{20} = -1.9^\circ$ (c 0.1 AcOEt).

Synthèse à partir du composé 69 :

Dans un bicol et sous courant d'azote, on introduit le benzoate de méthyl 3-(1*R*,2*S*)-4-azido-1,3-dihydroxy-2-méthyl-4-phénylbutyle **69** (2g, 5,65mmol) dans le THF anhydre (40ml). On lui ajoute goutte à goutte une solution de triphénylphosphine (1,5g, 5,70mmol) dans le THF anhydre. Le mélange obtenu est chauffé au reflux à 70-75°C et sous agitation pendant 16h. On évapore le solvant sous pression réduite. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec come éluant un mélange CH₂Cl₂/MeOH (6/4, v/v), 1,57 g (90%) du composé **70** sont obtenus.

ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 334,36 valeur calculée pour C₁₉H₂₁NNaO₃,
334,3 valeur trouvée.

¹H-RMN (δ : ppm, J : Hz, CDCl₃) : 1.02 (d, ³J = 7.0 Hz, 3H, Me), 1.37 (s, 1H, N-H), 1.58 (brd, ³J = 3.9 Hz, 1H, OH), 1.99 (dd, ³J = 6.9 Hz, 7.0 Hz, 1H, CH-aziridine), 2.24-2.45 (m, 1H, Me-CH-CHOH), 2.90 (d, ³J = 7.0 Hz, 1H, CH-aziridine), 3.89 (s, 3H, CO₂Me), 4.47 (d, ³J = 7.8 Hz, 1H, CH-OH), 7.23-7.51 (m, 6H, Ph), 8.18 (dd, ³J = 7.7 Hz, 7.9 Hz, 2H, Ph), 8.64 (ddd, ⁵J = 2.1 Hz, ⁵J = 2.3 Hz, 2.4 Hz, 1H, Ph).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : 13.77, 34.46, 39.54, 45.64, 51.54, 72.35, 125.87, 127.14, 128.12 (2C), 182.32, 128.59 (2C), 129.18, 129.87, 133.16, 138.89, 144.43, 165.86.

IR v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3362.53 (N-H).

CHAPITRE IV

SYNTHESE DES ANALOGUES GLUCIDIQUES DES FRAGMENTS DE LA CRYPTOPHYCINE

1. Introduction

Les glucides, les lipides et les protéines comptent parmi les biomolécules qui remplissent des fonctions majeures dans les organismes vivants. On les trouve soit sous forme individuelle, soit sous forme d'associations diverses, souvent comme des hybrides. Les hydrates de carbone servent souvent d'antennes de reconnaissance moléculaire à la surface des cellules.

Par ailleurs, il a été démontré que les sucres jouent un rôle important dans les agents responsables de maladies infectieuses bactériennes et que les polysaccharides médient les interactions hôte-pathogènes¹⁹².

En outre, les glucides ou leurs squelettes sont présents dans de nombreux composés bioactifs¹⁹³, et ils constituent la base de conception de nombreuses stratégies thérapeutiques et diagnostiques, ce qui fait des hybrides glycosylés des cibles synthétiques parmi les plus prometteurs, quoiqu'assez difficiles à mettre au point.

Signalons également que les sucres sont utilisés dans le développement des vaccins¹⁹⁴ et des sondes biologiques¹⁹⁵. Un groupe de chercheurs a également montré que de nombreuses protéines dans le glycome humain sont impliquées dans la liaison aux hydrates de carbone et la reconnaissance des sucres modifiés¹⁹⁶. Par exemple, les glycosaminoglycanes sulfatés se retrouvent sur la surface des cellules et dans la matrice extracellulaire où ils médient les interactions au sein de cette superstructure et lui fournissent un soutien structurel¹⁹⁸. Dans le même temps, l'acylation des glycanes conduit à des inhibiteurs hautement spécifiques des transférases et les produits d'acylation peuvent jouer différents rôles clés en immunologie humaine, en pathogenèse et dans la progression du cancer.

En dépit de ces effets indésirables, l'acylation avec des anti ferulates peut contribuer, au moins dans le règne végétal, à la défense de la plante contre les insectes et les maladies¹⁹⁹. C'est pourquoi, nous avons pensé que la présence d'un fragment sucre dans une cible pourrait apporter une contribution positive aux propriétés de reconnaissance moléculaire supplémentaires de ce composé. En effet, nous supposons que l'incorporation de ces unités dans des composés thérapeutiques connus ou potentiels pourrait ouvrir la voie à la mise au point de nouveaux médicaments et / ou de nouveaux outils de diagnostic médical.

2. Stratégies de synthèse

En nous basant sur les travaux du groupe de Vinod F. Patel, ceux du groupe de Murakami et ainsi que sur d'autres travaux, nous nous sommes proposé de synthétiser des dérivés glucidiques de fragments (**B-C-D**), (**B-C**), **D**, et **B** de la cryptophycine (figure 44).

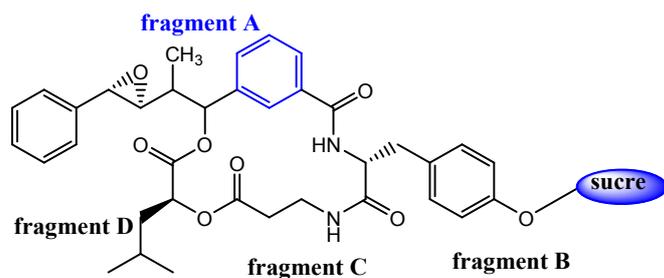


Figure 44

Premièrement, nous avons commencé par préparer des analogues glucidiques du fragment B, conçus à partir de l'analyse rétrosynthétique indiquée dans le schéma 45 suivant.

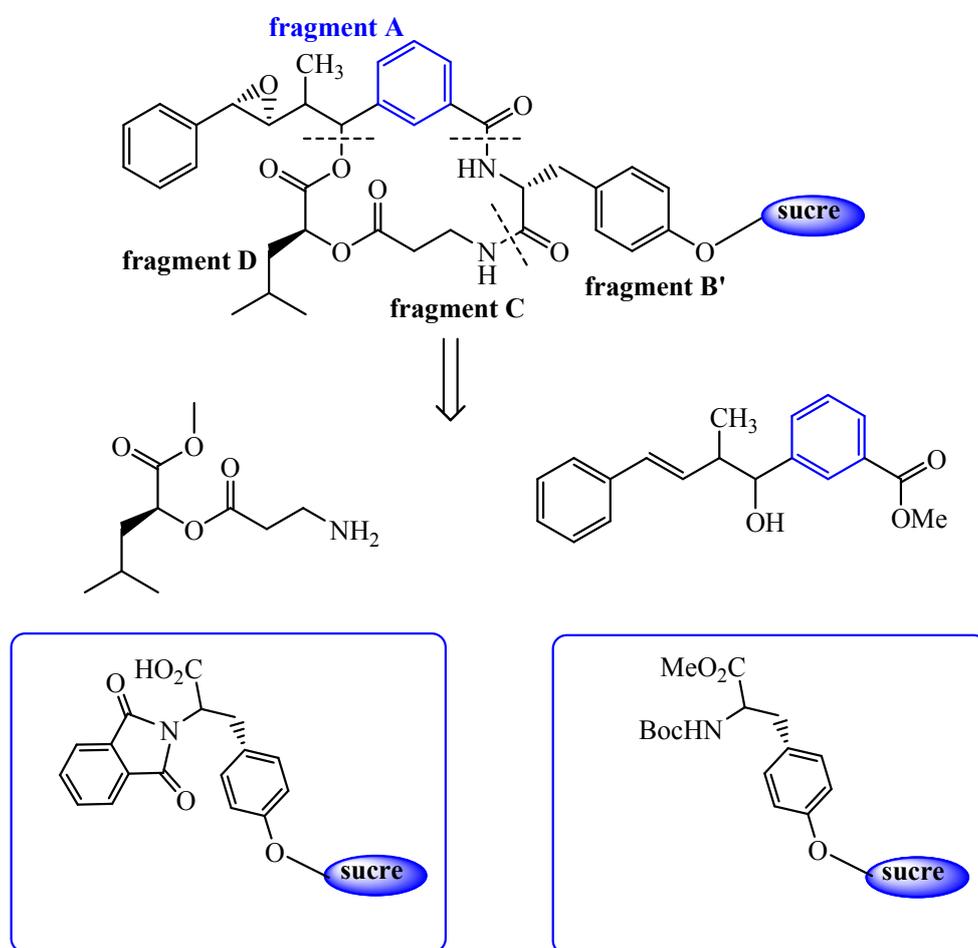


Schéma 45 : analyse rétrosynthétique

Par la suite, nous avons conçu la synthèse des analogues glucidiques du fragment (B-C) à partir de l'analyse rétrosynthétique illustrée dans le schéma 46.

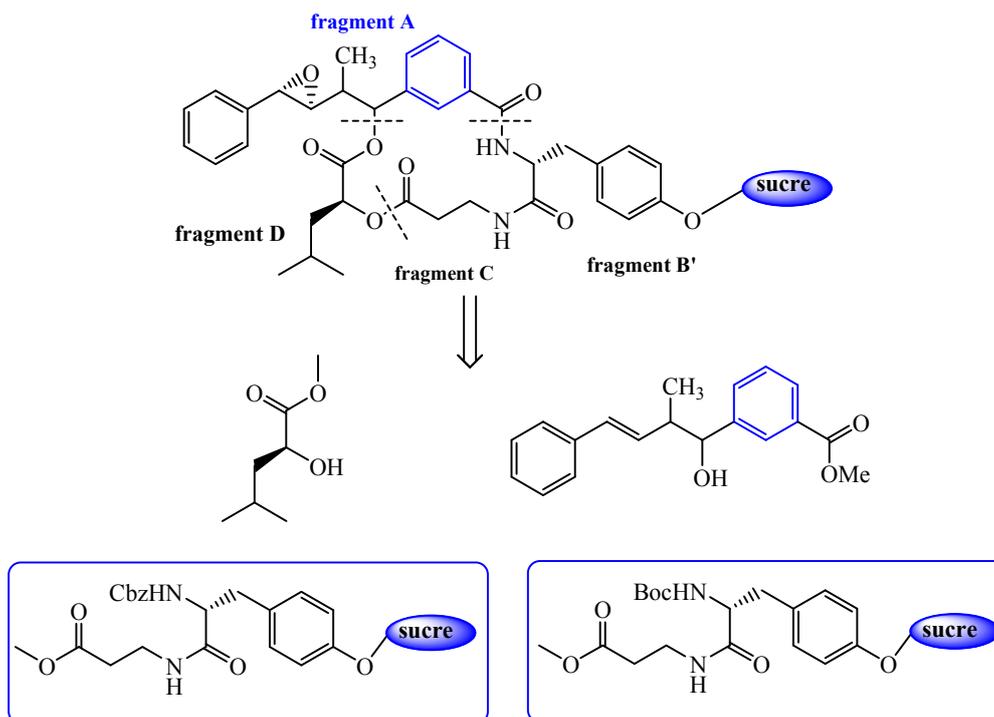


Schéma 46 : analyse rétrosynthétique

L'étape suivante a consisté à préparer des analogues glucidiques du fragment (B-C-D) sur la base de la rétrosynthèse décrite dans le schéma 47.

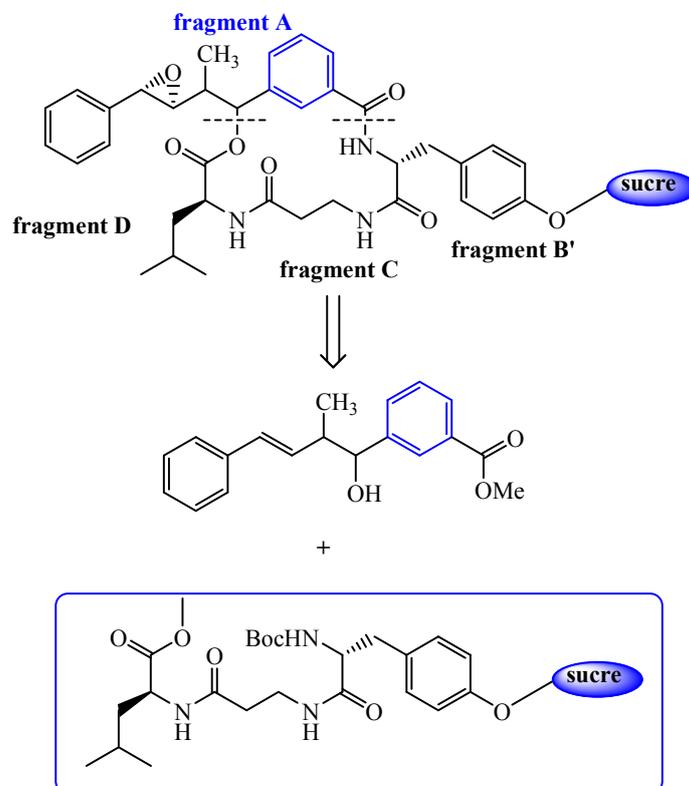


Schéma 47 : analyse rétrosynthétique

Enfin, l'objectif final consistait à coupler les derniers fragments décrits ci-dessus avec le fragment A de la cryptophycine, afin d'aboutir à une nouvelle cryptophycine portant le motif glucose. Cette dernière approche a été réalisée sur la base du schéma de rétrosynthèse 48.

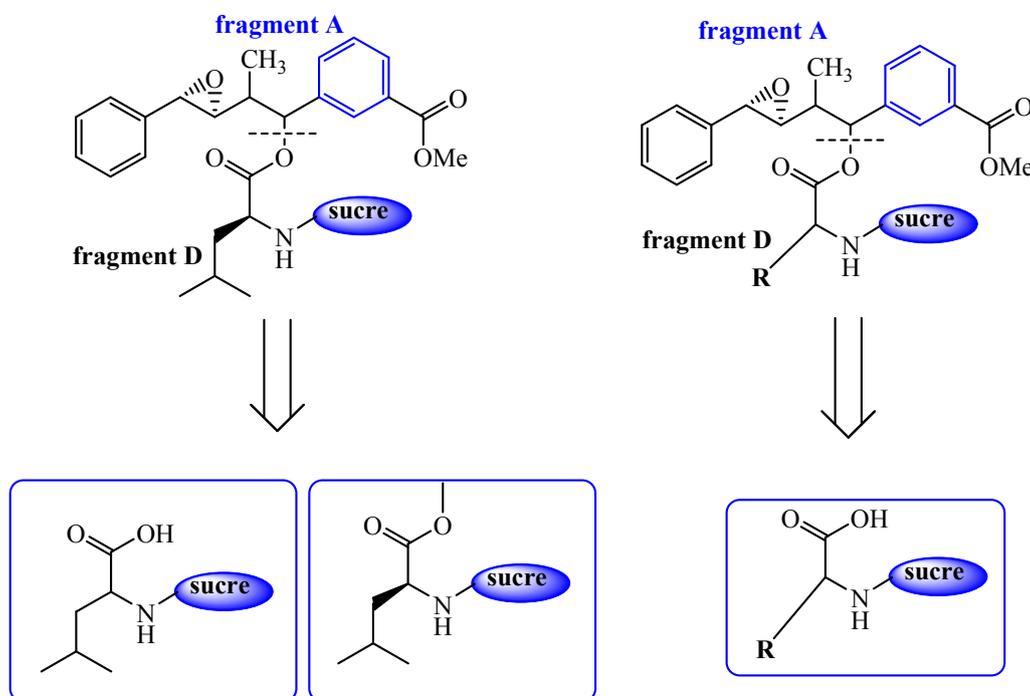


Schéma 48 : analyse rétrosynthétique

3. Synthèse de l'anhydride glucuronique (86) et l'anhydride galacturonique (87).

Concrètement, nous avons procédé de la manière suivante : l'action de l'anhydride acétique en présence d'iode sur l'acide glucuronique permet d'arriver au dérivé **86** avec un rendement de 89% après une recristallisation dans le cyclohexane (schéma 56). Il s'agit d'une réaction classique d'acétylation des alcools et des acides carboxyliques avec l'anhydride acétique.

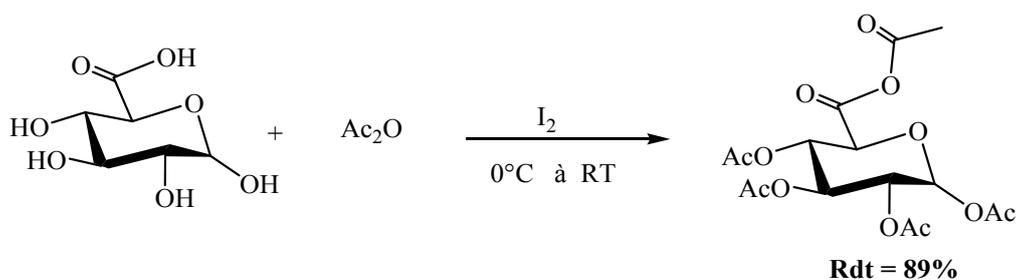


Schéma 56

De même, l'acétylation de l'acide galacturonique en présence de l'iode conduit à l'anhydride galacturonique **87** acétylé correspondant avec un rendement de 89% (schéma 57).

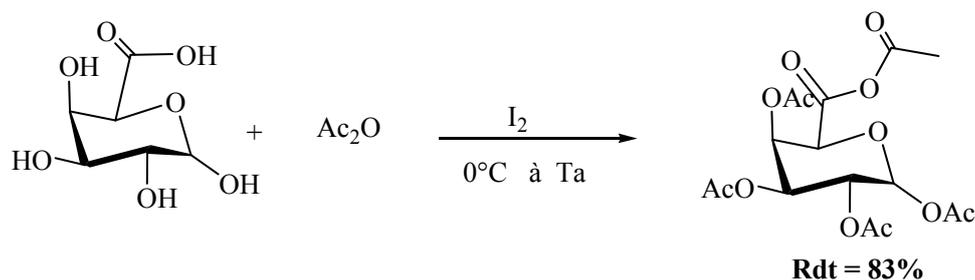


Schéma 57

4. Synthèse de 1,6-glucofuranuronolactone **88**.

Pour effectuer la synthèse de **88**, nous avons suivi deux approches synthétiques : la première²⁰⁰, décrite dans le schéma 58, consiste à préparer la lactone **88** à partir de l'acide gluconique. La réaction se déroule pendant 10 min dans un synthétiseur à micro ondes (mode openvise) et à différentes températures.

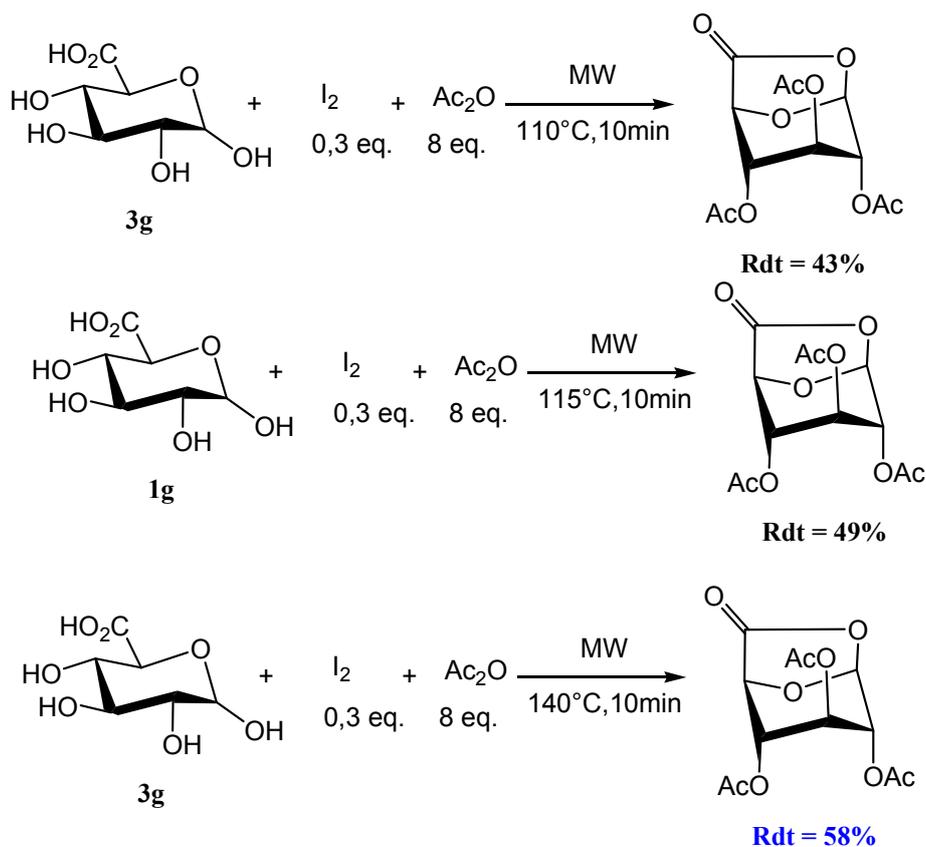


Schéma 58

Le facteur déterminant semble être la température de réaction et le meilleur rendement est obtenu à 140°C (58%) et le produit est purifié par recristallisation dans l'éthanol.

La deuxième approche, décrite dans le schéma 59, permet d'obtenir **88** en deux étapes. En premier lieu, l'acétylation de l'acide glucuronique dans les mêmes conditions décrites ci-dessus conduit à l'anhydride glucuronique **86** avec un rendement de 89% après recristallisation dans le cyclohexane. Ensuite, le traitement de **86** avec le triflate de cérium $\text{Ce}(\text{OTf})_3$ dans l'acétate d'éthyle et après recristallisation dans l'éthanol donne le produit désiré avec un rendement de 86%.

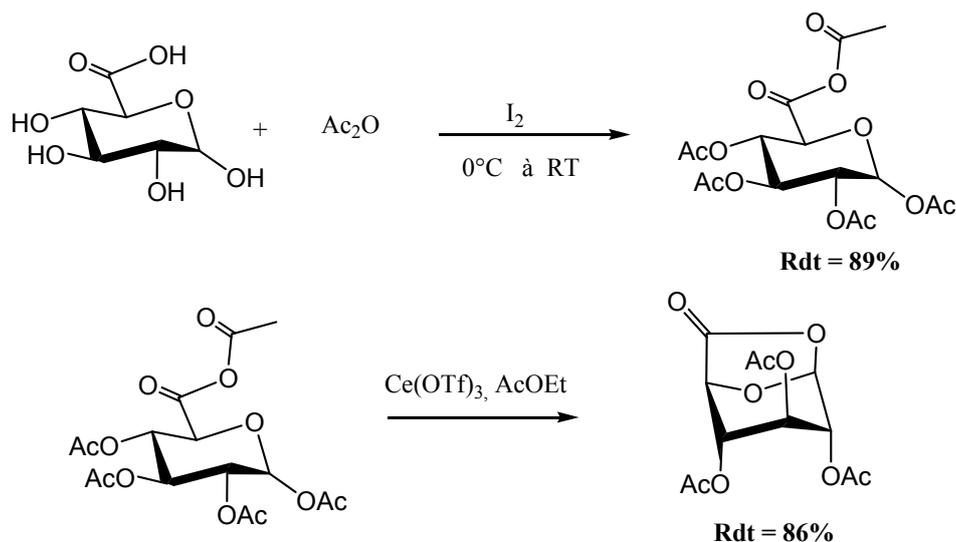


Schéma 59

De cette manière, le 1,6-glucopyranuronolactone **88** est obtenu avec un rendement global de 76.54% à partir de l'acide glucuronique.

5. Synthèse du (S)-2-(3-(tert-butoxycarbonyl)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle **80**.

Ce composé **80** est lui-même un analogue du fragment (B-C-D) et le précurseur des analogues glucidiques des fragments de la cryptophycine. Pour effectuer sa synthèse, nous avons d'abord procédé à sa décomposition rétrosynthétique comme montré ci-dessous dans le schéma 49.

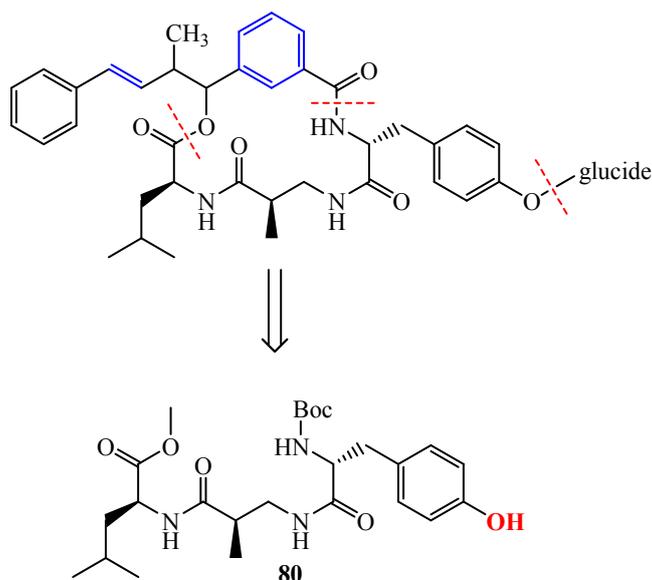


Schéma 60 : analyse rétrosynthétique

Dans un premier temps, le couplage de la Boc-β-alanine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-leucine **1** dans le dichlorométhane (DCM) en présence de DCC, d'hydroxybenzotriazole (HOBt) et de la triméthylamine donne le produit **15** avec un rendement de 88%. Le traitement de ce dernier par l'acide trifluoroacétique (TFA) dans le DCM permet de récupérer le produit **79** avec un rendement quantitatif. Ensuite, le couplage de ce dernier avec la Boc-L-tyrosine dans le DCM en présence du DCC et de HOBt conduit au produit **80** avec un rendement de 85% après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'éluion est faite avec un mélange DCM -méthanol (98-02 à 9-1). Le produit **80** est obtenu avec un rendement global de 75% à partir de la Boc-β-alanine (schéma 61).

