



HAL
open science

Synthèse d'inhibiteurs potentiels de glycosidases et d'urées cycliques de conformation restreinte

Delphine Baumann

► **To cite this version:**

Delphine Baumann. Synthèse d'inhibiteurs potentiels de glycosidases et d'urées cycliques de conformation restreinte. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2007. Français. NNT : 2007CLF21812 . tel-00718540

HAL Id: tel-00718540

<https://theses.hal.science/tel-00718540>

Submitted on 17 Jul 2012

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

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

Numéro d'ordre : D. U. 1812

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
(U.F.R. de Sciences et Technologies)

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES
N° : 557

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(*Spécialité* : Chimie Organique)

Par

Delphine BAUMANN

Ingénieur de l'École Nationale Supérieure de Clermont-Ferrand
Diplômée d'Etudes Approfondies de l'Université Blaise Pascal

**Synthèse d'inhibiteurs potentiels de glycosidases et d'urées
cycliques de conformation restreinte**

Soutenue publiquement le 18 Décembre 2007, devant la Commission d'Examen :

Président :

Michel MADESCLAIRE

Professeur

Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand I

Rapporteurs :

Gilles DUJARDIN

Directeur de Recherche-CNRS

Université du Maine

Olivier MARTIN

Professeur

Université d'Orléans

Examineurs :

Christian MARAZANO

Directeur de Recherche-CNRS

ICSN, Gif sur Yvette

Yves TROIN

Professeur

E.N.S.C. – Clermont-Ferrand

Isabelle RIPOCHE

Maître de Conférence

E.N.S.C. – Clermont-Ferrand

Khalil BENNIS

Maître de Conférence

E.N.S.C. – Clermont-Ferrand

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Chimie des Hétérocycles et des Glucides, sous la direction du Professeur Yves Troin et des Docteurs Isabelle Ripoché et Khalil Bennis.

Je tiens particulièrement à remercier le Professeur Yves Troin, responsable de ce laboratoire, de m'avoir accueilli ainsi de la confiance qu'il m'a témoignée en me confiant ce sujet de thèse.

J'adresse toute ma gratitude à Monsieur Olivier Martin, Professeur à l'Université d'Orléans et Monsieur Gilles Dujardin, Directeur de Recherche CNRS à l'Université du Maine, qui m'ont fait l'honneur de juger mon travail et d'en être les rapporteurs.

Je remercie Monsieur le Professeur Michel Madec de l'Université d'Auvergne, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de présider le jury de cette thèse.

Je tiens également à remercier Monsieur Christian Marazano, Directeur de Recherche CNRS à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif sur Yvette d'avoir accepté de participer à ce jury.

J'adresse mes remerciements à Madame Isabelle Ripoché et Monsieur Khalil Bennis, Maîtres de Conférences à l'ENSC de Clermont-Ferrand, pour leur aide et leur patience tout au long de ce travail de recherche, pour leur disponibilité, leur soutien.

Je remercie vivement, Marielle Lemaire, Professeur à l'Université Blaise Pascal, pour son aide lors des tests sur les glycosidases ; Eric Debiton de l'UMR-INSERM U-484 de Clermont-Ferrand, d'avoir réalisé les tests de cytotoxicité des urées synthétisées ; et Vincent Théry, Maître de Conférences à l'Université Blaise Pascal, pour la réalisation des différentes modélisations.

Je ne saurais oublier les autres membres du laboratoire présents et « passés », que je remercie entre autre pour leurs encouragements, leur soutien et la sympathie qu'ils m'ont témoignés pendant ces trois années : Annabelle, Elisabeth, Pierre(s), Jean-Philippe, Jean-Louis, Sylvie, Gilles, Hélène, Claire, Bertrand, Wahid, Nuno et tout particulièrement Olivier, Anne-Lise et Safia.

Je remercie enfin de tout cœur mes parents, qui m'ont épaulé tout au long de mes études, ainsi que mon frère et Sébastien. Merci encore pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Préambule

Nous précisons quelques éléments utiles pour la lecture de ce rapport de thèse, concernant la numérotation, les références et les abréviations utilisées :

- les structures utiles à la compréhension de nos propos, seront notées en **chiffre romain gras souligné**. A chaque chapitre la numérotation reprendra au numéro I.

Les autres composés seront indiqués en chiffre **arabe gras souligné**.

- pour faciliter la lecture, les références bibliographiques citées seront explicitées en bas de page. Par contre les références mentionnées plusieurs fois dans ce mémoire auront le même numéro.
- à la fin du rapport, un glossaire répertorie les abréviations concernant les produits chimiques utilisés au cours de ce travail.

Sommaire

Chapitre 1 : Les inhibiteurs de glycosidases

I. Les glycosidases	1
I.1. Généralités.....	1
I.2. Les rôles des glycosidases.....	2
I.3. Mécanisme	2
I.3.1. Mécanisme avec inversion de configuration.....	2
I.3.2. Mécanisme avec rétention de configuration.....	3
I.3.3. Modèle général de l'état de transition.....	4
II. Les inhibiteurs de glycosidases	5
II.1. Les différentes classes d'inhibiteurs	5
II.1.1. Les aminocyclitols polyhydroxylés.....	6
II.1.2. Les iminosucres polyhydroxylés.....	7
II.1.3. Synthèses d'indolizidines polyhydroxylées	11
III. Conclusion	15
IV. Notre stratégie de synthèse	16
V. Schéma synthétique	18
VI. Etude en série racémique à partir de l'amine (±)-28	18
VI.1. Préparation de l'amine racémique (±)-28.....	18
VI.2. Réaction de cyclisation à partir de l'amine (±)-28.....	19
VI.3. Protection de l'atome d'azote de la pipéridine.....	20
VI.4. Hydrolyse de l'acétal de la pipéridine (±)-34.....	20
VI.5. Réduction diastéréosélective de la pipéridone (±)-35.....	21
VI.6. Protection de l'alcool en position 4 du pipéridinol	22
VI.6.1. Protection par un groupement benzyle.....	22
VI.6.2. Autres groupements protecteurs.....	23
VI.7. Dihydroxylation de type Sharpless sur l'ester α - β insaturé	24
VI.7.1. Bibliographie.....	24
VI.7.2. Dihydroxylation de la double liaison	27
VI.8. Confirmation des configurations relatives des carbones 7 et 8.....	28
VI.8.1. Préparation de l'indolizidinone (±)-45b.....	29
VI.9. Synthèse de l'indolizidine (±)-48.....	32
VI.10. Synthèse de l'indolizidine polyhydroxylée (±)-53.....	33
VI.11. Conclusion.....	34
VII. Etude en série optiquement pure	35
VII.1. Dédoublage de l'amine (±)-28 racémique.....	35
VII.2. Synthèse énantio pure de l'indolizidine (-)-53.....	35
VIII. Etude en série racémique à partir de l'amine (±)-31	37
VIII.1. Synthèse de l'amine (±)-31	37
VIII.1.1. Synthèse de l'aldéhyde 56.....	37
VIII.1.2. Synthèse de l'accepteur de Michael 58.....	38
VIII.1.3. Synthèse de l'amine (±)-31	39
VIII.2. Synthèse d'un nouvel inhibiteur potentiel de glycosidases (±)-71	39

VIII.2.1. Formation de la pipéridine (\pm)-61	39
VIII.2.2. Synthèse du composé (\pm)-63b	40
VIII.2.3. Préparation de la pipéridine (\pm)-67	40
VIII.2.4. Hydrolyse du dioxane	41
VIII.2.5. Synthèse de l'indolizidine (\pm)-71	43
VIII.2.6. Conclusion	44
IX. Etude en série optiquement pure	44
IX.1. Synthèse asymétrique de l'amine (+)-31	44
IX.1.1. Essais de dédoublement par recristallisations successives	44
IX.1.2. Synthèse de l'amine (+)-31 en série énantiopure avec la L-proline	45
IX.1.3. Synthèse à partir de l'acide L-aspartique	48
IX.2. Synthèse énantiopure de l'indolizidine polyhydroxylée (-)-71	54
X. Evaluation des propriétés inhibitrices	55
X.1. Inhibition compétitive	55
X.2. Détermination des propriétés inhibitrices	57
X.3. Détermination des constantes de Michaëlis	57
X.4. Indolizidines polyhydroxylées	59
X.4.1. Activité restante de l'enzyme en présence d'inhibiteur	59
X.4.2. Détermination des constantes d'inhibition	60
XI. Conclusion	61

Chapitre 2 : Les urées cycliques de conformation restreinte

I. Généralités	63
II. Différentes synthèses d'urées linéaires	65
II.1. Synthèse d'urées linéaires comportant un motif <i>N</i> -chloroéthyle	65
II.2. Synthèse d'urées linéaires portées par une pipéridine	66
III. Synthèse d'urée cyclique sur une pipéridine	67
IV. Schéma de synthèse	67
V. Formation d'urées cycliques	68
V.1. Addition d'amines primaires sur la double liaison	68
V.2. Cyclisation intramoléculaire	69
V.2.1. Synthèse de l'urée (\pm)-115	69
V.2.2. Synthèse de l'urée (\pm)-116	70
V.3. Addition de différents isocyanates et cyclisation intramoléculaire	71
VI. Introduction d'un groupement hydroxyle en position 4	73
VII. Préparation de la pipéridine (\pm)-131	74
VII.1. Synthèse de l'aldéhyde 130	74
VII.2. Synthèse de la pipéridine (\pm)-131	75
VIII. Préparation de la pipéridine (\pm)-136	75
VIII.1. Synthèse de l'aldéhyde 133	75

VIII.2.	Synthèse de la pipéridine (\pm)-136	76
IX.	Synthèse d'urée cyclique.....	77
X.	Tableau récapitulatif.....	77
XI.	Quantification de la cytotoxicité des urées.....	79
XI.1.	Principe.....	79
XI.2.	Résultats	80
XII.	Elargissement de la stratégie	81
XII.1.	Synthèse de l'urée (\pm)-140	82
XII.2.	Synthèse de thiourées cycliques.....	82
XII.2.1.	Utilisation de thioisocyanates.....	83
XII.2.2.	Synthèse du composé (\pm)-141	83
XII.2.3.	Utilisation du thiophosgène.....	84
XII.3.	Formation de dérivés de guanidine	85
XIII.	Synthèse de la pipéridine 149	87
XIII.1.	Synthèse de l'aldéhyde (-)-148	87
XIII.2.	Réaction de cyclisation à partir de l'aldéhyde (-)-148	88
XIII.3.	Formation de la pipéridine 151	88
XIV.	Synthèse de l'urée.....	89
XIV.1.	Synthèse de l'aldéhyde (-)-153	89
XIV.2.	Réaction de cyclisation à partir de l'aldéhyde (-)-153	89
XV.	Stratégie de synthèse	90
XVI.	Synthèse de la pipéridine comportant l'urée cyclique à six chaînons	90
XVI.1.	Formation de la pipéridine (\pm)-156	90
XVI.2.	Préparation de l'aldéhyde (\pm)-157.....	90
XVII.	Préparation du réactif de Wadsworth et Horner	91
XVIII.	Réaction de Wadsworth et Horner	92
XIX.	Formation de l'urée cyclique à six chaînons.....	92
XX.	Formation d'indolizidines diversement substituées	93
XX.1.	Cyclisation.....	93
XX.1.1.	Formation de l'indolizidine	94
XX.1.2.	Synthèse du composé (\pm)-172	94
XX.1.3.	Aminations réductrices.....	95
XXI.	Conclusion.....	96

Conclusion

Partie expérimentale

Chapitre 1 :
Les inhibiteurs de glycosidases

Chapitre 1 : Les inhibiteurs de glycosidases

I. Les glycosidases

I.1. Généralités

Les glycosidases ou glycosyde-hydrolases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse sélective de la liaison glycosidique des polysaccharides et des glycoconjugués assurant par exemple la rupture de la liaison entre deux unités d'un disaccharide (**Figure 1**). Elles permettent la libération de molécules non saccharidiques, de monosaccharides ou d'oligosaccharides de plus faible poids moléculaire.

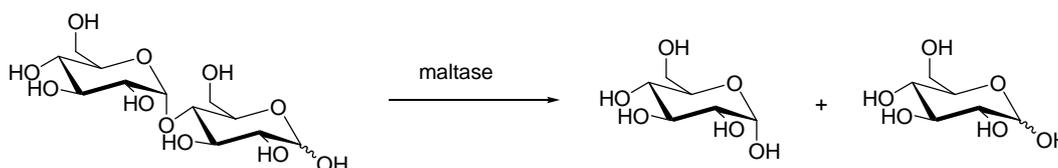


Figure 1 : exemple du Maltose

Les glycosidases sont spécifiques de l'unité glucidique hydrolysée, de la série D ou L, de sa forme furanique ou pyranique et de la configuration de la liaison glycosidique α ou β . En revanche, elles ne sont pas spécifiques de la nature de la partie aglycone du substrat. Ainsi, les α -D-glycosidases hydrolysent les α -D-glycosides, les β -D-glycosidases hydrolysent les β -D-glycosides, ect. De plus, au sein de chaque groupe, il existe de petites variations de propriétés selon l'origine de l'enzyme¹.

On distingue également, « les exoglycosidases » et « les endoglycosidases ». Les premières hydrolysent les liaisons glycosidiques terminales d'une chaîne oligosaccharidique et les secondes hydrolysent les liaisons internes. Les exoglycosidases sont relativement indifférentes vis-à-vis de la nature du groupement lié au carbone anomérique, tandis que les endoglycosidases sont spécifiques de la nature et de la configuration des deux sucres qu'elles séparent.

Selon la nomenclature établie par l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (IUBMB) et basée sur la spécificité du substrat, les glycosidases font partie de la famille EC 3.2.1., dans laquelle le chiffre 3 correspond aux hydrolases, le chiffre 2 aux glycosidases et le chiffre 1 aux O- et S-glycosidases.

Une autre classification de ces enzymes basée sur les séquences d'acides aminés et permettant de mieux rendre compte des similitudes en terme de mécanisme et de structure tridimensionnelle a été proposée par Henrissat². Actuellement, cette classification contient près de 200 familles de glycosidases, glycotransférases, polysaccharides lyases et carbohydate estérases³.

¹ David, S. *Chimie Moléculaire et supramoléculaire des sucres*. 1995, InterEditions / CNRS Edition, 58-61.

² Henrissat, B. *Biochem. J.* 1991, 280, 309-316.

³ Coutinho, P. M. ; Henrissat, B. *Carbohydrate-Active Enzymes Server*. 1999, <http://afmb.cnrs-mrs.fr/CASY/>

I.2. Les rôles des glycosidases

Les glycosidases sont des enzymes très répandues. Elles sont impliquées dans un grand nombre de processus biologiques fondamentaux et aussi variés que la digestion des polysaccharides alimentaires, la maturation des glycoprotéines ou bien le catabolisme des polysaccharides et des glycoconjugués.

Les glycosidases sont donc essentielles à la croissance, ainsi qu'à la régulation et au développement cellulaire.

I.3. Mécanisme

Les glycosidases agissent dans l'organisme selon deux mécanismes catalytiques, proposés pour la première fois par Koshland en 1953⁴. En effet, l'hydrolyse enzymatique de la liaison glycosidique peut favoriser la formation :

- soit d'un glucide dont la configuration du carbone anomérique est identique à celle du substrat, on parle alors d'un mécanisme avec rétention de configuration.
- soit d'un glucide dont la configuration du carbone anomérique est l'inverse de celle du substrat, dans ce cas on parle d'un mécanisme avec inversion de configuration.

Ces mécanismes mettent en jeu deux groupements carboxyliques provenant de résidus glutamate ou aspartate du site actif de l'enzyme dont les rôles et les positions relatives diffèrent dans les deux cas.

I.3.1. Mécanisme avec inversion de configuration⁵

C'est le mécanisme le moins répandu. Il correspond à une substitution nucléophile s'effectuant selon un mécanisme concerté. L'un des groupements carboxyliques permet le départ de l'aglycone par son rôle de catalyseur acide (HA), tandis que l'autre, sous forme de carboxylate (B⁻), déprotone l'eau pour favoriser son attaque sur le carbone anomérique, selon un processus de catalyse acido-basique générale. Cette réaction s'effectue en passant par un état de transition dont la structure est proche de celle d'un cation oxocarbenium (**Figure 2**).

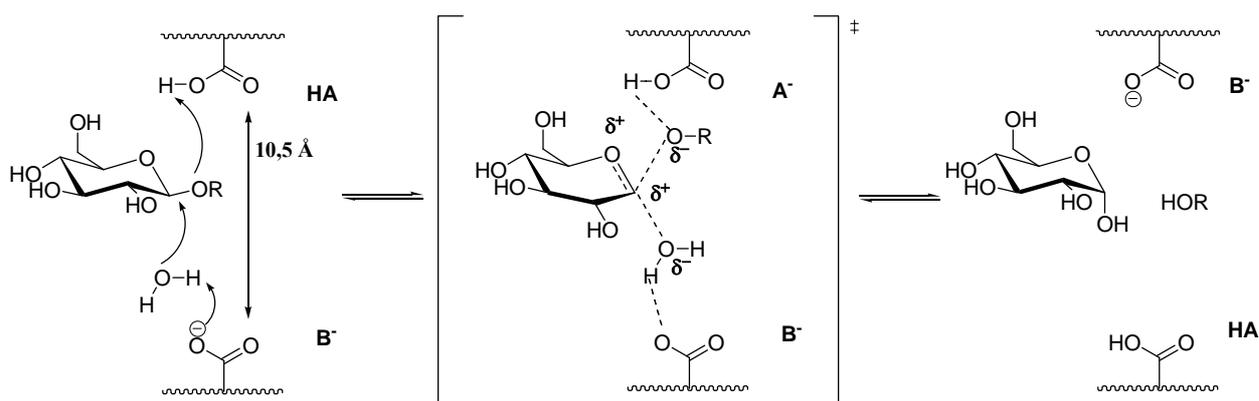


Figure 2

⁴ Koshland, D. E. *Biol. Rev.* **1953**, *28*, 416-436.

⁵ Pearson, M. S. M. ; Mathé-Allainmat, M. ; Fargeas, V. ; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *11*, 2159-2191.

Dans ce cas, les deux groupements carboxyliques doivent être suffisamment éloignés pour permettre l'insertion du substrat et de la molécule d'eau. En effet, pour ce type de glycosidases, une distance moyenne de 10,5 Å entre les deux acides aminés a été mise en évidence^{6,7}.

1.3.2. Mécanisme avec rétention de configuration⁵

La rétention de configuration est la conséquence de deux inversions de configuration successives du carbone anomérique du substrat et implique le passage par un intermédiaire covalent glycosyl-enzyme. Un mécanisme catalytique illustré par la **Figure 3** ci-dessous a été proposé.

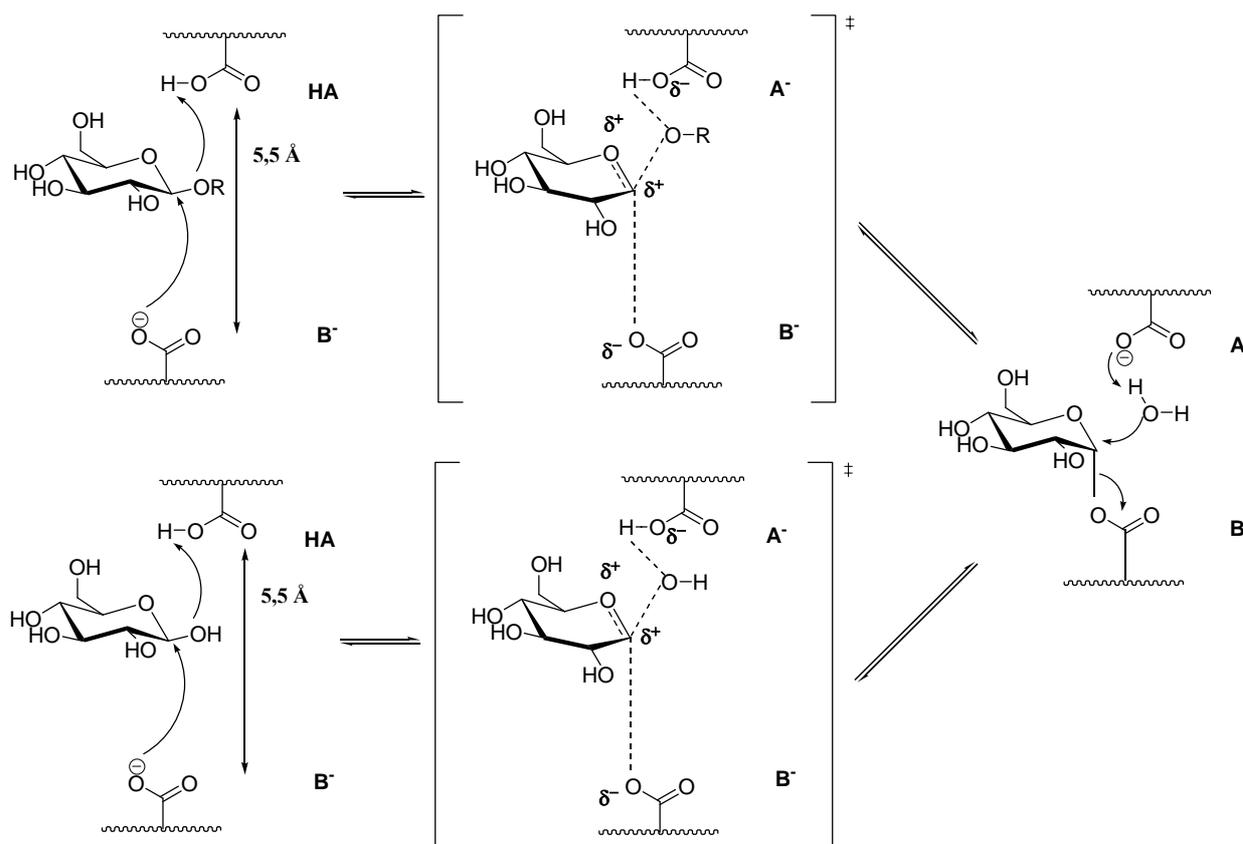


Figure 3

Comme indiqué précédemment, le site actif de l'enzyme comporte deux groupements carboxyliques, situés de chaque côté du plan du cycle. L'un agit comme donneur de proton (HA), l'autre comme nucléophile (B⁻). Le groupement -OR est protoné par le résidu HA et le deuxième résidu, B⁻, intervient pour réaliser la substitution nucléophile. Le substrat se retrouve lié de façon covalente au site actif. L'aglycone libéré sort du site actif et est remplacé par une molécule d'eau. Ensuite le processus inverse a lieu : simultanément et en passant par un autre état de transition, la base conjuguée de l'acide HA déprotonne l'eau et celle-ci attaque

⁶ McCarter, J. D. ; Withers, S. G. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 885-892.

⁷ Wang, Q. ; Graham, R. W. ; Trimbur, D. ; Warren, R. A. J. ; Withers, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11594-11595.

⁵ Pearson, M. S. M. ; Mathé-Allainmat, M. ; Fargeas, V. ; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *11*, 2159-2191.

le carbone anomérique pour hydrolyser l'ester entre le sucre et B. Ce mécanisme implique aussi une catalyse acido-basique générale.

Étant donné que l'attaque nucléophile par B⁻ se fait directement sur le sucre, les deux acides carboxyliques doivent être assez proches. Des études ont montré que ces deux groupements n'étaient distants en moyenne que de 5 Å^{6,7,8}.

Des travaux publiés par Vasella⁹ ont permis d'apporter de nombreuses informations quant à la disposition de ces groupements carboxylates dans le site actif d'une β-glycosidase, qui hydrolyse selon un mécanisme avec rétention de configuration. L'étude montre que ces enzymes ne protonent pas leur substrat depuis le dessus mais plutôt par le côté et cela implique que la protonation par le donneur (résidu acide) se fasse en *anti* (**Figure 4a**, en bleu) ou en *syn* (**Figure 4b**, en rouge). *Syn* et *anti* sont définis par rapport à l'oxygène du cycle pyranique et au doublet libre de l'oxygène exocyclique qui se trouve dans le plan du cycle. La liaison C-O "bleue" est en *anti* par rapport au doublet "bleu".

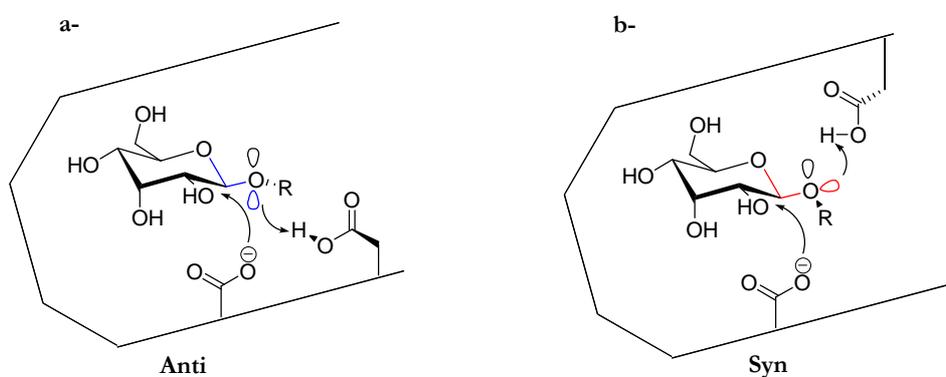


Figure 4

1.3.3. Modèle général de l'état de transition

La connaissance des mécanismes et donc des états de transition impliqués dans les réactions catalysées par des enzymes est fondamentale. En effet, de nombreuses stratégies de synthèse d'inhibiteurs sont orientées vers la création de molécules mimant les états de transition, ceux-ci étant considérés comme les structures les plus fortement liées par l'enzyme au cours du chemin réactionnel.

Dans le cas des glycosidases, l'état de transition est similaire quel que soit le mécanisme mis en jeu et il est généralement représenté de la manière suivante :

⁶ McCarter, J. D. ; Withers, S. G. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, 4, 885-892.

⁷ Wang, Q. ; Graham, R. W. ; Trimbur, D. ; Warren, R. A. J. ; Withers, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11594-11595.