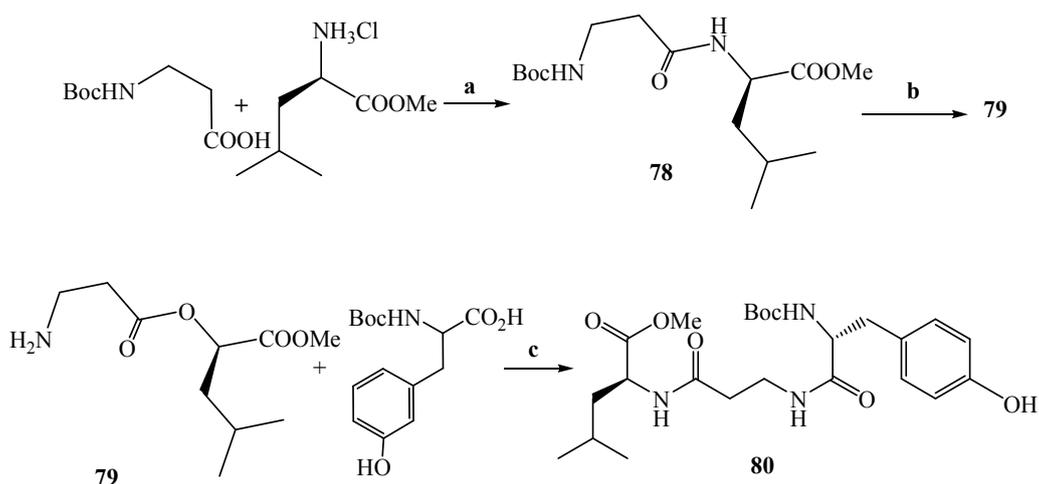


Schéma 61: (a) DCC, TEA, HOBt, CH₂Cl₂, TA, 88%; (b) TFA, CH₂Cl₂, TA, quantitatif; (c) DCC, TEA, HOBt, CH₂Cl₂, 85%.

6. Synthèse de 3-(2-(tert-butoxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propionate de méthyle **77**.

Le couplage de la Boc-L-tyrosine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la β -alanine dans les mêmes conditions de couplage décrites pour le produit précédent conduit à **77** avec un rendement de 92% (schéma 62).

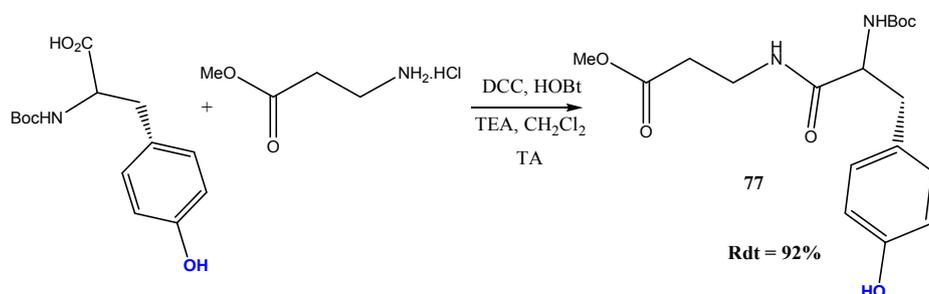


Schéma 62

7. Synthèse de 3-(2-(benzyloxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propionate de méthyle **81**.

Les mêmes conditions opératoires sont appliquées pour la synthèse du dérivé carbonylbenzyloxy (Cbz) de **81** (92%), (schéma 63). Dans ce cas, on utilise la *N*-Cbz-L-tyrosine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la β -alanine

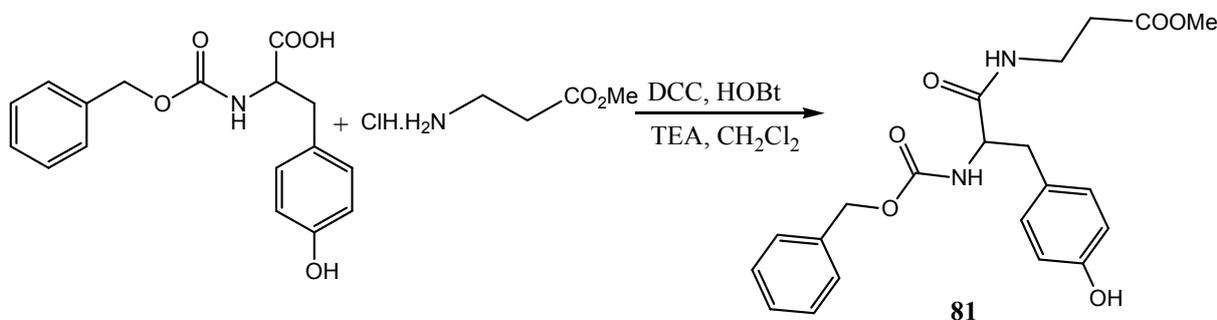


Schéma 62

Par la suite, un traitement de **81** avec une solution aqueuse 0,2M de LiOH dans un mélange THF/eau (2/1) permet d'arriver à l'acide correspondant avec un rendement de 90%. Enfin, le couplage de ce dernier avec le chlorhydrate de 2-amino-4-méthylpentanoate de méthyle **1** dans les mêmes conditions de couplage déjà décrites donne le 2-(3-(2-(benzyloxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle avec un rendement de 90% après recristallisation dans l'éther (schéma 64).

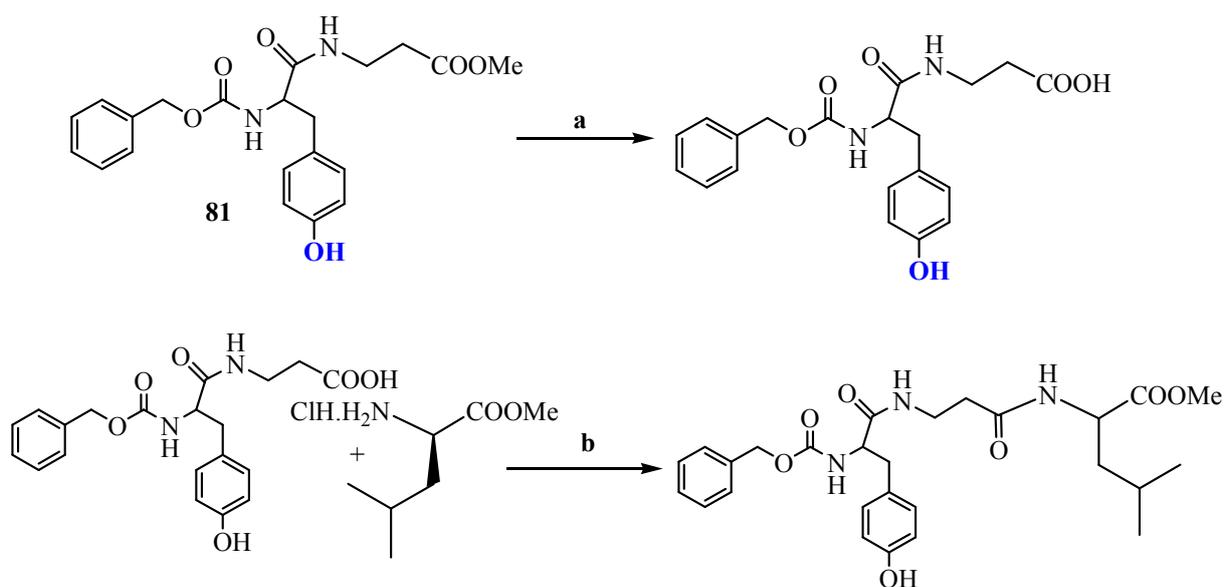


Schéma 64: (a) LiOH 0.2M, THF-H₂O, TA, 90%; (b) DCC, TEA, HOBt, CH₂Cl₂, 90%.

De cette manière, le 2-(3-(2-(benzyloxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle **28** est obtenu avec un rendement global de 74.52% à partir de la *N*-CBz-*L*-tyrosine.

8. Synthèse des composés **89**, **90** et **91**.

Un premier essai de couplage de la 1,6-glucopyranuronolactone avec la *N*-phthalimido-*L*-tyrosine (fragment B de la cryptophycine) dans l'acétonitrile à température ambiante n'a pas donné les résultats escomptés (schéma 65).

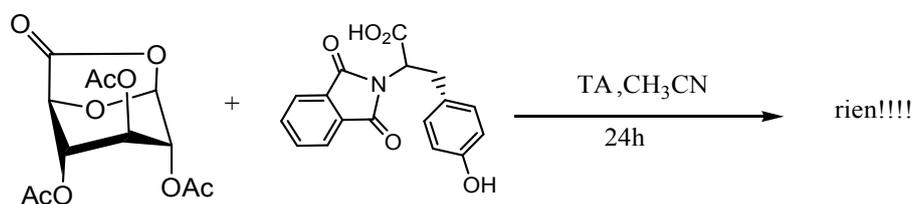


Schéma 65

Par conséquent, il a fallu penser à une approche différente, en activant le substrat de départ avec des acides de Lewis et en effectuant la réaction dans un synthétiseur à micro ondes, comme suggéré par la littérature (schéma 66).

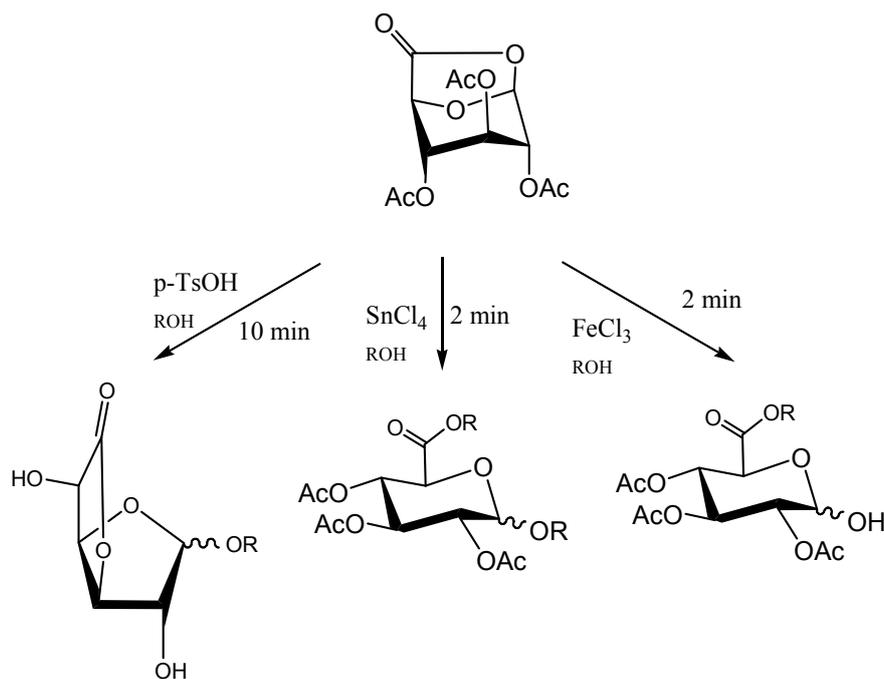


Schéma 66

Dans notre cas, l'activation de la 1,6-glucopyranuronolactone par FeCl_3 suivie de la conduite de la réaction dans l'acétonitrile sous microondes en présence de *N*-phthalimido-*L*-tyrosine conduit au composé **89** avec un rendement de 45% sous forme d'un solide blanc. La purification préalable avait été faite par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange AcOEt-cyclohexane (1:1) (schéma 67).

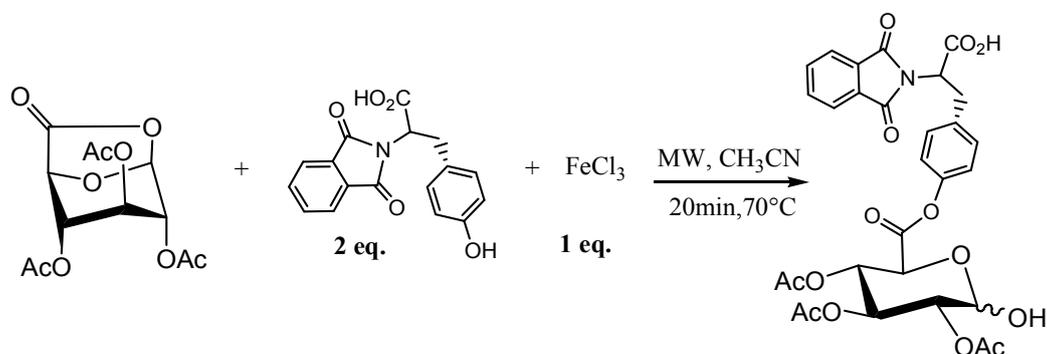


Schéma 67

De même, le traitement de l'anhydride glucuronique dans les mêmes conditions permet d'accéder au composé **90** avec un rendement de 42%, sous forme d'un solide blanc, après purification par chromatographie sur gel de silice, l'éluant étant fait avec un mélange AcOEt-cyclohexane (7:3) (schéma 68).

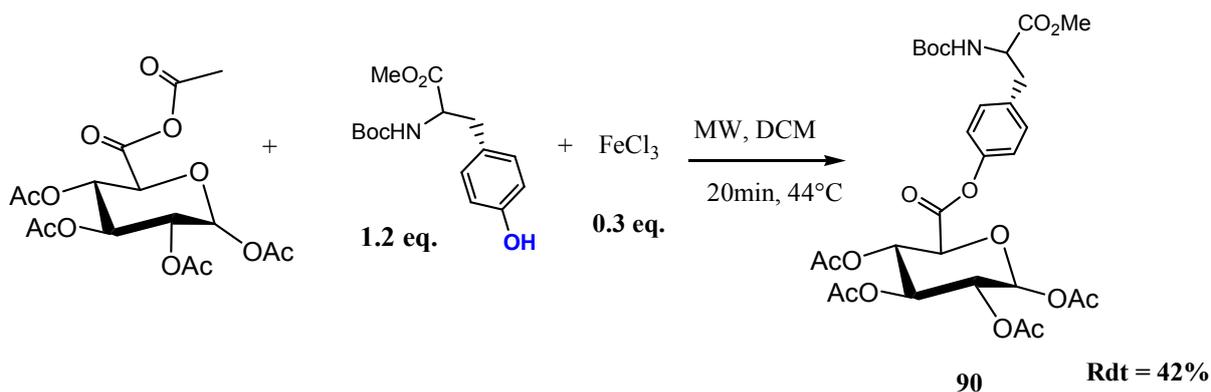


Schéma 68

Nous avons essayé d'obtenir le composé **90** à partir de l'anhydride glucuronique et sous différentes conditions opératoires. Le traitement avec la triméthylamine ou avec du bicarbonate de sodium provoque une désacétylation du produit de réaction (schéma 69).

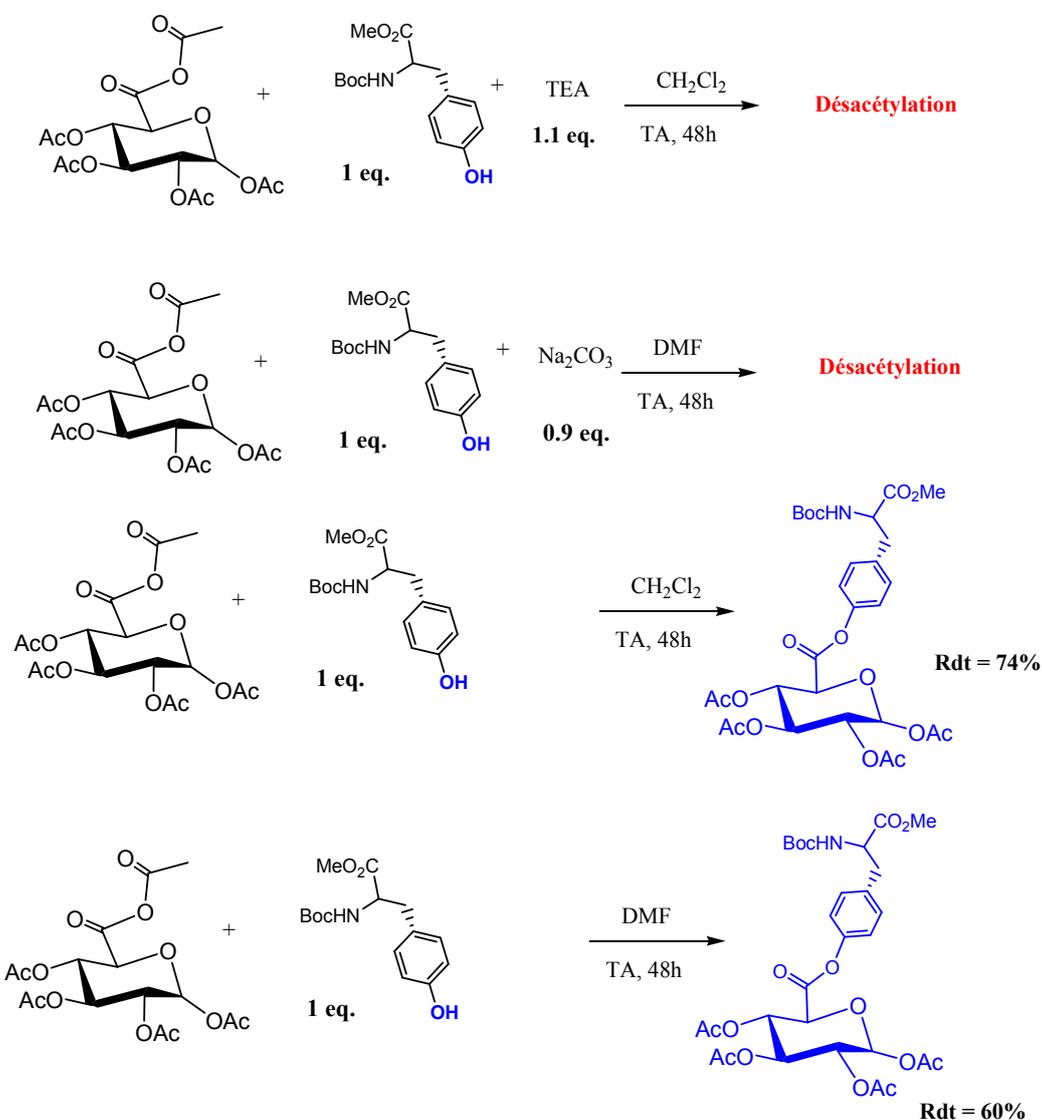


Schéma 69

Le meilleur rendement, 74%, à été obtenu dans le DCM à température ambiante, et 48h d'agitation.

La réaction de l'anhydride glucoronique dans avec le composé **80** dans le DCM conduit au composé **91** après purification sur une colonne de chromatographie de gel de silice éluee avec un mélange AcOEt-cyclohexane (1:1) avec un rendement de 57%, sous forme d'un solide blanc (schéma 70).

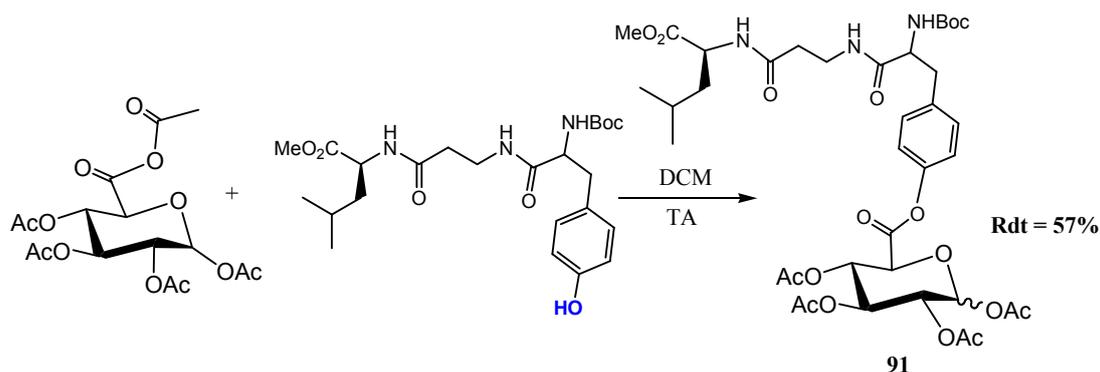


Schéma 70

9. Synthèse des composés 93, 94, 95, et 96.

Afin de coupler le fragment A de la cryptophycine avec des amino-acides, nous avons commencé par utiliser des racémiques pour maîtriser la réaction. Le schéma 71 résume toutes nos tentatives avec, à la fois, les conditions opératoires, et les rendements des différentes réactions.

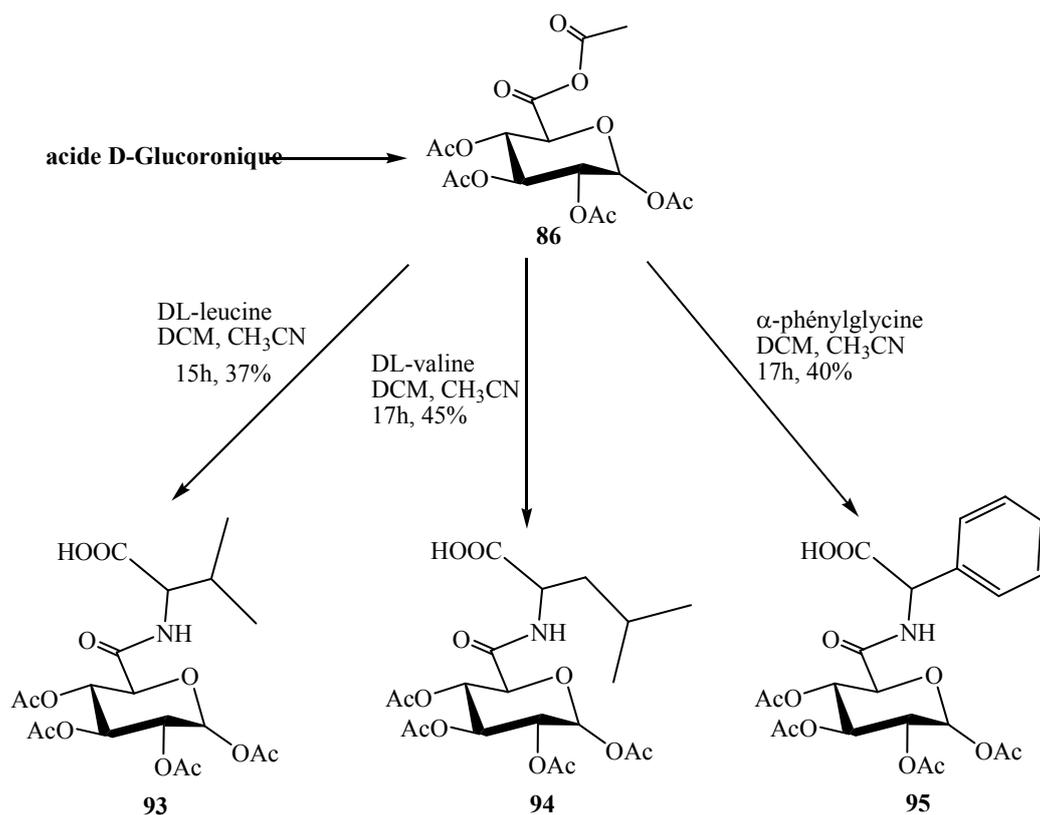


Schéma 71

Par la suite, nous sommes passés en série énantiopure afin d'obtenir un stéréoisomère final de configuration bien précise. Pour cela, nous avons couplé l'ester méthylique de la L-leucine (**fragment D**) de la cryptophycine avec l'anhydride glucuronique. La réaction se déroule durant 24h sous agitation dans le DCM. Après purification par chromatographie sur gel de silice avec élution par un mélange AcOEt- cyclohexane (1:1), on obtient le composé **96** avec un rendement de 70%, sous forme d'un solide blanc (schéma 72).

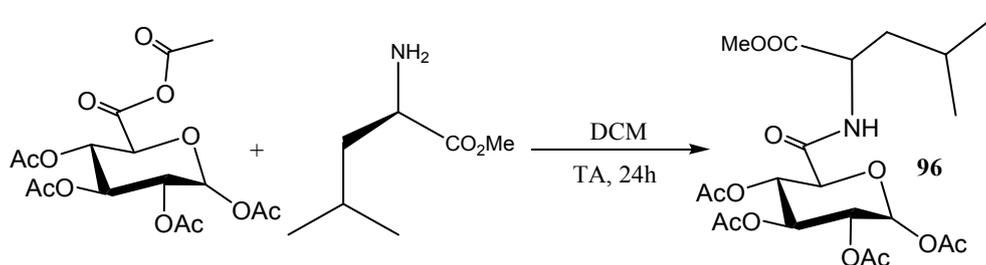


Schéma 72

10. Synthèse des composés 97, 98, 99, et 100.

La même stratégie, consistant à tester la réaction en série racémique a également été appliquée à l'anhydride galacturonique comme le résume le schéma 73.

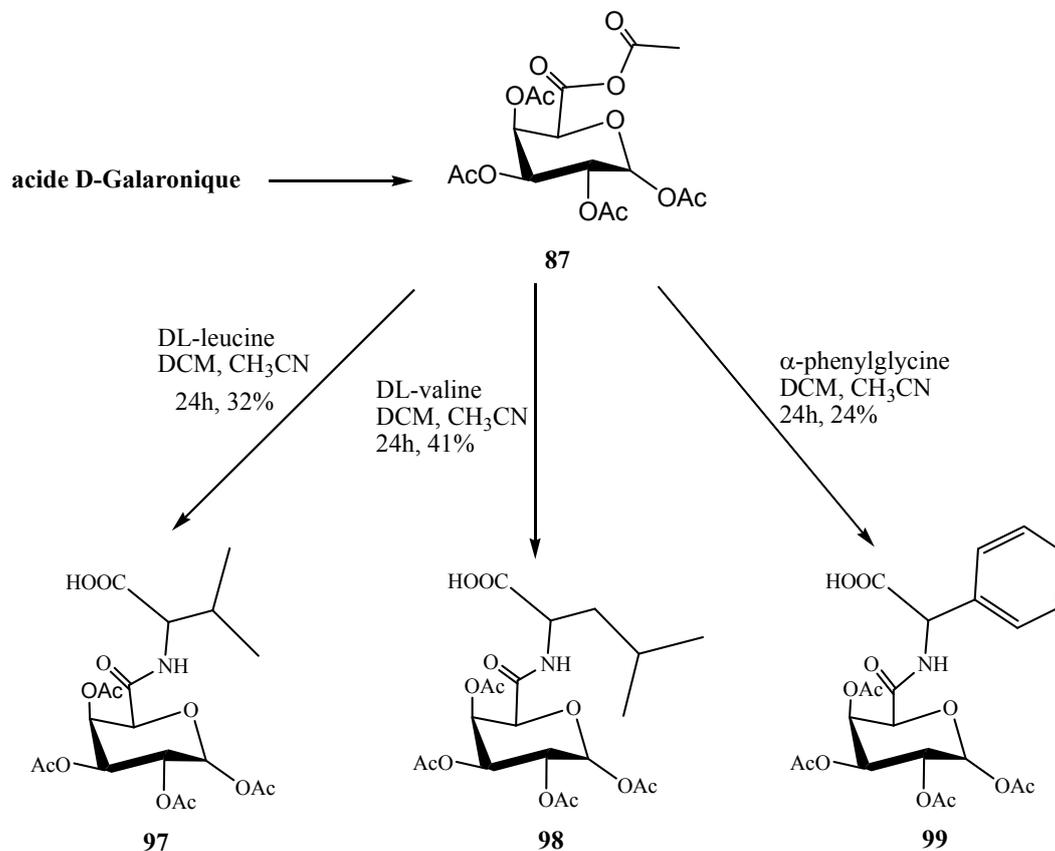


Schéma 73

A partir de là, nous sommes passés en série énantiopure, en utilisant l'anhydride galacturonique et l'ester méthylique de la L-leucine dans les mêmes conditions opératoires et la même élution comme précédemment. On obtient ainsi le composé 100 avec un rendement de 72%.

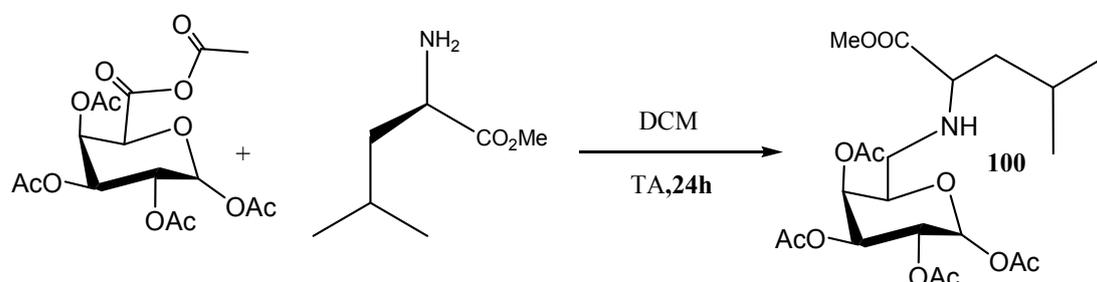


Schéma 74

11. Greffage des phénols selon Michaël

11.1-Synthèse du bromure de glycosyle

Le chemin décrit dans le schéma 75 permet d'obtenir le bromure de 2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose **76** et comporte deux étapes. L'acétylation du glucose en présence de pyridine donne le 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose **75** avec un rendement de 75% après une double recrystallisation dans l'éthanol absolu. Le traitement de **75** avec une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique à température ambiante donne le bromure de 2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose **76** avec un rendement de 86%. Le produit cristallise dans un mélange le hexane-éther éthylique 70:30. Dans son ensemble, cette réaction conduit à un rendement global de 73.5% à partir du glucose.

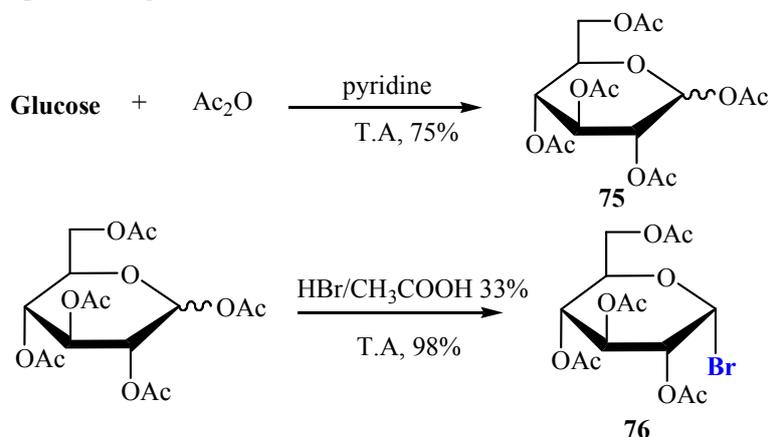


Schéma 75

11.2-Méthode générale de glucosylation.

Le procédé général applicable à la glucosylation des phénols se déroule de la manière suivante : une solution contenant le phénol et le NaOH est agitée pendant 1h et refroidie dans un bain de glace. A cette solution, on additionne goutte à goutte une solution de bromure de glycosyle dans l'acétone, sur une période de 30 min. L'agitation est maintenue à température ambiante sous argon à l'abri de la lumière jusqu'à disparition totale du produit de départ.

A la fin de la réaction, on évapore l'acétone et on extrait au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu restant est purifié par chromatographie sur gel de silice avec des mélanges hexane-AcOEt ou DCM-Acétone. Pour déprotéger la partie sucre du glucoside, on traite ce dernier dans le méthanol à 25°C par une quantité catalytique de méthanolate de sodium. A la fin de la réaction, on neutralise avec quelques gouttes d'acide acétique et on évapore le

méthanol puis on sépare le *O*-glycoside d'aryle par chromatographie liquide sur gel de silice avec comme éluant un mélange AcOEt-MeOH.

11.3-Synthèse des composés 82, 83, 84, et 85

Le greffage selon Michaël des composés **boc-L-tyr-OMe**, **77**, **81**, et **80** sur le bromure de 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-*D*-glucopyranose **76** dans un mélange acétone/eau, offre les composés **82**, **83**, **84**, et **85** avec des rendements respectifs de **62**, **79**, **77**, et **77** % (schéma 76).

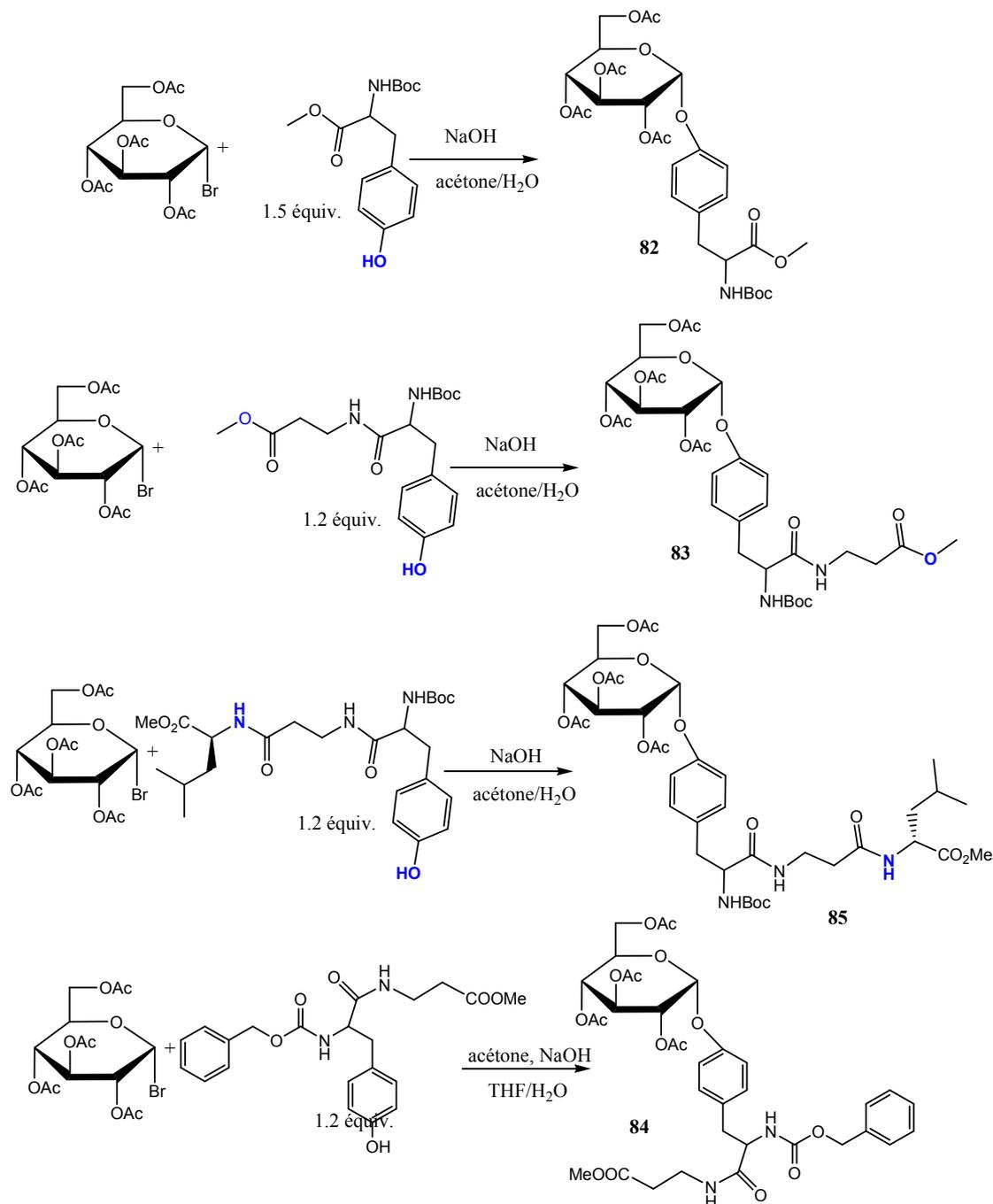


Schéma 76

On purifie le composé **82** par chromatographie sur gel de silice avec, comme éluant, un mélange AcOEt-cyclohexane (8 :2), et on termine par une cristallisation dans l'acétate d'éthyle. Les composés **83** et **84** sont purifiés par chromatographie liquide sur gel de silice avec comme éluant un mélange AcOEt-cyclohexane (7:3). Enfin le composé **85** est purifié par chromatographie liquide sur gel de silice avec comme éluant un mélange AcOEt-cyclohexane (8 :2).

11.4-Synthèse du composé **92**.

La synthèse commence par une série de protections et déprotections afin d'obtenir le composé **73**. Le composé **74** est obtenu après une oxydation au TEMPO, qui est sélectif des hydroxyles primaires (schéma 77).

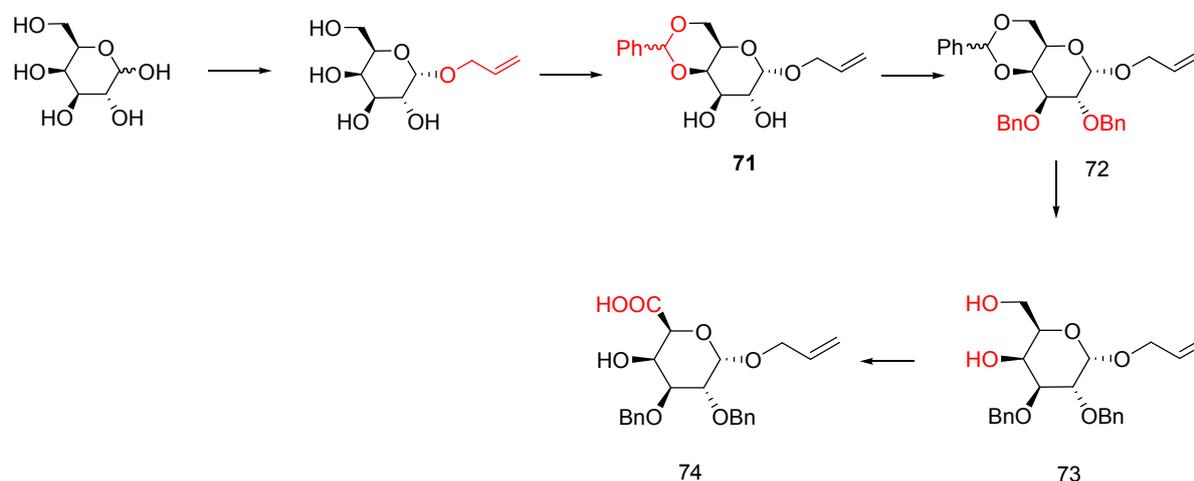


Schéma 77

11.5-Protection totale du D-galactose

- Préparation du α -D-galactopyranoside d'allyle

Les conditions classiques d'obtention de l' α -D-galactopyranoside d'allyle consistent à faire réagir le D-galactose anhydre dans de l'alcool allylique au reflux, en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, et de cristalliser ensuite le produit à partir du brut réactionnel obtenu²⁰¹. Contrairement à ce qui est indiqué dans la littérature, aucune cristallisation n'a pu être amorcée. Les bruts sont difficilement purifiés par chromatographie flash sur gel de silice dans avec comme éluant le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{MeOH}$. Dans ces conditions, le produit n'est alors obtenu pur qu'avec un rendement allant de 10 à 35%.

- **Protection des positions 4 et 6 par un *p*-méthoxybenzylidène**

L' α -D-galactopyranoside d'allyle commercial est mis en réaction en milieu acide avec le *p*-méthoxybenzylidène diméthyl acétal²⁰², à 45°C et sous 40 mbar. Le composé protégé est obtenu par transacétalisation, et le méthanol formé *in situ* au cours de la réaction est évaporé dans les conditions de température et de pression utilisées (schéma 78).

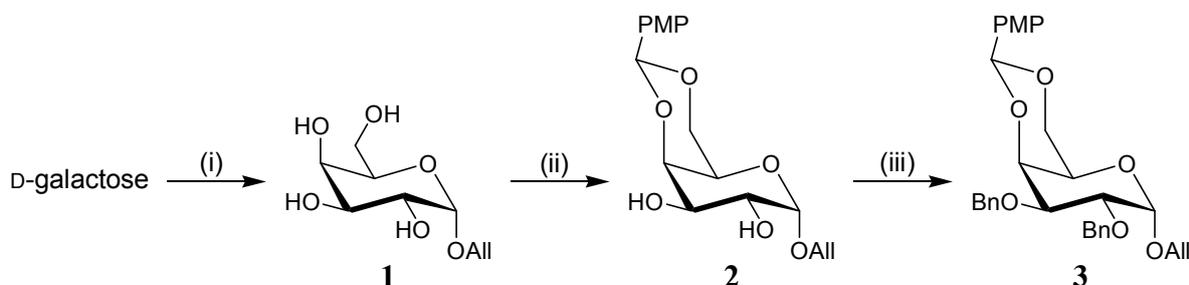
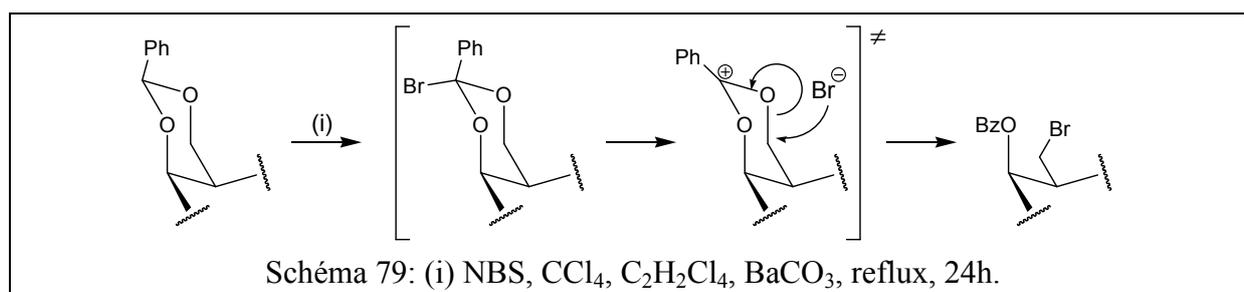


Schéma 78: (i) Allyl-OH, Amberlite IR-120+(H⁺), 1h30, 35% ; (ii) PMP-CH(OMe)₂, PTSA, DMF, 4h, 82% (iii) NaH, BnBr, DMF, 14h, 81%.

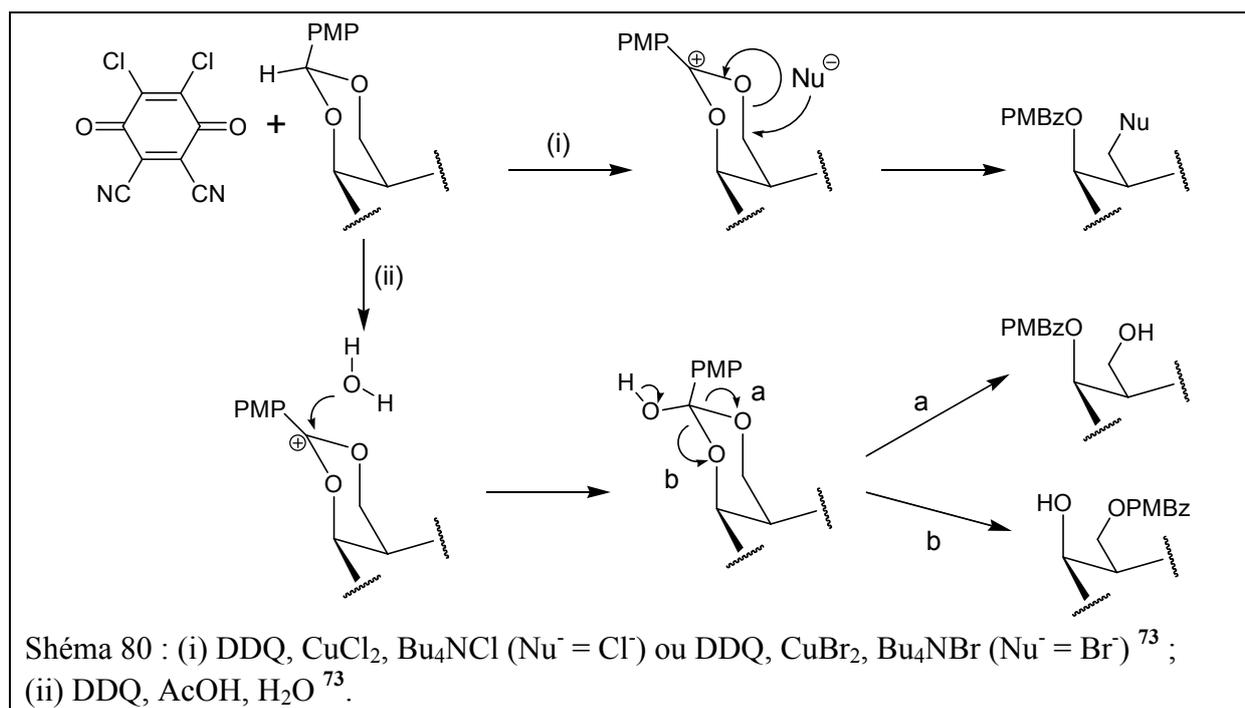
Le dérivé **2** est traité par NaH dans le DMF afin de former les alcoolates correspondants, puis la substitution nucléophile par addition de bromure de benzyle²⁰³, mène au composé **3** avec un rendement de 81% (schéma 78).

- **Ouverture régiosélective du *p*-méthoxybenzylidène**

Un très grand choix de méthodes²⁰⁴ est disponible pour ouvrir sélectivement un benzylidène ou un *p*-méthoxybenzylidène. Une méthode d'oxydation²⁰⁵ du benzylidène en groupement benzoate est possible, si on procède à la bromation sélective du carbone primaire (schéma 79), l'ion bromure attaquant toujours le carbone le moins encombré. C'est une méthode intéressante, mais dans ce cas une étape supplémentaire de substitution est nécessaire pour échanger le brome contre une fonction alcool.



Une autre méthode d'oxydation (radicalaire cette fois-ci) est réalisable en présence de DDQ²⁰⁶: le nucléophile utilisé lors de cette réaction peut être un halogénure (Cl^- ou Br^-), et un seul produit est obtenu par un mécanisme similaire à celui précédemment décrit. Par contre si le nucléophile est H_2O , cette dernière s'additionne directement sur le benzylidène. Dans ce cas, l'ouverture n'est pas sélective et les deux isomères de position en *O*-4 ou en *O*-6 peuvent être obtenus après réarrangement. De plus, il est connu²⁰⁷ que le DDQ oxyde les groupements allyliques, si bien que cette méthode ne peut pas être utilisée dans notre cas (schéma 80).



La dernière grande voie d'ouverture sélective des benzylidènes consiste à effectuer leur réduction en benzyles. Le benzylidène est activé en présence d'un acide de Lewis permettant de chélater les oxygènes, et l'ajout d'un donneur d'hydrure permet d'ouvrir l'acétal (schéma 81).

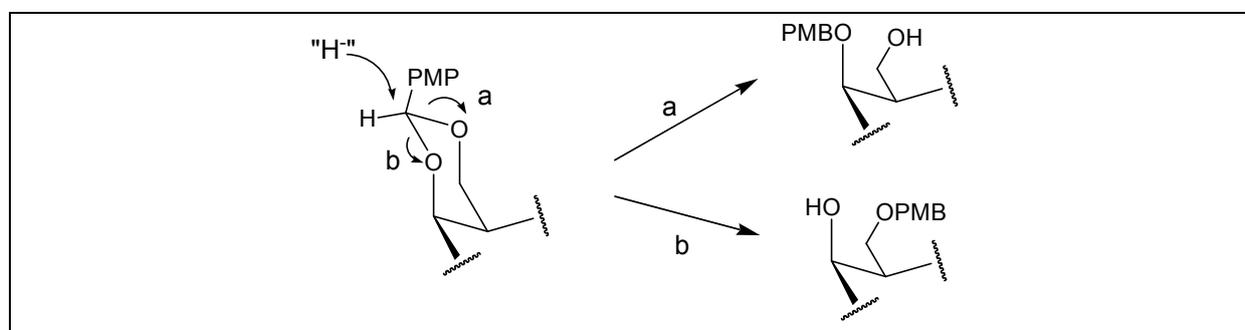


Schéma 81

La sélectivité²⁰⁴ de l'ouverture se fait en fonction de la nature du solvant utilisé (aprotique ou non), de l'acide de Lewis, mais aussi de l'encombrement stérique du composé et du donneur d'hydrure utilisé. Les sélectivités de ces réactions sont en général bien supérieures à celles obtenues en présence de DDQ.

L'une des méthodes les plus utilisées^{202, 208} emploie le couple NaBH₃CN / TMSCl. Il suffit en général de faire la réaction dans l'acétonitrile ou le DMF pour inverser la sélectivité de l'ouverture de l'acétal. D'autres variantes sont souvent utilisées en remplaçant le TMSCl par du TFA^{208, 209} ou en utilisant des donneurs d'hydrures très encombrés comme les boranes²¹⁰, afin d'obtenir la meilleure sélectivité possible. Cette ouverture de l'acétal peut aussi être obtenue simplement par l'utilisation de DIBAL-H^{211, 212}, dans ce cas la sélectivité est obtenue simplement grâce à l'encombrement stérique.

12. Travail effectué.

Les positions *O*-4 et *O*-6 de l' α -D-galactopyranoside d'allyle sont protégées par transacétalisation avec le benzaldéhyde diméthylacétal en milieu acide, avec un rendement de 82% après purification. Le composé **72** est obtenu avec 90% de rendement, par traitement de **71** en milieu basique en présence de bromure de benzyle et Bu₄NI (schéma 82).

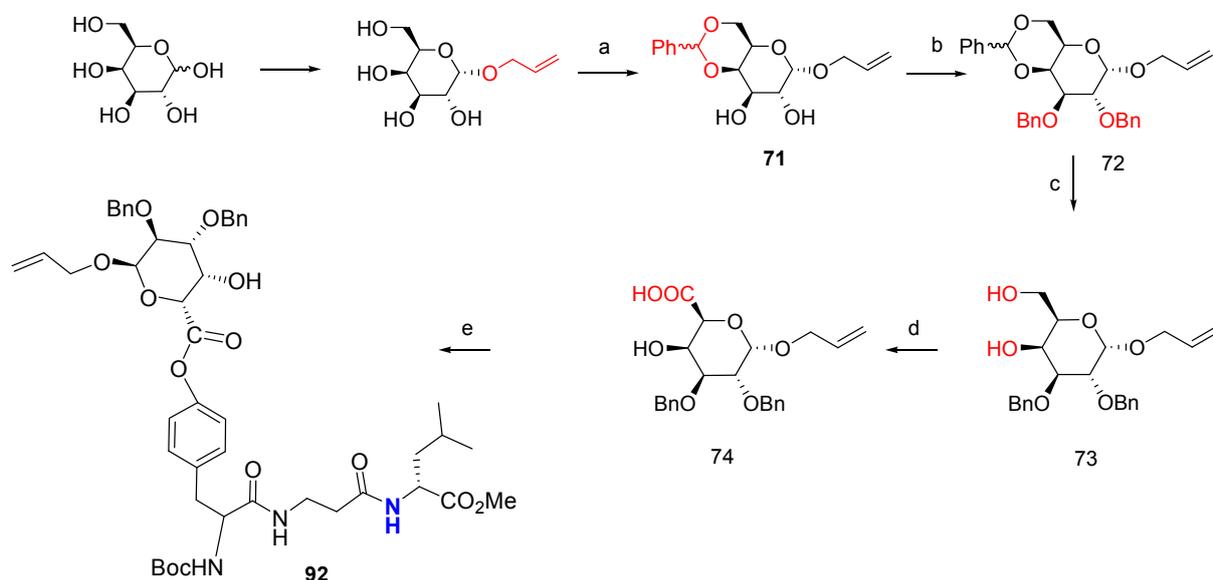
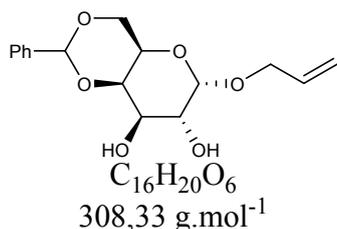


Schéma 82: (a) Ph-CH(OMe)₂, camphorsulfonic acid, CH₃Cl, 4h, 82%; (b) NaH 60%, DMF, 50°C (2h), BnBr, Bu₄NI, TA 14h, reflux 3h, 90%; (c) TFA-H₂O (9-1), TA une nuit, reflux 4h (68°C), 72%; (d) TEMPO, NaOCl, NaClO₂, CH₃CN, tampon phosphate de pH = 0,67 à 6,7M, 4 jours, 95%; (e) Composé **80**, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, TA, 39%.