⁸ Ly, H. D. ; Withers, S. G. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, 68, 487 et références citées.

⁹ Heightman, T. D. ; Vasella, A. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 750-770.

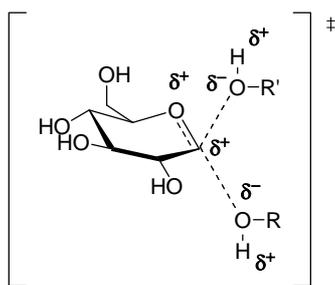


Figure 5

D'après cette représentation, deux caractéristiques de l'état de transition semblent essentielles : une distorsion de cycle du substrat et une structure « pseudo-cationique » de type oxocarbenium.

II. Les inhibiteurs de glycosidases

L'activité catalytique des enzymes peut être diminuée ou supprimée en présence de composés appelés alors inhibiteurs. Il existe trois principaux types d'inhibition : l'inhibition compétitive, l'inhibition incompétitive et l'inhibition non-compétitive. Ces différents types d'inhibition seront détaillés ultérieurement.

II.1. Les différentes classes d'inhibiteurs

Ces composés possèdent des propriétés intéressantes aussi bien en agrochimie¹⁰ que dans certaines thérapies¹¹ : activité antivirale (notamment contre le virus du SIDA), antimétastatique (traitement de cancers), antibactérienne, immunostimulatrice, antihyperglycémique (traitement de diabètes), ainsi que pour le traitement de l'obésité, etc.

En 1990, G. Legler¹² propose un classement des inhibiteurs compétitifs réversibles basiques et isostériques (de structure chimique voisine de celle du substrat) des glycosidases :

- les aminocyclitols,
- les pipéridines polyhydroxylées,
- les pyrrolidines polyhydroxylées et les alcaloïdes indolizidiniques,

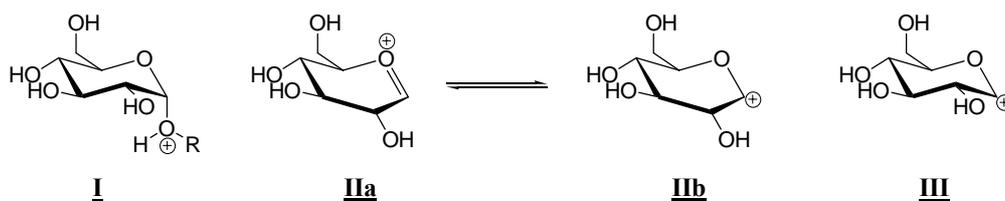
Nous avons choisi d'utiliser cette classification pour présenter quelques exemples d'inhibiteurs de glycosidases, en regroupant les pipéridines, pyrrolidines et indolizidines polyhydroxylées sous le nom général « d'iminosucres ».

Les stratégies de synthèse d'inhibiteurs de glycosidases se sont souvent orientées vers la construction de molécules mimant l'état de transition, grâce à une distorsion de cycle, une charge positive ou en combinant les deux (modèles **I**, **II**, **III**).

¹⁰ Kite, G. C. ; Horn, J. M. ; Romeo, J. T. ; Fellows, L. E. ; Lees, D. C. ; Scofield, A. M. ; Smith, N. G. *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 103-105.

¹¹ Wong, C.-H. ; Provencher, L. ; Porco, Jr. J. A. ; Jung, S.-H. ; Wang, Y.-F. ; Chen, L. ; Wang, R. ; Steensma, D. H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1492-1501.

¹² Legler, G. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 327-362 et références citées.



II.1.1. Les aminocyclitols polyhydroxylés

Ces composés sont des analogues de sucre possédant un atome d'azote exocyclique protoné à pH physiologique.

L'acarbose est un pseudotétrасaccharide composé d'une unité aminocyclitol insaturée liée à un aminodidésoxyglucose, lui-même lié à un résidu maltose (**Figure 6**). C'est un puissant inhibiteur d' α -glucosidases intestinales¹³. Ainsi, ce composé est commercialisé sous le nom de Glucor[®] ou Glucobay[®] par la société Bayer pour le traitement du diabète de type II.

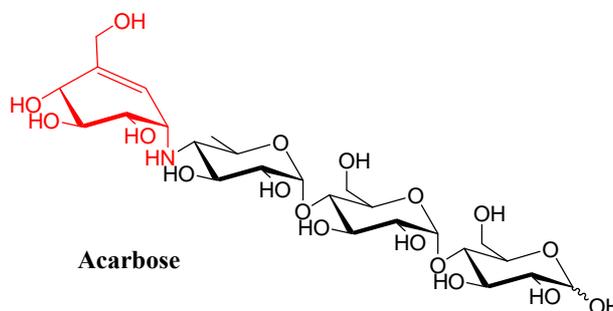


Figure 6

L'activité de ce composé est probablement liée au fait qu'il présente des caractéristiques communes avec l'état de transition (distorsion du cycle grâce à la double liaison, mime de l'oxygène exocyclique chargé positivement grâce à l'atome d'azote protonable à pH physiologique).

L'unité notée en rouge sur l'acarbose appelée valiénamine (**Figure 6**), est également un bon inhibiteur d' α -glucosidases intestinales¹⁴. Ce composé ainsi que la valioline ont été isolés lors de la fermentation de microorganismes. La valioline est un meilleur inhibiteur que la valiénamine, ce qui peut sembler surprenant vu qu'elle n'a pas de double liaison endocyclique qui peut mimer la distorsion du cycle.

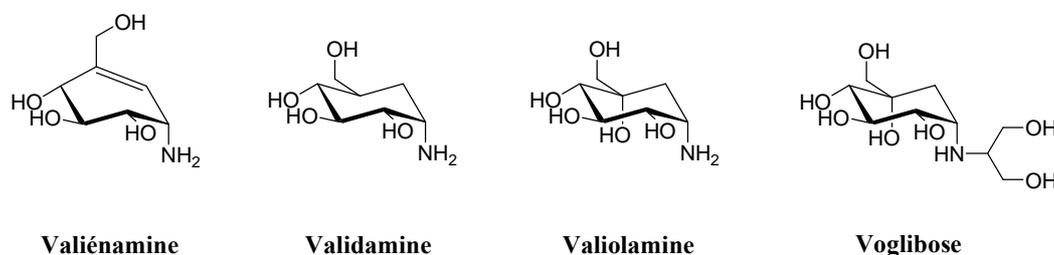


Figure 7

¹³ Truscheit, E. ; Frommer, W. ; Junge, B. ; Müller, L. ; Schmidt, D. D. ; Wingender, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 744-761.

¹⁴ Chen, X. ; Fan, Y. ; Zheng, Y. ; Shen, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1955-1977.

Au vu de ces résultats, Horii et coll.¹⁵ ont synthétisé un grand nombre d'analogues *N*-substitués de la valioline. Parmi eux, le voglibose est un des plus puissants inhibiteurs d' α -glucosidases (**Figure 7**). Il est commercialisé en Asie sous le nom de Basen[®] par la société Takeda pour le traitement du diabète de type II.

II.1.2. Les iminosucres polyhydroxylés

Les iminosucres sont des analogues de sucres dont l'oxygène endocyclique est remplacé par un atome d'azote. Ils constituent une famille importante d'inhibiteurs de glycosidases. L'atome d'azote est protoné à pH physiologique et mime ainsi l'état de transition. Parmi ces iminosucres, nous pouvons définir trois grandes classes de composés : les pipéridines polyhydroxylées, les pyrrolidines polyhydroxylées et les indolizidines polyhydroxylées.

II.1.2.a. Les pipéridines polyhydroxylées

Les pipéridines polyhydroxylées ou iminosucres sont des agents thérapeutiques importants. Ils sont utilisés contre les différentes formes de diabètes, contre les infections virales y compris le virus du SIDA et contre le cancer.

Le premier azasucré naturel découvert a été la nojirimycine, analogue azoté du D-glucose, isolé en 1967 de *Streptomyces nojiriensis*¹⁶. Ce composé est un puissant inhibiteur d' α - et de β -glucosidases, ce qui lui confère une activité antibiotique reconnue. Cependant, son instabilité et les difficultés rencontrées pour l'isoler font qu'on lui préfère son analogue, la désoxynojirimycine (DNJ), également isolée de cultures de *Streptomyces*.

La mannojirimycine ou nojirimycine B et la galactostatine ont également été isolées de cultures de *Streptomyces*. Elles diffèrent respectivement de la nojirimycine par la configuration du carbone 3 ou 5. La mannojirimycine est un très bon inhibiteur d' α - et de β -mannosidases¹⁴, la galactostatine un puissant inhibiteur d' α - et de β -galactosidases¹⁷ (**Figure 8**).

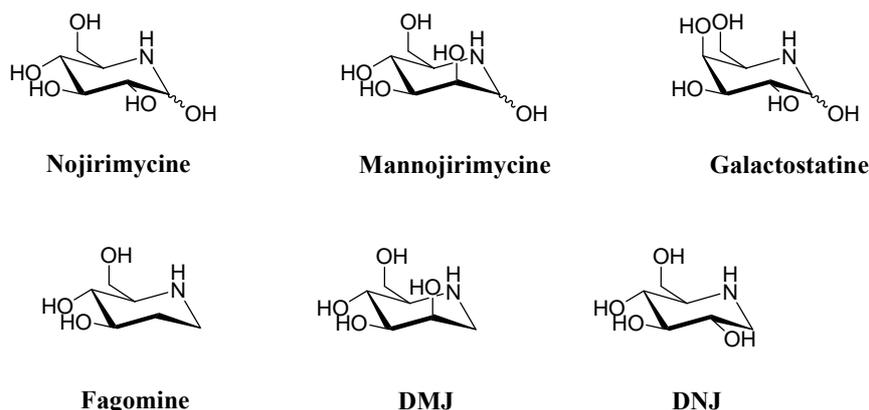


Figure 8

¹⁵ Horii, S. ; Fukase, H. ; Matsuo, T. ; Kameda, Y. ; Asano, N. ; Matsui, K. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1038-1046.

¹⁶ Legler, G. ; Jülich, E. *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 61-72.

¹⁴ Chen, X. ; Fan, Y. ; Zheng, Y. ; Shen, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1955-1977.

¹⁷ Miyake, Y. ; Ebata, M. *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 153-158.

Après la découverte de ces composés, d'autres iminosucres ont été isolés, comme la fagomine ou 1,2-didésoxynojirimicine, la 1-désoxymannojirimicine (DMJ) et la 1-désoxynojirimicine (DNJ).

Ces composés diffèrent des précédents par l'absence de groupement hydroxyle porté par le carbone pseudo-anomérique. Cette différence ne modifie toutefois pas l'activité inhibitrice des ces composés, mais améliore leur stabilité.

La DNJ est quant à elle un puissant inhibiteur d' α - et de β -glucosidases¹⁶, d'où son intérêt en agrochimie et dans certaines thérapies (diabète, cancers, arthrite...)^{18, 19}. Elle est devenue une référence dans les mesures d'activité.

La DMJ est également un bon inhibiteur d' α -fucosidases et d' α -mannosidases²⁰, enzymes impliquées dans le processus de maturation des glycoprotéines.

Par contre, la fagomine est spécifique des β -galactosidases mais inhibe faiblement les α -glucosidases, ce qui prouve l'importance du groupement hydroxyle en position 2.

Certains analogues ayant l'atome d'azote substitué sont également de bons inhibiteurs de glycosidases (**Figure 9**).

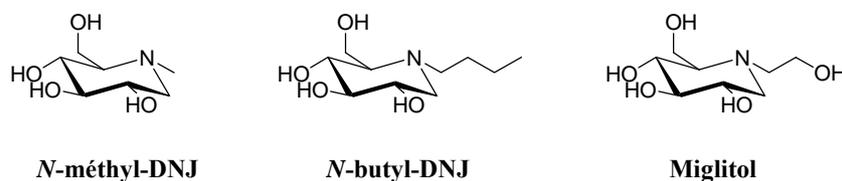


Figure 9

La *N*-méthyl-DNJ est un meilleur inhibiteur d' α -glucosidases que la DNJ, par contre la *N*-butyl-DNJ est légèrement moins active²¹. Elle est utilisée dans le traitement de la maladie de Gaucher depuis 2003 sous le nom de Zavesca[®]. Le miglitol est également un puissant inhibiteur d' α -glucosidases intestinales²². Ce composé est commercialisé en Europe par la société Sanofi-Aventis sous le nom de Diastabol[®] pour le traitement du diabète de type II.

Les inhibiteurs de glycosidases peuvent également être utilisés en tant que « molécules chaperonnes » pour traiter la maladie de Fabry. Des études ont montré que l' α -galactosidase A mutante forme des agrégats qui sont ensuite dégradés, mais son activité catalytique est proche de celle de l' α -galactosidase A normale. L'enzyme mutée est incapable d'être évacuée, n'étant pas glycosylée normalement. Le rôle du chaperon est de donner à l'enzyme mutée une conformation proche de l'état naturel (sans mutation) qui est ainsi reconnue et la maturation de la protéine est poursuivie.

L'inhibition de cette enzyme par les molécules présentées ci-dessous permet en fait de faciliter le transport de l'enzyme. Afin d'améliorer l'activité de la désoxygalactonojirimicine

¹⁶ Legler, G. ; Jülich, E. *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 61-72.

¹⁸ Straub, A. ; Effenberger, F. ; Fischer, P. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3926-3932 et références citées.

¹⁹ Arnone, A. ; Bravo, P. ; Donadelli, A. ; Resnati, G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 984-986 et références citées.

²⁰ Asano, N. ; Oseki, K. ; Kizu, H. ; Matsui, K. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3701-3706.

²¹ Asano, N. ; Kizu, H. ; Oseki, K. ; Tomioka, E. ; Matsui, K. ; Okamoto, M. ; Baba, M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2349-2356.

²² Yasuda, K. ; Kizu, H. ; Yamashita, T. ; Kameda, Y. ; Kato, A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Molyneux, R. J. ; Asano, N. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 198-202.

(DGJ), des dérivés ont été synthétisés et testés, notamment l' α -homogalactonojirimycine (HGJ)²³, l' α -homoallonojirimycine (HAJ)²⁴ et le β -1-C-butyl-DGJ (CB-DGJ)²⁵. Ces dérivés se sont avérés moins efficaces que la DGJ.

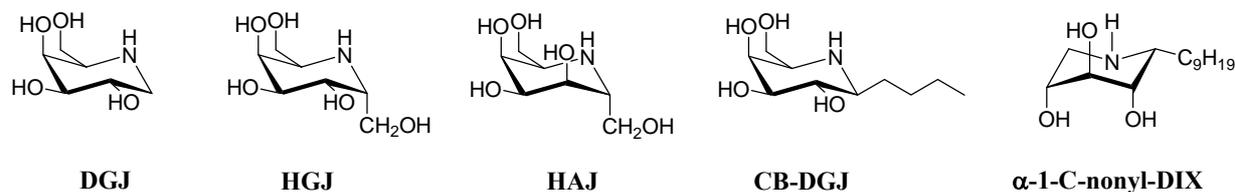


Figure 10

Récemment, O. Martin *et coll.*²⁶ ont préparé plusieurs analogues de la *N*-butyl-DNJ avec une chaîne alkyle sur le carbone pseudo-anomérique. Les tests *in vitro* ont montré que le dérivé α -1-C-nonyl-DIX (l' α -1-C-nonyl-1,5-didéoxy-1,5-imino-D-xylitol) est un meilleur inhibiteur de la β -glucocérébrosidase avec un K_i de 2,2 nM.

II.1.2.b. Les pyrrolidines polyhydroxylées

Les pyrrolidines polyhydroxylées sont des analogues de sucres sous forme furanique. On peut citer la (2*R*,5*R*)-dihydroxyméthyl-(3*R*,4*R*)-dihydroxypyrrolidine (DMDP), le 1,4-didéoxy-1,4-imino-D-arabinitol (D-AB1), et la 3-hydroxy-2-hydroxyméthylpyrrolidine (CYB-3) (Figure 11).

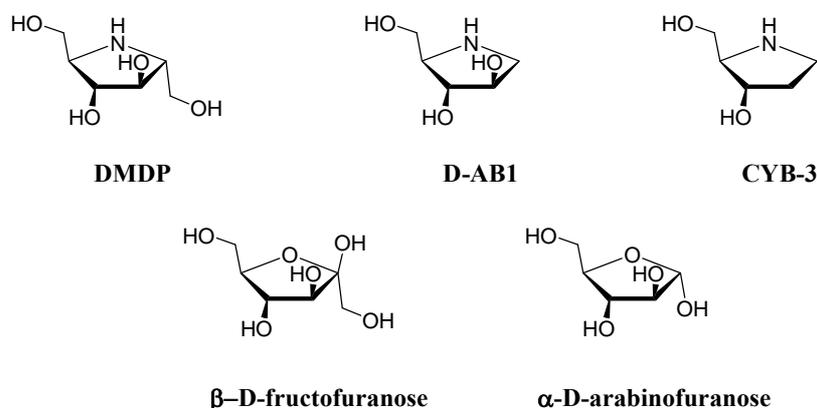


Figure 11

La DMDP a été isolée en 1976 de lianes de *Derris elliptica*^{27, 28}. Elle est peu sélective et inhibe des fructofuranosidases, des α -glucosidases et des β -galactosidases. Le D-AB1, isolé en 1985 des graines d'une légumineuse *Angylocalyx boutiquenus*²⁹, est un analogue de D-

²³ Martin, O. R. ; Xie, F. ; Liu, L. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4027-4030.

²⁴ Asano, N. ; Nishida, M. ; Kizu, H. ; Matsui, K. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 98-101.

²⁵ Ikeda, K. ; Takahashi, M. ; Nishida, M. ; Miyauchi, M. ; Kizu, H. ; Kameda, Y. ; Arisawa, M. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Asano, N. *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 73-80.

²⁶ Compain, P. ; Martin, O. R. ; Boucheron, C. ; Godin, G. ; Yu, L. ; Ikeda, K. ; Asano, N. *Chem. Bio. Chem.* **2006**, *7*, 1356-1359.

²⁷ Hung, R. R. ; Straub, J. A. ; Whitesides, G. M. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3849-3855.

²⁸ Park, K. H. ; Yoon, Y. J. ; Lee, S. G. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9737-9740.

²⁹ Chen, W. ; Kurtz, D. A. ; Hamlet, T. ; Sim, L. ; Rose, D. R. ; Pinto, B. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8332-8340.

arabinofuranose. C'est un meilleur inhibiteur d' α -glucosidases que la DMDP. La CYB-3 n'est qu'un faible inhibiteur d'isomaltase, ce qui confirme l'importance du groupement hydroxyle en position 2.

L'activité inhibitrice de pyrrolizidines polyhydroxylées, comme par exemple l'alexine et l'australine a également été mise en évidence. Ces composés inhibent principalement les α -glucosidases disaccharidiques³⁰ (**Figure 12**).

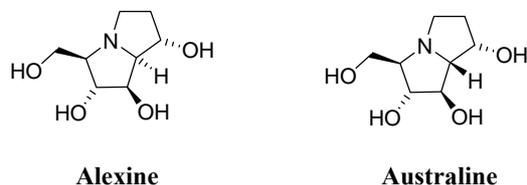


Figure 12

II.1.2.c. Les indolizidines polyhydroxylées

Les indolizidines polyhydroxylées sont de puissants inhibiteurs de glycosidases naturelles et synthétiques.

Parmi ces inhibiteurs de glycosidases sous forme bicyclique polyhydroxylée, on peut citer la lentiginosine, la swainsonine et la castanospermine (**Figure 13**).

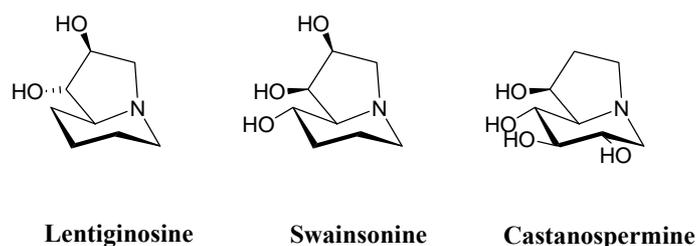


Figure 13

Le premier alcaloïde de type indolizidine polyhydroxylée découvert a été la swainsonine, isolée d'une légumineuse *Swainsona canescens* en 1973. La swainsonine s'est révélée être un agent anticancéreux et un puissant inhibiteur de l' α -mannosidase II située dans l'appareil de Golgi, enzyme impliquée dans la maturation des glycoprotéines³⁰. C'est le premier inhibiteur de glycosidases testé comme médicament antimétastatique, et il est actuellement en phase clinique II aux Etats Unis. Elle est très sélective, car elle n'est pas active vis-à-vis des autres α -mannosidases impliquées dans le processus.

Par la synthèse des énantiomères de la swainsonine, on a pu mettre en évidence leurs propriétés respectives ainsi que l'importance de la position et de la stéréochimie des groupements hydroxyle. Il est intéressant de voir que la (+)-swainsonine est un inhibiteur efficace et sélectif de la naringinase (L-rhamnosidase), alors que l'énantiomère naturel la (-)-swainsonine n'inhibe pas cette enzyme.

Il a également été montré que la (+)-swainsonine et ses analogues sont des agents thérapeutiques intéressants dans le traitement de la tuberculose³¹.

³⁰ Kato, A. ; Kato, E. ; Adachi, I. ; Molyneux, R. J. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Wormald, M. R. ; Kizu, H. ; Ikeda, K. ; Asano, N. *Tetrahedron : Asymmetry*. **2003**, *14*, 325-331.

³¹ Shivlock, J. P. ; Wheatley, J. R. ; Nash, R. J. ; Watson, A. A. ; Griffiths, R. C. ; Butters, T. D. ; Müller, M. ; Waykin, D. J. ; Winkler, D. A. ; Fleet, G. W. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*. **1999**, *37*, 2735-2745.

A partir de graines d'une autre légumineuse australienne, *Castanospermum australe*, un autre alcaloïde de type indolizidine polyhydroxylée a été isolé, la castanospermine. Elle ressemble à la DNJ et est également un très bon inhibiteur d' α -glucosidases. C'est un inhibiteur de la répllication du virus d'immunodéficience humain (VIH) *in vitro*, mais elle n'est pas aussi efficace que d'autres produits anti VIH utilisés. Bien qu'ils soient spécifiques de l' α -glucosidase I, les tests *in vivo* n'ont pas été concluants et à ce jour aucune de ces molécules n'a été mise sur le marché.

La lentiginosine est aussi un alcaloïde de type indolizidine dihydroxylée, isolé en 1990 des feuilles de *Astragalus lentiginosus*. C'est également un puissant inhibiteur d' α - et β -glycosidases.

On remarque donc que les inhibiteurs de glycosidases forment une classe importante de composés ayant des propriétés thérapeutiques intéressantes, aussi bien en cancérologie que contre le diabète ou même comme agent antiviral.

Depuis une cinquantaine d'années, de nombreuses synthèses d'indolizidines polyhydroxylées ont été développées. Les chercheurs s'intéressent toujours soit à la synthèse de nouveaux inhibiteurs soit à l'amélioration des synthèses d'inhibiteurs connus.

II.1.3. Synthèses d'indolizidines polyhydroxylées

La littérature décrit de nombreuses synthèses d'indolizidines polyhydroxylées, notamment à partir de l'acide pipécolique, de sucres, ou encore par cyclisation par métathèse. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux synthèses récentes en citant toutefois la première synthèse à partir de l'acide pipécolique.

II.1.3.a. Synthèse à partir de l'acide pipécolique

En 1994, Gurjar et *coll.*³² ont réalisé la synthèse de la (-)-lentiginosine en huit étapes à partir de l'acide pipécolique de configuration (*R*) (**Schéma 1**).

Tout d'abord, l'azote de l'acide pipécolique est protégé par un carbamate de benzyle. La fonction acide est ensuite transformée en aldéhyde en deux étapes : réduction en alcool puis oxydation de celui-ci pour obtenir le composé **1**. Une réaction de Wittig réalisée sur l'aldéhyde **1** permet d'isoler l'ester *trans* α,β -insaturé **2**. Ce dernier subit une réaction de dihydroxylation asymétrique de Sharpless pour donner le diol **3** majoritaire dans un rapport de 92:8. La protection des fonctions alcool sous forme d'acétate, suivie d'une cyclisation intramoléculaire conduit au composé **4**. La réduction de la fonction lactame, puis l'hydrolyse des acétates fournissent la (-)-lentiginosine.

La (-)-lentiginosine est synthétisée en huit étapes à partir de l'acide *R*-pipécolique.

³² Gurjar, M. K. ; Ghosh, L. ; Syamala, M. ; Jayasree, V. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8871-8872.

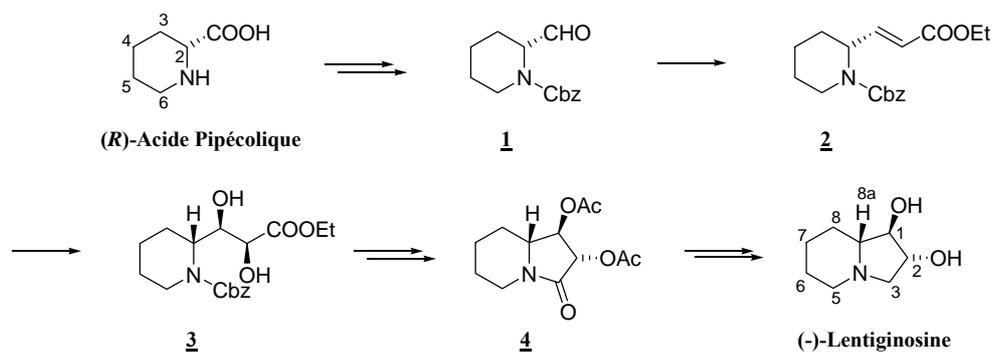


Schéma 1 : Synthèse à partir de l'acide pipécolique

Cette méthode permet de préparer les deux énantiomères de la lentiginosine en changeant la configuration de l'acide pipécolique de départ. En effet, la stéréochimie du carbone 8a de jonction de cycle est fixée par la configuration du carbone 2 de l'acide pipécolique de départ.

Par contre, cette méthode n'est pas générale pour la préparation d'indolizidines polyhydroxylées. En effet, il est difficile d'introduire des groupements hydroxyle sur le cycle pipéridinique.

II.1.3.b. Synthèse à partir d'un sucre

II.1.3.b.1. Synthèse de Cronin et Murphy

Dernièrement, Cronin et Murphy³³ ont mis au point une synthèse de la castanospermine et de la 1-épicastanospermine à partir de l' α -D-méthylglucopyranoside (**Schéma 2**).

Le 6-désoxyhèx-5-énopyranoside **5** est obtenu à partir de l' α -D-méthylglucopyranoside en cinq étapes avec un rendement global de 69%³⁴. Après hydrolyse des groupements acétate, les fonctions alcools sont protégées sous la forme d'éther de benzyle et la double liaison en position 5 est oxydée pour donner un mélange de deux époxydes **6**. L'époxyde est ensuite ouvert par de l'acide camphorsulfonique dans le méthanol pour donner un mélange de deux composés qui sont ensuite oxydés en aldéhydes **7a** et **7b**. Le composé **7b** est isolé et traité par l'anion de l'acétate d'éthyle pour générer le composé **8**. Une hydrogénation catalytique sous pression du composé **8** permet de réaliser « one-pot » la déprotection des groupements benzyle et la réduction de l'azoture en amine. Ensuite, celle-ci réagit spontanément pour former le lactame **9**. Enfin, celui-ci est réduit pour donner la castanospermine ou la 1-épicastanospermine, suivant la stéréochimie du composé **8**. La stéréochimie est fixée à l'étape d'alkylation par l'acétate d'éthyle. En effet, le composé **8-S** donne la castanospermine et son énantiomère **8-R** génère la 1-épi-castanospermine.

³³ Cronin, L. ; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2691-2693.

³⁴ McDonnell, C. ; Cronin, L. ; O'Brien, J. L. ; Murphy, P. V. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3565-3568.

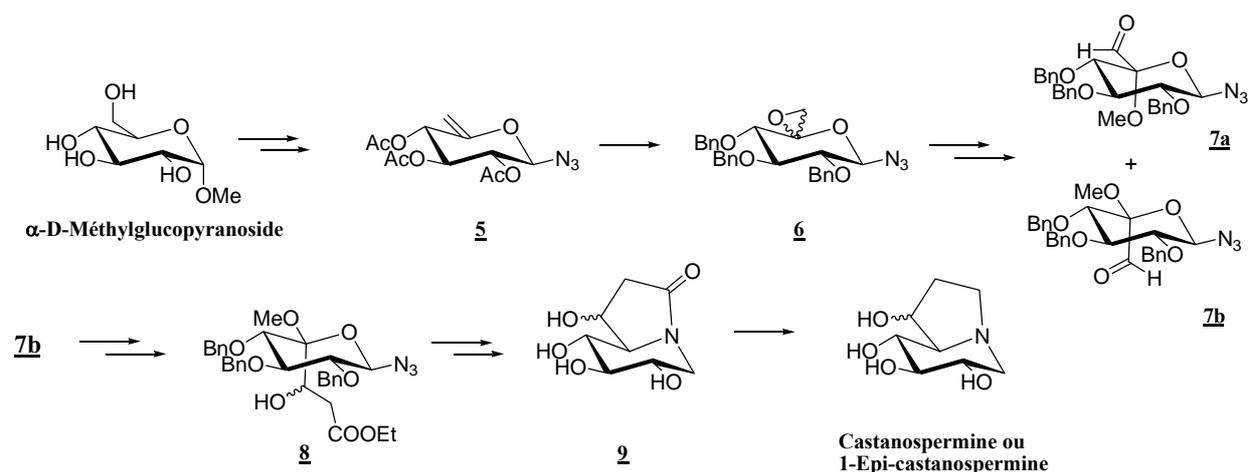


Schéma 2 : Synthèse de la Castanospermine ou de son épimère

II.1.3.c. Synthèse par métathèse

De nombreuses synthèses utilisent la métathèse pour créer le cycle pipéridinique. Nous en présenterons seulement deux qui nous paraissent pertinentes.

II.1.3.c.1. Synthèse de Riera et coll.³⁵

Riera *et coll.* ont réalisé la synthèse de la (-)-swainsonine et de la 2-épi-swainsonine à partir de l'époxyde **10-R,R** (Schéma 3). Celui-ci est obtenu en deux étapes à partir de l'acide (*E*)-2,4-pentadiénoïque. La réduction de celui-ci génère le (*E*)-2,4-pentadien-1-ol qui après époxydation de Sharpless libère le composé **10**. L'obtention de l'époxyde **10-R,R** ou de son énantiomère **10-S,S** avec un excès énantiomérique supérieur à 91%, dépend de l'auxiliaire chiral utilisé.

L'époxyde désiré est ensuite traité par l'isocyanate d'allyle pour former le carbamate d'allyle correspondant puis l'ouverture de l'époxyde fournit le composé **11** en mélange avec l'isomère *trans* acylé. L'oxazolidinone **11** subit une réaction de métathèse en présence du catalyseur de Grubbs de première génération qui permet la fermeture du cycle pipéridinique et l'obtention du composé **12** avec un rendement de 98%³⁶.

³⁵ Martín, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.

³⁶ Martín, R. ; Moyano, A. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *Org. Lett.* **2000**, *1*, 93-95.

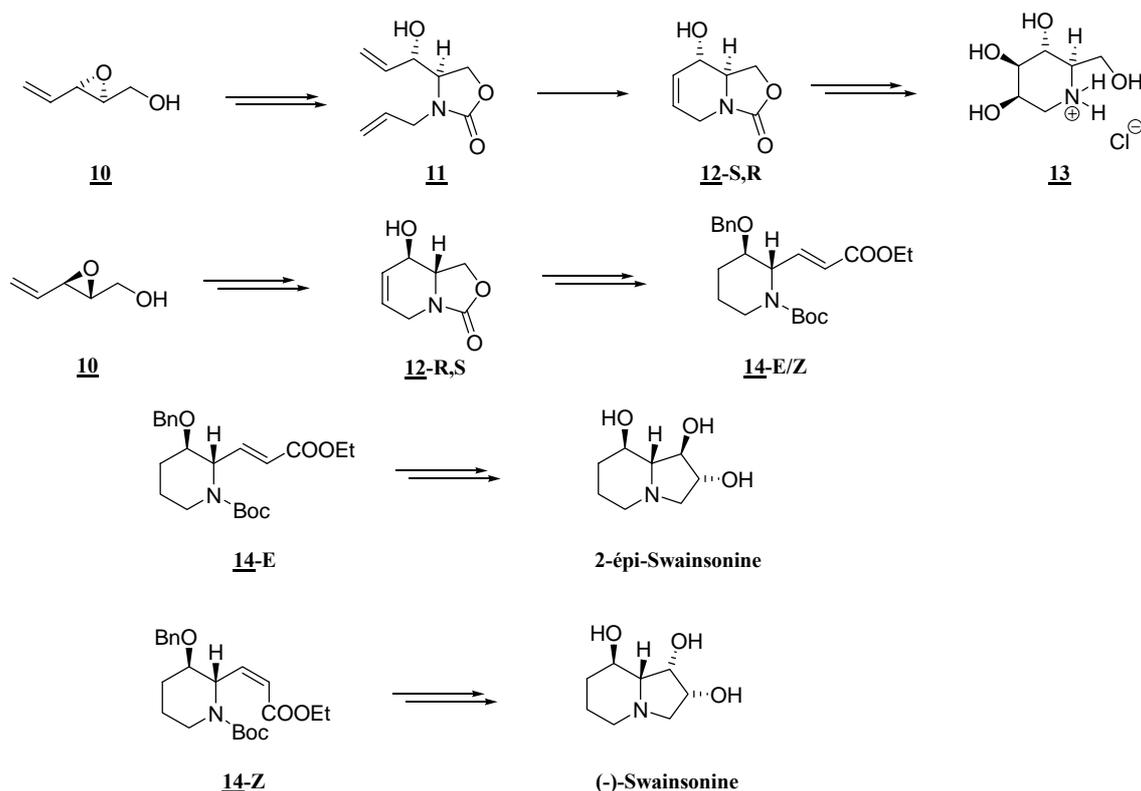


Schéma 3 : Synthèse de la Swainsonine et de son épimère

A partir de l'oxazolidine **12-S,R**, une dihydroxylation est réalisée sur la double liaison suivie de l'ouverture de l'oxazoline pour obtenir des inhibiteurs de glycosidases du type pipéridines polyhydroxylées **13** avec des centres stéréogéniques fixés.

L'oxazolidine **12-R,S** obtenue de la même manière que son énantiomère à partir de l'époxyde **10-R,R**, subit une succession de réactions pour former le composé **14**. L'hydrogénation de la double liaison *endo* cyclique, puis la protection de l'alcool en éther de benzyle, et l'ouverture de l'oxazolidine suivie d'une oxydation de l'alcool libre et d'une réaction de Wittig permettent de libérer majoritairement le composé **14** de configuration E. Le composé **14-E**, après de multiples réactions : dihydroxylation de la double liaison, hydrolyse du groupement Boc de la pipéridine, cyclisation intramolécule, réduction et enfin déprotection de l'éther de benzyle conduit à la formation de la 2-épi-swainsonine.

En partant de l'isomère minoritaire **14-Z**, ils obtiennent la (-)-swainsonine.

II.1.3.c.2. Synthèse de Poisson³⁷

Cette méthode utilise également une réaction de métathèse pour fermer le cycle pipéridinique (Schéma 4). Il existe dans la littérature de nombreuses références qui utilisent cette stratégie de cyclisation³⁸.

La dichlorocyclobutanone **16** est obtenue avec une bonne diastéréosélectivité par cycloaddition [2 + 2] du dichlorocétène et du diène **15**, lui-même obtenu à partir de différents alcools chiraux. Le composé **16** subit un réarrangement de Beckmann qui permet l'extension

³⁷ Ceccon, J. ; Greene, A. E. ; Poisson, J. F. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4739-4742.

³⁸ Grubbs, R. H. ; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

du cycle en utilisant le réactif de Tamura (MSH)³⁹, le clivage des chlores suivi d'une oxydation dans les conditions de Sharpless en α de la double liaison fournit la pyrrolidinone **17**. La fonction alcool du composé **17** est ensuite protégée et l'atome d'azote est alkylé par le 3-bromopropène pour fournir le composé **18**. Le cycle pipéridine du composé **19** est obtenu par métathèse en présence du catalyseur de Grubbs de deuxième génération. Une hydrogénation de la double liaison suivie d'une réduction de l'amide et enfin une élimination de la fonction alcool permet d'isoler la déhydroindolizidine **19**. La dihydroxylation de la double liaison de **19** fourni le diol correspondant qui après déprotection donne la (-)-swainsonine avec un rendement global de 2,5 % sur les dix huit étapes. (Schéma 4)

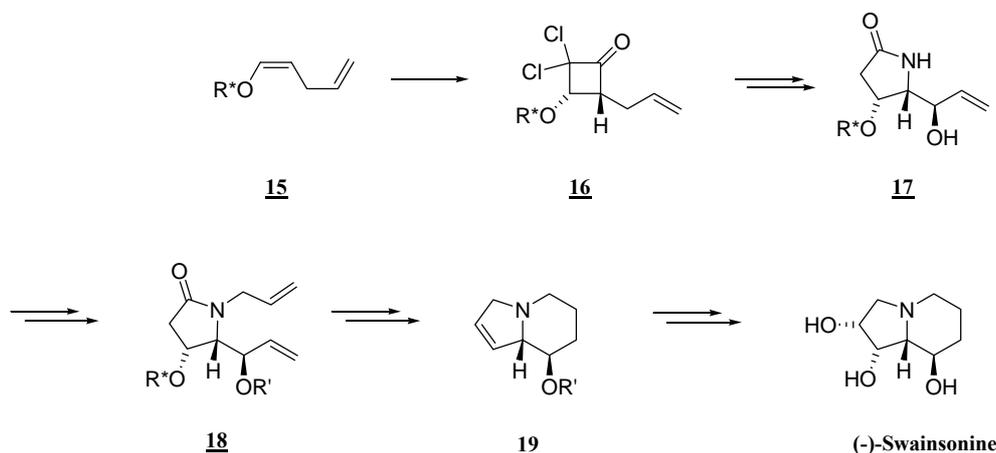


Schéma 4 : Synthèse de la (-)-Swainsonine

III. Conclusion

Dans cette première partie, nous avons présenté différentes synthèses d'indolizidines polyhydroxylées, du type swainsonine, castanospermine et lentiginosine.

La plupart de ces synthèses utilisent une réaction de métathèse pour former le cycle pipéridinique. Ou bien, elles utilisent comme matière première, des sucres qui ensuite par ouverture et fermeture du cycle osidique fournissent l'indolizidine correspondante.

Face à l'intérêt grandissant que suscitent ces motifs indolizidines diversement hydroxylés, ainsi que les applications biologiques qu'elles peuvent présenter, nous avons souhaité mettre en place une nouvelle stratégie de synthèse pour accéder à des analogues de la swainsonine et de la castanospermine.

Nous nous sommes ainsi intéressés à la synthèse d'indolizidines polyhydroxylées en utilisant le savoir faire du laboratoire, soit une réaction de type Mannich intramoléculaire permettant de former le cycle pipéridinique.

³⁹ Tamura, Y. ; Minamikawa, J. ; Ikeda, M. *Synthesis* **1977**, 1-17.

IV. Notre stratégie de synthèse

L'objectif de notre travail est de réaliser la synthèse d'inhibiteurs potentiels de glycosidases, analogues de la swainsonine et de la castanospermine en utilisant la méthode développée au laboratoire.

Elle est basée sur la condensation d'un aldéhyde **20** et d'une β -aminocétone protégée **21** conduisant à l'imine correspondante **22**. Le traitement de cette imine en milieu acide conduit à la formation d'un iminium pouvant exister sous deux formes en équilibre **23** (acétal) et **24** (éther d'énol). Cette dernière forme peut alors réagir avec l'iminium selon une réaction de Mannich intramoléculaire pour conduire à la pipéridine **26** (Schéma 5). Cette réaction de cyclisation peut conduire à la formation de pipéridines énantiomériquement pures si l'un des précurseurs (aldéhyde ou amine) est porteur d'un inducteur chiral.

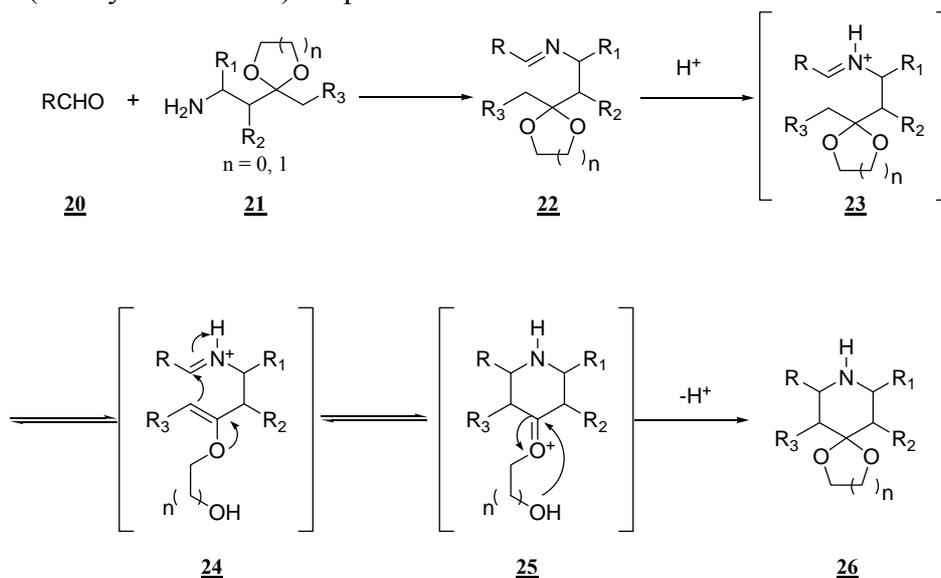


Schéma 5

Cette méthode permet d'obtenir majoritairement des pipéridines 2,6-*cis*-disubstituées⁴⁰. Dans certains cas, des pipéridines 2,6-*trans*-disubstituées sont isolées, selon la nature de l'aldéhyde utilisé⁴¹.

Nous avons choisi d'appliquer cette méthode à la synthèse d'indolizidines polyhydroxylées, qui sont des inhibiteurs potentiels de glycosidases, comme nous l'avons vu précédemment dans la partie bibliographique.

Nous avons donc envisagé de préparer des indolizidines polyhydroxylées diversement substituées de type **I** (Schéma 6).

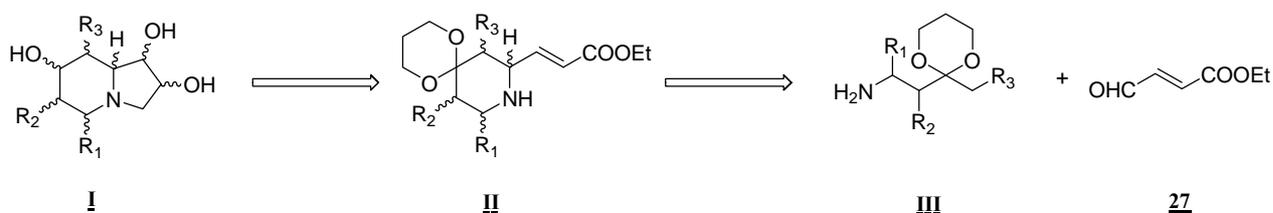


Schéma 6

⁴⁰ Ciblat, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2000**, D.U. 1218.

⁴¹ Carbonnel, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2001**, D.U. 1273.

L'indolizidine polyhydroxylée de type **I** serait obtenue après réduction, dihydroxylation et cyclisation intramoléculaire de l'intermédiaire **II**. Ce synthon clé de la synthèse serait obtenu par cyclisation de Mannich intramoléculaire entre une amine **III** et le *trans*-4-oxo-butèn-2-oate d'éthyle **27** commercial. Nous avons utilisé l'aldéhyde **27** pour sa fonctionnalité. En effet, la présence de la double liaison en α de la fonction ester lui donne un caractère très réactif, vis-à-vis des réactions de dihydroxylation³⁵.

Dans un premier temps et afin de valider le schéma réactionnel, nous avons choisi de réaliser la synthèse d'un premier inhibiteur potentiel de glycosidases **30** à partir de l'amine (\pm)-**28**, dont la synthèse est bien connue au laboratoire et le *trans*-4-oxo-butèn-2-oate d'éthyle **27** (Schéma 7). Lors de la formation de la pipéridine (\pm)-**29**, la stéréochimie relative des carbones 2 et 6 est fixée.

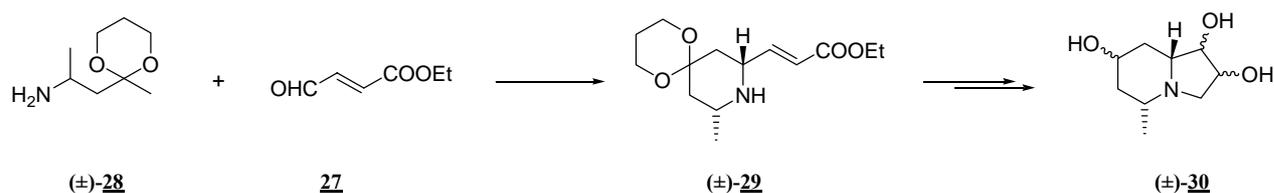
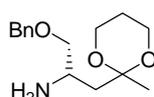


Schéma 7

Une fois notre stratégie de synthèse mise au point en série racémique, nous l'appliquerons en série optiquement pure à partir de l'amine (-)-**28** obtenue par dédoublement chimique du racémique.

Soucieux d'augmenter le potentiel inhibiteur de nos composés, nous avons souhaité ajouter un groupement hydroxyle supplémentaire.

Pour se faire, nous envisageons de réaliser la synthèse racémique de l'amine (\pm)-**31** en adaptant la stratégie employée pour l'amine (\pm)-**28**, puis une synthèse optiquement pure de l'amine (+)-**31** à partir de l'acide *L*-aspartique (Figure 14).



31

Figure 14

³⁵ Martin, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.

Nous exposerons dans un premier temps nos travaux à partir de l'amine racémique (\pm)-**28** qui nous ont permis de mettre au point une stratégie de synthèse d'indolizidines polyhydroxylées.

V. Schéma synthétique

Dans la perspective de préparer une indolizidine polyhydroxylée de type **VI**, nous avons défini le schéma synthétique suivant (Schéma 8) :

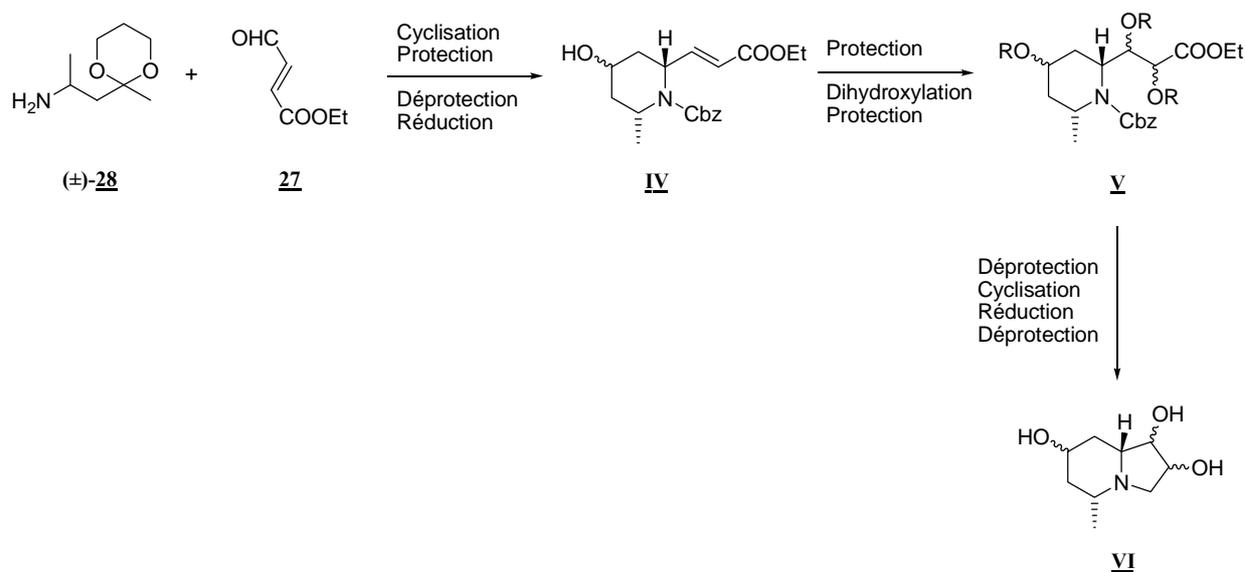


Schéma 8

Dans un premier temps, la cyclisation de type Mannich intramoléculaire entre l'amine (\pm)-**28** et l'aldéhyde **27** permet de former le cycle pipéridinique. Ensuite, la protection de l'atome d'azote par un carbamate de benzyle suivie de la déprotection du dioxane et réduction de la pipéridone correspondante, fournissent l'intermédiaire **IV**. La pipéridine **V** sera synthétisée après protection de la fonction alcool en position 4 du cycle pipéridine, suivie de la dihydroxylation de la double liaison et protection du diol formé. Enfin, l'indolizidine **VI** sera obtenue après déprotection du carbamate de benzyle et cyclisation intramoléculaire de l'atome d'azote libéré sur l'ester, suivie de la déprotection des groupements hydroxyle.

VI. Etude en série racémique à partir de l'amine (\pm)-**28**

VI.1. Préparation de l'amine racémique (\pm)-**28**

La synthèse de cette amine a été effectuée au laboratoire en s'appuyant sur la méthode développée par Islam et Raphael⁴², en utilisant la 3-pentèn-2-one commerciale (Schéma 9).

⁴² Islam, A. M. ; Raphael, R. A. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3151-3154.

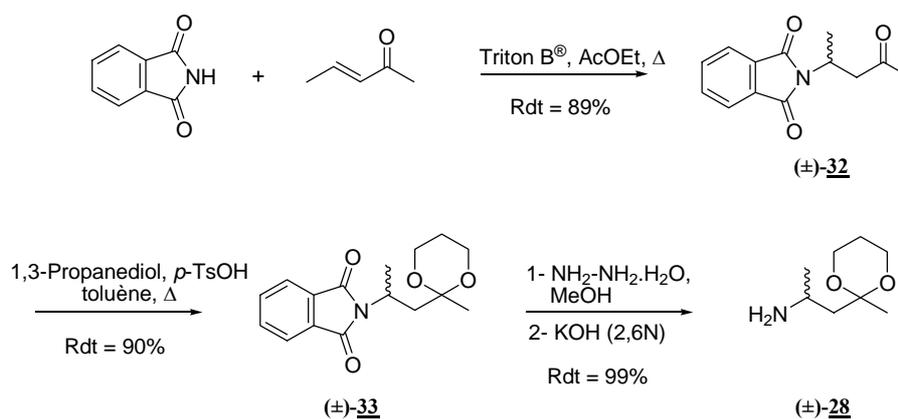


Schéma 9

L'addition 1,4 du phthalimide sur la 3-pentène-2-one en présence de triton B[®] conduit au dérivé phthalimide (±)-**32** correspondant. La fonction cétone est ensuite protégée sous forme d'un acétal de type dioxane. La coupure basique du phthalimide (±)-**33** par hydrazinolyse en milieu méthanolique génère l'amine attendue (±)-**28**. Celle-ci est obtenue en trois étapes avec un rendement global de 79%.

Comme l'ont montré des travaux antérieurs⁴⁰ réalisés au laboratoire, le dioxane a été choisi comme groupement protecteur car il est facile à introduire et plus facile à hydrolyser que le dioxolane, mais en contre partie il est plus fragile.

Les structures des différents intermédiaires réactionnels ont été confirmées à partir des caractéristiques spectrales de la littérature (RMN du ¹H, RMN du ¹³C, spectroscopie infrarouge et spectrométrie de masse).