Après obtention de **72**, le benzylidène n'est plus ouvert régiosélectivement mais est totalement déprotégé en milieu acide avec un rendement de 72% (schéma 79). Le composé **73** ainsi obtenu est oxydé dans les conditions (TEMPO, NaOCl, NaClO₂) avec un rendement de 95%. C'est à partir du produit d'oxydation **74** qu'est obtenu l'analogue glucidique du fragment (B-C-D) de la cryptophycine **92**, par couplage avec le composé **80** en présence de DCC et de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans le CH₂Cl₂. Le composé **92** est obtenu avec un rendement de 39%, sous forme d'un solide blanc, après purification par chromatographie liquide sur gel de silice avec comme éluant un mélange AcOEt-cyclohexane (1 :2).

**Partie expérimentale relative à la synthèse
des analogues glucidiques des fragments de
cryptophycine**

4,6-*O*-Benzylidène- α -D-galactopyranoside d'allyle (71)



Solide blanc, Pf = 90,1 – 92,6 °C.

$[\alpha]_D^{29} = +102^\circ$ (c 0,22 ; $CHCl_3$).

Dans un ballon monté pour une distillation, on mélange du α -D-Galactopyranoside d'allyle commercial (2,0g ; 9,08 mmol, 1 éq.), le benzaldéhyde diméthylacétal (1,9 ml, 12,7 mmol, 1,4 éq.) et l'acide comphorsulfonique (211 mg, 0,91 mmol, 0,1 éq.), dans 57.6 ml de chloroforme. Après 30 min de distillation, on récupère 45 ml de CH_3Cl -MeOH).

On ajoute encore 50 ml de chloroforme au mélange réactionnel, et on relance de nouveau la distillation. Après 1h, on laisse refroidir et on ajoute 600 μ l de Et_3N et on laisse le mélange réactionnel à TA toute la nuit.

On évapore le solvant, et après cristallisation dans AcOEt à -18°C, 2,3 g (82%) du composé **71** sont obtenus.

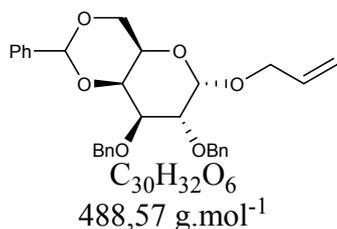
ES-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 331,1158$ valeur calculée pour $C_{16}H_{20}O_6Na$,
331,1154 valeur trouvée.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 7.50 (m, 2H, H_{Ar}), 7.33 (m, 3H, H_{Ar}), 5.91 (dddd, 1H, $J_{2',3'trans}$ 17.0 Hz, $J_{2',3'cis}$ 10.4 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5.3 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6.1 Hz, H-2'), 5.50 (s, 1H, Ph-CH), 5.31 (dq, 1H, $J_{2',3'trans}$ 17.0 Hz, J_{gem} 1.6 Hz, $J_{1'a,3'}$ 1.6 Hz, H-3'a), 5.21 (ddt, 1H, $J_{2',3'cis}$ 10.4 Hz, J_{gem} 1.6 Hz, $J_{1'b,3'}$ 1.3 Hz, H-3'b), 5.03 (d, 1H, $J_{1,2}$ 1.7 Hz, H-1), 4.22 (m, 2H, H-6a, H-1'a), 4.17 (d large, 1H, $J_{3,4}$ 1.4 Hz, H-4), 4.05 (m, 1H, H-1'b), 4.00 (dd, 1H, J_{gem} 12.4 Hz, $J_{5,6}$ 1.7 Hz, H-6b), 3.93 (m, 1H, H-2), 3.91 (m, 1H, H-3), 3.65 (m, 1H, H-5), 3.10 (s large, 2H, OH).

^{13}C RMN (75,5 MHz, $CDCl_3$) : δ 137.6 (C_i -CH), 133.6 (C-2'), 129.0-126.2 (3 pics, C_{Ar} -Ph), 117.7 (C-3'), 101.1 (C_{CH} -Ph), 98.2 (C-1), 75.9 (C-4), 69.5 (C-2), 69.3 (C-3), 69.2 (C-6), 68.6 (C-1'), 62.9 (C-5).

I.R. en cm^{-1} (ATR) : ν 3344, 2910, 2359, 1651, 1452, 1404, 1366, 1342, 1251, 1220, 1141, 1087, 1043, 1028, 999, 930, 893, 837, 794, 775, 746, 697.

2,3-di-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-galactopyranoside d'allyle (72)



Solide blanc, Pf = 49,3 – 50,1 °C.

$[\alpha]_D^{19} = +77,1^\circ$ (c 0,21 ; CHCl₃).

Synthèse à partir du composé 71 : Une suspension du composé 71 (2 g, 6,48mmol) et de NaH (1,04 g, 25.94 mmol ; 2 éq. / OH) dans 37 mL de DMF anhydre, sous agitation et atmosphère d'argon, est chauffée 1h à 50°C jusqu'à homogénéisation, puis ramenée à 0°C pour lui ajouter du bromure de benzyle (3,12 mL, 25.94 mmol ; 2 éq. / OH) et 0.16g d'iodure de tétrabutylammonium (ITBA). Après 14h d'agitation à TA, l'excès des réactifs est neutralisé par l'ajout de 10.5 mL de MeOH, et les solvants sont évaporés. Le brut réactionnel est repris dans Et₂O puis lavé par une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée et évaporée. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange cyclohexane - AcOEt (95/5, v/v), 2.85 g (90%) du composé 72 sont obtenus.

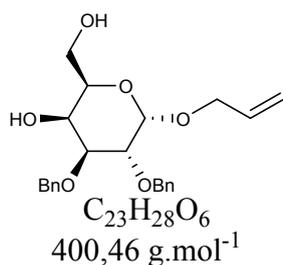
ES-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 511,2097 valeur calculée pour C₃₀H₃₂O₆Na,
511,2109 valeur trouvée.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) : δ 7.63-7.25 (m, 15H, H_{Ar}), 5.99 (dddd, 1H, $J_{2',3'}^{\text{trans}}$ 17.0 Hz, $J_{2',3'}^{\text{cis}}$ 10.4 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5.3 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6.4 Hz, H-2'), 5.53 (s, 1H, Ph-CH), 5.37 (dd large, 1H, $J_{2',3'}^{\text{trans}}$ 17.0 Hz, J_{gem} 1.4 Hz, H-3'a), 5.27 (d large, 1H, $J_{2',3'}^{\text{cis}}$ 10.4 Hz, H-3'b), 5.04 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.1 Hz, H-1), 4.92 (d, 1H, J_{gem} 12.0 Hz, CHHPh), 4.90 (d, 1H, J_{gem} 12.2 Hz, CHHPh), 4.80 (d, 1H, J_{gem} 12.2 Hz, CHHPh), 4.73 (d, 1H, J_{gem} 12.0 Hz, CHHPh), 4.25 (d large, 1H, J_{gem} 12.4 Hz, H-6a), 4.23 (s large, 1H, H-3), 4.17 (ddd, 1H, J_{gem} 13.6 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5.3 Hz, $J_{1'a,3'}$ 1.2 Hz, H-1'a), 4.13 (d large, 1H, $J_{1,2}$ 3.1 Hz, H-2), 4.11 (m, 1H, H-1'b), 4.05 (s large, 1H, H-4), 4.04 (d large, 1H, J_{gem} 12.4 Hz, H-6b), 3.67 (s large, 1H, H-5).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 138.8 (C_i-CH₂), 138.6 (C_i-CH₂), 137.8 (C_i-CH), 133.7 (C-2'), 128.7-126.2 (7 pics, C_{Ar}-Ph), 117.9 (C-3'), 100.9 (CH-Ph), 96.9 (C-1), 76.0 (C-4), 75.4 (C-2), 74.9 (C-3), 73.5 (CH₂Ph), 72.1 (CH₂Ph), 69.3 (C-6), 68.3 (C-1'), 62.6 (C-5).

I.R. en cm⁻¹ (ATR) : ν 2911, 2853, 1496, 1454, 1403, 1368, 1341, 1251, 1221, 1155, 1136, 1098, 1081, 1052, 1026, 1002, 953, 931, 898, 842, 827, 796, 778, 742.

4,6-*O*-Benzylidène- α -D-galactopyranoside d'allyle (**73**)



Solide blanc, Pf = 72,5 – 73,1 °C.

$[\alpha]_D^{19} = +60,0^\circ$ (c 0,21 ; CHCl₃).

Synthèse à partir du composé **72** : A une solution du composé **72** (700 mg, 1,64 mmol) dans le DCM (80 mL) est ajoutée au goutte à goutte une solution TFA - H₂O (90/10, v/v) (3.52 mL). Le milieu est maintenu sous agitation et au reflux pendant 4h. Après avoir été refroidi, celui-ci est maintenu à 0°C pour être neutralisé par 25 mL d'une solution de NaOH à 30%. Les deux phases sont séparées, puis la phase organique est lavée par une solution saturée en NaHCO₃. La phase organique est séchée par Na₂SO₄, filtrée et évaporée. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice dans un mélange cyclohexane - AcOEt (70/30, v/v), 473 mg (72%) du composé **73** sont obtenus.

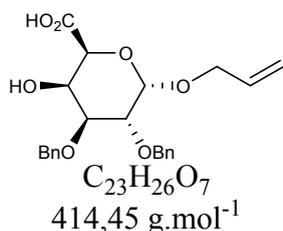
ES-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 423,1784 valeur calculée pour C₂₃H₂₈O₆Na,
423,1780 valeur trouvée.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) : δ 7.45-7.24 (m, 10H, H_{Ar}), 5.95 (dddd, 1H, $J_{2',3'trans}$ 17.1 Hz, $J_{2',3'cis}$ 10.4 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5.4 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6.6 Hz, H-2'), 5.35 (dd large, 1H, $J_{2',3'trans}$ 17.1 Hz, J_{gem} 1.2 Hz, H-3'a), 5.27 (dd large, 1H, $J_{2',3'cis}$ 10.4 Hz, J_{gem} 1.2 Hz, H-3'b), 4.92 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.1 Hz, H-1), 4.84 (d, 1H, J_{gem} 11.6 Hz, CHHPh), 4.81 (d, 1H, J_{gem} 12.1 Hz, CHHPh), 4.72 (d, 1H, J_{gem} 11.6 Hz, CHHPh), 4.68 (d, 1H, J_{gem} 12.1 Hz, CHHPh), 4.18 (dd large, 1H, J_{gem} 13.0 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5.4 Hz, H-1'a), 4.08 (d large, 1H, $J_{3,4}$ 2.7 Hz, H-4), 4.05 (dd large, 1H, J_{gem} 13.0 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6.6 Hz, H-1'b), 3.94 (m, 1H, H-6a), 3.92 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 5.1 Hz, $J_{3,4}$ 2.7 Hz, H-3), 3.91 (dd, 1H, $J_{1,2}$ 3.1 Hz, $J_{2,3}$ 5.1 Hz, H-2), 3.83 (m, 1H, H-5), 3.67 (dd, 1H, J_{gem} 10.4 Hz, $J_{5,6b}$ 4.1 Hz, H-6b).

¹³C-RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 138.3 (C_i-CH₂), 138.0 (C_i-CH₂), 133.7 (C-2'), 128.5-127.7 (5 pics, C_{Ar}-Ph), 117.9 (C-3'), 96.2 (C-3'), 77.3 (C-1), 75.6 (C-3), 73.2 (C-2), 72.9 (CH₂Ph), 69.1 (C-4), 69.2 (C-5), 68.3 (C-1'), 62.9 (C-6).

I.R. en cm⁻¹ (ATR) : ν 3483, 2903, 1497, 1454, 1354, 1208, 1144, 1099, 1029, 930, 819, 789, 737.

Acide allyl 2,3-di-O-benzyl- α -D-galactopyranosiduronique (74)



Solide blanc, Pf = 215,6 – 216,7 °C.

$[\alpha]_D^{24} = +64^\circ$ (c 0,30 ; CHCl₃).

Oxydation par la méthode (chimique) C : Une solution du composé **73** (47,1 mg ; 1 *éq.*) et de TEMPO (1,3 mg, 0,07 *éq.*) dans 0.225 mL d'acétonitrile et 1 mL d'une solution de tampon phosphate à 0,67 M de pH = 6,7 est maintenue à 35°C sous vive agitation pour maintenir une émulsion homogène (≥ 2500 tr.min⁻¹). A cette solution sont ajoutés 117,7 μ L (2 *éq.*) d'une solution de NaClO₂ à 2 M dans l'eau, et immédiatement après 1.125 μ L (0,02 *éq.*) d'une solution de NaOCl à 2,1 M dans l'eau. Après 48h de réaction à 35°C, le milieu est neutralisé par 0.2 mL d'une solution aqueuse de Na₂S₂O₃ à 0,5 M, puis amené à pH = 1 par ajout de HCl à 35%. Après ajout d'AcOEt, le milieu est lavé par une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée par Na₂SO₄, filtrée et évaporée. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice dans un mélange AcOEt - MeOH (50/50, v/v), (95%) du composé **74** sont obtenus .

ES-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 437,1576 valeur calculée pour C₂₃H₂₆O₇Na,
437,1580 valeur trouvée.

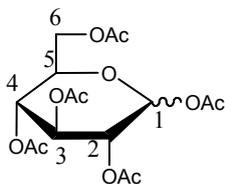
¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD) :

δ 7.25 (m, 10H, H_{Ar}-Bn), 5.89 (ddt, 1H, $J_{2',3'}_{trans}$ 17.4 Hz, $J_{2',3'}_{cis}$ 11.2 Hz, $J_{1',2'}$ 5.3 Hz, H-2'), 5.37 (s large, 1H, H-1), 5.32 (d large, 1H, $J_{2',3'}_{trans}$ 17.4 Hz, H-3'a), 5.13 (d large, 1H, $J_{2',3'}_{cis}$ 11.2 Hz, H-3'b), 4.76 (d, 1H, J_{gem} 10.5 Hz, CHHAr), 4.71 (d, 1H, J_{gem} 11.4 Hz, CHHAr), 4.67 (d, 1H, J_{gem} 11.4 Hz, CHHAr), 4.64 (d, 1H, 10.5 Hz, CHHAr), 4.52 (s large, 1H, H-4), 4.35 (s large, 1H, H-5), 4.20 (dd, 1H, J_{gem} 13.3 Hz, $J_{1'a,2'}$ 4.7 Hz, H-1'a), 4.07 (m, 2H, H-2, H-1'b), 3.90 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.0 Hz, $J_{3,4}$ 2.8 Hz, H-3).

¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD) : δ 176.9 (CO₂H), 139.8 (C_i-CH₂ Bn), 139.7 (C_i-CH₂ Bn), 135.3 (C-2'), 129.3-128.7 (4 pics, C_{Ar}-Bn), 117.6 (C-3'), 98.4 (C-1), 78.3 (C-3), 76.9 (C-2), 74.0 (CH₂Ph), 73.9 (C-5), 73.0 (CH₂Ph), 70.2 (C-1'), 70.0 (C-4).

I.R. en cm⁻¹ (ATR) : ν 1607, 1496, 1454, 1427, 1337, 1267, 1208, 1100, 1026, 934, 862, 850, 798, 787, 773, 734, 718.

1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose (75)



C₁₆H₂₂O₁₁
Mol. Wt.: 390,34

Solide blanc, Pf = 110 °C (lit.: 110-111 °C).

$[\alpha]^{22}/D +102^\circ$, c = 1 dans le CHCl₃.

litt $[\alpha]^{22}/D 102^\circ$, c = 1 dans le CHCl₃.

A une solution de glucose (10g, 55.5mmol) dans la pyridine (75ml), refroidie à 0°C est additionné goutte à goutte l'anhydride acétique (28 ml, 0.296mol, 5.3 éq.). Le mélange est agité une nuit à T.A., puis on ajoute de l'éthanol (28 ml). Après évaporation du solvant, on obtient un résidu solide qui est recristallisé 2 fois dans l'éthanol absolu pour donner 16.24g (75% de rendement).

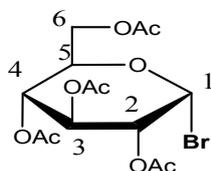
ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 413.12 valeur calculée pour C₁₆H₂₂NaO₁₁,
413.1 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) :

δ 2.00 (s, OC(O)CH₃), 2.02 (s, OC(O)CH₃), 2.03 (s, OC(O)CH₃), 2.08 (s, OC(O)CH₃), 2.17 (s, OC(O)CH₃), 4.14 – 4.06 (m, 2 H, H-5, H-6'), 4.25 (dd, 1 H, H-6, ²J_{6,6'} = 12.5 Hz, ³J_{6,5} = 4.1 Hz), 5.13 (at, 1 H, H-4), 5.08 (dd, 1 H, H-2), 5.46 (dd, 1 H, H-3, ³J_{3,2} = 10.4 Hz, ³J_{3,4} = 9.5 Hz), 6.32 (d, 1 H, H-1, ³J_{1,2} = 3.7 Hz).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 170.77, 170.36, 169.79, 169.53, 168.89 (5 × OC(O)CH₃), 89.18 (C-1), 69.94 (C-3, C-5), 69.31 (C-2), 68.00 (C-4), 61.57 (C-6), 21.00, 20.82, 20.79, 20.69, 20.57 (5 × OC(O)CH₃).

Bromure 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose (76)



C₁₄H₁₉BrO₉
Mol. Wt.: 411,2

Solide blanc, Pf = 87-88°C, litt : 88-89°C.

$[\alpha]^{22}/D +198^\circ$, c = 2 dans le CHCl₃.

litt $[\alpha]^{22}/D 198^\circ$, c = 2 dans le CHCl₃.

Synthèse à partir du composé 75 : A une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique (11.56 ml, 67 mmol, 4.3éq.), sous agitation et sous argon, est additionné par petite portions le pentaacétate de glucose **75** (6g, 15.38 mmol). L'agitation est maintenue pendant 30 min au bout desquelles on observe une disparition totale du produit de départ par CCM (hexane-acétate d'éthyle 1/1). 150 ml de DCM puis 100 ml d'eau glacée sont alors additionnés au

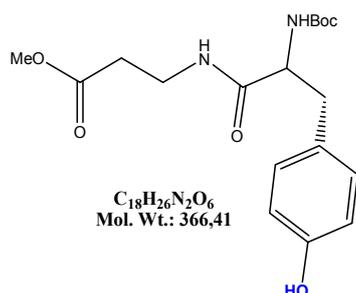
mélange. La phase organique est lavée successivement par une solution saturée de NaHCO₃ puis H₂O, séchée (Na₂SO₄) et concentrée. Le sirop obtenu cristallise dans un mélange hexane-éther diéthylique 70/30 pour donner 6.2g de cristaux blancs (98% de rendement).

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 433,01 valeur calculée pour C₁₄H₁₉BrNaO₉,
433,1 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) : δ 2.03 (s, OC(O)CH₃), 2.05 (s, OC(O)CH₃), 2.09 (s, OC(O)CH₃), 2.10 (s, OC(O)CH₃), 4.14 – 4.10 (m, 1 H, H-6'), 4.34 – 4.29 (m, 2 H, H-6, H-5), 4.84 (dd, 1 H, H-2, ³J_{2,3} = 10.0 Hz), 5.56 (at, 1 H, H-3), 5.16 (at, 1 H, H-4), 6.60 (d, 1 H, H-1, ³J_{1,2} = 4.1 Hz).

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 170.65, 169.99, 169.94, 169.61 (4 × OC(O)CH₃), 86.69 (C-1), 72.27 (C-5), 70.74 (C-2), 70.30 (C-3), 67.30 (C-4), 61.09 (C-6), 20.81, 20.79, 20.76, 20.69 (4 × OC(O)CH₃).

3-(2-(tert-butoxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propanoate de méthyle (77)



Solide blanc, Pf = 104-106°C.
[α]_D²² +66.2°, c = 1 dans le CHCl₃.

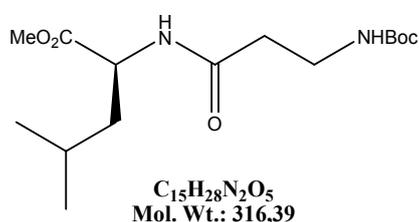
Après dissolution de *boc-L-tyr-OMe* (2g ; 7.11mmol ; 1 équiv.) et de 992 mg de chlorure de l'ester méthylique de beta-alanine (7.11mmol ; 1 équiv.) dans 10 mL de CH₂Cl₂, on ajoute 5 équivalents de TEA (4.94 ml, 35.55 mmol). Ensuite, 1,1 équivalent d'hydroxybenzotriazole (HOBt) (1.06 g, 7.82 mmol) sont additionnés à la solution. Après 10 minutes d'agitation à 0°C, 7.82 mmol (1,1 équiv.) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (1.61 g, 7.82 mmol.) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à cette température pendant 30 minutes, puis 10 h à température ambiante. Après filtration sous vide et évaporation, le résidu obtenu est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle et de nouveau filtré. La phase organique est alors lavée successivement par 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%) puis par 10 mL d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Finalement, une chromatographie sur gel de silice est effectuée avec comme éluant le mélange dichlorométhane-méthanol (98-02). Enfin, le produit est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. 2.28 g (Rdt = 92%) de produit sont obtenus sous forme de solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 389,17$ valeur calculée pour $C_{18}H_{26}N_2NaO_6$,
389,1 valeur trouvée.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) : 1.42(s, 9H, t-Bu), 2.41(t, 5.5 Hz, 2H, CH_2COO), 2.92(d, 6.7 Hz, 2H, CH_2CHCO), 3.42(t, 5.5 Hz, 2H, CH_2NH), 3.66(s, 3H, OCH_3), 5.30(t, 5.6 Hz, 1H, $CHNH$), 6.26(t, 6.3 Hz, 1H, NH), 6.75(d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.01(d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.64(br-s, 1H, OH).

^{13}C RMN (75,5 MHz, $CDCl_3$) : δ 28.30 (3C), 33.63, 34.68, 38.01, 51.81, 56.20, 79.98, 115.57 (2C), 130.43 (2C), 132.1, 154.26, 155.92, 171.20, 172.61.

(S) 2-(3-(tert-butoxycarbonyl)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (78)



Solide blanc, $Pf = 50-52^\circ C$.
 $[\alpha]^{22}_D +7.5^\circ$, $c = 0.1$ in $CHCl_3$.

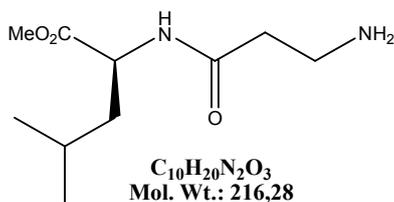
Après dissolution de *boc- β -alanine* (2g, 10.57 mmol, 1 équiv.), et de chlorure de l'ester méthylique du L-leucine (1.92g, 10.57 mmol, 1 équiv.) dans 10 mL de CH_2Cl_2 , on ajoute 7.34 ml (75.288mmol 5 équiv.) de TEA. 1.57g (11.63mmol, 1,1 équiv.) de HOBt sont additionnés à la solution. Après 10 min d'agitation à $0^\circ C$, 2.4 g (11.63 mmol, 1,1 équiv.) de DCC sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à cette température pendant 30 min, puis 10 h à température ambiante. Après filtration sous vide et évaporation, le résidu obtenu est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle et est de nouveau filtré. La phase organique est alors lavée successivement avec 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%) puis par 10 mL d'eau. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous pression réduite. Finalement, on procède à une chromatographie sur gel de silice, avec comme éluant le mélange dichlorométhane-méthanol (95-05). Puis le produit est recristallisé dans l'eau. 3.53 g (Rdt = 88%) de produit sont obtenus sous forme de solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 339,19$ valeur calculée pour $C_{15}H_{28}N_2NaO_5$,
339,1 valeur trouvée.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.95(d, 6.0 Hz, 6H, CH_3-Bu_i), 1.43(s, 9H, t-Bu), 1.54(m, 1H, $CH-Bu_i$), 1.64(m, 2H, CH_2-Bu_i), 2.44(m, 2H, CH_2CH_2NBoc), 3.43(m, 2H, CH_2NBoc), 3.74(s, 3H, OCH_3), 4.66 (m, 1H, ($CHCO_2$)), 5.17(br-s, 1H, β -Ala- NH), 5.99(br-s, 1H, Leu-NH) ppm.

^{13}C RMN (75,5 MHz, $CDCl_3$) : δ 173.46, 171.52, 156.15, 77.22, 52.34, 50.76, 41.57, 36.73, 36.26, 28.41, 24.91, 22.78, 21.96 ppm.

(S) 2-(3-aminopropanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (79)



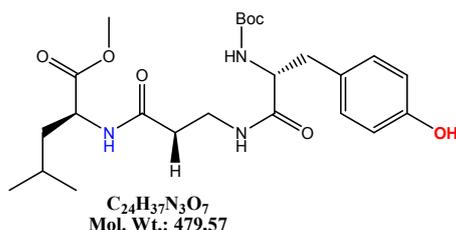
Produit brut.

Rdt Quantitatif

Synthèse à partir du composé 78 :

La solution de (S)- 2-(3-(tert-butoxycarbonyl)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle **78** (2 g, 6,32 mmol) dans 22,6 mL de CH_2Cl_2 a été traitée avec du TFA (52,66 ml) à 0 ° C puis agitée à température ambiante pendant 2 h. Le mélange résultant a été concentré et séché sous vide. Le produit brut (2,36 g, sel de TFA) a été utilisé directement dans la réaction suivante.

(S)-2-(3-(tert-butoxycarbonyl)propanamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (80)



Solide blanc, Pf=120°C;
 $[\alpha]^{22}_D +58.3^\circ$, c = 1 in $CHCl_3$.

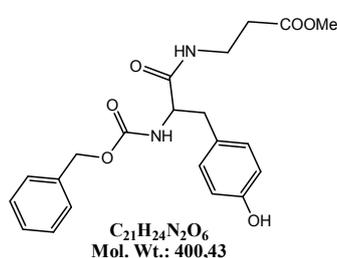
Synthèse à partir du composé 79 : Après dissolution de (1.78 g, 6.32 mmol, 1 équiv.) de *Boc-L-tyrosine* et de (6.32 mmol ; 1 équiv.) de composé **78** dans 10 mL de CH_2Cl_2 , 6.93 mmol (6.93g, 6.93 mmol, 1,1 équiv.) de HOBt sont additionnés à la solution. Après 10 min. d'agitation à 0°C, 6.93 mmol (1,1 équiv.) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à cette température pendant 30 min, puis 10 h à température ambiante. Après filtration sous vide et évaporation, le résidu obtenu est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle et est de nouveau filtré. La phase organique est alors lavée successivement avec 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%), et enfin avec 10 mL d'eau. La phase organique est séchée par $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous pression réduite. Finalement, une chromatographie sur gel de silice avec comme éluant le mélange dichlorométhane-méthanol est effectuée pour obtenir (98-02 à 9-1). 2.58g (Rdt = 85%) de solide blanc..