L'amine (±)-**28** ayant ainsi été préparée, nous avons envisagé la synthèse de la pipéridine (±)-**34**.

VI.2. Réaction de cyclisation à partir de l'amine (±)-**28**

La condensation de l'amine (±)-**28** sur le *trans*-4-oxo-butène-2-oate d'éthyle **27**, réalisée dans les conditions habituelles utilisées au laboratoire⁴¹, conduit à la formation de l'imine correspondante dont le traitement par deux équivalents d'acide *para*-toluènesulfonique génère majoritairement la pipéridine 2,6-*cis*-disubstituée (±)-**29**, avec un rendement de 80% (Schéma 10).

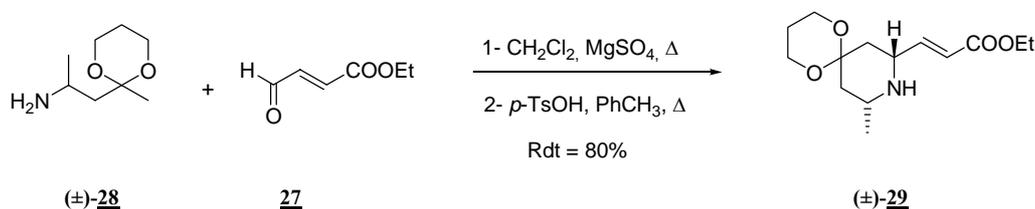


Schéma 10

La structure de la pipéridine (±)-**29** a été déterminée par RMN du ¹H. L'excès diastéréoisomérique de cette réaction est supérieur à 95%. La présence des signaux

⁴⁰ Ciblat, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2000**, D.U. 1218.

⁴¹ Carbonnel, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2001**, D.U. 1273.

caractéristiques d'un cycle pipéridinique 2,6-*cis*-disubstitué est observée. En effet, en RMN du ^1H , les protons **H-3** et **H-5** équatoriaux résonnent sous la forme de doublets de triplets. En effet, cette méthode permet donc d'accéder à des pipéridines 2,6-*cis*-disubstituées avec les substituants en position équatoriale.

La protection de l'atome d'azote de la pipéridine est nécessaire pour la suite de la synthèse, notamment pour l'étape de déprotection de l'acétal.

VI.3. Protection de l'atome d'azote de la pipéridine

Nous avons choisi de protéger l'atome d'azote de la pipéridine sous la forme d'un carbamate de benzyle. Souvent utilisé, ce groupement protecteur est stable dans les conditions d'hydrolyse acide de l'acétal. Il pourra être coupé facilement par hydrogénolyse⁴³.

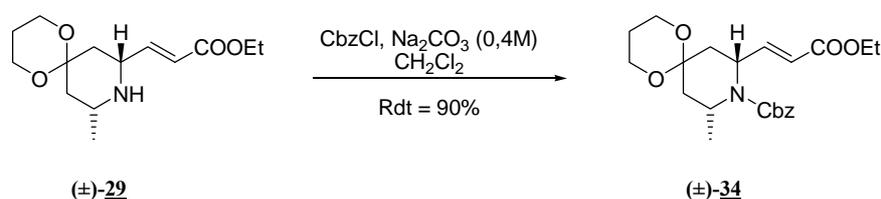


Schéma 11

La protection de la pipéridine **(±)-29** dans un mélange biphasique dichlorométhane-carbonate de sodium aqueux⁴⁴ (solution de molarité 0,4M) en présence de chloroformate de benzyle conduit au carbamate **(±)-34**, avec un rendement de 90% (Schéma 11).

VI.4. Hydrolyse de l'acétal de la pipéridine (±)-34

Les acétals de type 1,3-dioxane sont couramment utilisés comme groupements protecteurs de fonctions cétones en synthèse organique. Parmi les nombreuses méthodes de coupures décrites, la plupart font intervenir un acide, plus ou moins fort selon la nature du substrat.

D'après les études déjà réalisées au laboratoire sur les conditions de déprotection de pipéridines 2,6-disubstituées, il apparaît que le traitement de la pipéridine **(±)-34** par une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50%, est une méthode efficace de coupure de l'acétal⁴⁵ (Schéma 12). Cette méthode nous a permis de générer la pipéridone **(±)-35** avec un rendement de 90%.

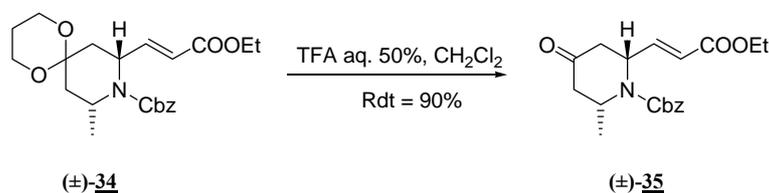


Schéma 12

⁴³ Greene, T.W. ; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley and Sons, New York, 1991, 2nd édition.

⁴⁴ Munchhof, M. J. ; Meyers, A. I. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5399-5400.

⁴⁵ Ripoche, I. ; Canet, J.-L. ; Gélas, J. ; Troin, Y. *Eur. J. Org. Chem.* 1999, 1517-1521.

La structure de la pipéridone (\pm)-**35** a été confirmée par RMN du ^1H et du ^{13}C , on observe bien la disparition des signaux relatifs à l'acétal. Le spectre de RMN du ^{13}C indique une valeur de 206 ppm pour le groupement carbonyle de la cétone.

La réaction de transacétalation dans l'acétone a également été réalisée en présence d'un acide relativement fort (HCl 6N). La pipéridone (\pm)-**35** a également été obtenue avec un rendement comparable au précédent mais le temps de réaction est beaucoup plus long.

Ainsi, nous avons privilégié la première méthode qui est plus rapide.

VI.5. Réduction diastéréosélective de la pipéridone (\pm)-**35**

Avant d'introduire les groupements hydroxyle sur la partie indolizidine, nous avons envisagé de réduire de façon diastéréosélective la fonction carbonyle de la pipéridone (\pm)-**35**, notamment pour des raisons de stabilité de la pipéridone (\pm)-**35**.

Par analogie avec les études effectuées sur les cyclohexanones⁴⁶, auxquelles les pipéridines peuvent être assimilées structurellement, la réduction de la fonction cétone peut conduire à deux pipéridinols épimères dont les proportions relatives dépendent de l'agent réducteur utilisé⁴⁷.

Ainsi, le traitement de la pipéridone (\pm)-**35** par NaBH_4 à -10°C conduit à la formation de deux épimères dont l'un est largement majoritaire (**Schéma 13**). Le spectre RMN du ^1H ne permettant pas de déterminer les proportions de chacun des produits formés probablement à cause de la présence de rotamères, nous avons engagé le mélange des deux épimères dans l'étape suivante et nous réaliserons leur séparation par la suite.

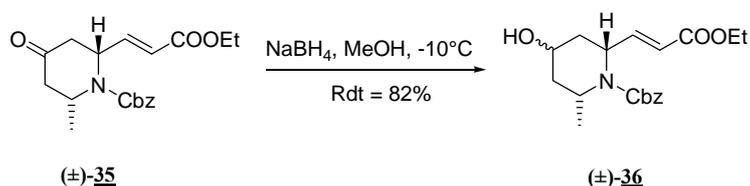


Schéma 13

La présence de l'atome d'azote protégé sous forme d'un carbamate, sur une pipéridine 2,6-disubstituée, entraîne une stabilisation du conformère pour lequel les substituants sont en position axiale. La présence d'interactions de type 1,3-diaxiale, entre les substituants et le carbamate de benzyle, est à l'origine de cette inversion de chaise. Il apparaît alors l'existence d'un équilibre entre deux formes chaises possibles, déplacé vers la conformation pour laquelle les substituants portés par les carbones 2 et 6 sont en position axiale⁴⁸.

Ces observations s'appliquent à la pipéridone (\pm)-**35** protégée sous la forme d'un carbamate de benzyle et nous conduisent à envisager une conformation privilégiée pour laquelle le méthyle et l'éthylénique sont en position axiale (**Schéma 14**).

⁴⁶ Seyden-Penne, J. *Reduction par les alumino- et boro-hydrures*. Techniques et documentation Lavoisier, **1988** et références citées.

⁴⁷ Rougnon Glasson, S. ; Canet, J.-L. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9797-9802.

⁴⁸ Beak, P. ; Zajdel, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1010-1018.

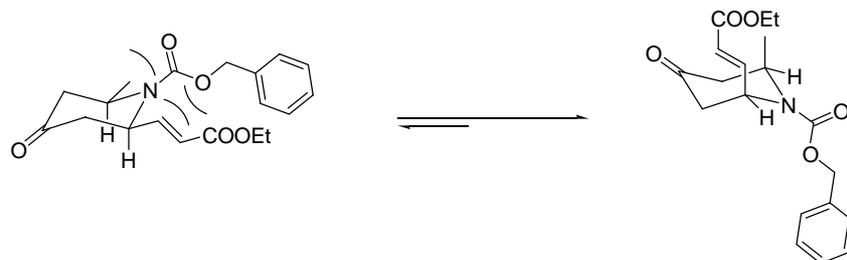


Schéma 14

Ainsi, la réduction de la pipéridone (\pm)-**35** par NaBH_4 conduit majoritairement au pipéridinol ayant l'alcool en 4 en position axiale, correspondant à l'attaque équatoriale de l'hydrure (Schéma 15).

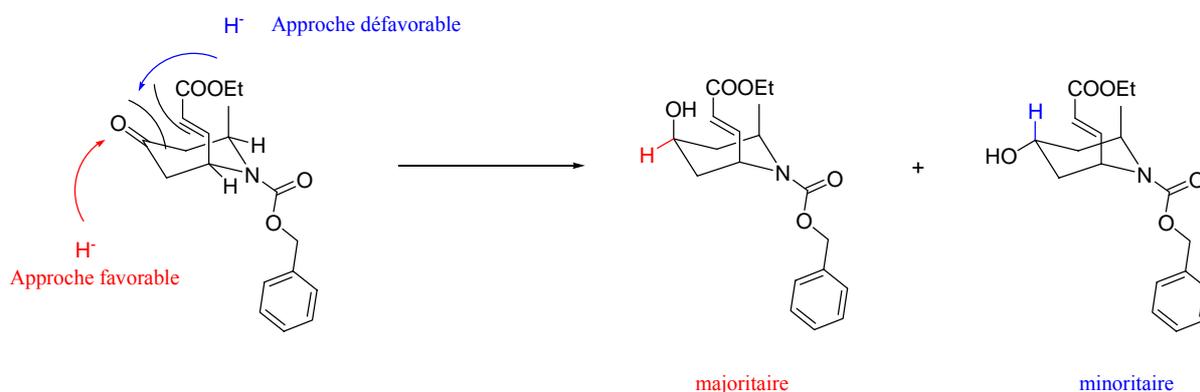


Schéma 15

Nous essaierons de confirmer la position de l'alcool en 4 lors de l'étape suivante après séparation des deux diastéréoisomères. Pour ce faire, nous souhaitons protéger le groupement hydroxyle en position 4 de la pipéridine pour éviter tout problème de réactivité de ce dernier.

VI.6. Protection de l'alcool en position 4 du pipéridinol

Compte tenu de notre stratégie de synthèse, le groupement protecteur choisi pour la protection de l'hydroxyle en position 4 doit être facile à cliver. En effet, l'étape de déprotection est la dernière étape de la synthèse avant l'obtention de l'indolizidine polyhydroxylée.

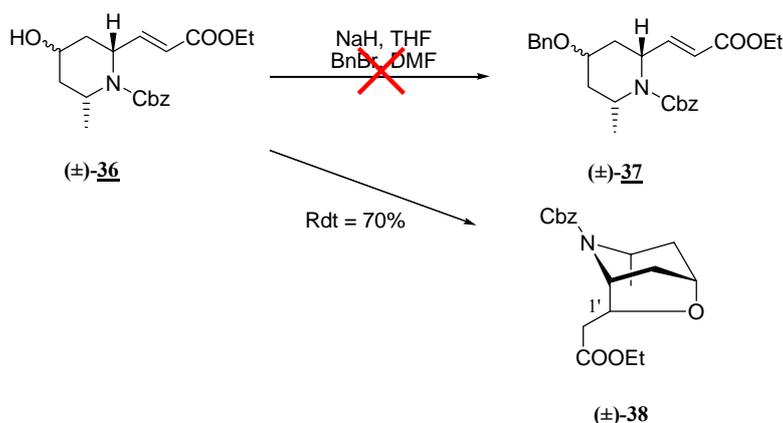
VI.6.1. Protection par un groupement benzyle

Dans un premier temps, nous avons souhaité protéger la fonction alcool sous la forme d'un éther de benzyle. En effet, ce groupement protecteur peut être coupé facilement par hydrogénation catalytique. Une simple filtration du catalyseur permettra d'isoler le produit.

Tout d'abord, nous avons envisagé d'utiliser des conditions classiques de protection, soit NaH en présence de BnBr ⁴⁹. Mais dans ces conditions, seul le composé (\pm)-**38** issu d'une

⁴⁹ Baxter, A. D. ; Binns, F. ; Javed, T. ; Roberts, S. M. ; Sadler, P. ; Scheinmann, F. ; Wakefield, B. J. ; Lynch, M. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I **1986**, 889-900.

réaction de Michael intramoléculaire de l'alcoolate formé sur la double liaison est identifié. Après purification par chromatographie sur gel de silice, le composé (\pm)-**38** est isolé avec un rendement de 70% (Schéma 16).



Les caractéristiques spectrales du composé (\pm)-**38** sont en accord avec la structure proposée. En effet, le spectre RMN du ^1H rend compte de l'absence des protons éthyléniques et la RMN du ^{13}C indique un déplacement chimique pour le carbone C-1' à 79 ppm.

L'isolement de ce produit majoritaire permet de déterminer la configuration de l'alcool en position 4. En effet, seul le composé (\pm)-**36** ayant l'alcool en position axiale est susceptible de se cycliser pour former le composé (\pm)-**38**. Ceci confirme bien les hypothèses que nous avons avancées précédemment.

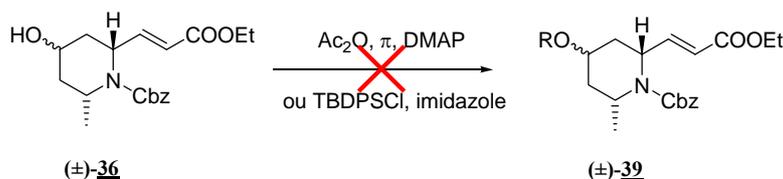
Des conditions moins basiques ont été appliquées, soit $\text{Ag}_2\text{O}\text{-BnBr}$ ⁵⁰, mais elles ne fournissent pas de meilleurs résultats. En effet, le composé (\pm)-**37** n'est pas isolé.

Ainsi, nous avons choisi d'utiliser d'autres groupements protecteurs afin d'éviter la cyclisation intramoléculaire.

Nous avons envisagé d'introduire d'autres groupements protecteurs en employant des conditions moins drastiques.

VI.6.2. Autres groupements protecteurs

Tout d'abord, nous avons choisi d'introduire un acétate dans les conditions classiques de protection⁵¹ (Schéma 17). Mais, le produit (\pm)-**38** issu de la cyclisation intramoléculaire en Michael de l'alcoolate sur la double liaison reste le seul composé identifié.

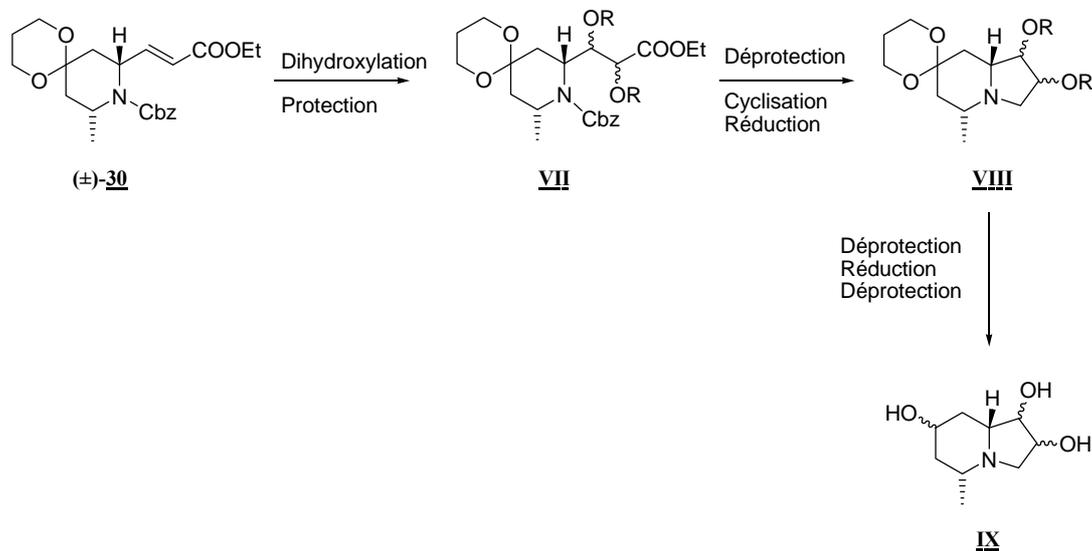


⁵⁰ Denmark, S. E. ; Yang, S.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15196-15197.

⁵¹ Alcaro, S. ; Arena, A. ; Neri, S. ; Ottanà, R. ; Ortuso, F. ; Pavone, B. ; Vigorita, M. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 1781-1791.

Un dernier groupe protecteur a été introduit, le *tert*-butyldiphénylsilyle, dans les conditions classiques⁵², en présence d'imidazole (**Schéma 17**). Mais dans ce cas aussi, le composé (\pm)-**38** est majoritaire.

Compte tenu des résultats obtenus, nous avons dû revoir notre stratégie de synthèse. Ainsi, nous avons choisi de réaliser la dihydroxylation de la double liaison avant de réduire la pipéridone (**Schéma 18**).



Tout d'abord, la double liaison de la pipéridine (\pm)-**30** est dihydroxylée puis les groupements hydroxyle sont protégés pour fournir l'intermédiaire **VII**. Ensuite, la déprotection du carbamate de benzyle suivie de la cyclisation intramoléculaire de l'atome d'azote de la pipéridine sur la fonction ester et réduction du lactame correspondant permettent d'isoler l'intermédiaire **VIII**. Enfin, l'indolizidine **IX** sera obtenue après hydrolyse de l'acétal et réduction du groupement carbonyle en position 4 puis déprotection des groupements hydroxyle.

VI.7. Dihydroxylation de type Sharpless sur l'ester α - β insaturé

La réaction de *cis*-dihydroxylation des oléfines de Sharpless est sans doute l'une des réactions les plus utiles étant donné sa sélectivité (seulement sur les doubles liaisons oléfiniques) et de sa stéréospécificité (*cis*).

VI.7.1. Bibliographie

Les « méthodologies » d'osmylation de Criegee⁵³ et de Milas⁵⁴ ont été en quelque sorte les précurseurs de la dihydroxylation asymétrique de Sharpless qui est parmi les réactions catalytiques asymétriques les plus versatiles jamais développées⁵⁵.

⁵² Green, M. E. ; Rech, P. E. ; Floreancig, P. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4117-4120.

⁵³ Criegee, R. *Ann.* **1936**, *522*, 75-96.

⁵⁴ Milas, N. A. ; Sussman, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1302-1304.

⁵⁵ Carroll, M. F. *J. Chem. Soc.* **1940**, 704-706.

Divers concepts et étapes-clés ont ponctué cette réaction de dihydroxylation de Sharpless, notamment la découverte de l'effet accélérateur et la stéréosélectivité des ligands ainsi que l'ajout catalytique d'agent d'oxydation grâce à l'utilisation de co-oxydant tel que l'oxyde de *N*-méthylmorpholine.

VI.7.1.a. Source d'osmium

Les travaux de Criegee⁵³ sur la *cis*-hydroxylation des oléfines utilisaient des quantités stoechiométriques de OsO₄. Ce réactif est hautement toxique et très cher, par contre la pyridine employée comme ligand accélère notablement la réaction.

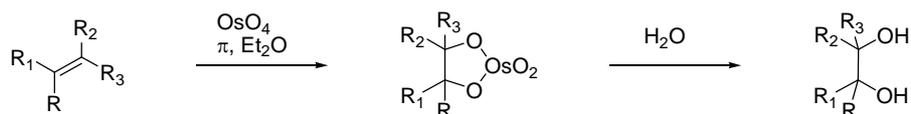


Schéma 19

VI.7.1.b. Les co-oxydants

En 1976, Sharpless et Akhasi⁵⁶ ont développé le processus de dihydroxylation avec l'introduction de *tert*-BuOOH comme co-oxydant permettant de ce fait la réoxydation *in situ* de l'Os(VI). Cette méthode permet d'ajouter une quantité catalytique d'osmium.

Quelques années plus tard, l'oxyde de *N*-méthylmorpholine ainsi que le K₃Fe(CN)₆ en présence de K₂CO₃ se sont révélés être les meilleurs systèmes de co-oxydants⁵⁷.

VI.7.1.c. Ligands

Les ligands ont joué un rôle crucial à la fois sur la stéréosélectivité de la réaction et sur son accélération avec le concept « effet d'accélération par ligands » ou (LAE) de Sharpless.

Hentges *et al.*⁵⁸ ont introduit l'usage des ligands dihydroquinidine **DHQD** et dihydroquinine **DHQ**, dérivés d'alcaloïdes isolés de composés du type « Cinchona » dans des conditions catalytiques.

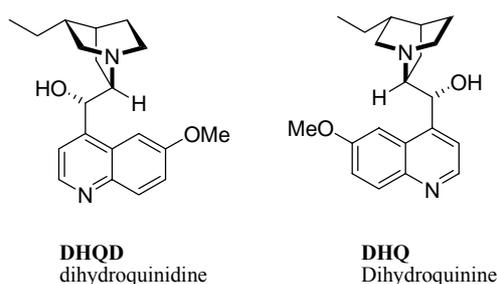


Figure 15

La découverte d'une seconde génération de ligands dont le squelette de base est constitué par les phthalazines **PHAL**⁵⁹ et les pyrimidines **PYR**⁵⁸ sur lesquels se greffent le

⁵³ Criegee, R. *Ann.* **1936**, 522, 75-96.

⁵⁶ Sharpless, K. B. ; Akashi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 1986-1987.

⁵⁷ Kolb, H. C. ; VanNieuwenhze, M. S. ; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2483-2547.

⁵⁸ Hentges, S. G. ; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4263-4265.

⁵⁹ Hoi-Lun, K. ; Sorato, C. ; Ogino, Y. ; Hou, C. ; Sharpless, K. B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 2999-3002.

DHQD ou le **DHQ**, a considérablement amélioré l'énantiosélectivité et la vitesse des réactions.

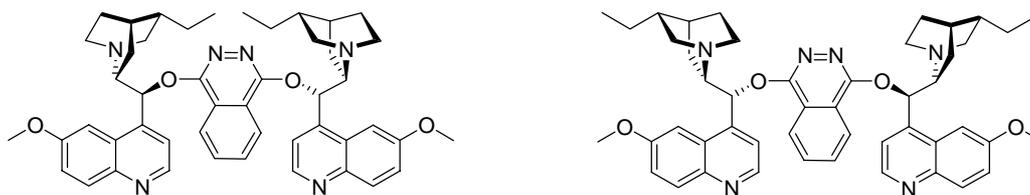


Figure 16

La *cis*-dihydroxylation asymétrique de Sharpless⁶⁰.

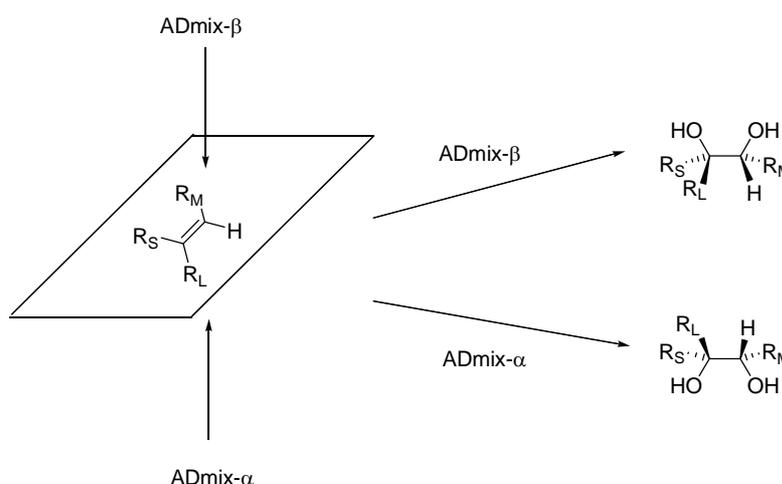


Figure 17

En fonction de l'encombrement de la double liaison et du ligand utilisé, la dihydroxylation de la double liaison se fait sur une face plutôt qu'une autre (**Figure 17**).

VI.7.1.d. Deux exemples de dihydroxylation sur des pipéridines éthyléniques

Utilisation d'un ligand chiral sur un dérivé de l'acide pipécolique :

Gurjar *et coll.*³² ont réalisé une dihydroxylation asymétrique de type Sharpless, en utilisant de l'ADmix-β sur une pipéridine dérivée de l'acide pipécolique **2** (**Schéma 20**). Celle-ci est protégée par un carbamate de benzyle mais ne possède pas d'acétal en position 4.

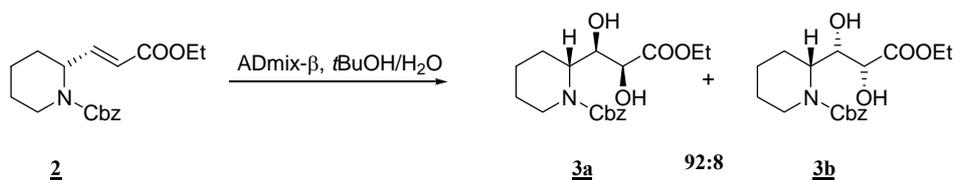


Schéma 20

⁶⁰ Sharpless, K. B. ; Amberg, W. ; Bennani, Y. L. ; Crispino, G. A. ; Hartung, J. ; Jeong, K. S. ; Kwong, H. L. ; Morikawa, K. ; Wang, Z. M. ; Xu, D. ; Zhang, X. L. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2768-2771.

³² Gurjar, M. K. ; Ghosh, L. ; Syamala, M. ; Jayasree, V. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8871-8872.

Ils obtiennent deux composés avec une bonne diastéréosélection, dans des proportions de l'ordre de 92 : 8.

Sans utilisation d'un ligand chiral :

En 2005, Riera *et coll.*³⁵ ont effectué une dihydroxylation de Sharpless en présence de OsO₄ et de NMO, mais sans utiliser de ligand chiral. Ils ont isolé le composé **40** avec un rendement de 72% avec une totale stéréosélectivité.

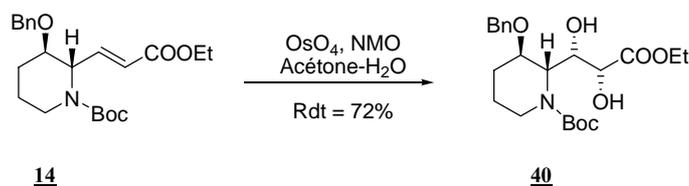


Schéma 21

Compte tenu de la similitude avec nos molécules, nous avons envisagé d'utiliser la méthode développée par Riera et coll.

VI.7.2. Dihydroxylation de la double liaison

Dans un premier temps, la dihydroxylation a été réalisée sur la piperidine (\pm)-**34** en utilisant K₂OsO₄.2H₂O en présence de NMO dans un mélange acétone-eau. En effet, pour des raisons de toxicité, nous avons préféré employer K₂OsO₄.2H₂O comme source d'osmium plutôt que OsO₄.

Dans ces conditions, un mélange de diastéréoisomères (\pm)-**41a** et (\pm)-**41b** est formé dans les proportions respectives de 1 pour 3, avec un rendement global de 80%. Les deux diastéréoisomères sont ensuite séparés par chromatographie sur gel de silice.

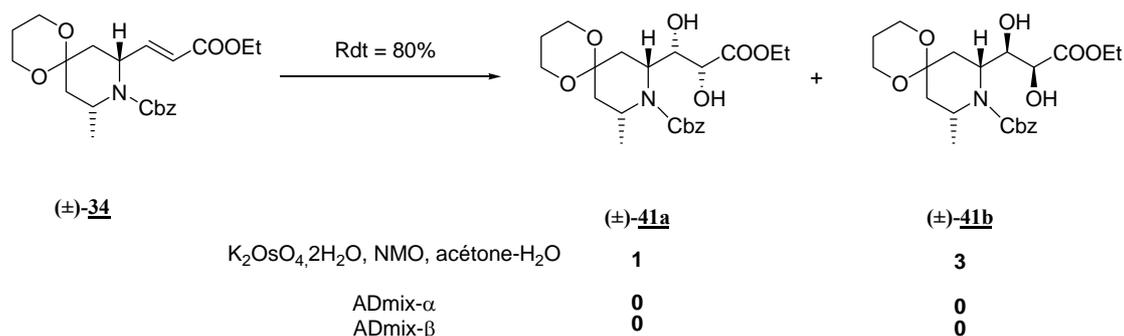


Schéma 22

Afin d'améliorer la diastéréosélectivité, nous avons utilisé des ligands chiraux, tel que l'ADmix- α . Mais dans ces conditions, la réaction n'a pas lieu. La piperidine (\pm)-**34** n'est pas dihydroxylée. L'utilisation d'ADmix- β ne donne pas de meilleurs résultats. On ne constate aucune formation de dérivé dihydroxylé.

Les résultats obtenus par Riera *et coll.*³⁵ démontraient que la dihydroxylation était sensible à l'encombrement. Nous avons alors postulé que la présence du dioxane en position 4 sur le

³⁵ Martin, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.

cycle pipéridinique entraîne une gêne stérique trop importante, empêchant ainsi toute réaction avec l'ADmix. Comme nous pouvons le remarquer sur le schéma suivant (**Schéma 23**), la double liaison à dihydroxyler n'est pas très accessible.

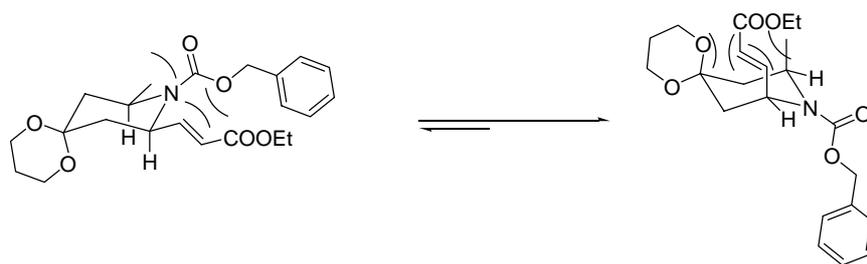


Schéma 23

Afin de mettre en évidence l'influence de l'acétal en position 4 sur la réaction de dihydroxylation, nous avons alors réalisé cette réaction sur la pipéridone (\pm)-**35** (**Schéma 24**).

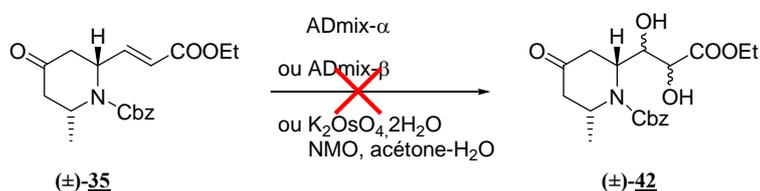


Schéma 24

Dans ce cas, la réaction de dihydroxylation de Sharpless, que ce soit avec un ligand chiral (ADmix- α ou - β) ou bien seulement avec un co-oxydant (NMO) en présence de $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$, n'a pas lieu. On constate uniquement une dégradation du produit de départ, vraisemblablement dû à un problème de stabilité de la pipéridone (\pm)-**35**.

La dihydroxylation ayant été mise au point avec $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$, nous avons poursuivi la synthèse avec le composé (\pm)-**41b** qui est le diastéréoisomère majoritaire de la réaction.

Mais dans un premier temps, nous avons entrepris de confirmer la configuration relative des carbones asymétriques formés au cours de la réaction de dihydroxylation.

VI.8. Confirmation des configurations relatives des carbones 7 et 8

Afin de confirmer la configuration relative des carbones asymétriques 7 et 8 formés lors de la réaction de dihydroxylation, nous avons réalisé la synthèse des indolizidinones intermédiaires correspondantes (**Schéma 25**).

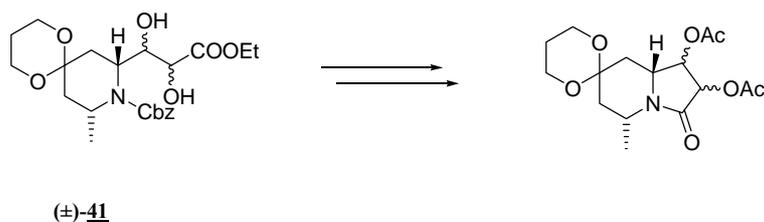


Schéma 25

Nous avons choisi de synthétiser ces intermédiaires qui présentent une structure relativement rigide, ainsi nous pourrions déterminer les configurations des carbones asymétriques formés au cours de la réaction de dihydroxylation.

VI.8.1. Préparation de l'indolizidinone (\pm)-**45b**

VI.8.1.a. Préparation de l'intermédiaire (\pm)-**44b**

Dans un premier temps, nous avons utilisé le composé (\pm)-**41b** qui est le composé majoritaire. Celui-ci est acétylé dans les conditions classiques⁵¹ en présence de pyridine et d'anhydride acétique pour fournir le composé (\pm)-**43** avec un rendement de 80%. L'hydrogénolyse du carbamate de benzyle en présence de Pd/C conduit à la pipéridine (\pm)-**44** avec un rendement de 90% (Schéma 26).

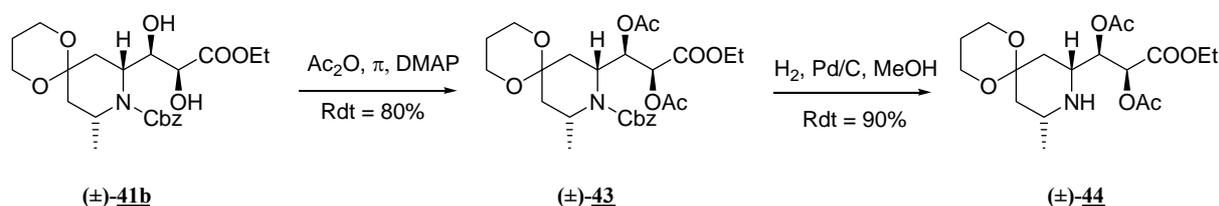


Schéma 26

VI.8.1.b. Formation de l'indolizidinone (\pm)-**45b**

Nous avons envisagé d'utiliser les conditions mises au point par Riera *et coll.*³⁵ pour la réaction de formation de l'indolizidinone, à savoir l'utilisation de la base de Hünig fraîchement distillée, au reflux du THF. Mais dans notre cas, ces conditions ne permettent pas d'obtenir l'indolizidinone (\pm)-**45b** (Schéma 27).



Schéma 27

L'énergie apportée en chauffant au reflux du THF n'est peut-être pas suffisante ou bien la base utilisée n'est pas assez forte pour déprotoner l'atome d'azote de la pipéridine. Ainsi, nous avons changé le solvant et la base. Le THF a été remplacé par le toluène et la DIPEA par le DBU. Cependant, même dans ces conditions, la cyclisation n'a pas lieu.

Les deux hypothèses que nous pouvons avancer quant à la non-formation de l'indolizidinone sont les suivantes :

⁵¹ Alcaro, S. ; Arena, A. ; Neri, S. ; Ottanà, R. ; Ortuso, F. ; Pavone, B. ; Vigorita, M. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 1781-1791.

³⁵ Martin, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M.A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.

- soit les groupements acétates sont trop encombrants et empêchent la cyclisation d'avoir lieu.
- soit il existe une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'azote de la pipéridine et une fonction acétate qui stabilise la pipéridine (\pm)-**44** et empêche la réaction de se produire.

Afin de confirmer la configuration relative des carbones de l'indolizidinone (\pm)-**45b**, nous avons réalisé la synthèse des indolizidinones (\pm)-**45a** et (\pm)-**45b**. Nous avons choisi d'introduire des groupements acétates comme groupements protecteurs en dernière étape de la synthèse, en utilisant les conditions précédemment décrites (Schéma 28).

L'hydrogénolyse du carbamate de benzyle des composés (\pm)-**41a** et (\pm)-**41b** en présence de Pd/C conduit respectivement aux pipéridines (\pm)-**46a** et (\pm)-**46b** avec un rendement de 95%. Puis la formation des indolizidinones (\pm)-**47a** et (\pm)-**47b** est réalisée en présence de la base de Hünig fraîchement distillée, au reflux du THF. Et les groupements hydroxyle sont directement protégés par des acétates pour conduire respectivement aux indolizidinones (\pm)-**45a** et (\pm)-**45b** (Schéma 28).

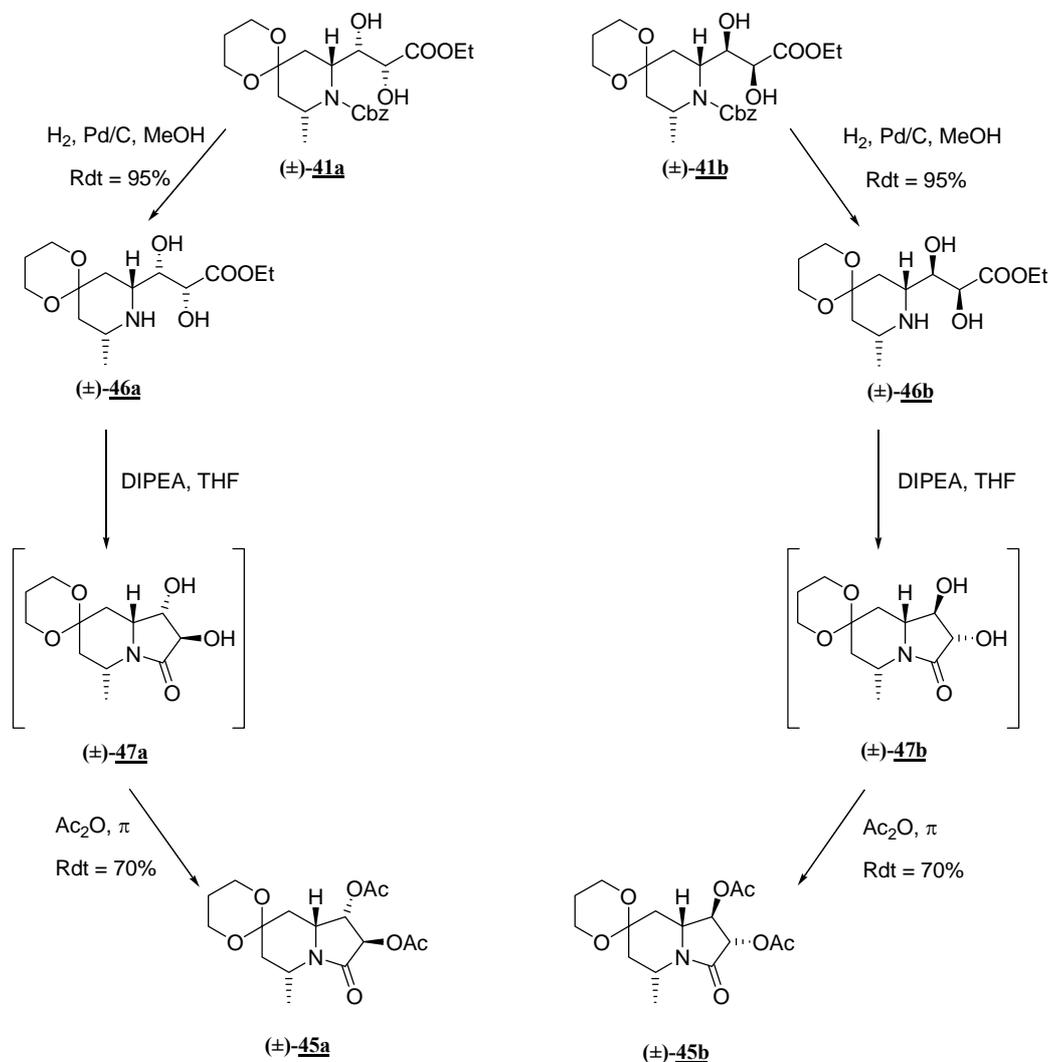
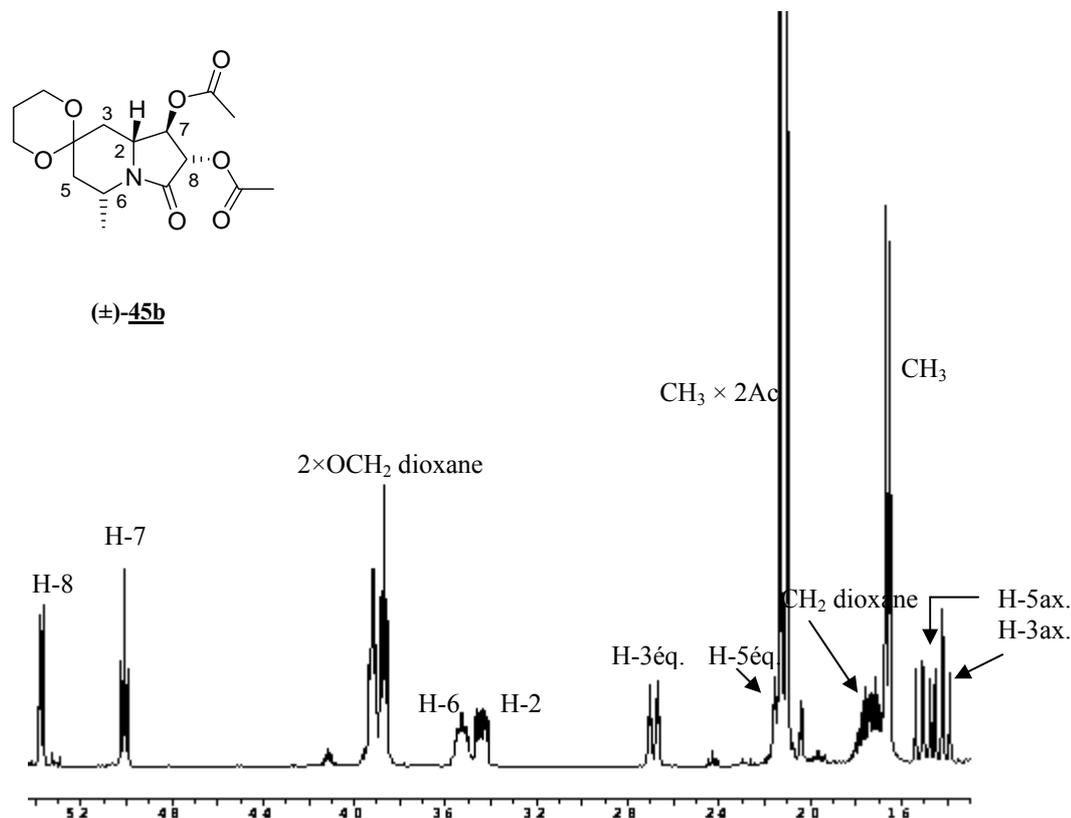


Schéma 28

L'analyse des spectres RMN du ^1H , ^{13}C , COSY ^1H - ^1H des composés (\pm)-**45a** et (\pm)-**45b**, nous a permis d'attribuer sans ambiguïté les déplacements chimiques de tous les protons et carbones.



RMN du ^1H (400MHz, CDCl_3) de l'indolizidinone (\pm)-**45b**

La comparaison des valeurs des constantes de couplage entre les protons **H-7** et **H-8** avec les valeurs de la littérature ne nous permet pas de déterminer sans ambiguïté la configuration relative des carbones **7** et **8**. Nous avons réalisé des expériences de RMN NOESY sur les deux indolizidinones synthétisées afin de comparer les effets NOE entre les protons caractéristiques. Le spectre RMN NOESY réalisé dans le chloroforme deutéré ne donne pas de bons résultats, les effets NOE ne sont pas significatifs. La même expérience a été réalisée dans le benzène deutéré sur les deux indolizidinones protégées sous la forme d'acétate.

Pour le diastéréoisomère (\pm)-**45a** nous observons un effet NOE de 6% entre les protons **H-2** et **H-7**, on parle ainsi de configuration *cis*. Quant à l'autre diastéréoisomère (\pm)-**45b**, seul un pourcentage d'effet NOE de 1% est calculé entre les protons **H-2** et **H-7** et 6% entre les protons **H-7** et **H-3ax.**, dans ce cas on parle de configuration *trans*.

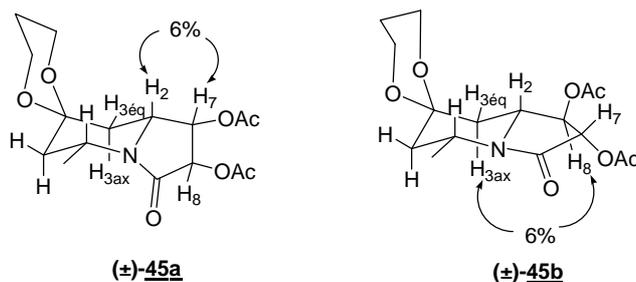


Figure 18

Ainsi, lors de la dihydroxylation de la double liaison de la pipéridine (±)-**34**, deux diastéréoisomères sont formés à cause d'une gêne stérique importante, le diastéréoisomère majoritaire (±)-**41b** a une configuration relative (7R,8S).

La synthèse de l'indolizidine (±)-**47** étant au point et la stéréochimie des carbones asymétriques confirmée, nous nous sommes intéressés à la préparation du composé (±)-**53**.

Le cycle indolizino-pipéridinique étant créé, il reste à déprotéger l'acétal, réduire la fonction cétone et libérer les groupements hydroxyle.

VI.9. Synthèse de l'indolizidine (±)-**48**

Puis, la cyclisation intramoléculaire au reflux du THF avec de la DIPEA permet d'isoler le composé (±)-**47b**³². (Schéma 29)

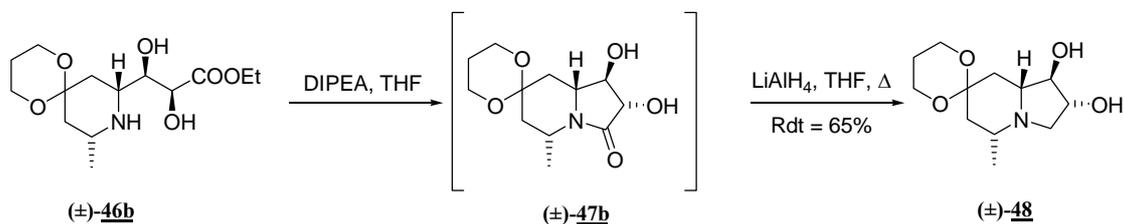


Schéma 29

Or, ce dernier n'est pas stable et se déshydrate rapidement pour former le composé (±)-**49** entièrement conjugué (Figure 19).

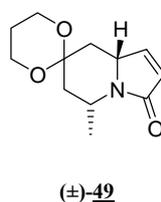


Figure 19

Par conséquent, le composé (±)-**47b** n'est pas isolé mais directement réduit pour former l'indolizidine (±)-**48**. Pour cela, deux méthodes différentes de réduction d'amide ont été employées.

³² Gurjar, M. K. ; Ghosh, L. ; Syamala, M. ; Jayasree, V. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8871-8872.

Tout d'abord, nous avons appliqué les conditions utilisées par Riera *et coll.*³⁵, à savoir en présence du complexe $\text{BH}_3\text{-SMe}_2$. Nous avons isolé le composé (\pm)-**48** avec un rendement de 63%. La réduction de l'amide en présence de LiAlH_4 au reflux du THF, donne des résultats comparables. Par la suite, nous avons utilisé LiAlH_4 moins coûteux que le complexe $\text{BH}_3\text{-SMe}_2$.

Selon cette stratégie de synthèse, le composé (\pm)-**48** est obtenu en quatre étapes à partir de la pipéridine (\pm)-**34** avec un rendement global de 45% (Schéma 30).

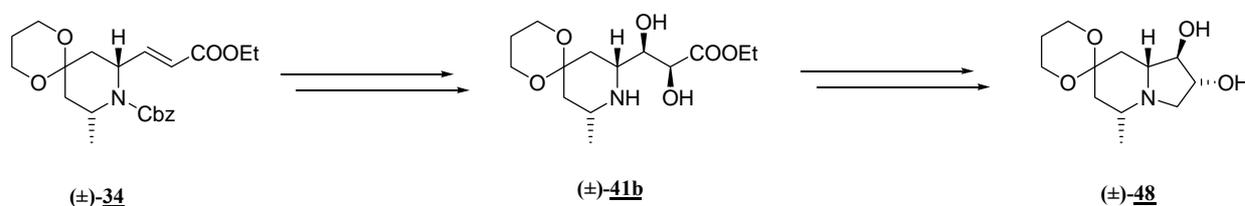


Schéma 30

Ensuite, nous avons poursuivi la synthèse de l'indolizidine polyhydroxylée (\pm)-**53**

VI.10. Synthèse de l'indolizidine polyhydroxylée (\pm)-**53**

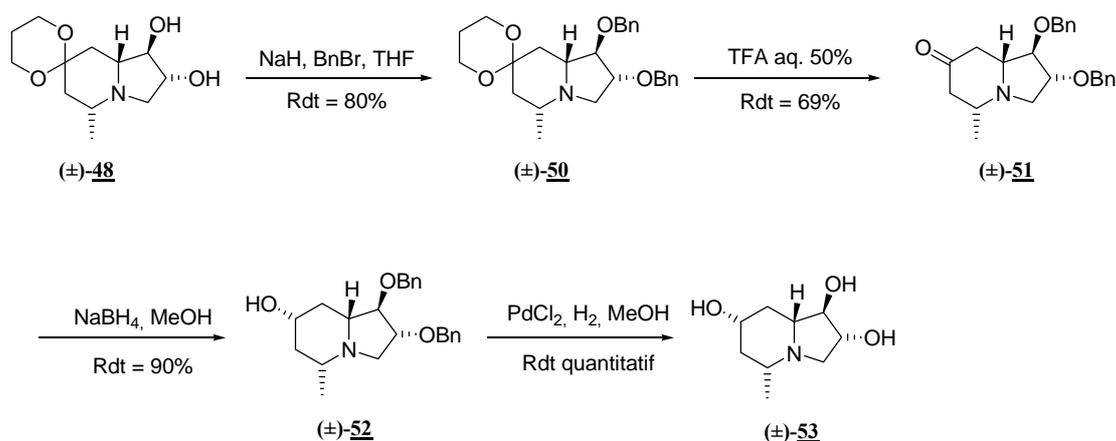


Schéma 31

Nous avons vu précédemment que la protection des groupements hydroxyle est indispensable pour réaliser la suite de la synthèse. En effet, l'étape de déprotection du dioxane est rendue quasiment impossible si les alcools sont libres. A ce stade, nous avons privilégié la protection sous la forme benzyle, protection efficace pour la suite de la synthèse. Les groupements hydroxyle de l'indolizidine (\pm)-**48** sont alors benzylés, en présence de NaH/BnBr . L'indolizidine (\pm)-**50** est obtenue avec un rendement de 80% (Schéma 31).

Le traitement de l'indolizidine (\pm)-**50** par une solution aqueuse de TFA à 50% permet d'hydrolyser facilement l'acétal sans aucune dégradation, pour former la pipéridone (\pm)-**51**. La structure de la molécule est confirmée par les analyses spectroscopiques. En effet, en

³⁵ Martin, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M.A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.

RMN du ^1H , la disparition des signaux correspondant à l'acétal est bien observée alors qu'en RMN du ^{13}C , le groupement carbonyle apparaît à 208 ppm.