ES-LRMS $[M+Na]^+$ m/z = 502,25 valeur calculée pour $C_{24}H_{37}N_3NaO_7$,
502,2 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) : δ 0.96(d, 6 Hz, 6H, CH₃-Bu_i), 1.42(s, 9H, t-Bu), 1.47 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.71(m, 2H,CH₂ CH(CH₃)₂), 2.44(t, 5.5 Hz, 2H, CH₂CON), 2.92(d, 6.7 Hz, 2H, CH₂CHNHCO), 3.09(br-s, 1H, NH), 3.45(m, 2H, CH₂NH), 3.77(s, 3H, OMe), 3.84(br-s, 1H, NH), 4.62(m, 1H, CHCO₂Me), 5.20(t, 5.6 Hz, 1H, CHNHCOBoc), 6.78(d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.00(br-s, 1H, NH), 7.24(br-s, 1H, OH), 7.04(d, 9 Hz, 2H, Ph) ppm.

¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 21.32, 22.88, 24.96, 28.28 (3C), 36.55, 36.95, 37.19, 39.83, 51.36, 52.56, 56.77, 80.29, 115.61 (2C), 130.36 (2C), 130.51, 135.37, 155.92, 172.50, 173, 174.92.

3-(2-(benzyloxycarbonyl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)propanoate de méthyle (81)



Solide blanc, Pf=133°C ;
[α]²²/D +78.1°, c = 1 in CHCl₃.

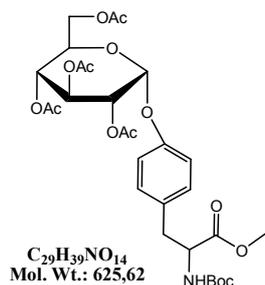
Après dissolution de 1g (3.17 mmol ; 1 équiv.) de *N*-Cbz-tyrosine-OMe et de 442 mg (3.17 mmol ; 1 équiv.) de chlorure de l'ester méthyle de β-alanine dans 10 mL de CH₂Cl₂, et 5 équiv., la TEA. 3.487 mmol ; 1,1 équiv.), du HOBt sont additionnés à la solution. Après 10 min d'agitation à 0°C, 3.487 mmol (1,1 équiv.) de DCC sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à cette température pendant 30 min, puis 10 h à température ambiante. Après filtration sous vide et évaporation, le résidu obtenu est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle et est de nouveau filtré. La phase organique est alors lavée successivement avec 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%) et enfin avec 10 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Après cristallisation dans l'éther diéthylique, on obtient 1.17 g (Rdt = 92%) de solide blond.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 423.15 valeur calculée pour C₂₁H₂₄N₂NaO₆,
422.9 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, DMSO): δ 2.41(t, 5.6 Hz, 2H, CH₂COOMe), 2.80(d, 6.7 Hz, 2H, CH₂CHNH), 3.43(t, 5.6 Hz, 2H, CH₂NH), 3.61(3H, s, OCH₃), 4.10(br-s, 1H, NH), 4.98(t, 5.6 Hz, 1H, CHNH), 5.04(d, 7,2 Hz, 2H, CH₂Ph), 6.66(d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.04(d, 9.0 Hz, 2H, Ph), 7.32(m, 5H, Ph), 8.05(br-s, 1H,NH), 9.20(br-s, 1H, OH).

¹³C RMN (75,5 MHz, DMSO) : δ 35.29, 36.31, 37.5, 51.78, 55.2, 66.1, 115.8 (2C), 127.72 (2C), 127.62, 128.9 (2C), 129.2 (2C), 132.1, 141.6, 155.8, 156, 170.89, 171.42.

2,3,4,6-Tétra-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-L-tyrosine méthyl ester (82)



Solide blanc, Pf = 165°C.
 $[\alpha]^{22}_D -33.6^\circ$, c = 1 in MeOH.

Synthèse à partir du composé 76 :

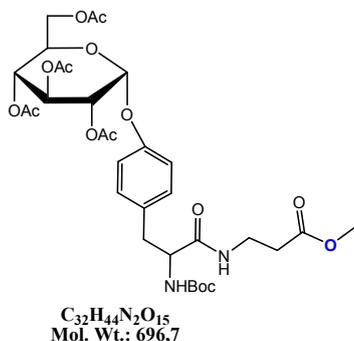
2 g de bromure 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose **76** ; 2.153g de boc-tyr-OMe (1.5 éq) ; 291 mg de NaOH (1.5 éq) ; 15 ml d'eau ; et 15 ml d'acétone. 48 h d'agitation. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle- cyclohexane (8-2), puis une cristallisation dans l'acétate d'éthyle, (Rdt = 62%) de solide blanc sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ m/z = 648,23 valeur calculée pour $C_{29}H_{39}NNaO_{14}$,
448.3 valeur trouvée.

1H RMN (300 MHz, DMSO): δ 1.33 (s, 9H, t-Bu), 2.02 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.03 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.08 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.17 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.92 (d, 6.7 Hz, 2H, CH₂Ph), 3.65 (s, 3H, OMe), 4.09 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 4.21 (m, 2H, CH₂OAc), 5.01 (m, 2H, CHCH₂OC(O)CH₃, CHNH₂Boc), 5.19 (d, 7.2 Hz, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.25 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.79 (d, 10 Hz, 1H, OCHOPh), 6.61 (d, 9 Hz, 2H, Ph), 6.95 (d, 9 Hz, 2H, Ph) ppm.

^{13}C RMN (75,5 MHz, DMSO) : δ 20.56, 20.7, 20.72, 21.03, 28.28 (3C), 36.75, 51.4, 52.56, 61.58, 68.04, 69.35, 69.94, 70.02, 89.29, 98.24, 115.41 (2C), 130.22 (2C), 130.68, 154.21, 155.82, 169.9, 169.95, 170.01, 170.52, 171.44.

2,3,4,6-Tétra-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-*N*-Boc-L-tyrosyl- β -alanine méthyl ester (83)



Solide blanc, Pf = 218°C.
 $[\alpha]^{22}_D +32.6^\circ$, c = 1 in MeOH.

Synthèse à partir du composé 76 et 77:

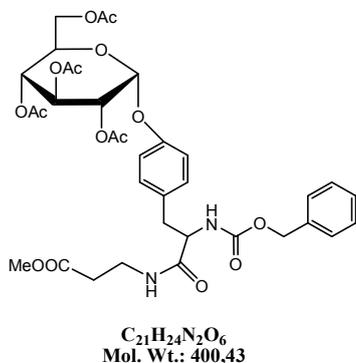
1.51 g de bromure 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose **76** ; 1.615 g de **77** (1.2 équ) ; 176 mg de NaOH (176 mg, 4.4 mmol, 1.2 équ) ; 10 ml d'eau ; et 10 ml d'acétone. 72 h d'agitation. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle- cyclohexane (7-3). (Rdt = 79%) de solide blond sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 719,26$ valeur calculée pour $C_{32}H_{44}N_2NaO_{15}$,
719,3 valeur trouvée.

1H RMN (300 MHz, DMSO): 1.33 (s, 9H, t-Bu), 2.01 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.04 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.08 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.11 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.41 (m, 2H, CH₂COOMe), 2.80 (d, 6.7 Hz, 2H, CH₂CHNH), 3.40 (m, 2H, CH₂NH), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 4.01 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 4.09 (m, 2H, CH₂OC(O)CH₃), 5.11 (m, 2H, CHCH₂Ph, CHCH₂OC(O)CH₃), 5.22 (d, 7.2 Hz, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.24 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.49 (d, 10 Hz, 1H, OCHOPh), 6.65 (d, 9 Hz, 2H, Ph), 6.75 (brs, 1H, NH), 6.98 (d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.92 (br-s, 1H, NH) ppm.

^{13}C RMN (75,5 MHz, DMSO) : δ 20.5, 20.73, 20.75, 21.1, 28.31 (3C), 33.83, 36.7, 38.2, 51.8, 56.25, 61.55, 68.1, 69.4, 69.94, 70.04, 79.81, 98.3, 115.54 (2C), 130.01 (2C), 130.7, 154.33, 155.94, 169.89, 169.96, 170.11, 170.5, 171.34, 172.71.

2,3,4,6-Tétra-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-*N*-Cbz-*L*-tyrosyl- β -alanine méthyl ester (84**)**



Solide blanc, Pf = 134°C.
 $[\alpha]^{22}_D -17.2^\circ$, c = 1 in MeOH.

Synthèse à partir du composé 76 et 81:

1g de bromure 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose **76** (2.43 mmol) ; 1.75 g de **81** (1.46 g, 3.65 mmol, 1.5 équ) ; 146 mg de NaOH (146 mg, 3.65 mmol, 1.5 équ) ; dans 4 ml de THF/eau (1-1) ; 10 ml d'eau ; et 10 ml d'acétone. 72 h d'agitation.

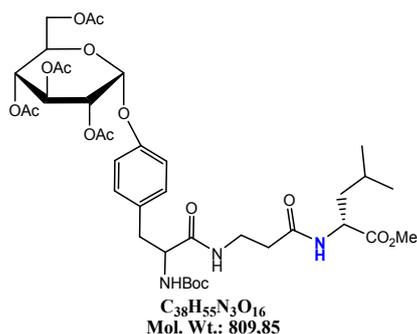
Chromatographie sur gel de silice cyclohexane -acétate d'éthyle (7-3). (Rdt = 77%) de solide blond sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 753,25$ valeur calculée pour $C_{35}H_{42}N_2NaO_{15}$,
753,4 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, DMSO): δ 2.02 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.04 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.08 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.10 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.43 (t, 5.6 Hz, 2H, CH₂COOMe), 2.84 (d, 6.7 Hz, 2H, CH₂CHNH), 3.42 (t, 5.6 Hz, 2H, CH₂NH), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 4.09 (m, 2H, CH₂CHOC(O)CH₃), 4.96 (t, 5.6 Hz, 1H, CHNH), 4.01 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.11 (m, 2H, CHOC(O)CH₃, CHOC(O)CH₃), 5.24 (d, 2H, 5.6 Hz, CH₂Ph), 5.22 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 6.24 (d, 10 Hz, 1H, OCHOPh), 6.67 (d, 9.0 Hz, 2H, Ph), 6.80 (br s, 1H, NH), 6.95 (d, 9.0 Hz, 2H, Ph), 7.00 (br-s, 1H, NH). 7.23 (m, 5H, Ph) ppm.

¹³C RMN (75,5 MHz, DMSO) : δ 20.55, 20.69, 20.71, 21.03, 33.96, 34.83, 38.08, 51.84, 56.38, 60.41, 63.37, 67.03, 67.76, 70.38, 72.46, 91.98, 115.66, 117.29, 128.01 (2C), 128.2, 128.54 (2C), 130.42 (2C), 135.45, 139.26, 155.27, 155.87, 169.45, 169.88, 169.99, 170.05, 170.73, 171.23.

2,3,4,6-Tétra-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-*N*-Cbz-L-tyrosyl- β -alanyl-L-leucine méthyl ester 2 (85)



Solide blanc, Pf = 108.5°C.
 $[\alpha]^{22}_D$ -14.2°, c = 1 in MeOH.

Synthèse à partir du composé 76 et 81: 0.755 g de Bromure 2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-*D*-glucopyranose **76** ; 0.880 g de **80** (1.2 éq) ; 73.34 mg de NaOH (73.34 mg, 1.2 éq) ; 10 ml d'eau ; et 10 ml d'acétone. 72 h d'agitation. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle- cyclohexane (8-2). (Rdt = 77%) de solide blanc sont obtenus.

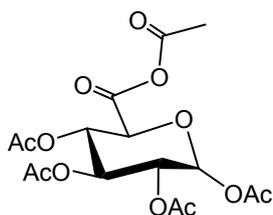
ES-LRMS $[M+Na]^+$ m/z = 832,35 valeur calculée pour $C_{38}H_{55}N_3NaO_{16}$,
 832.5 valeur trouvée.

¹H RMN (300 MHz, DMSO): δ 0.96 (d, 6 Hz, 6H, CH₃i-Bu), 1.32 (s, 9H, t-Bu), 1.47 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.71 (m, 2H, CH₂ CH(CH₃)₂), 2.01 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.04 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.06 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.08 (s, 3H, OC(O)CH₃), 2.44 (t, 5.5 Hz, 2H, CH₂CON), 2.80 (d, 6.7 Hz, 2H, CH₂CHCON), 3.62 (s, 3H, OMe), 3.46 (m, 2H, CH₂NH), 4.01 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 4.08 (m, 2H, CH₂OAc), 4.28 (m, 1H, CHCO₂Me), 5.10 (m, 2H, CHOC(O)CH₃, CHOC(O)CH₃), 5.25 (m, 1H, CHOC(O)CH₃), 5.39 (t, 5.6 Hz, 1H,

CHNHCOBoc), 6.66 (d, 9 Hz, 2H, Ph), 5.50 (d, 1H, 10 Hz, OCHOPh), 6.75 (br-s, 1H, NH), 7.00 (d, 9 Hz, 2H, Ph), 7.89 (br-s, 1H, NH), 8.29 (br-s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (75,5 MHz, DMSO) : δ 20.5, 20.77, 20.86, 21.1, 21.79, 23.16, 24.96, 28.62 (3C), 35.55, 36.95, 39.18, 39.46, 50.70, 52.26, 56.53, 68.2, 69.4, 69.94, 70.03, 71.22, 78.73, 98.3, 115.54 (2C), 128.64, 130.49 (2C), 155.60, 166.40, 169.82, 169.87, 170.11, 170.5, 171.11, 172.18, 173.59.

Anhydride glucuronique (86)



$C_{16}H_{20}O_{12}$
MM.: 404,32

Solide blanc,
Litt. :

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 5,26 ml d'Ac₂O et on ajoute 0,065g d'I₂ et 1 g de l'acide glucuronique (5.15 mmol); la solution est ensuite refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace.

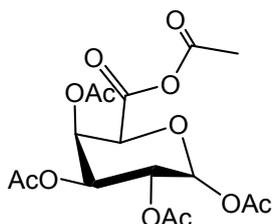
Le milieu est agité à 0°C pendant 2h, puis on laisse refroidir à température ambiante. On laisse agité à TA toute la nuit. Le milieu est ensuite séché au rotavap, puis le mélange réactionnel est dissous dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de Na₂S₂O₃ (2x100ml), puis avec une solution saturée de NaCl.

Séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé. Le produit est recristallisé dans le cyclohexane.

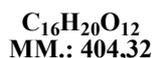
↳ Obtention de 1.85 g (89%) du composé **86**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 427,31 valeur calculée pour C₁₆H₂₀NaO₁₂,
427,3 valeur trouvée.

Anhydride galacturonique (87)



Pâteux.



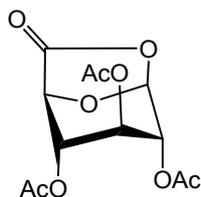
Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 5.26 ml d'Ac₂O et on ajoute 0.065g d'I₂ et 1 g d'acide galacturonique (5.15 mmol); la solution est ensuite refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace. Le milieu est agité à 0°C pendant 2h, puis on laisse refroidir à température ambiante. On chauffe à 60°C pendant 3 h puis on laisse agiter à TA toute la nuit.

Le milieu est ensuite séché au rotavap, puis le mélange réactionnel est dissous dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de Na₂S₂O₃ (2x100ml), puis avec une solution saturée de NaCl.

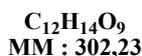
Séchage sur Na₂SO₄, filtration et évaporation. Obtention de 1.7 g (82%) du composé **87**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 427,31 valeur calculée pour C₁₆H₂₀NaO₁₂,
427,3 valeur trouvée.

1,6-glucofuranuronolactone (88)



Solide blanc.



Procédé A

Synthèse à partir des composés 86 :

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 11.9 ml d'acétate d'éthyle au mélange de produit **86** (1.6g ; 3.96mmol ; 1 equiv.) et Ce(OTf)₃ (0.96g ; 1.17mmol, .03 equiv.). Le milieu est agité à 0°C pendant 20 h à température ambiante. On chauffe à reflux pendant 5 h.

Le mélange réactionnel est lavé avec l'eau. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée de NaCl, séchée sur Na₂SO₄, filtrée et évaporée. Après recristallisation dans l'éthanol on obtient 1g (86%) du composé **88** sous forme d'un solide blanc.

Procédé B

Synthèse à partir de l'acide glucuronique:

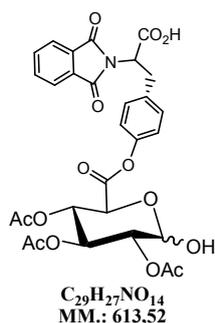
Dans un ballon, on introduit 3.9 ml d'Ac₂O (0.041 mol ; 8 équiv.) et on ajoute 0.065g d'I₂ (0.015 mol ; 3 équiv.) et 1 g de l'acide glucuronique (5.15 mmol); le milieu est placé dans la microonde (mode openvisel), et on chauffe à 110°C pendant 10 min.

Le milieu est ensuite séché au rotavap, puis le mélange réactionnel est dissous dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de Na₂S₂O₃ (2x100ml), puis avec une solution saturée de NaCl,

Séchage sur Na₂SO₄, filtration et évaporation. Après une recristallisation dans l'éthanol, on a obtenu 0.9 g (58%) du composé **86**.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 325.22 valeur calculée pour C₁₂H₁₄NaO₉,
325.2 valeur trouvée.

2,4,6-Tri-O- acétyl-α-D-glucopyranosyl-N-Phtaloyl-L-tyrosine (89)



Solide blanc, pf = 123°C.
[α]²²/D +18.2°, c = 1 in MeOH.

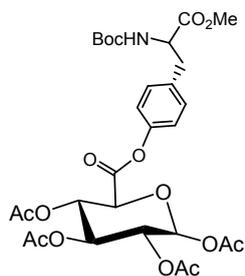
Synthèse à partir de composé **88**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit de *N*-phtalimido-*L*-tyrosine (0.66 mmol, 2 équiv.) et on ajoute du FeCl₂ (0.33 mmol, 1equiv.), et 0.1 g de composé **88** (0.33 mmol, 1 equiv). Le milieu est placé dans un four à microondes (mode openvisel), on chauffe à 77°C pendant 20 min.

Le milieu est ensuite séché au rotavap, puis le mélange réactionnel est dissous dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de NaCl. Séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle- cyclohexane (1-1). On obtient le produit **89** avec un rendement de 45%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 636,51 valeur calculée pour C₂₉H₂₇NNaO₁₄,
636,5 valeur trouvée.

2,4,6-Tri-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-*N*-Boc-*L*-tyrosine méthyl ester (**90**)



$C_{29}H_{37}NO_{15}$
MM: 639,6

Solide blanc, pf = 144°C.

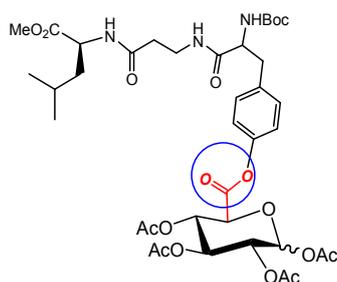
$[\alpha]^{22}_D +7.5^\circ$, c = 1 in MeOH.

Synthèse à partir de composé **86**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit de Boc-*L*-tyrosine-OMe (0.25 mmol, 1 équiv.) et on ajoute 10 ml de CH₂Cl₂, et 0.1 g de composé **86** (0.25 mmol, 1 équiv). Le milieu est agité à 0°C pendant 20h à température ambiante. Le mélange réactionnel est dissous dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (7-3). On obtient le produit **90** avec un rendement de 77%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 662,59 valeur calculée pour C₂₉H₃₇NNaO₁₅,
662,5 valeur trouvée.

2,4,6-Tri-*O*- acétyl- α -D-glucopyranosyl-*N*-Boc-*L*-tyrosyl- β -alanyl-*L*-leucyl méthyl ester (**91**)



$C_{38}H_{53}N_3O_{17}$
Mol. Wt.: 823,84

Solide blanc, pf = 122°C.

$[\alpha]^{22}_D +2.6^\circ$, c = 1 in MeOH.

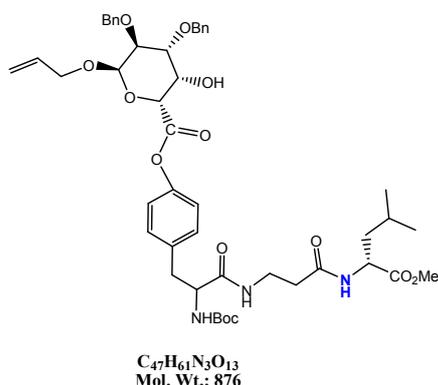
Synthèse à partir de composé **86** et **80**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.25 mmol de composé **80** (1 équiv.) et on ajoute 10 ml de CH₂Cl₂, et 0.1 g de composé **86** (0.25 mmol, 1 équiv.). Le milieu est agité à 0°C pendant 20h à température ambiante. Le mélange réactionnel est dissout dans le CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée de NaCl.

Séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On a obtenu le produit **91** avec un rendement de 57%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 844,81 valeur calculée pour C₃₈H₅₁N₃NaO₁₇,
844,7 valeur trouvée.

3,4-Di-O-benzyl-2-O-allyl-α-D-glucopyranoate de -N-Boc-L-tyrosyl-β-alanyl-L-leucyl méthyl ester (92)



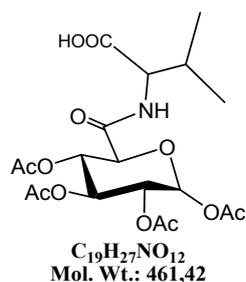
Solide blanc, pf = 102°C.
[α]²²/D +13.1°, c = 1 in CHCl₃.

Synthèse à partir de composé **74** et **80**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 g de composé **74** (0.24 mmol, 1 équiv.) dans 10 ml de CH₂Cl₂, et 0.243 mmol de composé **80** (1.01 équiv), ensuite on ajoute 0.24 mmol de DCC (1 équiv.) et 0.048 mmol de 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) (0.2 equiv.). Le milieu est agité pendant 20h à température ambiante. On filtre le solide qui se forme, puis on évapore le solvant. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-2). On a obtenu le produit **92** avec un rendement de 39%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 898,99 valeur calculée pour C₄₇H₆₁N₃NaO₁₃,
899.1 valeur trouvée.

Composé (93)



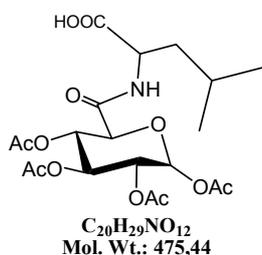
Solide blanc, pf = 105°C.

Synthèse à partir de composé **86**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de *DL*-valine et on ajoute 10 ml de CH₂Cl₂ et CH₃CN, et 0.1 mmol de composé **86** (1 équiv.). Le milieu est agité pendant 20h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On obtient le produit **93** avec un rendement de 37%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 484,41 valeur calculée pour C₁₉H₂₇NNaO₁₂,
484,4 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-leucylamide (94**)**



Solide blanc, pf = 100°C.

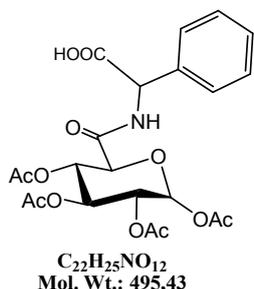
Synthèse à partir de composé **86**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de *DL*-leucine et on ajoute 10 ml de CH₂Cl₂ et CH₃CN, et 0.1 mmol de composé **86**. Le milieu est agité pendant 15 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl.

Séchage sur Na₂SO₄, filtration et évaporation. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (4-6). **94** est obtenu avec un rendement de 45%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS [M+Na]⁺ **m/z** = 498,43 valeur calculée pour C₂₀H₂₉NNaO₁₂,
498,5 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-phénylalanylamide (**95**)



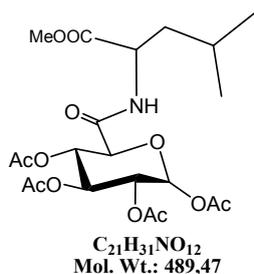
Solide blanc, pf = 112°C.

Synthèse à partir de composé **86**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol d' α -phényl glycine et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **86**. Le milieu est agité pendant 20 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na_2SO_4 , filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On a obtenu le produit **95** avec un rendement de 40%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 518,42$ valeur calculée pour $C_{22}H_{25}NNaO_{12}$,
518,4 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-leucylamide méthyl ester (**96**)



Solide blanc, pf = 88°C.

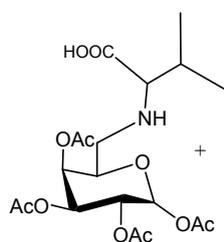
Synthèse à partir de composé **86** et **13**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de composé **13** et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **86**. Le milieu est agité pendant 20 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl.

Séché sur Na_2SO_4 , filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On obtient le produit **96** avec un rendement de 70%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 512,46$ valeur calculée pour $C_{21}H_{31}NNaO_{12}$,
512,5 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-valinylamide (97)



$C_{19}H_{27}NO_{12}$
Mol. Wt.: 461,42

Solide blanc, $pf = 98^{\circ}C$.

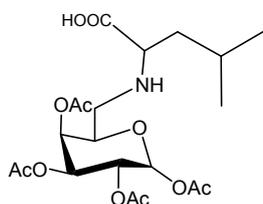
Synthèse à partir de composé **87**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de DL-valine et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **87**. Le milieu est agité pendant 24h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl.