La pipéridone (\pm)-**51** ainsi obtenue est réduite par NaBH_4 à une température de -10°C . Nous avons isolé un seul isomère (\pm)-**52**, possédant l'alcool en position équatoriale, avec un rendement de 90%.

L'hydrogénolyse classique en présence de Pd/C sous atmosphère d'hydrogène ne permet pas de déprotéger les éthers de benzyle de l'indolizidine (\pm)-**53**. Celle-ci est réalisée en présence de PdCl_2 sous atmosphère d'hydrogène⁶¹ et permet après plusieurs jours de réaction, d'obtenir le chlorhydrate de l'indolizidine polyhydroxylée (\pm)-**53**. Seule une analyse du mélange réactionnel brut par LC-MS permet de suivre l'avancement de la réaction. Le composé (\pm)-**53** est généré après passage sur résine échangeuse d'ions de type DOWEX 50WX8, avec un rendement quantitatif.

VI.11. Conclusion

Notre stratégie de synthèse, nous a donc permis d'obtenir de façon efficace l'indolizidine polyhydroxylée (\pm)-**53**, nouvel inhibiteur potentiel de glycosidases. Elle est obtenue en dix étapes, au départ de l'amine (\pm)-**28** et de l'aldéhyde **27** avec un rendement global de 6,6% (Schéma 32).

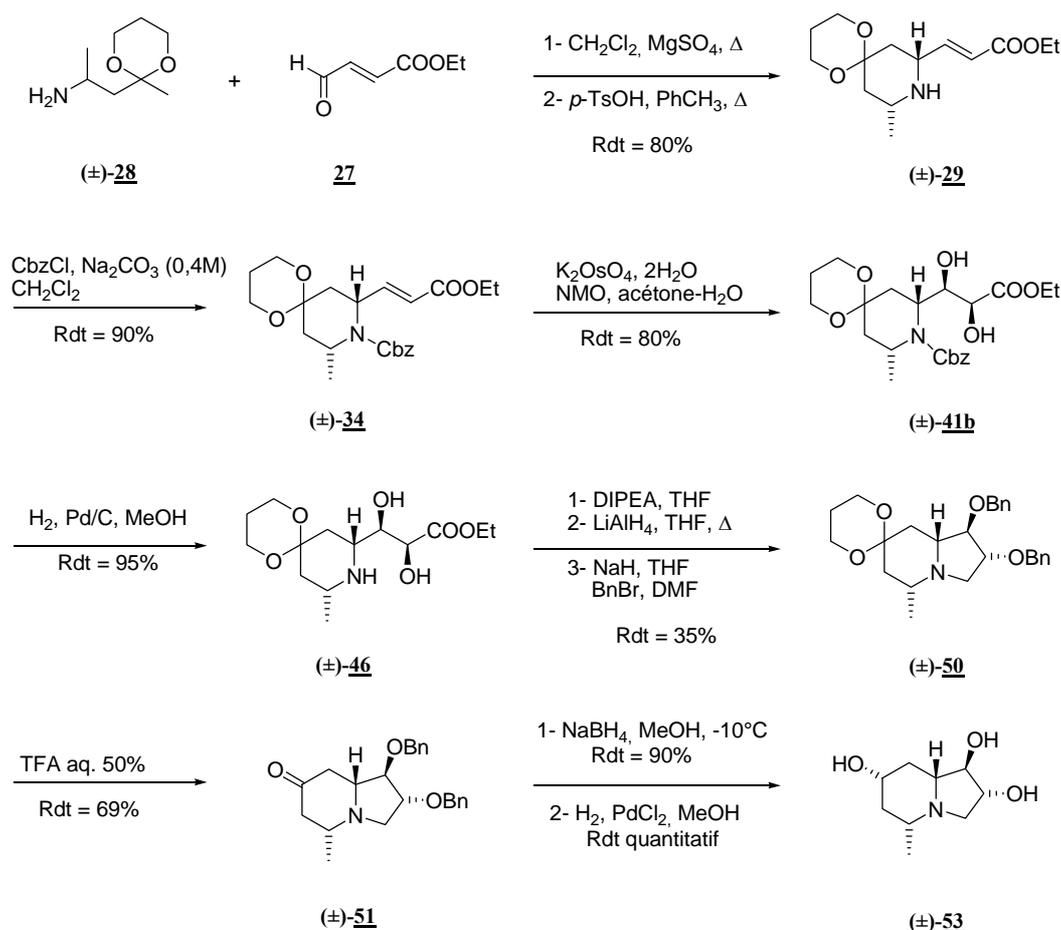


Schéma 32

⁶¹ Zhao, Z. ; Song, L. ; Mariano, P. S. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 8888-8894.

Après avoir mise au point la synthèse en série racémique de l'indolizidine (\pm)-**53**, la synthèse énantiosélective de celle-ci a été réalisée.

VII. Etude en série optiquement pure

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la synthèse asymétrique du cycle pipéridinique, selon la méthode mise au point au laboratoire, nécessite :

- soit l'utilisation d'un aldéhyde chiral
- soit l'utilisation d'une amine chirale.

Dans notre cas, la chiralité sera apportée par l'amine **28** qui est accessible sous forme énantio pure par dédoublement du racémique.

VII.1. Dédoublement de l'amine (\pm)-**28** racémique⁴⁰

Le dédoublement du racémique de l'amine (\pm)-**28** est réalisé dans le méthanol, par précipitation du monotartrate de l'amine. Après trois recrystallisations successives de ce sel, un traitement basique libère l'amine optiquement pure. L'antipode de celle-ci est obtenu par le même principe en utilisant l'énantiomère de l'acide tartrique (Schéma 33).

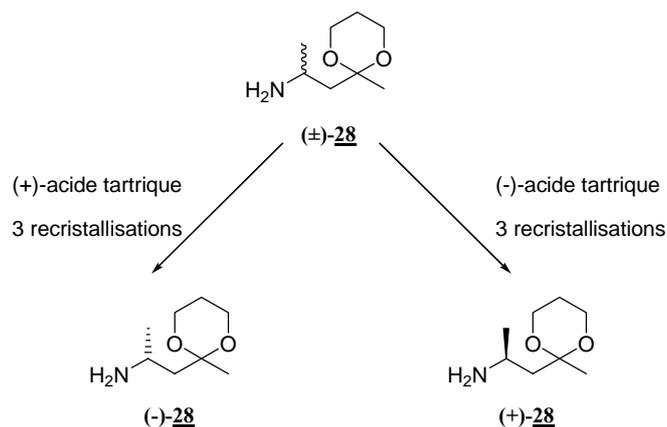


Schéma 33

Le dédoublement du racémique de l'amine (\pm)-**28** avec le (+)-acide tartrique fournit l'amine (-)-**28** avec un rendement de 33%.

Ensuite, la pureté énantiomérique de l'amine est déterminée par spectrométrie RMN du 1H en utilisant l'acide (+)-mandélique comme agent chiral de solvation⁶².

VII.2. Synthèse énantio pure de l'indolizidine (-)-**53**

La stratégie de synthèse est identique à celle développée en série racémique. Elle comporte dix étapes.

Tout d'abord, une cyclisation intramoléculaire de type Mannich qui permet de former la pipéridine. Ensuite, le composé (-)-**29** est protégé par un carbamate de benzyle, suivi d'une dihydroxylation de la liaison α - β -insaturée permet d'isoler le composé (+)-**41b**.

⁴⁰ Ciblat, S. *Thèse de doctorat de l'Université Blaise Pascal*, 2000, D.U. 1218.

⁶² Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, 91, 1441-1547.

L'hydrogénolyse du carbamate de benzyle, puis le traitement par la base de Hünig fournit l'amide correspondant qui n'est pas isolé et est directement réduit par LiAlH₄ pour donner le composé (-)-**48**.

Les groupements hydroxyle sont transformés en éther de benzyle, puis une hydrolyse acide permet de libérer la fonction cétone de la pipéridone (-)-**51**. L'analogue de la swainsonine (-)-**53** est enfin obtenu après réduction de la cétone et hydrogénolyse en présence de PdCl₂ des groupements benzyle (Schéma 34).

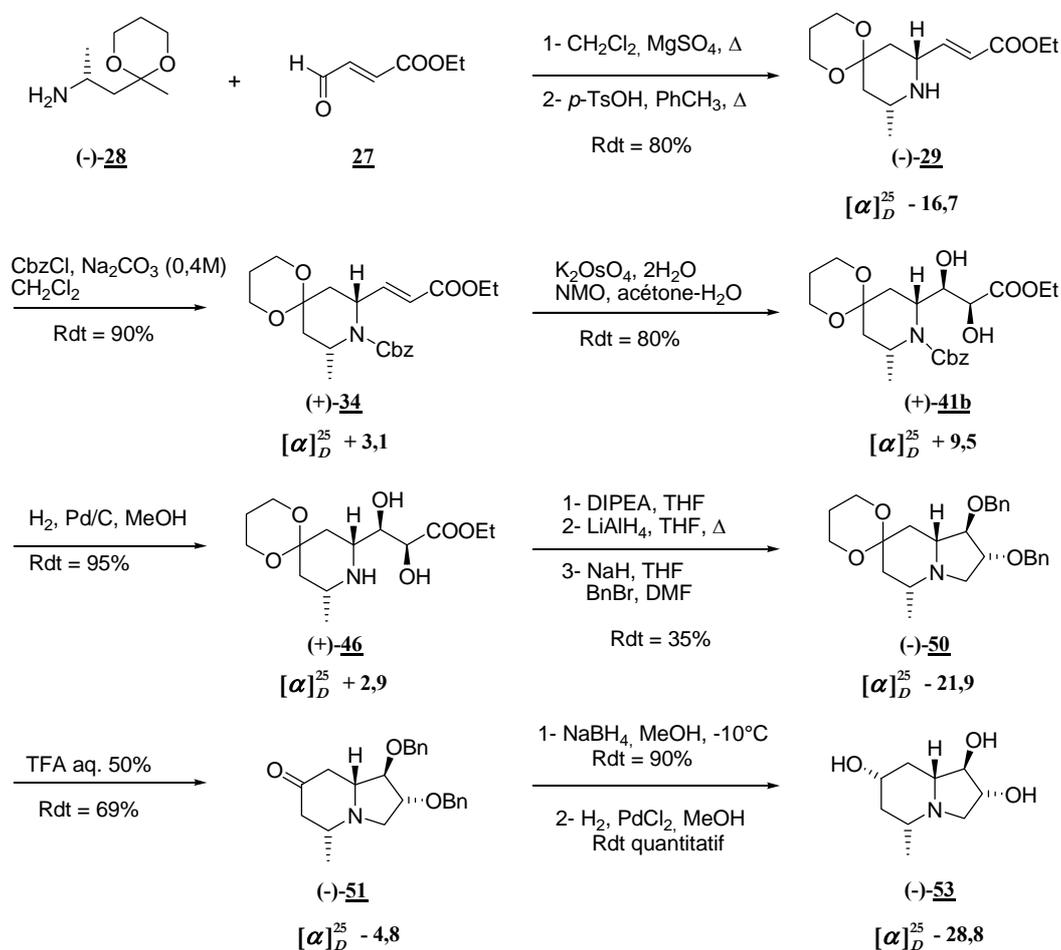


Schéma 34

Cette méthode efficace nous a permis de préparer une indolizidine polyhydroxylée racémique et optiquement pure. Nous pouvons maintenant envisager de l'appliquer à la synthèse d'indolizidines diversement substituées en modifiant la nature de l'amine.

D'après l'étude bibliographique précédente, l'ajout de groupements hydroxyle devrait améliorer le caractère inhibiteur des composés. Dans un premier temps, afin d'augmenter le nombre de groupements hydroxyle, nous devons réaliser la synthèse d'une amine ayant une fonction alcool supplémentaire. Ainsi, nous avons choisi d'utiliser l'amine (±)-**31** (Figure 20) afin d'ajouter un groupement hydroxyle supplémentaire en position 6 de la pipéridine.

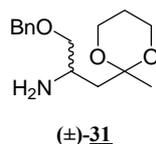


Figure 20

Le protocole expérimental étant celui développé précédemment, la fonction alcool sera protégée sous la forme d'un éther benzylique afin de permettre sa déprotection dans l'étape finale.

VIII. Etude en série racémique à partir de l'amine (±)-**31**

VIII.1. Synthèse de l'amine (±)-**31**

La synthèse racémique de l'amine (±)-**31** s'inspire donc du schéma réactionnel développé pour l'amine (±)-**28**. Elle ne diffère que par l'étape de formation de l'accepteur de Michael **58** (Schéma 35).

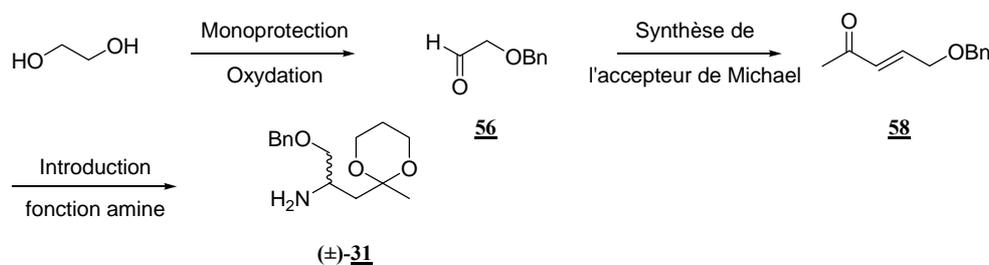


Schéma 35

Nous avons envisagé de préparer l'aldéhyde **56** à partir de l'éthylène glycol en deux étapes : monoprotection d'une fonction alcool puis oxydation.

VIII.1.1. Synthèse de l'aldéhyde **56**

L'alcool monoprotégé **54** peut être préparé selon deux méthodes. La première consiste en la monobenzoylation de l'éthylène glycol en présence d'un équivalent de bromure de benzyle⁶³. La seconde est basée sur la coupure du 2-phényle-[1,2]-dioxolane **55** par le DIBAL-H⁶⁴, le composé **55** étant issu de la protection du benzaldéhyde sous la forme d'un acétal cyclique de type dioxolane⁶⁵ (Schéma 36).

⁶³ Li, L.-S. ; Yikang, W. ; Hu, Y.-J. ; Xia, L.-J. ; Wu, Y.-L. *Tetrahedron : Asymmetry*, **1998**, 9, 2271-2277.

⁶⁴ Takano, S. ; Akiyama, M. ; Sato, S. ; Ogasawara, K. *Chem. Lett.* **1983**, 1593-1596.

⁶⁵ Ciblat, S. ; Calinaud, P. ; Canet, J.-L. ; Troin, Y. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **2000**, 353-357 et références citées.

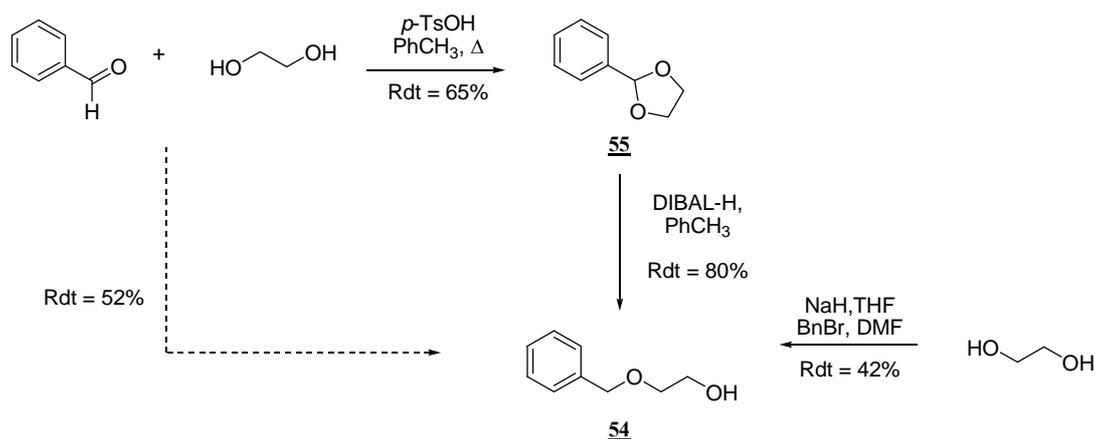


Schéma 36

Initialement, nous avons réalisé la synthèse de l'alcool **54** par monobenzylation dans les conditions classiques (NaH, BnBr, THF)⁶⁶. Cette réaction de monobenzylation s'avère peu efficace dans le cas de l'éthylène glycol. L'ajout de diméthylformamide au milieu réactionnel facilite la réaction et conduit à la formation de l'alcool souhaité avec un rendement acceptable, de 42%. Toutefois, ce rendement moyen peut s'expliquer par la formation du composé dibenzylé quelque soit les conditions utilisées.

Ensuite, l'oxydation du composé **54**, en présence de trois équivalents de triéthylamine et de trois équivalents du complexe pyridine-SO₃ en solution dans du DMSO⁶⁷, fournit l'aldéhyde **56** avec un rendement de 57% (Schéma 37).

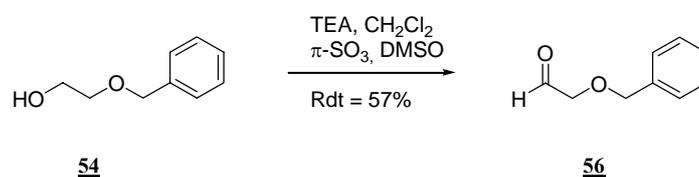


Schéma 37

L'aldéhyde **56** est obtenu en deux étapes à partir de l'éthylène glycol avec un rendement global de 24%.

VIII.1.2. Synthèse de l'accepteur de Michael **58**

L'étape suivante consiste en la formation de l'accepteur de Michael **58**⁶³. Il est obtenu par réaction de Wittig entre la 1-triphénylphosphoranylidène-2-propanone **57** et l'aldéhyde **56** dans le toluène au reflux (Schéma 38).

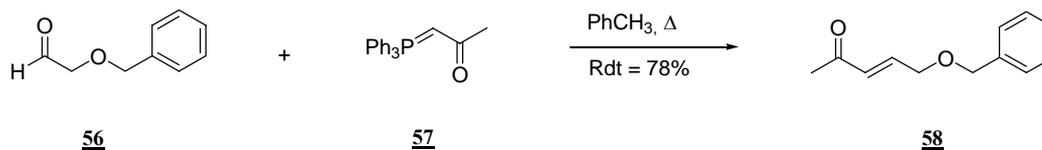


Schéma 38

⁶⁶ Börjesson, L. ; Csöreg, I. ; Welch, C. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2989-2999.

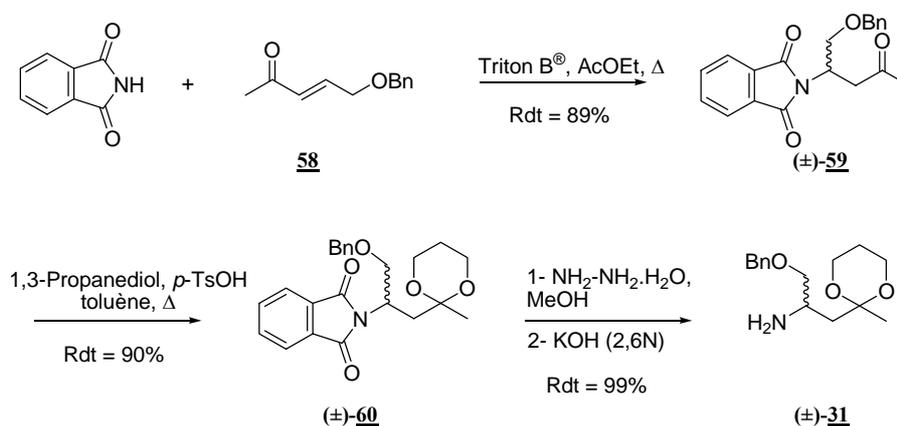
⁶⁷ Parikh, J. R. ; Doering, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505-5507.

⁶³ Li, L.-S. ; Yikang, W. ; Hu, Y.-J. ; Xia, L.-J. ; Wu, Y.-L. *Tetrahedron : Asymmetry*, **1998**, *9*, 2271-2277.

L'accepteur de Michael **58** est ainsi obtenu en trois étapes à partir de l'éthylène glycol avec un rendement global de 19%.

VIII.1.3. Synthèse de l'amine (±)-**31**

Les 3 dernières étapes de la formation de l'amine (±)-**31** consistent à effectuer l'addition 1,4 du groupement phtalimide, puis la protection de la fonction cétone par un acétal de type dioxane, et enfin l'hydrazinolyse qui génère l'amine (±)-**31** (Schéma 39).



L'addition 1,4 du phtalimide sur la cétone α,β-éthylénique **58** permet d'isoler la phtalimidocétone (±)-**59** avec un rendement de 89%.

Dans les conditions classiques de Dean Stark, à savoir dans le toluène en présence d'acide *para*-toluènesulfonique, le composé (±)-**60** est isolé avec un rendement de 90%.

Suivant la procédure de Ing et Manske⁶⁸, le phtalimide est coupé par hydrazinolyse au reflux du méthanol. Le sel d'hydrazide formé est ensuite hydrolysé en milieu basique (KOH 2,6N) afin de libérer l'amine (±)-**31** avec un rendement de 99%.

L'amine (±)-**31** est obtenue en six étapes à partir de l'éthylène glycol avec un rendement global de 15%.

L'amine (±)-**31** étant ainsi formée, nous envisageons la préparation de la pipéridine (±)-**61**.

VIII.2. Synthèse d'un nouvel inhibiteur potentiel de glycosidases (±)-**71**

Les premières étapes de la synthèse de la pipéridine (±)-**67** sont identiques à celles décrites lors de la synthèse de l'indolizidine polyhydroxylée (±)-**53**, précédemment préparée.

VIII.2.1. Formation de la pipéridine (±)-**61**

La condensation de l'amine (±)-**31** sur l'aldéhyde **27**, réalisée dans les conditions habituelles, conduit à la formation de l'imine correspondante dont le traitement en milieu acide génère la pipéridine (±)-**61** (Schéma 40).

⁶⁸ Ing, H. R. ; Manske, R. H. F. *J. Chem. Soc.*, **1926**, 2348-2349.

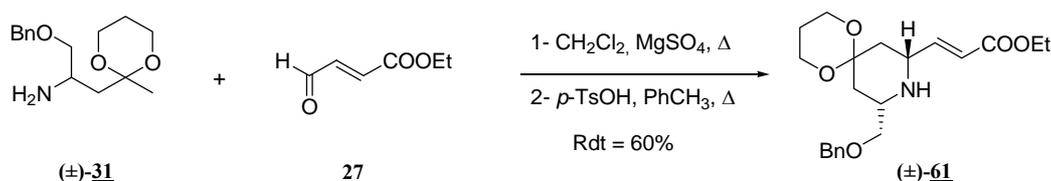


Schéma 40

Seule la pipéridine $(\pm)\text{-61}$ 2,6-*cis*-disubstituée est isolée par chromatographie sur gel de silice, avec un rendement de 60%.

VIII.2.2. Synthèse du composé $(\pm)\text{-63b}$

L'atome d'azote de la pipéridine $(\pm)\text{-61}$ est protégé par un carbamate de benzyle en milieu biphasique avec une solution aqueuse de carbonate de sodium de molarité 0,4 M pour former le composé $(\pm)\text{-62}$ avec un rendement de 90% (Schéma 41).

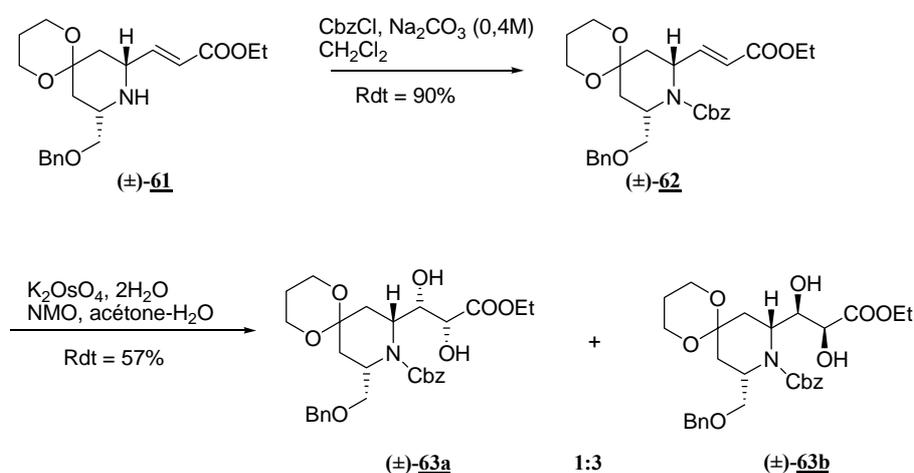


Schéma 41

De la même manière que pour la synthèse du composé $(\pm)\text{-34}$, la pipéridine $(\pm)\text{-62}$ subit une dihydroxylation de la liaison α,β -éthylénique en présence de $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pour conduire à un mélange de deux diastéréoisomères $(\pm)\text{-63a}$ et $(\pm)\text{-63b}$ dans un rapport 1 pour 3. Le composé majoritaire $(\pm)\text{-63b}$ est isolé après chromatographie sur gel de silice et est engagé dans l'étape suivante.

VIII.2.3. Préparation de la pipéridine $(\pm)\text{-67}$

L'hydrogénolyse du carbamate du composé $(\pm)\text{-63b}$ en présence de Pd/C fournit le composé $(\pm)\text{-64}$ ⁶⁹ (Schéma 42).

Contrairement aux résultats précédents, le traitement de la pipéridine $(\pm)\text{-69}$ par la DIPEA au reflux du THF ne fournit pas l'amide cyclique correspondant. En effet, il est nécessaire de fournir plus d'énergie pour réaliser la cyclisation et d'augmenter la basicité de la base. Nous avons donc changé le solvant et la base. Le THF a été remplacé par le toluène, et le DBU est utilisé à la place de la DIPEA.

⁶⁹ Kim, I. S. ; Oh, J. S. ; Zee, O. P. ; Jung, Y. H. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 2622-2633.

Pour des raisons de stabilité évoquées précédemment, l'amide ainsi obtenu n'est pas isolé mais est directement réduit par action de LiAlH_4 pour fournir le composé **(±)-71**. Celui-ci est engagé directement dans l'étape suivante qui consiste en la protection des groupements hydroxyle par des groupements benzyle.

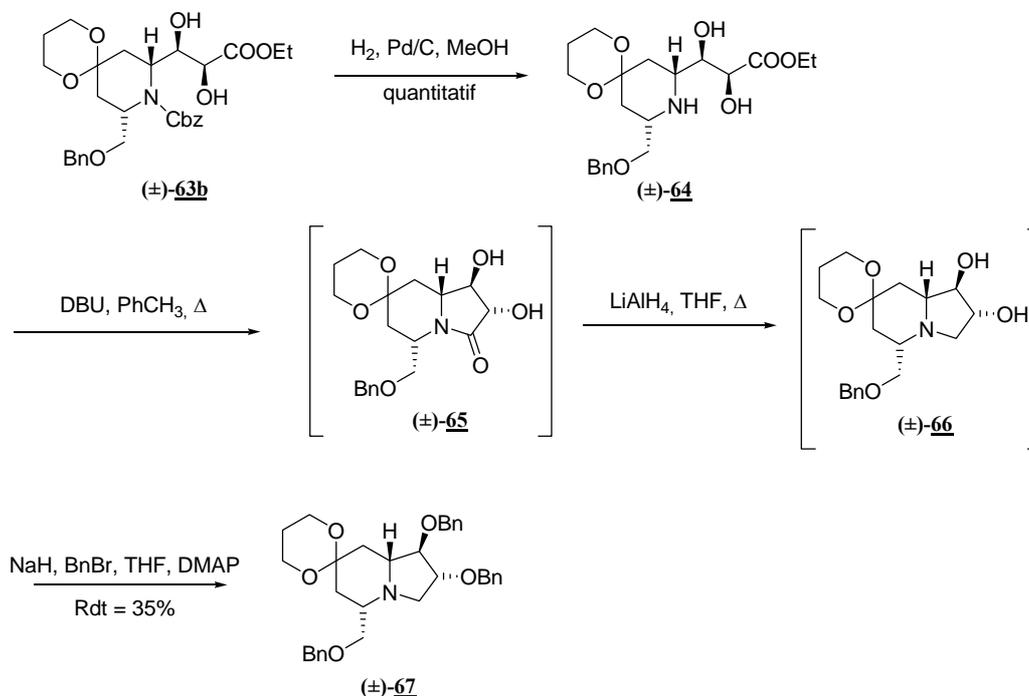


Schéma 42

L'indolizidine **(±)-67** est obtenue en quatre étapes à partir du diol **(±)-63b** avec un rendement global de 35%.

VIII.2.4. Hydrolyse du dioxane

Les conditions d'hydrolyse du dioxane mises au point précédemment, à savoir une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50%, ne permettent pas dans ce cas d'hydrolyser l'acétal. Un traitement par une solution de HCl 6N au reflux de l'acétone ne fournit pas de meilleurs résultats (**Schéma 43**). De plus, des conditions acides plus fortes entraînent la dégradation du produit de départ.

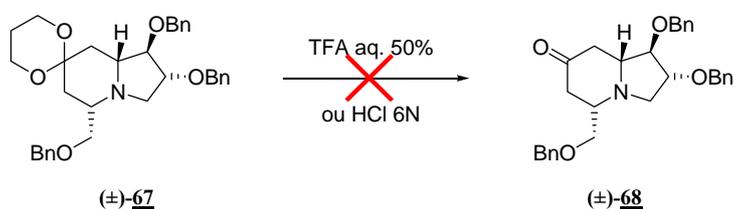


Schéma 43

Une méthode alternative pour obtenir des pipéridones est décrite dans la littérature par Fleming *et coll.*⁷⁰. Elle consiste à préparer la pipéridone (\pm)-**68** par hydrolyse du thioacétal correspondant en présence de TFA et de $\text{PhI}(\text{TFA})_2$.

VIII.2.4.a. Préparation du thioacétal

Dans un premier temps, nous avons réalisé la transacétalation du composé (\pm)-**67**. Elle s'effectue à température ambiante en présence d'un large excès de réactif (5 équivalents de 1,3-propanedithiol) et de $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (5 équivalents)⁷¹ et conduit au composé (\pm)-**69** (Schéma 44) avec un rendement de 80%.

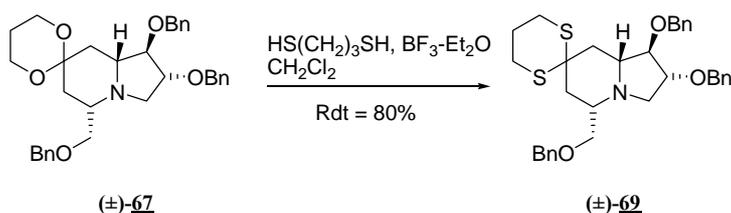


Schéma 44

Le composé (\pm)-**69** est ensuite engagé dans l'hydrolyse du thioacétal pour former la pipéridinone correspondante.

VIII.2.4.b. Hydrolyse du thioacétal

L'hydrolyse du thioacétal est réalisée en présence de [bis-(trifluoroacétoxy)iodo]benzène (2,5 équivalents) et d'un large excès de TFA (10 équivalents) dans un mélange acétonitrile : eau. La pipéridone (\pm)-**68** est obtenue avec un rendement non optimisé de 50% après purification (Schéma 45).

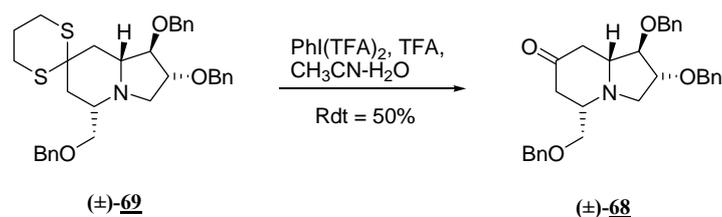


Schéma 45

Mécanisme de la déprotection du thioacétal (Schéma 46) :

La protonation de l'atome d'azote du composé (\pm)-**69** suivie de l'iodation permet d'obtenir l'intermédiaire **I** qui est directement transformé en sel de sulfonium **II**. Celui-ci subit alors une hydrolyse pour générer la cétone désirée (\pm)-**68**.

⁷⁰ Fleming, F. F. ; Funk, L. ; Altundas, R. ; Tu, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 6502-6504.

⁷¹ López, I. ; Diez, A. ; Rubiralta, M. *Tetrahedron* **1996**, 52, 8581-8600.

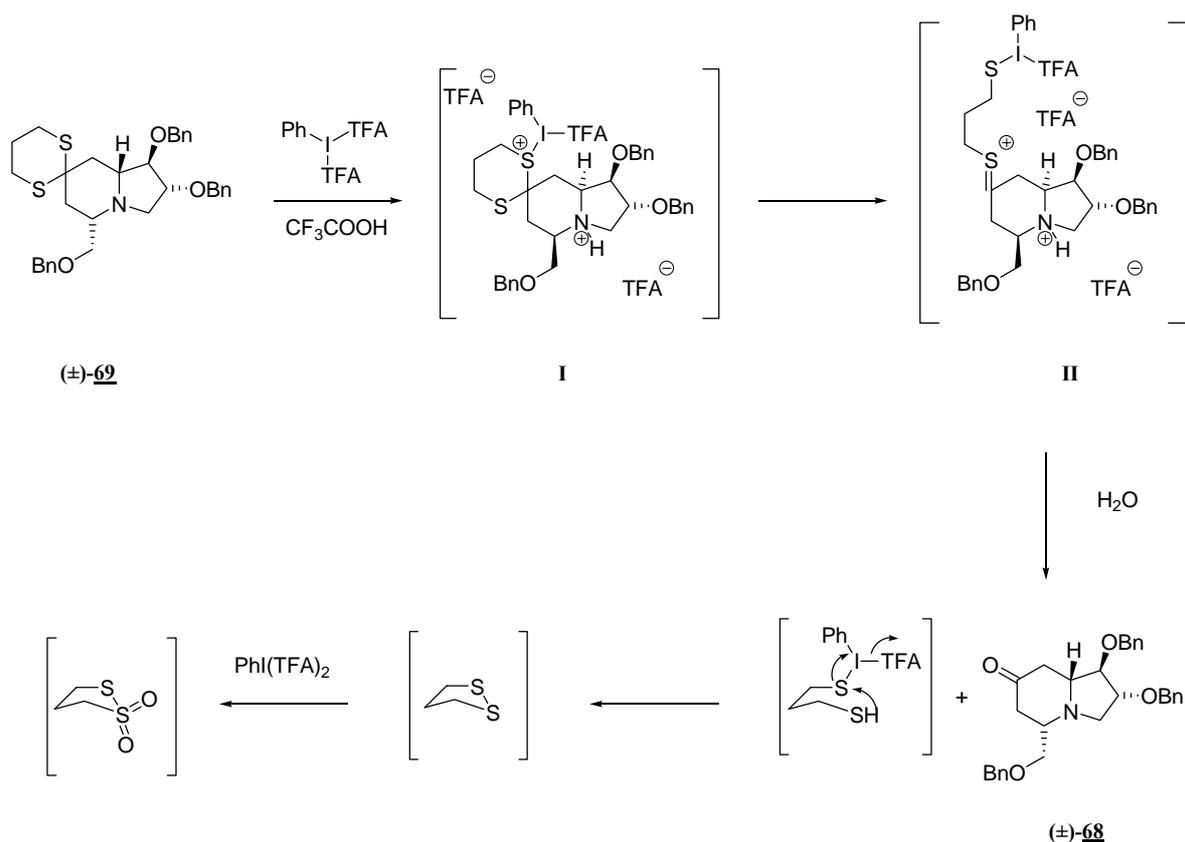


Schéma 46

La synthèse de la pipéridone $(\pm)\text{-68}$ étant au point, nous nous sommes maintenant intéressés à la préparation du composé $(\pm)\text{-71}$.

VIII.2.5. Synthèse de l'indolizidine $(\pm)\text{-71}$

La pipéridone $(\pm)\text{-68}$ obtenue est réduite par NaBH_4 à une température de -10°C . Comme précédemment, nous n'avons isolé qu'un seul épimère $(\pm)\text{-70}$, dont la fonction alcool est en position équatoriale, avec un rendement de 80% (Schéma 47).

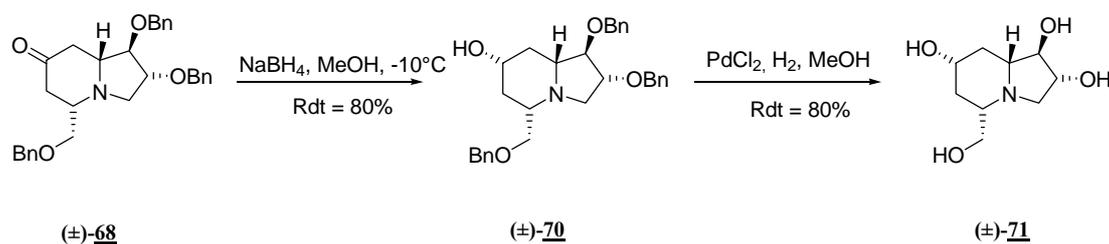


Schéma 47

Enfin, la dernière étape est l'hydrogénolyse du composé $(\pm)\text{-70}$, en présence de PdCl_2 ⁶¹. Après plusieurs jours de réaction, le chlorhydrate de l'indolizidine polyhydroxylée $(\pm)\text{-71}$ est obtenu. Le composé $(\pm)\text{-71}$ est généré après passage sur une colonne de résine échangeuse d'ions du type DOWEX 50WX8.

⁶¹ Zhao, Z. ; Song, L. ; Mariano, P. S. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 8888-8894.

VIII.2.6. Conclusion

Nous avons ainsi préparé un nouvel inhibiteur potentiel de glycosidases (\pm)-**71** en onze étapes à partir de l'amine (\pm)-**31** et l'aldéhyde **27** avec un rendement global de 2,5% (**Schéma 48**).

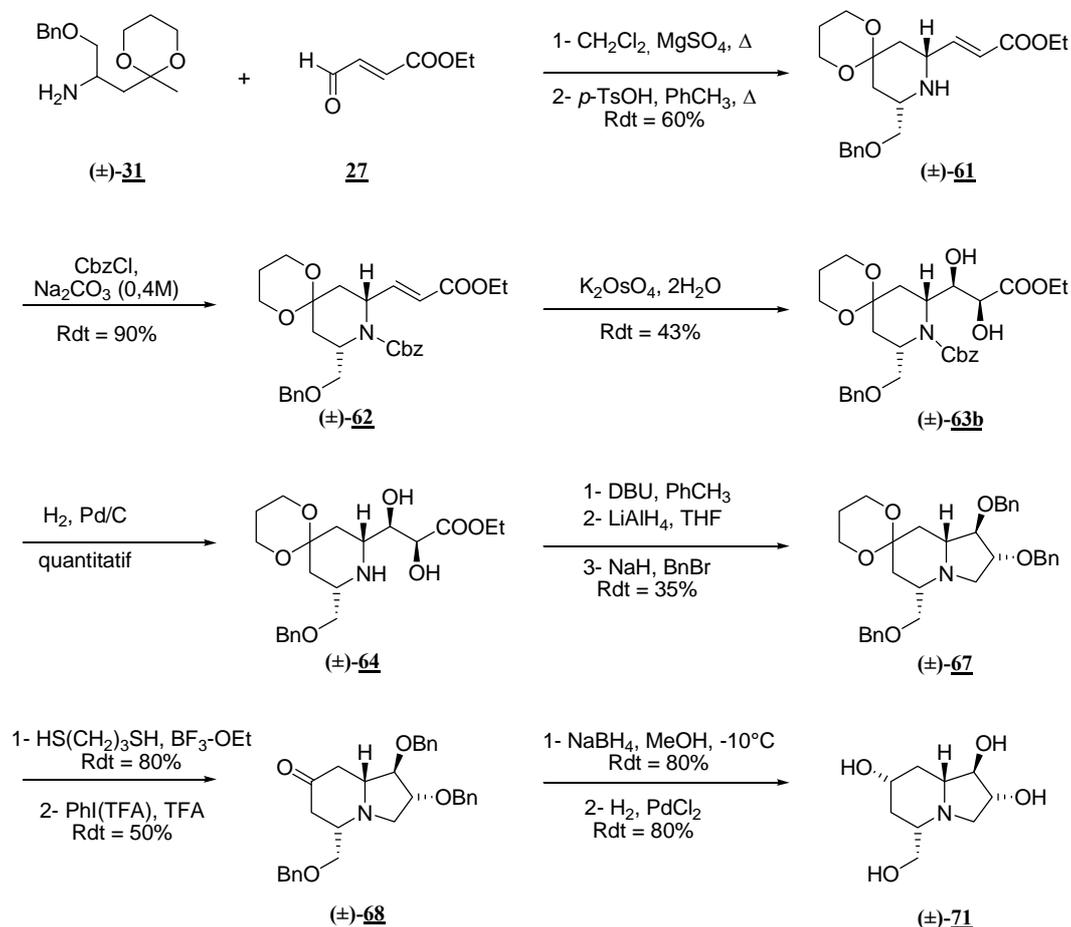


Schéma 48

La synthèse étant mise au point en série racémique, nous avons envisagé de réaliser la synthèse énantiosélective du composé (\pm)-**71**. Cette synthèse nécessite la préparation de l'amine (+)-**31** optiquement active.

IX. Etude en série optiquement pure

IX.1. Synthèse asymétrique de l'amine (+)-**31**

IX.1.1. Essais de dédoublement par recristallisations successives

De la même manière que pour l'amine (\pm)-**28**, nous avons essayé de dédoubler l'amine racémique. Pour cela, nous avons essayé deux agents de dédoublement chiraux : l'acide tartrique et l'acide dibenzoyl tartrique. Mais dans ces deux cas, le monotartrate de l'amine n'a pas cristallisé.

Nous nous sommes alors orientés vers la synthèse asymétrique du composé **(+)-31**. Deux types d'inducteur de chiralité ont été utilisés : la *L*-Proline comme catalyseur chiral et l'acide *L*-aspartique comme précurseur chiral.

IX.1.2. Synthèse de l'amine **(+)-31** en série énantiopure avec la *L*-proline

En s'appuyant sur les travaux de B. List *et al.*⁷², nous avons tout d'abord choisi de réaliser la synthèse de l'amine **(+)-31** en utilisant la *L*-proline.

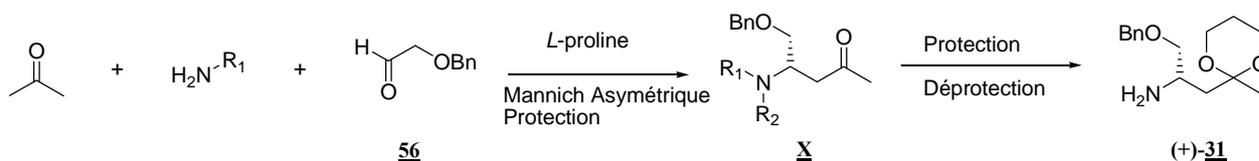


Schéma 49

Selon B. List *et al.*⁷¹, l'intermédiaire de type **X** est isolé en deux étapes, après condensation d'une amine primaire sur l'aldéhyde **56** dans l'acétone en présence de la *L*-proline qui joue le rôle de catalyseur chiral, suivie de la protection de l'atome d'azote. Puis l'amine **(+)-31** est obtenue à partir de l'intermédiaire de type **X**, après protection de la fonction cétone sous forme de dioxane et hydrolyse des groupements protecteurs portés par l'atome d'azote (Schéma 49).

Dans la littérature, une étude a été réalisée avec différentes cétones, différents aldéhydes et différents catalyseurs avec de bons excès énantiomériques⁷¹.

IX.1.2.a. Essais avec la *L*-proline

Nous avons donc adapté les conditions de la littérature à la synthèse du composé **(±)-72**. Ainsi, nous avons réalisé la réaction entre l'aldéhyde **56** précédemment préparé lors de la synthèse de l'amine **(±)-31** en série racémique et le carbamate de benzyle dans l'acétone, en présence de *L*-proline. Malheureusement, nous n'avons pas obtenu le composé désiré **(±)-72** mais le composé **(±)-73** issu d'une aldolisation (Schéma 50).

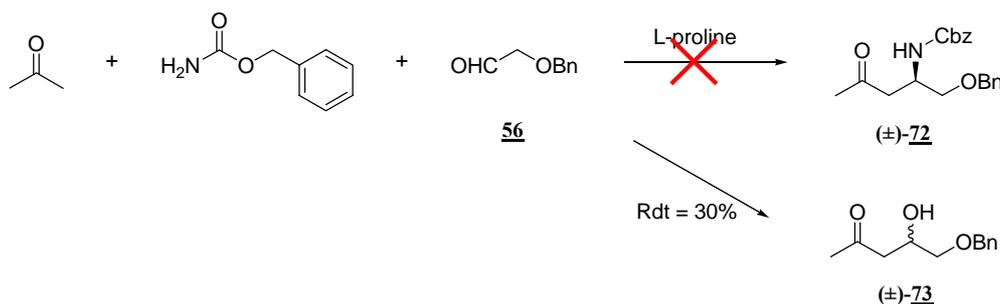


Schéma 50

Compte tenu des résultats, nous avons choisi d'effectuer une réaction décrite dans la littérature, nous permettant d'accéder en une seule étape au composé **74** toujours en utilisant la *L*-proline comme catalyseur. Nous avons pu isoler le composé désiré **74** avec un rendement de 58%, inférieur à celui décrit dans la littérature (Schéma 51).

⁷² List, B. ; Pojarliev, P. ; Biller, W. T. ; Martin, H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 827-833.

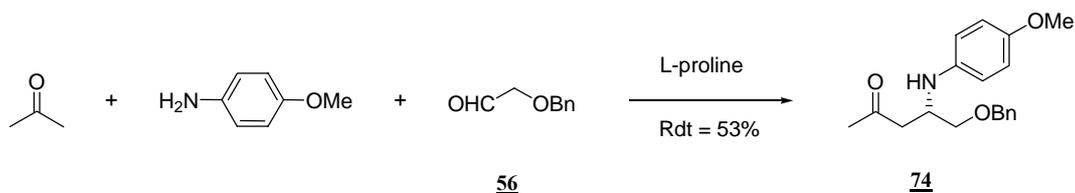


Schéma 51

Le composé **74** étant isolé, il est nécessaire de protéger totalement l'atome d'azote avant de protéger la fonction cétone sous forme de dioxane. Ensuite, l'amine (+)-**31** sera isolée après hydrolyse des groupements protecteurs portés par l'atome d'azote.

En effet, des travaux antérieurs réalisés au laboratoire⁷³ ont montré qu'il existait une liaison hydrogène entre l'hydrogène porté par l'atome d'azote et le groupement carbonyle empêchant la formation de l'acétal pour obtenir directement le composé **75** (Schéma 52).

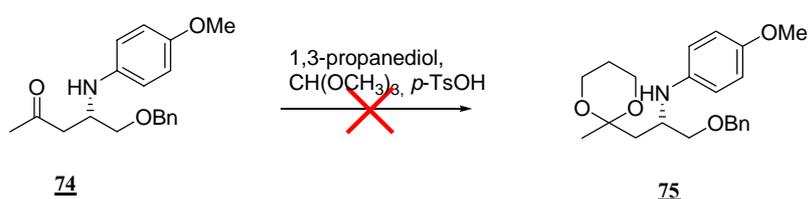


Schéma 52

Dans un premier temps, il est donc nécessaire de protéger complètement l'atome d'azote du composé **74**, avant d'envisager la formation de l'acétal.

IX.1.2.b. Protection de l'atome d'azote

Nous avons envisagé d'introduire un carbamate de benzyle, en utilisant les conditions précédemment décrites en présence de chloroformate de benzyle (Schéma 53).

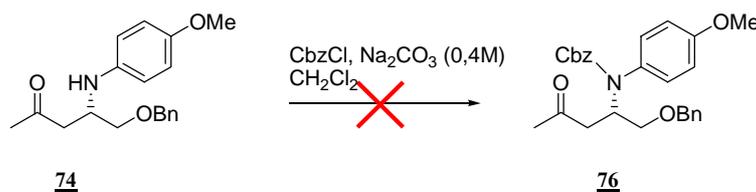


Schéma 53

Cependant, dans ces conditions, le composé **76** n'est pas isolé. Ceci peut s'expliquer par une gêne stérique trop importante du carbamate de benzyle. C'est pourquoi, nous avons choisi d'introduire un groupement protecteur moins encombrant.

Nous avons donc réalisé la protection de l'atome d'azote avec un groupement trifluoroacétate⁷⁴. Dans ce cas, le composé **77** est isolé avec un rendement de 80% (Schéma 54).

⁷³ Bariau, A. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 420.

⁷⁴ Ma, N. ; Ma, D. *Tetrahedron : Asymmetry* **2003**, *14*, 1403-1406.

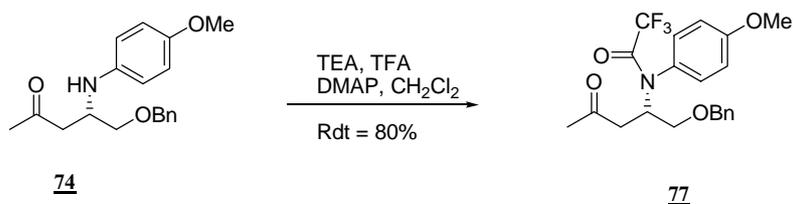


Schéma 54

IX.1.2.c. Protection de la fonction cétone

Tout d'abord, nous avons réalisé la protection de la fonction cétone sous forme d'un dioxolane plutôt qu'un dioxane afin de valider la synthèse de l'amine optiquement active. En effet, des études antérieures réalisées au laboratoire ont montré que la protection de la fonction cétone de molécules de structure similaire sous forme d'un dioxolane fournissent de meilleurs résultats⁷³ (Schéma 55). Le composé **78** est obtenu avec un rendement de 90%.

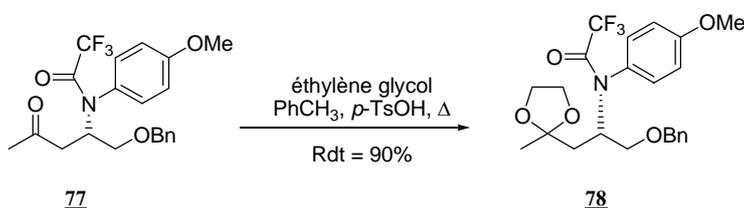


Schéma 55

IX.1.2.d. Déprotection de l'atome d'azote du composé **78**

Nous avons envisagé de couper sélectivement le groupement trifluoroacétate⁷⁵. Toutefois, les différentes conditions décrites dans la littérature n'ont pas permis de générer l'amine secondaire **79**. Nous avons alors décidé de couper le groupement *para*-méthoxyphényle⁷⁶ par hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de palladium. Mais dans ces conditions, le composé **80** n'a pu être isolé (Schéma 56).

⁷³ Bariau, A. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 420.

⁷⁵ Bergeron, R. J. ; McManis, J. S. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3108-3111.

⁷⁶ De Lamo Marin, S. ; Martens, T. ; Mioskowski, C. ; Royer, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10592-10595.