Séchage sur Na_2SO_4 , filtration et évaporation. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle- cyclohexane (1-1). On obtient le produit **97** avec un rendement de 32%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 484,41$ valeur calculée pour $C_{19}H_{27}NNaO_{12}$,
484,5 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-leucylamide (98)



$C_{20}H_{29}NO_{12}$
Mol. Wt.: 475,44

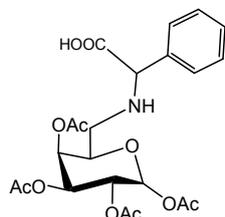
Pâteux.

Synthèse à partir de composé **87**:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de DL-leucine et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **87**. Le milieu est agité pendant 24 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na_2SO_4 , filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (4-6). On obtient **98** avec un rendement de 41%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 498,43$ valeur calculée pour $C_{20}H_{29}NNaO_{12}$,
498,5 valeur trouvée.

Composé (99)



$C_{22}H_{25}NO_{12}$
Mol. Wt.: 495,43

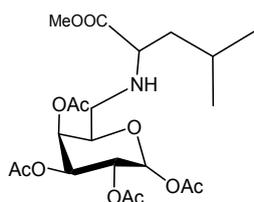
Solide blanc, pf = 87-89°C.

Synthèse à partir de composé 87:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1mmol d' α -phénylglycine et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **87**. Le milieu est agité pendant 24 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na_2SO_4 , filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On a obtenu le produit **99** avec un rendement de 24%, sous forme d'un solide blanc.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 518,42$ valeur calculée pour $C_{22}H_{25}NNaO_{12}$,
518,4 valeur trouvée.

Tétra-1,2,3,4-*O*-acétylglucopyranoyl-6-phénylalanylamide (100)



$C_{21}H_{31}NO_{12}$
Mol. Wt.: 489,47

Pâteux.

Synthèse à partir de composé 87 et 13:

Dans un ballon et sous courant d'argon, on introduit 0.1 mmol de composé **13** et on ajoute 10 ml de CH_2Cl_2 et CH_3CN , et 0.1 mmol de composé **87**. Le milieu est agité pendant 24 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na_2SO_4 , filtré et évaporé. Chromatographie sur gel de silice acétate d'éthyle-cyclohexane (1-1). On obtient **100** avec un rendement de 72%, sous forme d'un produit pâteux.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 512,46$ valeur calculée pour $C_{21}H_{31}NNaO_{12}$,
512,5 valeur trouvée.

CHAPITRE V

SYNTHESE DES ANALOGUES DE LA CRYPTOPHYCINE

1. Synthèse d'un analogue de la cryptophycine (104).

Les dernières étapes de notre synthèse pour avoir l'analogue **104** de la cryptophycine sont résumées dans le schéma 83. Le couplage du composé **67** avec le composé **35** dans le DCM en présence de DCC et de la triméthylamine conduit à **101** avec un rendement de 90%. Sous l'action d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium 0,2M sur **101** dans un mélange THF/eau (2 :1), on récupère **102** avec un rendement de 88%. Le traitement de ce dernier avec l'hydrate d'hydrazine dans le DCM permet d'arriver à **103** avec un rendement de 42%. Enfin, la réaction de ce dernier dans le DCM en présence de DCC donne le produit **104** avec un rendement de 66% après recristallisation dans l'éther.

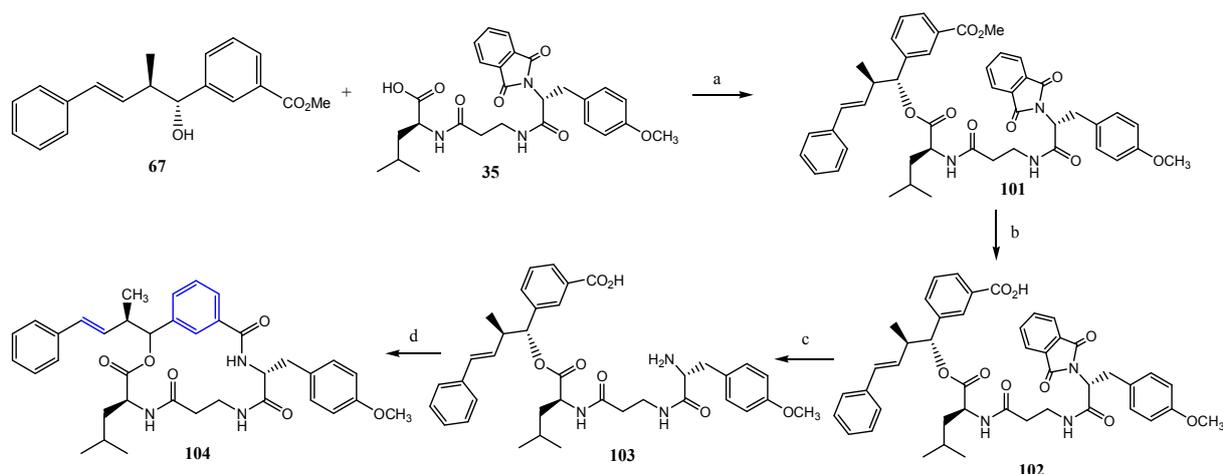


Schéma 83: (a) DCC, TEA, CH₂Cl₂, TA, 90%; (b) LiOH 0.2M, THF-H₂O, TA, 88%; (c) NH₂NH₂, CH₂Cl₂, TA, 42%; (d) DCC, CH₂Cl₂, TA, 66%.

2. Synthèse de l'analogue 108.

Enfin, les dernières étapes de notre synthèse pour avoir l'analogue **108** de la cryptophycine sont résumées dans le schéma 84. Le couplage de **67** avec **34** dans le DCM en présence de DCC et de la triméthylamine conduit au produit **105** avec un rendement de 90%. Sous l'action d'une solution aqueuse 0,2M d'hydroxyde de lithium sur **105** dans un mélange THF/eau (2 :1), on arrive au produit **106** avec un rendement de 77%. Enfin, le traitement de ce dernier avec l'hydrate d'hydrazine dans le DCM permet d'obtenir le produit **107** avec un rendement de 67%. Finalement, la réaction de ce dernier dans le DCM en présence de DCC conduit à **108** avec un rendement de 54% après recristallisation dans l'éther.

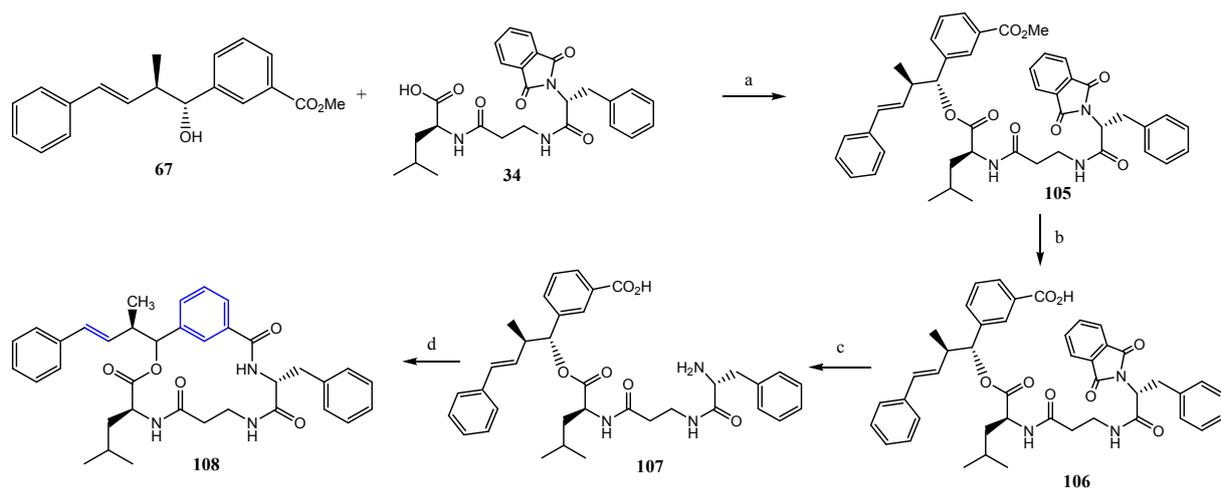
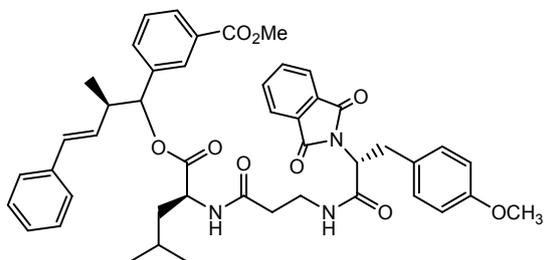


Schéma 84: (a) DCC, TEA, CH₂Cl₂, TA, 90%; (b) LiOH 0.2M, THF-H₂O, TA, 77%; (c) NH₂NH₂, CH₂Cl₂, TA, 67%; (d) DCC, CH₂Cl₂, TA, 54%.

Partie expérimentale relative à la synthèse des analogues de la cryptophycine

3-((2*R,E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoate de méthyle (101)



Solide jaune claire, Pf = 113°C.

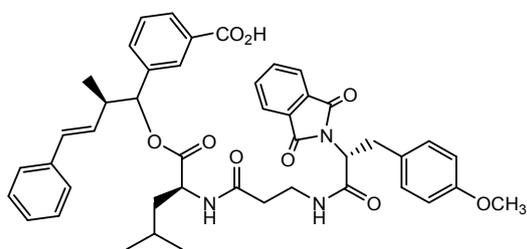
$C_{46}H_{49}N_3O_9$
Mol. Wt.: 787,9

Synthèse à partir de composé **67** et **35**:

Dans un bicol, à 0°C, on introduit le tripeptide **35** (1,19g ; 5.5 mmol) dans le DCM. On y ajoute le 3-((*1R,2R,E*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoate de méthyle **67** (0,63g ; 5.5mmol), suivi de la TEA (3 équiv.). On ajoute ensuite goutte à goutte le DCC (1,13g ; 5.5 mmol) dissous dans 20ml. On laisse agiter pendant 24 h ; on filtre le solide. On sèche, on filtre puis on évapore le DCM, ce qui donne lieu à 3.9 g (90%) de solide jaune clair.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 810,89$ valeur calculée pour $C_{46}H_{49}N_3NaO_9$,
810,7 valeur trouvée.

Acide 3-((2*R,E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoïque (102)



Solide blanc, Pf = 119-121°C.

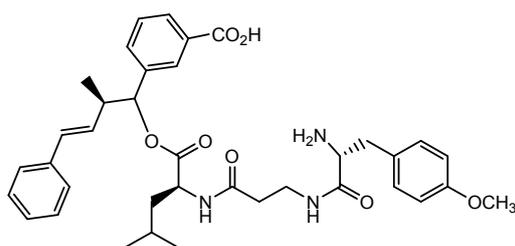
$C_{45}H_{47}N_3O_9$
MM.: 773,87

Synthèse à partir de composé **101**:

A une solution de composé **101** (0,5g ; 0.63 mmol, 1 équiv.) dans 6 ml d'un mélange de THF/eau (1/1) refroidi à 0°C, sont ajoutés 2ml (0.126mmol, 2 équiv.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0.2M). Après 4 h d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl 1N. La solution est alors extraite 3 fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 0.43 g (88%) de cristaux blancs.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 796,86$ valeur calculée pour $C_{45}H_{47}N_3NaO_9$,
796,6 valeur trouvée.

Acide 3-((2*R*,*E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-amino-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoïque (103**)**



Pâteux.

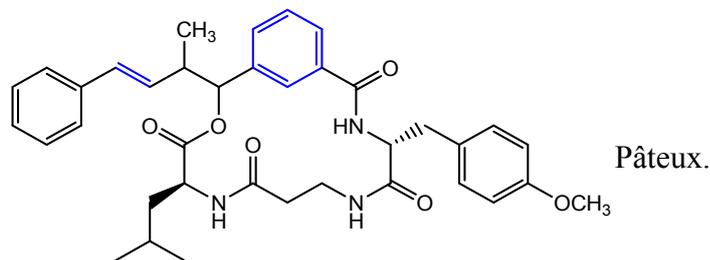
$C_{37}H_{45}N_3O_7$
MM: 643,77

Synthèse à partir de composé **102**:

On ajoute sous agitation et l'hydrate d'hydrazine (0,1 ml ; 2 équiv.) à une solution de composé **102** (0,4g ; 2,14mmol) dissous dans un mélange de DCM-MeOH (1/1, 4 ml) ; le mélange est maintenu à température ambiante pendant une nuit. On filtre et on évapore le mélange pour obtenir un solide. On ajoute 5 ml d'eau distillée, puis le résidu est alcalinisé à pH=11 avec une solution de NaOH, et extrait avec du DCM. Après séchage et évaporation du solvant, 0,18g (42%) de produit pâteux sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 663,75$ valeur calculée pour $C_{38}H_{44}N_2NaO_7$,
663,5 valeur trouvée.

Analogue de la Cryptophycine (104)



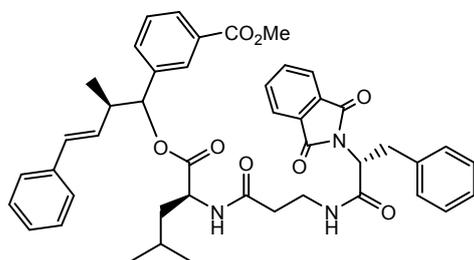
$C_{37}H_{43}N_3O_6$
MM.: 625,75

Synthèse à partir de composé 103:

Dans un bicol, à 0°C, on introduit de l'acide 3-((2*R*,*E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-amino-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoïque **103** (119mg, 0,55mmol) dans le DCM. On ajoute goutte à goutte le DCC (113mg, 0,55mmol) dans 2 ml de DCM. On laisse agiter pendant 4 jours ; on filtre le solide. On sèche, on filtre, puis on évapore le DCM. 0,23g (66%) de produit pâteux sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 648,74$ valeur calculée pour $C_{37}H_{43}N_3NaO_6$,
648.6valeur trouvée.

3-((2*R*,*E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoate de méthyle (105)



$C_{45}H_{47}N_3O_8$
MM.: 757,87

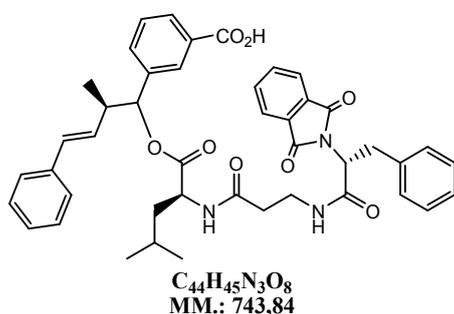
Solide blanc, $pf = 92^\circ C$.

Synthèse à partir de composé 67 et 34: Dans un bicol, à 0°C, on introduit le tripeptide **34** (1.19g, 5.5mmol) dans le DCM. On ajoute ensuite le 3-((*1R*,*2R*,*E*)-1-hydroxy-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoate de méthyle **67** (0,63g, 5.5mmol), suivis de TEA (3 équiv.). On ajoute goutte à goutte le DCC (1,13g, 5.5 mmol) dissous dans 20ml de DCM. On laisse agiter

pendant 72 h. on filtre le solide. On sèche, on filtre puis on évapore le DCM. 3.75 g (90%) de cristaux blancs sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 780,86$ valeur calculée pour $C_{45}H_{47}N_3NaO_8$,
780,6 valeur trouvée.

Acide 3-((2*R*,*E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoyloxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoïque (106)



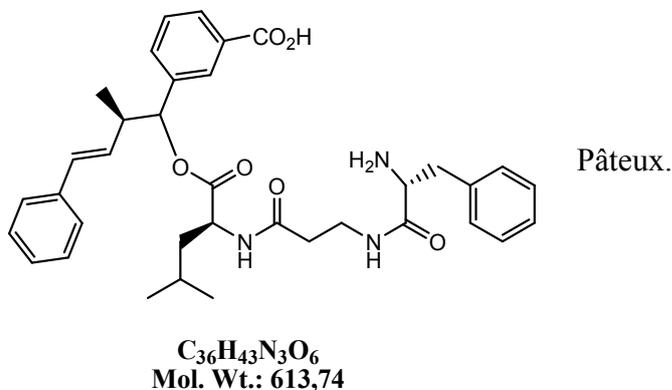
Solide blanc, Pf = 134°C.

Synthèse à partir de composé **105**:

A une solution de composé **105** (0,5g, 0,066mmol, 1 équiv.) dissous dans 6 ml d'un mélange de THF/eau (1/1) refroidi à 0°C, sont ajoutés 2,1ml (0.13 mmol, 2 équiv.) d'une solution aqueuse de LiOH 0,2M. Après 4h d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5ml d'une solution aqueuse d'HCl 1N. La solution est alors extraire trois fois par 50 ml d'acétate d'éthyle puis la phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 0.38 g (Rdt = 77%) de cristaux blancs sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 766,83$ valeur calculée pour $C_{44}H_{45}N_3NaO_8$,
766,5 valeur trouvée.

Acide 3-((2*R,E*)-1-((*S*)-2-(3-((*R*)-2-amino-3-(4-méthoxyphényl)propanamido)propanamido)-4-méthylpentanoxy)-2-méthyl-4-phénylbut-3-enyl)benzoïque (107)

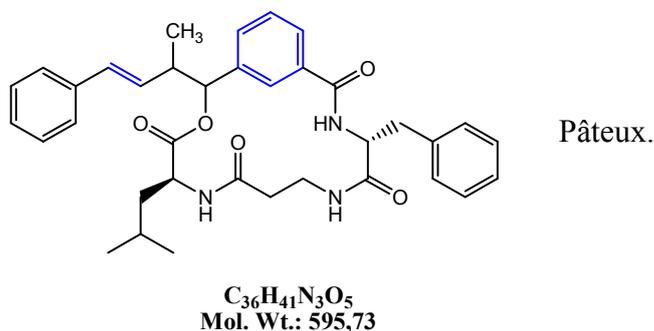


Synthèse à partir de composé 106:

On ajoute sous agitation l'hydrate d'hydrazine (0,09 ml, 0.8 mmol, 2eq.) à une solution de composé **106** (0,3g 0,4 mmol) dissous dans un mélange de DCM-MeOH (1/1, 4 ml). Le mélange est maintenu à température ambiante pendant une nuit. On filtre et on évapore le mélange, ce qui laisse un résidu solide. On ajoute 5 ml d'eau distillée, puis le résidu est alcalinisé à pH = 11 avec une solution de NaOH, et extrait avec Cl₂CH₂. 0.33 g (Rdt = 67%) de produit pâteux sont obtenus.

ES-LRMS [M+Na]⁺ m/z = 636,73 valeur calculée pour C₃₆H₄₃N₃NaO₆.
636,5 valeur trouvée.

Analogue de Cryptophycine (108)



Synthèse à partir de composé 107:

Dans un bicol refroidi à 0°C, on introduit le composé **107** (0,1g ; 0,16 mmol) dissous dans le DCM. On ajoute goutte à goutte le DCC (34mg, 0,16 mmol) dans 2 ml de DCM. On laisse

agiter pendant une semaine. On filtre le solide. On sèche, on filtre puis on évapore le DCM. 53mg (54%) de produit pâteux sont obtenus.

ES-LRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 618,72$ valeur calculée pour $C_{36}H_{41}N_3NaO_5$,
618. 0 valeur trouvée.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les efforts actuels de recherche dans le traitement des cancers se tournent vers les thérapies ciblées. L'objectif de ces thérapies est d'agir plus spécifiquement sur les cellules cancéreuses afin de limiter la toxicité des médicaments et de palier les phénomènes de résistance apparaissant lors des traitements en chimiothérapie.

Les cibles de ces nouvelles thérapies sont :

- les voies de signalisation cellulaire impliquées dans la prolifération et la différenciation des cellules.
- Le cycle cellulaire qui contrôle la division des cellules.
- Les phénomènes qui contrôlent l'angiogenèse.
- La restauration du phénomène d'apoptose.

Les microalgues marines, organismes unicellulaires, déjà utilisées dans des secteurs tels que la nutraceutique, la cosmétique ou l'agroalimentaire, sont une source présentant un fort potentiel pour la découverte de nouvelles molécules anticancéreuses. En effet,

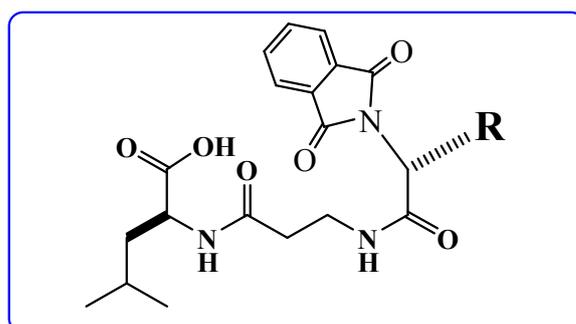
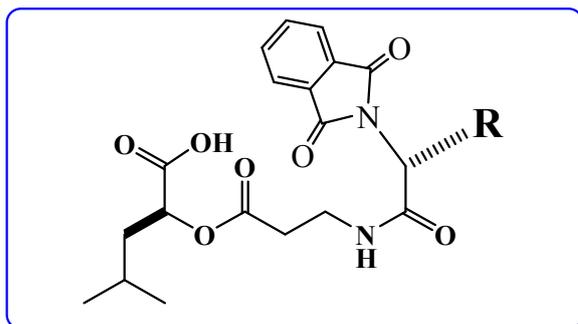
- les algues marines sont représentées par quatre lignées (bleu, rouge, verte et brune), alors que les végétaux terrestres ne sont représentés que par la lignée verte et les cyanobactéries.
- les cyanobactéries et les dinoflagellés ont déjà montré un fort potentiel pour la découverte de molécules à activités biologiques,
- les microalgues marines sont cultivables en photobioréacteur,
- les microalgues marines présentent une grande biodiversité.

Les cryptophycines sont des composés initialement identifiés en 1990 dans des extraits de l'algue bleu-vert du genre *Nostoc*, elles constituent l'un des meilleurs exemples récents dans la recherche de thérapies anticancéreuses,

Le but du travail de recherche assigné et présenté dans cette thèse portait sur plusieurs volets, notamment :

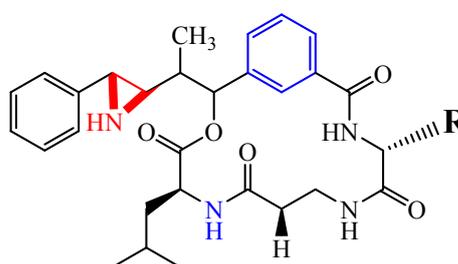
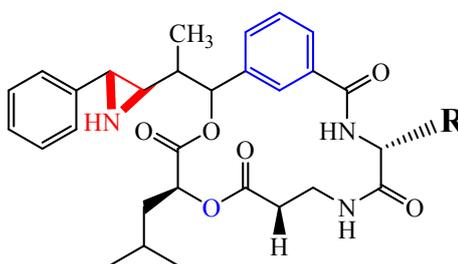
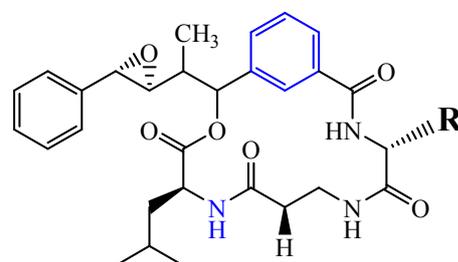
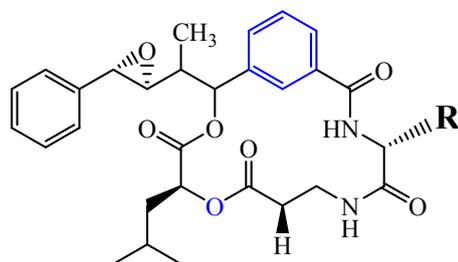
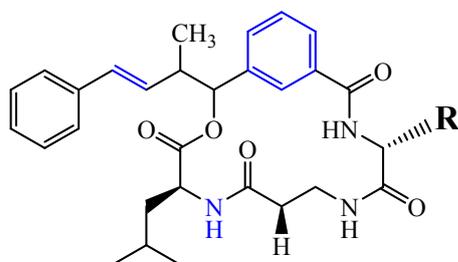
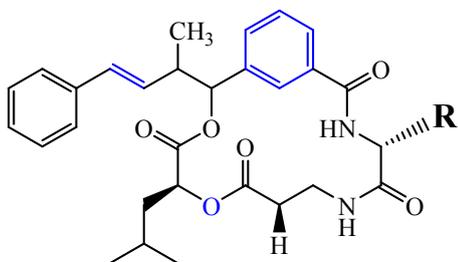
- la synthèse des analogues des fragments (B-C-D) de la cryptophycine,
- la synthèse stéréosélective d'un analogue aziridinyle du fragment A de la cryptophycine,
- la synthèse des dérivés glucidiques des fragments de la cryptophycine,
- la synthèse de dérivés de la cryptophycine.

Dans la première partie de cette thèse, l'objectif était la synthèse de fragment (B-C-D) de la cryptophycine, et ses analogues. Les fragments synthétisés ont été obtenus avec des bons rendements et par des voies synthétiques abordables:

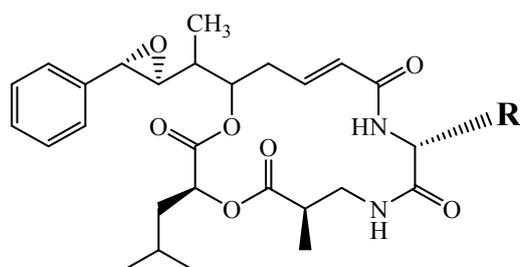
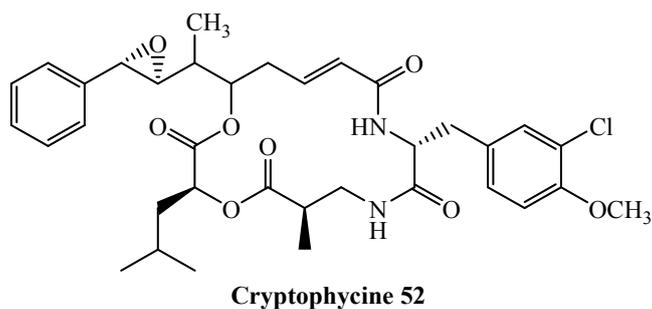


Ces informations ainsi que nos résultats permettent d'envisager plusieurs perspectives de recherche et une projection intéressante dans l'avenir :

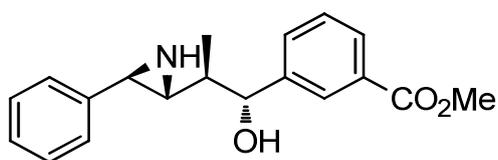
1. Pour chaque analogue de fragment (B-C-D) on peut envisager la synthèse de trois analogues de la cryptophycine, en espérant ainsi améliorer l'activité anticancéreuse de la cryptophycine initiale.



2. Pour chaque analogue du fragment (B-C-D), on peut aussi aboutir à un analogue de la cryptophycine-52, en prenant comme référence les travaux déjà lancés par Vinod F. Patel et Murakami, en gardant intact, le fragment A de la cryptophycine.

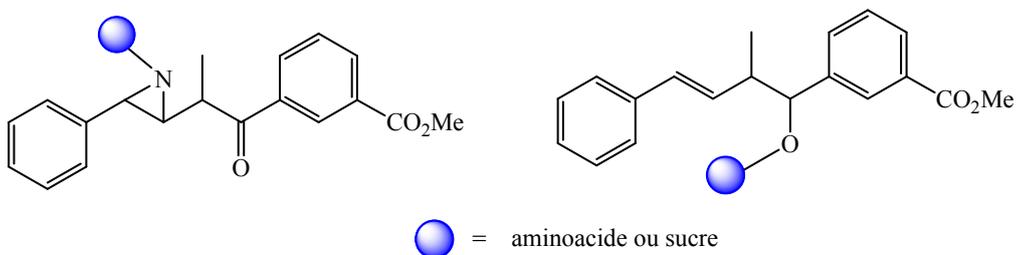


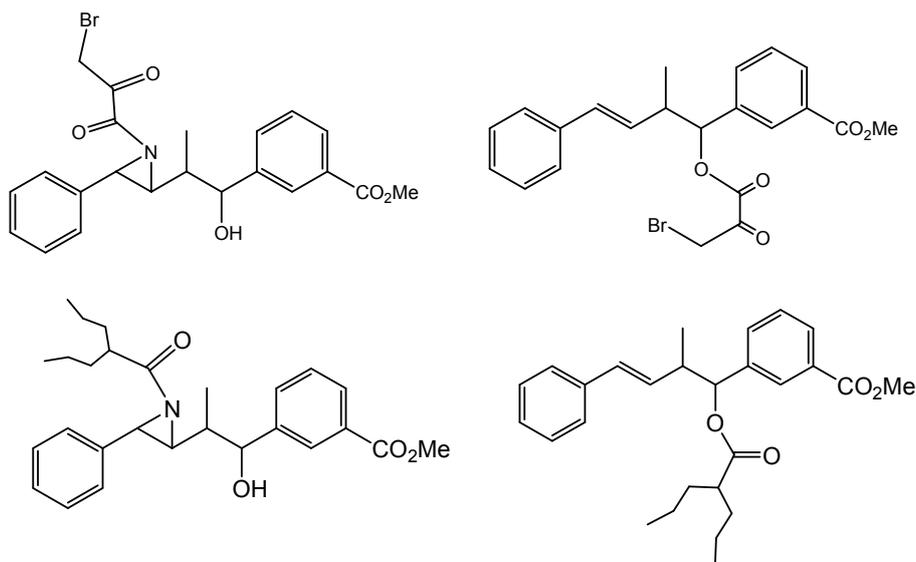
3. La seconde partie de cette thèse a, pour sa part, été consacrée au développement de méthodologies efficaces pour la synthèse stéréosélective d'un analogue aziridinyle du fragment A de la cryptophycine.



Nous avons conçu une synthèse stéréosélective d'un nouveau dérivé du fragment A de cryptophycine-1 avec un rendement global raisonnable. Les travaux se poursuivent pour améliorer la stéréosélectivité de l'ensemble du processus et explorer d'autres potentialités synthétiques.

4. Une fois l'analogue aziridinyle obtenu, on peut envisager, en guise de perspectives supplémentaires, de lui greffer différents substrats comme les aminoacides, les sucres, l'acide bromopurivique, l'acide valproïque... pour obtenir les molécules suivantes :





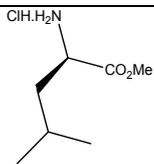
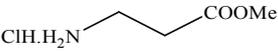
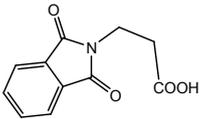
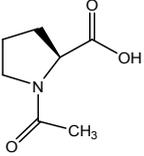
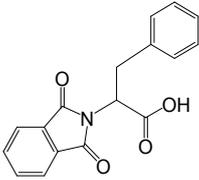
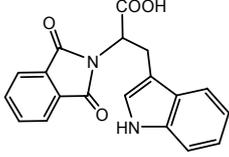
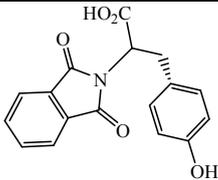
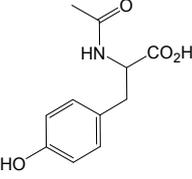
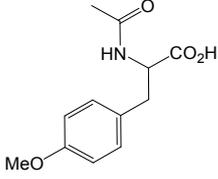
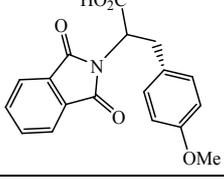
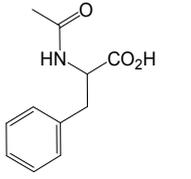
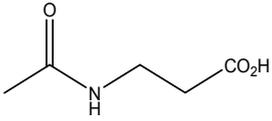
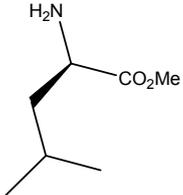
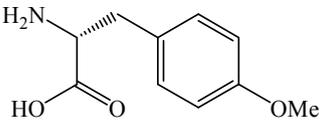
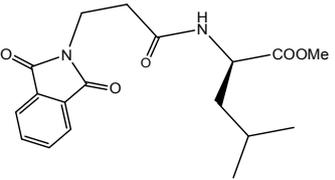
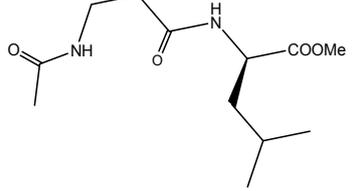
Toutes ces molécules nous permettront de mettre au point des hybrides originaux qui, nous l'espérons, verront leur activité biologique globale augmentée, en même temps que leur sélectivité sera plus pointue.

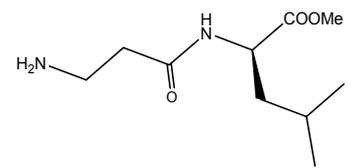
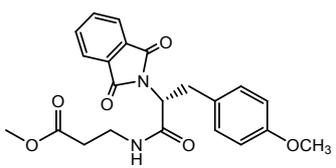
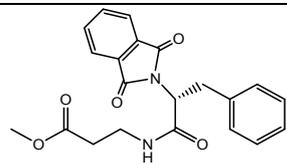
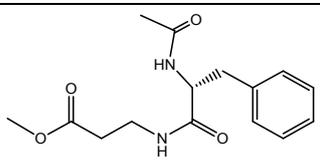
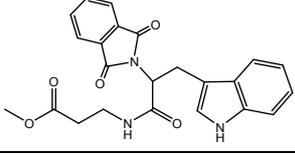
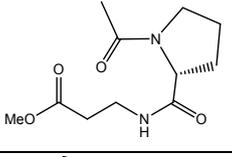
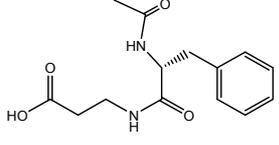
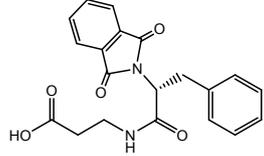
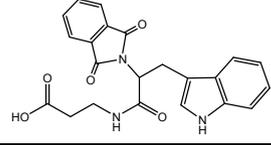
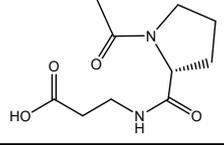
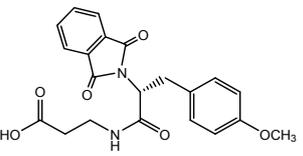
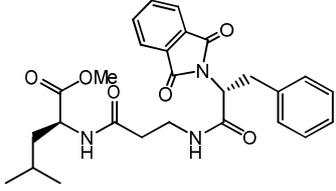
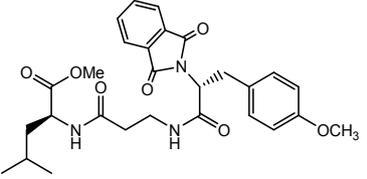
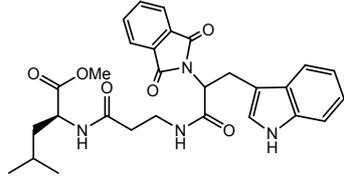
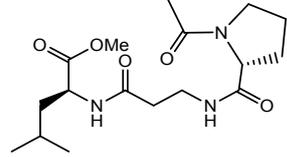
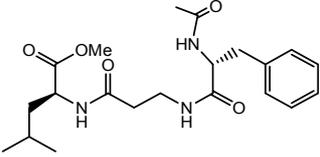
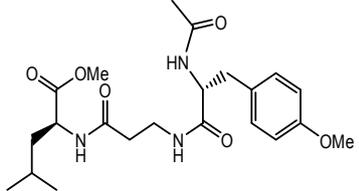
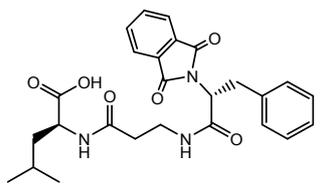
5. Une perspective intéressante serait la synthèse des analogues de la cryptophycine qui contiennent une fonction aziridine sur le fragment A dans l'espoir d'améliorer l'activité et la sélectivité du produit naturel par insertion d'une certaine rigidité dans sa structure.

6. Une autre partie de cette thèse a été consacrée à la synthèse de dérivés glucidiques des fragments (**B-C-D**), (**B-C**), **D**, et **B** de la cryptophycine. L'objectif consistait à coupler ces fragments avec le fragment A de la cryptophycine, afin d'aboutir à une nouvelle cryptophycine portant des motifs sucres. La présence d'un fragment sucre dans une cible pourrait contribuer aux propriétés de reconnaissance moléculaire supplémentaires de ce composé. En effet, nous supposons que l'incorporation de ces unités dans des composés thérapeutiques connus ou potentiels pourrait ouvrir la voie à la mise au point de nouveaux médicaments et / ou de nouveaux outils de diagnostic médical.

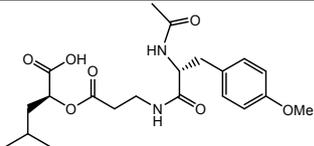
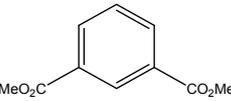
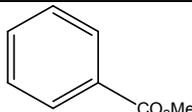
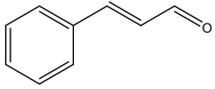
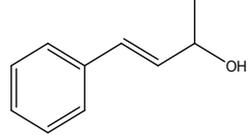
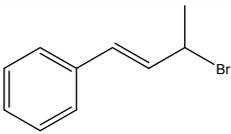
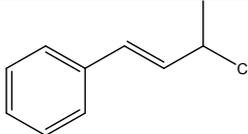
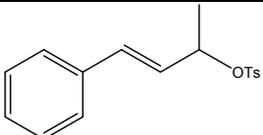
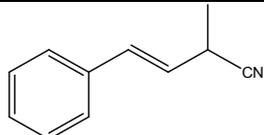
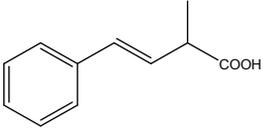
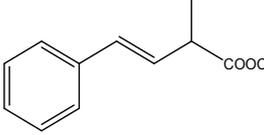
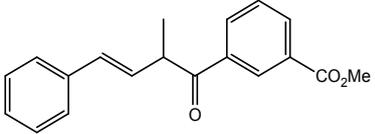
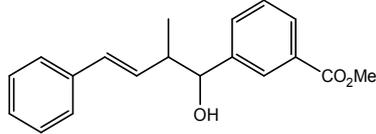
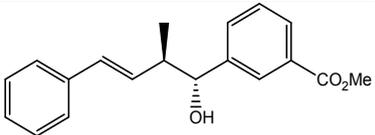
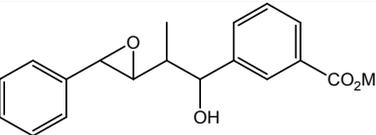
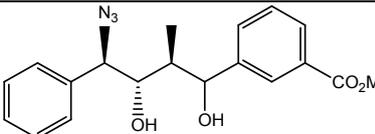
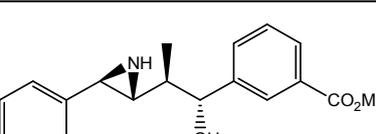
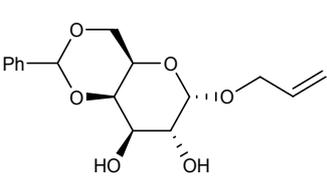
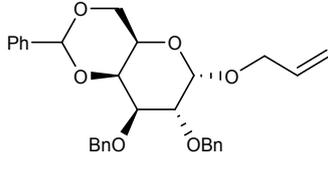
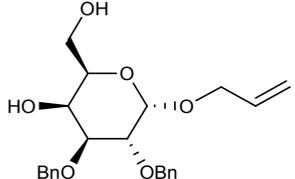
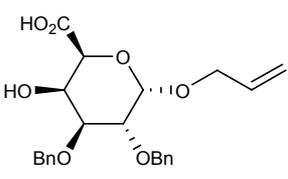
Au vu de tout ce qui précède et des résultats obtenus, ce travail nous ouvre des perspectives très intéressantes en matière de synthèse organique et de recherche en chimie bio organique et thérapeutique, notamment dans le domaine de la découverte de nouveaux principes actifs.

Index des structures synthétisées :

	n°	page		n°	page
	1	82		2	82
	3	83		4	83
	5	84		6	84
	7	85		8	86
	9	86		10	87
	11	88		12	88
	13	89		14	89
	15	107		16	109

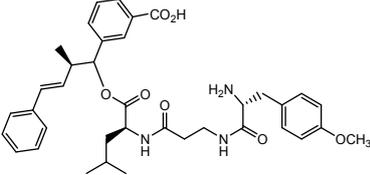
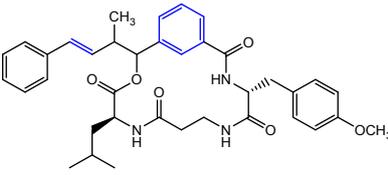
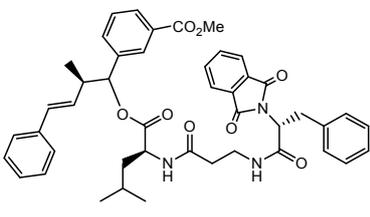
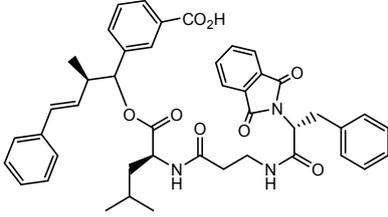
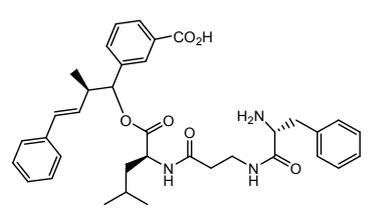
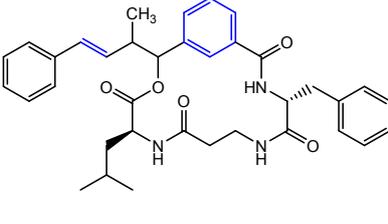
	17	110		18	110
	19	111		20	112
	21	112		22	113
	23	114		24	114
	25	115		26	116
	27	116		28	117
	29	118		30	119
	31	120		32	121
	33	122		34	122

	35	123		36	124
	37	124		38	125
	39	125		40	126
	41	127		42	128
	43	129		44	129
	45	130		46	130
	47	131		48	132
	49	132		50	133
	51	133		52	134

	53	134	CH ₃ I	54	156
	55	157		56	157
	57	158		58	158
	59	159		60	160
	61	161		62	162
	63	163		64	164
	65	164		66	166
	67	167		68	168
	69	168		70	169
	71	192		72	193
	73	194		74	195

	75	196		76	196
	77	197		78	198
	79	199		80	199
	81	200		82	201
	83	201		84	202
	85	203		86	204
	87	204		88	205

	<p>89</p>	<p>206</p>		<p>90</p> <p>206</p>
	<p>91</p>	<p>207</p>		<p>92</p> <p>208</p>
	<p>93</p>	<p>208</p>		<p>94</p> <p>209</p>
	<p>95</p>	<p>209</p>		<p>96</p> <p>210</p>
	<p>97</p>	<p>210</p>		<p>98</p> <p>211</p>
	<p>99</p>	<p>211</p>		<p>100</p> <p>212</p>
	<p>101</p>	<p>215</p>		<p>102</p> <p>216</p>

	<p>103</p>	<p>216</p>		<p>104</p>	<p>217</p>
	<p>105</p>	<p>217</p>		<p>106</p>	<p>218</p>
	<p>107</p>	<p>219</p>		<p>108</p>	<p>219</p>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) V., Bernades-Genisson, J., Bernadou, I., Berque-Bestel, J.D., Brion, J., Couquelet, M., Cussac, M., Debaert, O., Duval, S., Giorgi-Renault, J., Huet, R., Lacroix, J., Laronze, J.Y., Laronze, G., Le Baut, P., Loiseau, A., Nuhrich, M., Plat, J., Poisson, S., Robert-Piessard, C., Tournaire-Arellano, P. Uriac, M. Varache-Lembege, (Eds.) **2003** *Traité de chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers* Lavoisier.
- 2) Karp *Biologie cellulaire et moléculaire*. De Boeck Université. **2010**
- 3) D. Hanahan, R. Weinberg, *Cell* **2000**, 100, 57.
- 4) P. Lechat, Pharmacologie - DCEM1. In *Faculté de médecine Pierre et Marie Curie: Paris-VI*. **2006**
- 5) E. C. de Bruin, J. P. Medema *Cancer Treatment Reviews*, **2008**, 34(8), 737.
- 6) Kerr, J. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **1972**
- 7) E., Bremer, G., van Dam, B.J., Kroesen, L. de Leij, W., Helfrich, *Trends in Molecular Medicine*, **2006**, 12(8), 382.
- 8) J., Cohen, *Immunology Today* , **1993**, 14(3), 126.
- 9) V.Chaleix, *Synthèse et caractérisation de nouvelles porphyrines glucosylées peptidiques à motif RGD en vue de leur application en photothérapie dynamiques*. Thèse de Doctorat - Limoges: Faculté des Sciences et Techniques. **2003**
- 10) L. Gachard-Bouty *L'utilisation de la méthanèse des alcènes pour la synthèse de porphyrines O- et C-glycosylées éthyléniques : application à la photothérapie dynamique*. Thèse de Doctorat - Limoges: Faculté des Sciences et Techniques. **2003**
- 11) M.R., Detty, S.L. Gibson, S.J., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3897.
- 12) G. J.; Hum, D. L.; Bogdon, J. R. Bateman, *Oncology* **1974**, 30, 236.
- 13) J. S.; Webb, D. B.; Cosalich, J. H.; Mowat, J. B.; Patrick, R. W.; Broschard, W. E. E; Meyor, R. P.; Williams, C. F.; Wolf, W.; Fulmor, C.; Pidacks, J. E.; Lancaster, *J. Am. Chem. Soc.*. **1962**, 84, 3185.
- 14) S. E.; Wolkenberg, D. L. Boegr, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2477.
- 15) T.; Hata, F.; Koga, Y.; Sano, K.; Kanamori, A.; Matsumae, R.; Sugawara, T., Hosh, T.; Shimi, S.; Ito, S; Tomizawa, *J. Antibiot.* **1954**, 7, 107-112.
- 16) K.; Nagaoka, M.; Matsumoto, J.; Oono, K.; Yokoi, S.; Ishizeki, T.; Nakashima, *J. Antibiot.* **1864**, 39, 1527.
- 17) T.; Tsuchida, H.; Inuma, N.; Kinoshita, T.; Ikeda, T.; Sawa, M.; Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1995**, 48, 217.
- 18) M.; Hanada, H.; Ohkuma, T.; Yonemoto, K.; Tomita, M.; Ohbayashi, H.; Kamei, T.; Miyaki, M.; Konishi, H.; Kawaguchi, , S. Forenza *J. Antibiot.* **1991**, 44, 403-414.
- 19) C., Bailly, *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 77(9), 1447.
- 20) Nobili, S., Lippi, D., Witort, E., Donnini, M., Bausi, L., Mini, E. & Capaccioli, S., *Pharmacol. Res.*, **2009**, 59(6), 365.
- 21) W.C., Dunlap, C.N., Battershill, C.H., Liptrot, R.E., Cobb, D.G., Bourne, M., Jaspars, P.F. Long, D.J., Newman *Methods*, **2007**, 42(4), 358.
- 22) B., Haefner *Drug Discovery Today* , **2003**, 8(12), 536.

- 23) J.-M. Kornprobst, Paris: Lavoisier. **2005**.
- 24) K., Von Schwarzenberg, A.M. Vollmar, **2010** *Cancer Lett.*, doi:10.1016/j.canlet.2010.07.004.
- 25) K.B.Glaser, A.M.S. Mayer, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, 78(5), 440.
- 26) Mayer, A.M.S., K.B. Glaser, C. Cuevas, R.S. Jacobs, W. Kem, R.D. Little, J.M. McIntosh, D.J. Newman, B.C. Potts, D.E. Shuster, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2010**, 31(6), 255.
- 27) D.J. Newman, G.M. Cragg, C.N., Battershill, *Diving and Hyperbaric Medicine*, **2009**, 39(4), 216.
- 28) Olivera, B.M. (2000) *ω -Conotoxin MVIIA: from previous termmarinenext term snail venom to analgesic drug*. N.Fusetani. Thèse.
- 29) K.B. Glaser, A.M.S., Mayer, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, 78(5), 440.
- 30) A.E. Wright, D.A. Forleo, G.P. Gunawardana, S.P. Gunasekera, F.E. Koehn, O.J. McConnell, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55(15), 4508.
- 31) C. Cuevas, A. Francesch, *Natural Product Reports*, **2009**, 26(3), 322.
- 32) A.B. Herrero, C. Martín-Castellanos, E. Marco, F. Gago, S. Moreno, *Cancer Research*, **2006**, 66(16), 8155.
- 33) Y. Takebayashi, P. Pourquier, D.B. Zimonjic, K. Nakayama, S. Emmert, T. Ueda, Y. Urasaki, A. Kanzaki, S.I. Akiyama, N. Popescu, K.H. Kraemer, Y. Pommier, *Nature Medicine*, **2001**, 7(8), 961.
- 34) M. Zewail-Foote, L.H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123(27), 6485.
- 35) C. Gajate, F. An, F. Mollinedo, *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277(44), 41580.
- 36) R. Talpir, Y. Benayahu, Y. Kashman, L.Pannell, M. Schleyer, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35(25), 4453.
- 37) G. Kuznetsov, K. TenDyke, M. Towle, H. Cheng, J. Liu, J.P. Marsh, S.E.R. Schiller, M.R. Spyvee, H.,Yang, B.M. Seletsky, C.J. Shaffer, V. Marceau, Y. Yao, E.M. Suh, S. Campagna, F.G. Fang, J.J. Kowalczyk, B.A. Littlefield, *Mol. Cancer Therapeutics*, **2009**, 8(10), 2852.
- 38) T.L. Simmons, E. Andrianasolo, K. McPhail, P. Flatt, W.H. Gerwick, *Mol. Cancer Therapeutics*, **2005**, 4(2), 333.
- 39) Hamann, M.T., Otto, C.S., Scheuer, P.J. & Dunbar, D.C., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61(19), 6594.
- 40) Hamann, M.T. & Scheuer, P.J., Kahalalide F: *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115(13), 5825.
- 41) A. López-Macià , J.C. Jiménez, M. Royo, E. Giralt, F. Albericio, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123(46), 11398.
- 42) Y.H. Ling, M. Aracil, J. Jimeno, R. Perez-Soler, Y. Zou, *European Journal of Cancer*, **2009**, 45(10), 1855.
- 43) G.R. Pettit, Y. Kamano, Y. Fujii, C.L. Herald, M. Inoue, P. Brown, D. Gust, K. Kitahara, J.M. Schmidt, D.L. Doubek, C., Michael, *J. Nat. Products*, **1981**, 44(4), 482-485.
- 44) R. Bai, M.C. Roach, S.K. Jayaram, J. Barkoczy, G.R. Pettit, R.F. Luduena, E. Hamel, *Biochem. Pharmacol.* **1993**, 45(7), 1503.
- 45) A.Mitra, D. Sept, *Biochemistry*, **2004**, 43(44), 13955.

- 46) G.P. Kalemkerian, X., Ou, M.R. Adil, R. Rosati, M.M. Khoufani, S.K. Madan, G.R. Pettit, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **1999**, 43(6), 507.
- 47) N. R. Wall, R. M. Mohammad, A. M. Al-Katib, *Leukemia Research*, **1999**, 23(10), 881.
- 48) S. Banerjee, Z. Wang, M. Mohammad, F. H. Sarkar, R. M. Mohammad *J. Natural Products*, **2008**, 71(3), 492.
- 49) M. Kobayashi, T. Natsume, S. Tamaoki, J. I. Watanabe, H. Asano, T. Mikami, K. Miyasaka, K. Miyazaki, M. Gondo, K. Sakakibara, S. Tsukagoshi *Jpn. J. Cancer Research*, **1997**, 88(3), 316.
- 50) K. L. Jackson, J. A. Henderson, A. J. Phillips *Chem. Rev.*, **2009**, 109(7), 3044.
- 51) M. A. Jordan, K. Kamath, T. Manna, T. Okouneva, H. P. Miller, C. Davis, B. A. Littlefield, L. Wilson, *Mol. Cancer Therapeutics*, **2005**, 4(7), 1086.
- 52) T. Okouneva, O. Azarenko, L. Wilson, B. A. Littlefield, M. A. Jordan, *Mol. Cancer Therapeutics*, **2008**, 7(7), 2003-2011.
- 53) R. Cuadros, E. Montejo de Garcini, F. Wandosell, G. Faircloth, J-M. Fernández-Sousa, J. Avila *Cancer Letters*, **2000**, 152(1), 23.
- 54) A. M. Sánchez, S. Malagarie-Cazenave, N. Olea, D. Vara, C. Cuevas, I. Díaz-Laviada, I., *Eur. J. Pharmacol.*, **2008**, 584(2-3), 237.
- 55) J. D. Scott, R. M. Williams *Chem. Rev.*, **2002**, 102(5), 1669.
- 56) J. F. M. Leal, V. García-Hernández, V. Moneo, A. Domingo, J. A. Bueren-Calabuig, A. Negri, F. Gago, M. J. Guillén-Navarro, P. Avilés, C. Cuevas, L. F. García-Fernández, C. M. Galmarini *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 78(2), 162.
- 57) K. Kanoh, S. Kohno, T. Asari, T. Harada, J. Katada, M. Muramatsu, H. Kawashima, H. Sekiya, I. Uno *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **1997**, 7(22), 2847.
- 58) B. Nicholson, G. K. Lloyd, B. R. Miller, M. A. Palladino, Y. Kiso, Y. Hayashi, S. T. C. Neuteboom *Anti-Cancer Drugs*, **2006**, 17(1), 25.
- 59) Y. Yamazaki, K. Kohno, H. Yasui, Y. Kiso, M. Akamatsu, B. Nicholson, G. Deyanat-Yazdi, S. Neuteboom, B. Potts, G. K. Lloyd, Y. Hayashi *Chembiochem : a Eur. J. Chem. Biol.*, **2008**, 9(18), 3074.
- 60) T. Natori, M. Morita, K. Akimoto, Y. Koezuka *Tetrahedron*, **1994**, 50(9), 2771.
- 61) G. Yang, J. Schmieg, M. Tsuji, R. W. Franck *Angew. Chem. International Edition*, **2004**, 43(29), 3818.
- 62) K. S. Moore, S. Wehrli, H. Roder, M. Rogers, J. N. Forrest, D. McCrimmon, M. Zasloff, *Proc. Nat. Academy Sc. United States of America*, **1993**, 90(4), 1354.
- 63) D. Li, J. I. Williams, R. J. Pietras *Oncogene*, **2002**, 21(18), 2805.
- 64) K. V. Sashidhara, K. N. White, P. Crews *J. Nat. Products*, **2009**, 72(3), 588.
- 65) R. H. Feling, G. O. Buchanan, T. J. Mincer, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical *Angew. Chem. -International Edition*, **2003**, 42(3), 355.
- 66) W. Fenical, P. R. Jensen, M. A. Palladino, K. S. Lam, G. K. Lloyd, B. C. Potts, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17(6), 2175.
- 67) D. Chauhan, L. Catley, G. Li, K. Podar, T. Hideshima, M. Velankar, C. Mitsiades, N. Mitsiades, H. Yasui, A. Letai, H. Ova, C. Berkers, B. Nicholson, T. H. Chao, S. T. C. Neuteboom, P. Richardson, M. A. Palladino, K. C. Anderson *Cancer Cell*, **2005**, 8(5), 407.

- 68) G. R. Pettit, Y. Fujii, J. A. Hasler, J. M. Schmidt *J. Nat. Products*, **1982**, 45(3), 272.
- 69) P. A. Wender, C. M. Cribbs, K. F. Koehler, N. A. Sharkey, C. L. Herald, Y. Kamano, G. R. Pettit, P. M. Blumberg *Proc. Nat. Academy Sc. USA*, **1988**, 85(19), 7197.
- 70) N. Isakov, D. Galron, T. Mustelin, G. R. Pettit, A. Altman *J. Immun.*, **1993**, 150(4), 1195.
- 71) J. Kortmansky, G. K. Schwartz *Cancer Investigation*, **2003**, 21(6), 924.
- 72) L. F. García-Fernández, A. Losada, V. Alcaide, A. M. Álvarez, A. Cuadrado, L. González, K. Nakayama, K. I. Nakayama, J. M. Fernández-Sousa, A. Muñoz, J. M. Sánchez-Puelles *Oncogene*, **2002**, 21(49), 7533.
- 73) A. Cuadrado, L. F. García-Fernández, L. González, Y. Suárez, A. Losada, V. Alcaide, T. Martínez, J. M. Fernández-Sousa, J. M. Sánchez-Puelles, A. Muñoz *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278(1), 241.
- 74) M. V. De Souza *The Scientific World Journal [electronic resource]*, **2004**, 4, 415.
- 75) L. A. Martello, H. M. McDaid, D. L. Regl, C. H. Yang, D. Meng, T. R. R. Pettus, M. D. Kaufman, H. Arimoto, S. J. Danishefsky, A. B. Smith Iii, S. B. Horwitz, *Clin. Cancer Research*, **2000**, 6(5), 1978.
- 76) R. E. Longley, S. P. Gunasekera, D. Faherty, J. McLane, F. Dumont *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1993**, 696, 94.
- 77) D. T. Hung, J. Chen, S. L. Schreiber *Chem. Biol.*, **1996**, 3(4), 287.
- 78) K. N. Gerth, G. Bedorf, H. Hofle Irschik, H. Reichenbach (1996). *J Antibiot (Tokyo)* **1996** 49(6): 560-3.
- 79) F. Y., R. Lee, C. R. Borzilleri, S. H. Fairchild, B. H. Kim, C. Long, G. D. Reventos-Suarez, W. C. Vite Rose, R. A. Kramer., *Clin Cancer Res*, **2001**, 7(5):1429.
- 80) B., Lin, L. Catley, R. LeBlanc, C. Mitsiades, R. Burger, Y. T. Tai, K. Podar, M. Wartmann, D. Chauhan, J. D. Griffin K. C. Anderson., *Blood*, **2005**, 105(1): 350.
- 81) T., O'Reilly, M. Wartmann, S. M. Maira, M. Hattenberger, J. Vaxelaire, M. Muller, S. Ferretti, E. Buchdunger, K. H. Altmann, P. M. McSheehy., *Cancer Chemother. Pharmacol*, **2005**, 55(4): 307.
- 82) T. S., Mok, E. Choi, D. Yau, A. Johri, W. Yeo, A. T. Chan, C. Wong., *Oncology*, **2006**, 71(3-4): 292.
- 83) J., Liu, M. J. Towle, H. Cheng, P. Saxton, C. Reardon, J. Wu, E. A. Murphy, G. Kuznetsov, C. W. Johannes, M. R. Tremblay, H. Zhao, M. Pesant, F. G. Fang, M. W. Vermeulen, B. M. Gallagher, Jr., B. A. Littlefield., *Anticancer Res*, **2007**, 27(3B): 1509.
- 84) B. Bhattacharyya, J. Wolff *Proc. Natl Acad Sci U S A.*, 1974, 71(7): 2627.
- 85) P. G. Morris, M. N. Fornier., *Clin. Cancer Res.*, **2008**, 14(22): 7167.
- 86) Perez, E. A., *Mol Cancer Ther*, **2009**, 8(8): 2086.
- 87) J. Bennouna, J. L. Breton, J. M. Tourani, C. Ottensmeier, M. O'Brien, P. Kosmidis, T. E. Huat, M. C. Pinel, C. Colin, J. Y. Douillard *Br. J Cancer*, **2006**, 94(10): 1383.
- 88) P. G. Morris, M. N. Fornier., *Clin Cancer Res*, **2008**, 14(22): 7167.
- 89) M. A. Jordan, K. Kamath, T. Manna, T. Okouneva, H. P. Miller, C. Davis, B. A. Littlefield and L. Wilson., *Mol Cancer Ther*, **2005**, 4(7): 1086.
- 90) C. Gourmelon, J. S. Frenel, M. Campone (2011). *Expert Opin Pharmacother*.

- 91) G. D'Agostino, J. del Campo, B. Mellado, M. A. Izquierdo, T. Minarik, L. Cirri, L. Marini, J. L. Perez-Gracia, G. Scambia., *Int. J. Gynecol Cancer*, **2006**, *16*(1): 71.
- 92) G. J. Riely, S. Gadgeel, I. Rothman, B. Saidman, K. Sabbath, K. Feit, M. G. Kris, N. A. Rizvi., *Lung Cancer*, **2007**, *55*(2): 181.
- 93) A. C. Mita, L. A. Hammond, P. L. Bonate, G. Weiss, H. McCreery, S. Syed, M. Garrison, Q. S. Chu, J. S. DeBono, C. B. Jones, S. Weitman, E. K. Rowinsky. *Clin Cancer Res*, **2006**, *12*(17): 5207.
- 94) M. A. Jordan, L. Wilson *Nat Rev Cancer*. **2004**, *4*(4):253.
- 95) R. Vidya, MJ. Eggen, G. I. Georg, R. H. Himes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 757.
- 96) M. A. Jordan, L. Wilson *Nat. Rev. Can.*, **2004**, *4*, 253.
- 97) MJ. Eggen, G. I. Georg *Med. Res. Rev.*, **2002**, *22*, 85.
- 98) C. Shih, R. S. Al-Awar, A. H. Fray, M. J. Martinelli, E. D. Moher, B. H. Norman, V. F. Patel, R. M. Shultz, J. E. Toth, D. L. Varie, T. H. Corbett, R. E. Moore *in Anticancer Agents: Frontiers in Cancer Chemotherapy*: I. Ojima, G. D. Vite, K. Altmann Eds.; American Chemical Society: Washington, DC., **2001**, 796, 171.
- 99) R. Bai, R. E. Schwartz, J. A. Kepler, G. R. Pettit, E. Hamel E, *Cancer Res.*, **1996**, *56*, 4398.
- 100) M. A. Jordan, K. Wendell, S. Gardiner, W. B. Derry, H. Copp, L. Wilson *Cancer Res.*, **1996**, *56*, 816.
- 101) S. L. Mooberry, C. R. Taoka, L. Busquets *Cancer Lett.*, **1996**, *107*, 53.
- 102) D. Panda, H. P. Miller, K. Islam, L. Wilson *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **1997**, *94*: 10560.
- 103) D. Panda, K. DeLuca, D. Williams, M. A. Jordan, L. Wilson *Proc Natl Acad Sci USA.*, **1998**, *95*, 9313.
- 104) D. Panda, R. H. Himes, R. S. Moore, L. Wilson, M. A. Jordan *Biochem.*, **1997**, *36*: 12948.
- 105) (a) C. D. Smith, X. Zhang *J. Biol Chem.*, **1996**, *271*, 6192; (b) S. Nobili, D. Lippib, E. Witort, M. Donnini, L. Bausi, E. Mini, S. Capaccioli, *Pharmacological Research.*, **2009**, *59*, 365.
- 106) (a) C. D. Smith, X. Zhang, S. L. Mooberry, G. M. L. Patterson, R. E. Moore *Cancer Res.*, **1994**, *54*, 3779; (b) C. D. Smith, X. Zhang *J. Biol. Chem.*, **1996**; *271*(11), 6192.
- 107) G. D'Agostino, J. del Campo, B. Mellado, M. A. Izquierdo, T. Minarik, L. Cirri, L. Marini, JL Perez-Gracia, G. Scambia *J. Gynecol. Cancer* **2006**, *16*, 71.
- 108) W. N. Hait, E. Rubin, E. Alli, S. Goodin, *Update on cancer therapeutics.*, **2007**, *2*, 1.
- 109) M. M. Wagner, D. C. Paul, C. Shih, M. A. Jordan, L. Wilson, D. C. Williams *Cancer Chemother Pharmacol* **1999**, *43*(2), 115.
- 110) J. P. Stevenson, W. Sun, M. Gallagher, R. Johnson, D. Vaughn, L. Schuchter, K. Algazy, S. Hahn, N. Enas, D. Ellis, D. Thornton, P. J. O'Dwyer *Clin Cancer Res.*, **2002**, *8*(8), 2524.
- 111) K. Menon, E. Alvarez, P. Forler, V. Phares, T. Amsrud, C. Shih, R. Al-Awar, B. A. Teicher *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2000**, *46*(2), 142.
- 112) JM. Eggen, G. I. Georg. *Med Res Rev.*, **2002**, *22*, 85.

- 113) C. Sessa, K. Weigang-Köhler, O. Pagani, G. Greim, O. Mora, T. De Pas, M. Burgess, I. Weimer, R. Johnson *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 2388.
- 114) C. K. Sessa, O. Weigang-Köhler, G. Pagani, O. Greim, T. Mora *Eur J Cancer.*, **2002**, *38*(18), 2388.
- 115) J. P. Stevenson, W. Sun, M. Gallagher, R. Johnson, D. Vaughn, L. Schuchter, *Clin Cancer Res*, **2002**, *8*(8), 2524.
- 116) M. J. Edelman, D. R. Gandara, P. Hausner, V. Israel, D. Thornton, J. DeSanto, L. A. Doyle *Lung Cancer*, **2003**, *39*, 197.
- 117) G. Attard, A. Greystoke, S. Kaye, J. De Bono. *Pathologie Biologie* **2006**, *54*, 72.
- 118) C. D. Smith, X. Zhang, S. L. Mooberry, G. M. Patterson, R. E. Moore *Cancer Res.* **1994**, *54*, 3779.
- 119) (a) D. Panda, R. H. Himes, R. E. Moore, L. Wilson, M. A. Jordan *Biochemistry.*, **1997**, *36*, 12948; (b) D. Panda, K. DeLuca, D. Williams, M. A. Jordan, L. Wilson *Proc Natl Acad Sci USA.*, **1998**, *95*(16), 9313.
- 120) T. H. Corbett, F. A. Valeriote, L. Demchik, N. Lowichik, L. Polin, C. Panchapor, S. Pugh, K. White, J. Kushner, J. Rake, M. Wentland, T. Golakoti, C. Heltzel, J. Ogino, G. Patterson, R. Moore *Invest. New Drugs.*, **1997**, *15*, 207.
- 121) A. T. Fojo, M. Menefee *Semin. Oncol.*, **2005**, *32*, S3–S8.
- 122) A. Breier, M. Barancik, Z. Sulova, B. Uhrík, *Curr. Cancer Drug Targets* **2005**, *5*, 457.
- 123) Chaganty S, Golakoti T, Heltzel C, Moore RE, Yoshida WY.; *J Nat Prod.* **2004**; *67*(8):1403.
- 124) R. E. Schwartz, C. F. Hirsch, D. F. Sestin, J. E. Flor, M. Chartrain, R. E. Fromtling, G. H. Harris, M. J. Salvatore, J. M. Liesch, K. Yudin *J. Ind. Microbiol.* **1990**, *5*, 113.
- 125) G. Trimurtulu, I. Ohtani, G. M. L. Patterson, R. E. Moore, T. H. Corbett, F. A. Valeriote, L. Demchik *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4729.
- 126) M. Kobayashi, S. Aoki, N. Ohyabu, M. Kuroso, W. Wang, I. Kitagawa *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7969.
- 127) G. V. Subbaraju, T. Golakoti, G. M. L. Patterson, R. E. Moore *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 302.
- 128) M. Margaret, C. D. Wagner, P. Chuan Shih, M. A. Jordan, L. W. Daniel, C. William *Cancer Chemother Pharmacol* , **1999**, *43*, 115.
- 129) J. Liang, R. E. Moore, E. D. Moher, J. E. Munroe, R. S. Al-awar, D. A. Hay, D. L. Varie, T. Y. Zhang, J. A. Aikins, M. J. Martinelli, C. Shih, J. E. Ray, L. L. Gibson, V. Vasudevan, L. Polin, K. White, J. Kushner, C. Simpson, S. Pugh, T. H. Corbett *Invest. New Drugs*, **2005**, *23*, 213.
- 130) R. R. Bionpally, L. Polin, S. L. Zhou, B. R. Jasti, R. A. Wiegand, K. White, J. Kushner, J. P. Horwitz, T. H. Corbett, R. E. Parchment *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2003**, *52*, 25.
- 131) J-M. de Muys, R. Rej, D. Nguyen, B. Go, S. Fortin, J-F. Lavallée. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*(10), 1111.
- 132) M. A. Tius *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 4343.
- 133) C. A. Mast, S. Eißler, A. Stoncbius, H-G. Stammer, B. Neumann, N. Sewald. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 4667.

- 134) S. Chaganty, G. Trimurtulu, C. Heltzel, R. E. Moore, Y. W. Yoshida. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1403.
- 135) V. G. Subbaraju, G. Trimurtulu, G. M. L. Patterson, R. E. Moore. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 302.
- 136) R. Barrow, T. Hemscheidt, S. Paik, J. Liang, R. E. Moore, M. A. Tius. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 2479.
- 137) K. M. Gardinier, J. W. Leahy. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7098.
- 138) H. Hioki, M. Okuda, W. Miyagi, S. Ito. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 6131.
- 139) P. D. Jefferey, S.W. McCombie. *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 587.
- 140) G. M. Salamonczyk, K. Han, Z.-W Guo, C. J. Sih. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6893.
- 141) J. Liang, E. D. Moher, R. E. Moore, D. W. Hoard. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 3143.
- 142) D. L. Varie, J. Brennan, B. Briggs, J. S. Cronin, D. A. Hay, J. A. Rieck, M. J. Zmijewski. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 8405.
- 143) T. Nakai, K. Mikam. *Org. React.*, **1994**, *46*, 105.
- 144) J. Liang, D. W. Hoard, V. V. Khau, M. J. Martinelli, E. D. Moher, R. E. Moore, M. A. Tius. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 1459.
- 145) H. C. Brown, K. S. Bhat, R. S. Randad. *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 1570.
- 146) H. C. Brown, K. S. Bhat. *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 5919.
- 147) H. C. Brown, N. N. Joshi. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4059.
- 148) J. D. White, J. Hong, L. A. Robarge. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6206.
- 149) M. Kobayashi, W. Wang, N. Ohyabu, M. Kurosu, I. Kitagawa. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 1598.
- 150) A. K. Ghosh, A. Bischoff. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1573.
- 151) M. Eggen, C. J. Mossman, S. B. Buck, S. K. Nair, L. Bhat, S. M. Ali, E. A. Reiff, T. C. Boge, G. I. Georg. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7792.
- 152) R. Noyori. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis* Wiley, New York (1994)
- 153) R. Rej, D. Nguyen, B. Go, S. Fortin, J.-F Lavalée. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6289.
- 154) M. Furuyama, I. Shimizu. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1351.
- 155) J. A. Christopher, P. J. Kocienski, A. Kuhl, R. Bell. *Synlett.*, **2000**, 463.
- 156) C. Pousset, M. Haddad, M. Larchevêque. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 7163.
- 157) J. Liang, E. D. Moher, R. E. Moore, D. W. Hoard. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3143.
- 158) R. Barrow, R. E. Moore, L.-H. Li, M. A. Tius. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 3339.
- 159) V. Ramadas. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 757.
- 160) N. Murakami, W. Wang, N. Ohyabu, T. Ito, S. Tamura, S. Aoki, M. Kobayashi, I. Kitagawa. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9121.
- 161) Janecki T, Błaszczak E, Studzian K, Janecka A, Krajewska U, Rózalski M. ; *J Med Chem.* **2005**, *19*, 48(10), 3516.
- 162) M. Bodanszky, Y. S. Klausner, A. M. Ondentti, *Peptide synthesis*. Wiley, New York, **1976**, 26.
- 163) E. Schnabel. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *188*, 702.
- 164) A. Ali, F. Fahrenholz, B. Weinstein. *Angew. Chem. Int.Ed.* **1972**, *11*, 29.
- 165) M. Itoh, D. Hgiwara, T. Kamiya. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4393.
- 166) M. Itoh, D. Hgiwara, T. Kamiya. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 718.
- 167) H. Yajima, H. Kawatani, Y. Kiso. *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, *1*, 50.

- 168) E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595.
- 169) E. H. Carter, L. R. Franc, W. H. Johnston *Organic Synthesis*. **1955**, *3*, 167.
- 170) R. D. Hwang, P. Helquist, S. M. Shekhani *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1264.
- 171) H. C. Levenson, B. R. Meyer Jr. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 228.
- 172) J. Mathieu, R. Panico *Mécanismes réactionnels en Chimie Organique*. **1972**, Hermann Ed. n° 1357.
- 173) Patel VF, Andis SL, Kennedy JH, Ray JE, Schultz RM *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2588.
- 174) http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1912
- 175) L. Friedman, Harold Shechter. *J. Org. Chem.*, **1960**, *25*(6): 877.
- 176) Organikum, 22. Edition (German), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, ISBN 3-527-31148-3.
- 177) B. Saha, T. V. R. Babu, T.V. *Org. Lett.* **2006**, *8*(20), 4657.
- 178) J. C. Hanekamp, R. B. Rookhuizen, H. J. Y. Bos, L. Brandsma, L. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *48*, 5151.
- 179) G. M. Salamonczyk, K. Han, Z-W. Guo, C. J. Sih *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6893.
- 180) F. Guenadil, H. Aichaoui, D. M. Lambert, C. R. McCurdy, J. H. Poupaert *Lett. Org. Chem.*, **2008**, *5*, 665.
- 181) C. M. Crudden, A. C. Chen, L. A. Calhoun *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 2852.
- 182) M. B. Smith, Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry (Longman) **2011**, 5th ed., 572, Exp. 5.62.
- 183) W. T. Lippincott *J. Chem. Education* **1978**, *55*, 12.
- 184) O. Chaloin, F. Cabart, J. Marin, H. Zhang, G. Guichard *Org. Synth.* **2008**, *85*, 147.
- 185) R. S. Atkinson, John Wiley & Sons. *Stereoselective Synthesis*. ISBN 0-471-95250-8 **1995**, 297.
- 186) E. P. Lodge, C. H. Heathcock, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3353.
- 187) A. Padwaa, S. Shaun Murphreeb; *Arkivoc, Epoxides and aziridines - A mini review, ARKIVOC*, **2006**, (iii), 6-33.
- 188) M. A. Loreto, L. Pellacani, P. A. Tardella, E. Toniato *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25*(38), 4271.
- 189) P. Scheiner *Tetrahedron*, **1968**, *24*(6), 2757.
- 190) R. Hili, A. K. Yudin *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*(46), 14772.
- 191) (a) Hoch, *Compt. rend.*, **1934**, *196*, 1865; (b), idem., **1936**, 799; (c), ibid., **1937**, 204, 358; K. N. Campbell, J. F. Mckenna, *J. Org. Chem.*, **1939**, *4*(2), 198 ; (d) K. N. Campbell, B. K. Campbell, E. P. Chaput; *J. Org. Chem.*, **1943**, *8*(1), p. 99; (e) K. N. Campbell, B. K. Campbell, J. F. Mckenna, E. P. Chaput *J. Org. Chem.*, **1943**, 103.
- 192) (a) C. Dye, B. G. Williams *Science*, **2010**, *328*, 856; (b) B. Cao, S. J. Williams *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 919; (c) K. Ohtsubo, J. D. Marth *Cell* **2006**, *126*, 855; (d) S. M. Muthana, C. T. Campbell, J. C. Gildersleeve *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 31; (e) Xi Chen, *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*(1), 14; (f) B. Cao, J. M. White, S. J. Williams *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 369.
- 193) (a) J. A. Singh, C-X. Xu, X. Xu, L. M. West, A. Wilines, A. Chan, E. Hamel, J. H. Miller, P. T. Northcote, A. K. Ghosh *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2; (b) J. G. Swoboda, E.

- Mylonakis, B. J. Wilkinson, S. Walker *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 106; (c) T. J. Boltje, T. Buskas, G.-J. Boons *Nature Chemistry*, **2009**, *1*, 611.
- 194) G. J. L. Bermudes, B. Castagner, P. H. Seeberg *ACS Chem Biol.* **2009**, *4*, 703.
- 195) L. Schofield, M. C. Hewitt, K. Evans, M. A. Siomos, P. H. Seeberg *Nature*, **2002**, *418*, 785.
- 196) (a) J. A. Prescher, C. R. Bertozzi *Cell* **2006**, *126*, 851; (b) O. T. Keppler, R. Horstkorte, M. Pawlita, C. Schmidt, W. Reutter *Glycobiology* **2001**, *11*, 11.
- 197) (a) I. O. Potapenko, V. D. Haaneken, T. Luders, A. Helland, I. Bukholm, T. Sorlie, V. N. Kristensen, O. C. Lingjaerde, A. L. Borresen-Dale *Mol. Oncol.* **2010**, *4*, 98; (b) H. Yu, X. Chen *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 865; (c) M. Gutterigg, S. Burgmayr, G. Poltl, J. Rudolf, E. Staudacher *Glycoconjugates J.* **2007**, *24*, 475.
- 198) C. I. Gama, S. E. Tully, N. Sotogatu, P. M. Clark, M. Rawat, N. Vaidehi, W. Goddard 3rd, A. Nishi, L. C. Hsieh-Wilson *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 467.
- 199) R. Santiago, R. A. Malvar *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11*, 691.
- 200) M. Bosco, S. Rat, J. Kovensky, A. Wadouachi *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 2553.
- 201) M. Goedel, H.-G. Nothofer, G. Roß, I. Ugi *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 3123.
- 202) S. Kramer, B. Nolting, A.-J. Ott, C. Vogel, *J. Carbohydr. Chem.*, **2000**, *19*, 891.
- 203) P. Nielsen, H. M. Pfundheller, C. E. Olsen, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 3423.
- 204) P. Collins, R. Ferrier, *Monosaccharides, Their Chemistry and Their Roles in Natural Products*, Edition John Wiley & Sons Ltd, **1998**.
- 205) L. Somsak, R. J. Ferrier, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1991**, *49*, 37.
- 206) Z. Zhang, G. Magnusson, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 2394.
- 207) S. H. Burstein, H. J. Ringold, *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86*, 4952.
- 208) R. Johansson, B. Samuelsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 2371.
- 209) E. R. Palmacci, P. H. Seeberger, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 7755.
- 210) Lu Jiang, Tak-Hang Chan, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 355.
- 211) T. Mikami, H. Asano, O. Mitsunobu, *Chem. Lett.*, **1987**, 2033.
- 212) P. V. Murphy, J. L. O'Brien, L. J. Gorey-Feret, A. B. Smith, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 2259.