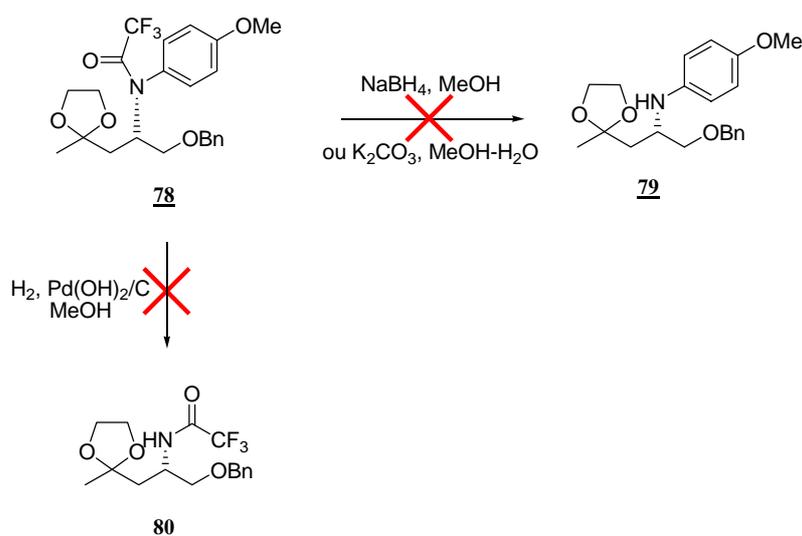


Schéma 56

Ainsi, cette stratégie de synthèse de l'amine (+)-**31** optiquement active a été abandonnée. Par ailleurs, lors du « scale up » de la réaction de la formation du composé **74** nous avons observé une racémisation importante.

IX.1.3. Synthèse à partir de l'acide L-aspartique

Dans la perspective de préparer l'amine (+)-**31** optiquement pure, nous avons défini le schéma synthétique suivant (Schéma 57).

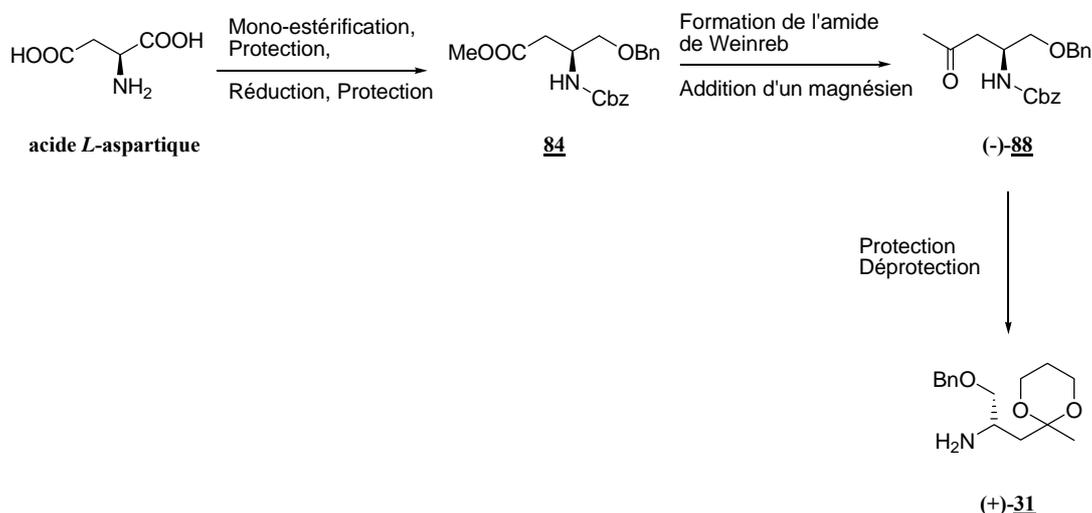


Schéma 57

Le composé **84** est obtenu en quatre étapes à partir de l'acide *L*-aspartique : mono-estérification, protection de l'atome d'azote par un carbamate de benzyle, réduction de l'acide et formation de l'éther de benzyle. Ensuite, l'intermédiaire (-)-**88** est préparé après formation de l'amide de Weinreb sur la fonction ester du composé **84**, puis la fonction cétone est générée par addition du magnésien correspondant. L'amine (+)-**31** est libérée après protection de la fonction cétone sous forme de dioxane suivie de la déprotection de la fonction amine primaire.

IX.1.3.a. Préparation du composé **83**

Les premières étapes de la synthèse à partir de l'acide *L*-aspartique ont été décrites dans la littérature par J. M. Andrés *et al.*⁷⁷ (Schéma 58).

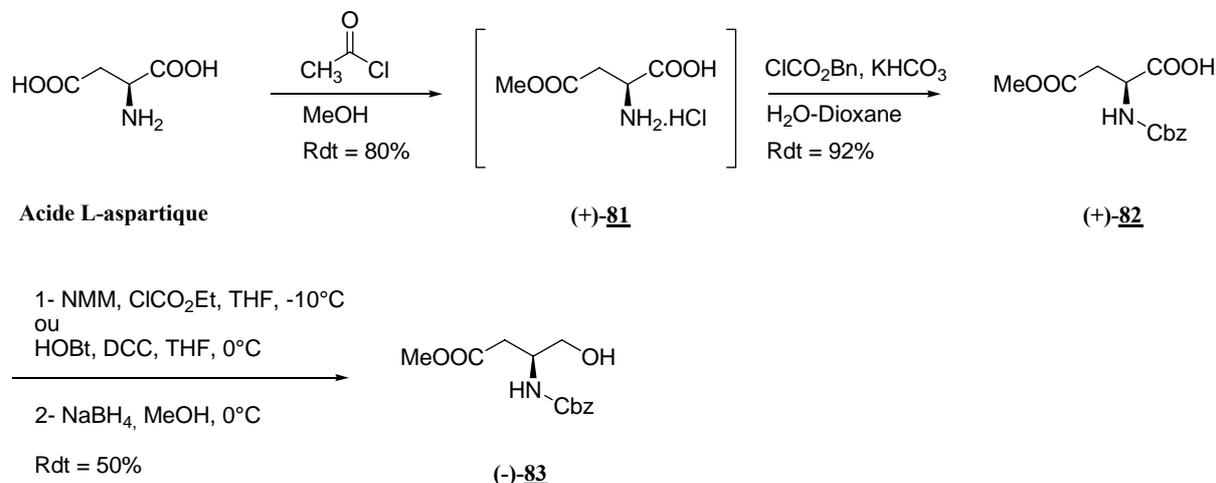


Schéma 58

La première étape consiste en la mono-estérification de l'acide *L*-aspartique en présence de chlorure d'acétyle dans le méthanol pour donner le chlorhydrate du β-aspartate de méthyle (+)-**81**.

La protection de la fonction amine est ensuite réalisée dans les conditions de Schotten-Baumann légèrement modifiées compte tenu de la présence de l'ester méthylique. En effet, la base utilisée est l'hydrogénocarbonate de potassium et non pas de la soude. Le composé (+)-**82** est isolé avec un rendement global de 74% sur les deux étapes.

La dernière étape de cette séquence est la réduction de l'acide en position 1. La méthode que nous avons utilisée consiste à former l'anhydride mixte intermédiaire, qui sera ensuite réduit à l'aide de borohydrure de sodium. Deux méthodes sont couramment employées pour former l'intermédiaire anhydride mixte sont : utilisation de HOBt et de DCC⁷⁸ ou la *N*-méthylmorpholine et le chloroformiate d'éthyle en quantités équimolaires. Les deux méthodes permettent d'isoler le composé (-)-**83** avec des rendements comparables. Cependant, nous avons préféré la deuxième méthode compte tenu du coût des réactifs.

Nous avons choisi de protéger la fonction alcool en position 4 du composé (-)-82 pour éviter tout problème de réactivité dû au groupement hydroxyle libre.

IX.1.3.b. Synthèse du composé **84**

Nous avons choisi de protéger la fonction alcool sous la forme d'un éther de benzyle. Or quelque soit la méthode employée (NaH, BnBr ou Ag₂O, BnBr), seule la lactone **85**⁷⁹ est isolée de façon majoritaire (Schéma 59).

⁷⁷ Andrés, J. M. ; Muñoz, E. M. ; Pedrosa, R. ; Pérez-Encabo, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3387-3397.

⁷⁸ Yonezawa, Y. ; Konn, A. ; Shin, C.-G. *Heterocycles* **2004**, *63*, 2735-2746.

⁷⁹ Hadri, A. E. ; Abouabdellah, A. ; Thomet, U. ; Baur, R. ; Furtmüller, R. ; Sigel, E. ; Sieghart, W. ; Dodd, R. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2824-2831.

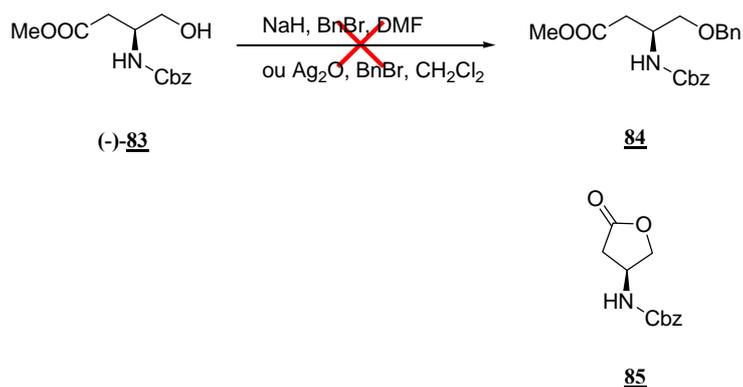


Schéma 59

La structure de la lactone **85** a été confirmée par le spectre infra-rouge, notamment par la présence de deux bandes à 1779 et 1694 cm^{-1} caractéristiques respectivement des fonctions lactone et carbamate. Le spectre RMN du ^{13}C indique une valeur de 176 ppm pour le groupement carbonyle de la lactone.

Ainsi, nous avons décidé de poursuivre la synthèse en gardant la fonction alcool libre (Schéma 60).

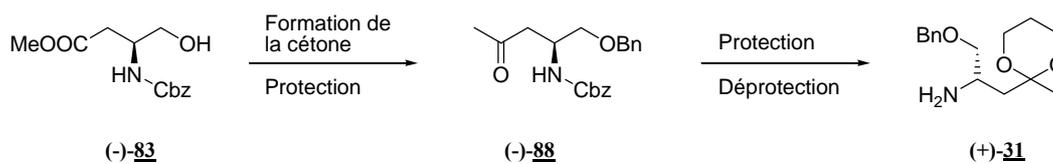


Schéma 60

IX.1.3.c. Préparation du composé (+)-**88**

Pour transformer la fonction ester du composé (-)-**83** en fonction cétone, nous avons employé une méthode décrite initialement par Weinreb *et coll.* en 1982⁸⁰. Celle-ci est basée sur la formation *in situ* du chloroalkylaluminium **I**, par réaction entre le triméthylaluminium et le chlorhydrate de la *N,O*-diméthylhydroxylamine (Schéma 61).

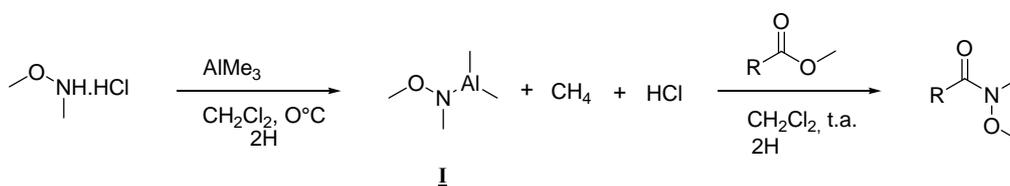


Schéma 61

Depuis les travaux de Weinreb *et coll.*, ces *N*-méthoxy-*N*-méthylamides communément appelés « amides de Weinreb » ont été largement employés comme agents d'acylation pour différents organométalliques. Même en présence d'un large excès d'organométallique, comme dans notre cas (10 éq.), nous formons exclusivement des cétones⁷³. L'absence d'addition multiple, qui conduirait aux alcools tertiaires correspondants,

⁸⁰ Levin, J. I. ; Turos, E. ; Weinreb, S. *Synthetic Communications* **1982**, 12, 989-993.

⁷³ Bariau, A. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 420.

est due à la formation d'un intermédiaire tétraédrique, par chélation de l'ion métallique avec le groupement carbonyle et l'atome d'oxygène du méthoxy de l'amide. Cet intermédiaire empêche l'attaque d'une autre molécule d'organométallique et n'est décomposé que lors de l'hydrolyse acide (**Schéma 62**).

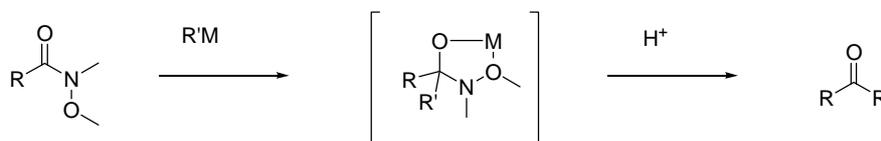


Schéma 62

Ces deux réactions ont été réalisées à partir du composé **(-)-83** pour former la cétone **(+)-87** (**Schéma 63**).

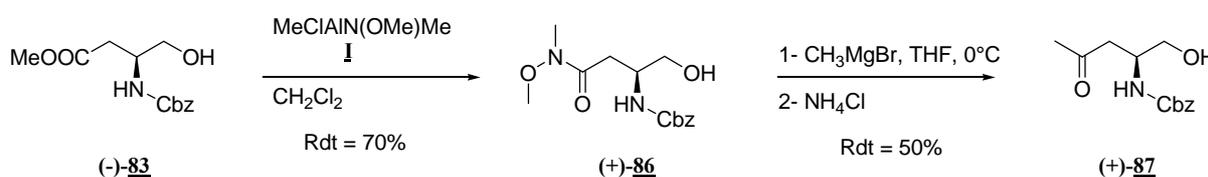


Schéma 63

L'amide **(+)-86** est obtenu avec un rendement de 70% après purification par chromatographie sur gel de silice. L'addition d'un large excès de bromure de méthylmagnésium dans le THF à 0°C permet d'isoler le composé **(+)-87** avec un rendement de 50%. Ce rendement moyen peut s'expliquer par la présence de produits de dégradation probablement liés au groupement hydroxyle. En effet, de meilleurs rendements ont été observés en l'absence de groupement hydroxyle⁷³.

La structure de la cétone **(+)-87** a été confirmée par le spectre infra-rouge, notamment par la présence de deux bandes à 1712 et 1690 cm⁻¹ caractéristiques respectivement des fonctions cétone et carbamate. Le spectre RMN du ¹³C indique une valeur de 208 ppm pour le groupement carbonyle de la cétone.

IX.1.3.d. Synthèse de l'amine **(+)-31**

La protection du groupement hydroxyle du composé **(+)-87** dans les conditions classiques de benzoylation soit NaH-BnBr, ne permet pas de former le composé **(-)-88** souhaité. Nous observons un grand nombre de produits de dégradation. Nous avons donc envisagé des conditions plus douces⁵⁰.

Nous avons utilisé de l'oxyde d'argent en présence de bromure de benzyle pour obtenir le composé **(-)-88**, avec un rendement de 70%. (**Schéma 64**)

⁷³ Bariau, A. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 420.

⁵⁰ Denmark, S. E. ; Yang, S.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15196-15197.

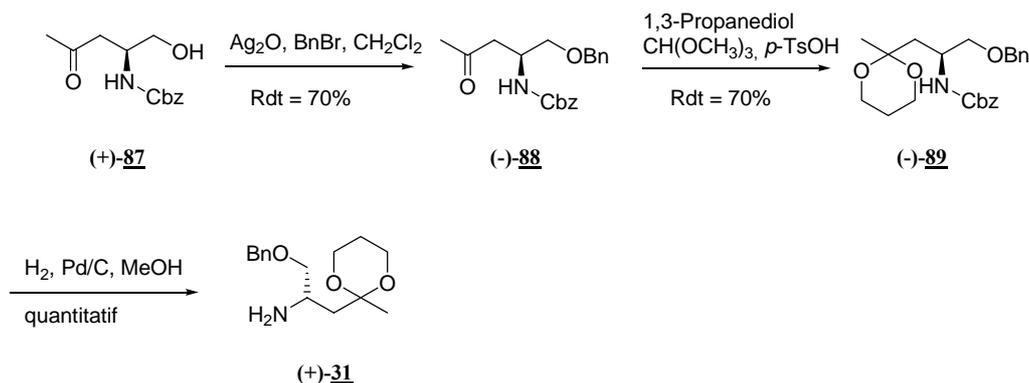


Schéma 64

L'acétalisation est réalisée dans les conditions décrites par Peters *et al.*⁸¹ dans le triméthylorthoformate et en présence de 1,3 propanediol (5 équivalents au minimum de chaque réactif) avec une quantité catalytique d'acide *para*-toluènesulfonique. Ces conditions permettent de former l'acétal (-)-89 avec un rendement de 70%.

L'hydrogénation catalytique du composé (-)-89 en présence de Pd/C permet de cliver sélectivement le carbamate de benzyle.

L'amine (+)-31 énantiomériquement active est obtenue donc en huit étapes avec un rendement global de 6,3% à partir de l'acide *L*-aspartique.

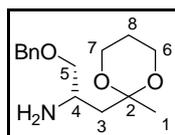
Des analyses par électrophorèse capillaire ont été réalisées en collaboration avec l'Institut de Chimie Organique et Analytique d'Orléans (Professeur Michel Lafosse). Toutefois, les expériences de complexation avec un grand nombre de cyclodextrines n'ont pas donné de résultats suffisamment significatifs.

Ainsi, la pureté énantiomérique de l'amine (+)-31 a été déterminée par spectrométrie de RMN du ¹H en utilisant l'acide mandélique comme agent chiral de solvation⁶². La formation du sel permet de différencier le proton **H-3a** et **H-3b** des deux énantiomères de l'amine par formation de deux diastéréoisomères.

Le spectre du mandélate de l'amine (±)-31 racémique montre la présence de deux doublets de doublets pour les protons **H-3a** et **H-3b**, alors que le spectre du composé optiquement actif ne comporte qu'un seul doublet de doublet pour chacun des deux protons.

Les spectres RMN du ¹H des mandélates montrent que l'amine (+)-31 présente une excellente pureté énantiomérique supérieure à 98%.

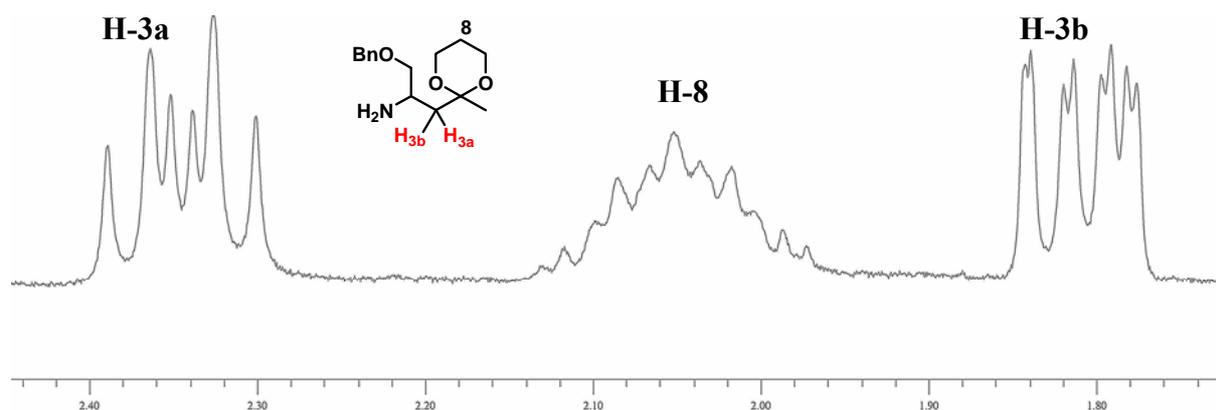
Le pouvoir rotatoire mesuré pour l'amine (+)-31 est de + 6,5 (c 1,035 ; CHCl₃).



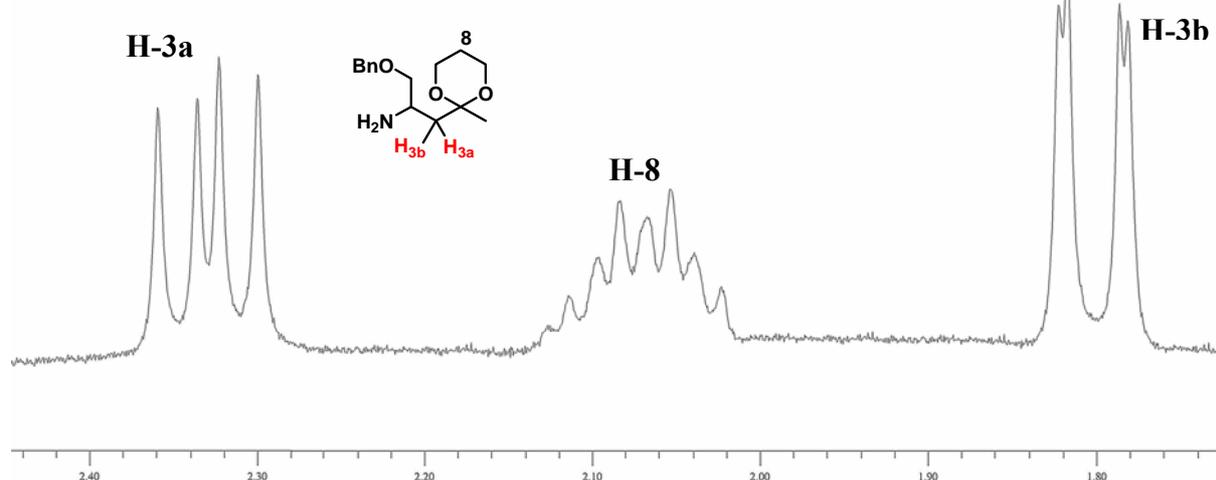
⁸¹ Peters, O. ; Debaerdemaeker, T. ; Friedrichsen, W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 59-70.

⁶² Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, 91, 1441-1547.

RMN du ^1H (400MHz, C_6D_6) du mandélate de l'amine racémique (\pm)-**31**



RMN du ^1H (400MHz, C_6D_6) du mandélate de l'amine énantiopure (+)-**31**



L'amine (+)-**31** énantiomériquement pure est obtenue en huit étapes avec un rendement global de 6,3%. L'étape limitante de cette synthèse réside dans la formation du composé (+)-**87** due à la présence du groupement hydroxyle. Afin d'améliorer le rendement de cette étape, nous avons protégé la fonction alcool du composé (-)-**83** par un tert-butyl diphenyle silyle, avant de former la cétone.

IX.1.3.e. Utilisation d'un autre groupe protecteur de l'alcool

Le composé (-)-**83** est traité en présence de chlorure de *tert*-butyl diphenyle silyle et d'imidazole dans le tétrahydrofurane pour former le composé **90** avec un rendement de 60% (Schéma 65).

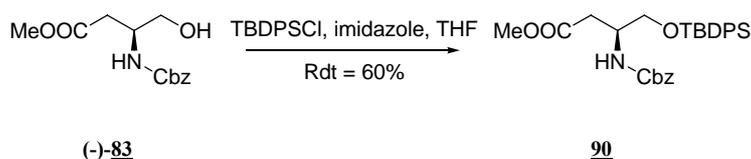


Schéma 65

Dans ce cas, la lactone **85** n'est pas identifiée. Ensuite, nous avons appliqué la synthèse mise au point précédemment (**Schéma 66**).

Dans un premier temps, « l'amide de Weinreb » **91** est obtenu à partir du composé **90** dans les mêmes conditions que précédemment. L'acylation du composé **90** par le bromure de méthylmagnésium libère la cétone correspondante **92**.

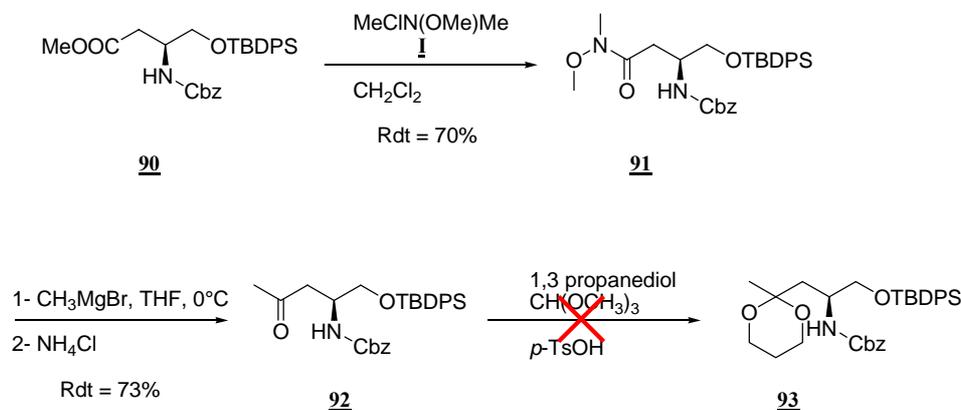


Schéma 66

Comme nous l'avions supposé, la formation de la cétone **92** via « l'amide de Weinreb » donne un meilleur résultat que pour le composé (+)-**87** ayant l'alcool libre. Par conséquent, notre hypothèse précédemment avancée se révèle être vérifiée.

Les conditions classiques de protection de la fonction carbonyle n'ont malheureusement pas conduit au composé attendu **93**, mais à un grand nombre de produits de dégradation.

Les essais d'amélioration de la préparation de l'amine (+)-**31** n'ont pas été poursuivis.

IX.2. Synthèse énantiopure de l'indolizidine polyhydroxylée (-)-**71**

La stratégie de synthèse est identique à celle développée en série racémique. Elle comporte onze étapes.

Tout d'abord, une cyclisation intramoléculaire de type Mannich permet de former la pipéridine (+)-**61**. Ensuite, la protection de l'atome d'azote de la pipéridine (+)-**61** par un carbamate de benzyle, suivie de la dihydroxylation de la liaison α - β -insaturée permet d'isoler le composé (+)-**63b**.

Le carbamate de benzyle de ce dernier est hydrolysé par hydrogénolyse, puis un traitement par le DBU au reflux du toluène fournit l'amide correspondant qui n'est pas isolé et directement réduit par LiAlH_4 pour donner le composé (-)-**66**. Les groupements hydroxyle de ce dernier sont directement protégés sous forme d'éther de benzyle (-)-**67**. L'hydrolyse de l'acétal nécessite la formation du dérivé propanedithiol qui est ensuite hydrolysé en présence de TFA pour libérer la pipéridone (+)-**68**. La réduction diastéréosélective de la pipéridone (+)-**68** fournit le pipéridinol correspondant qui après hydrogénolyse des groupements benzyle, permet d'obtenir l'indolizidine polyhydroxylée (-)-**71**.

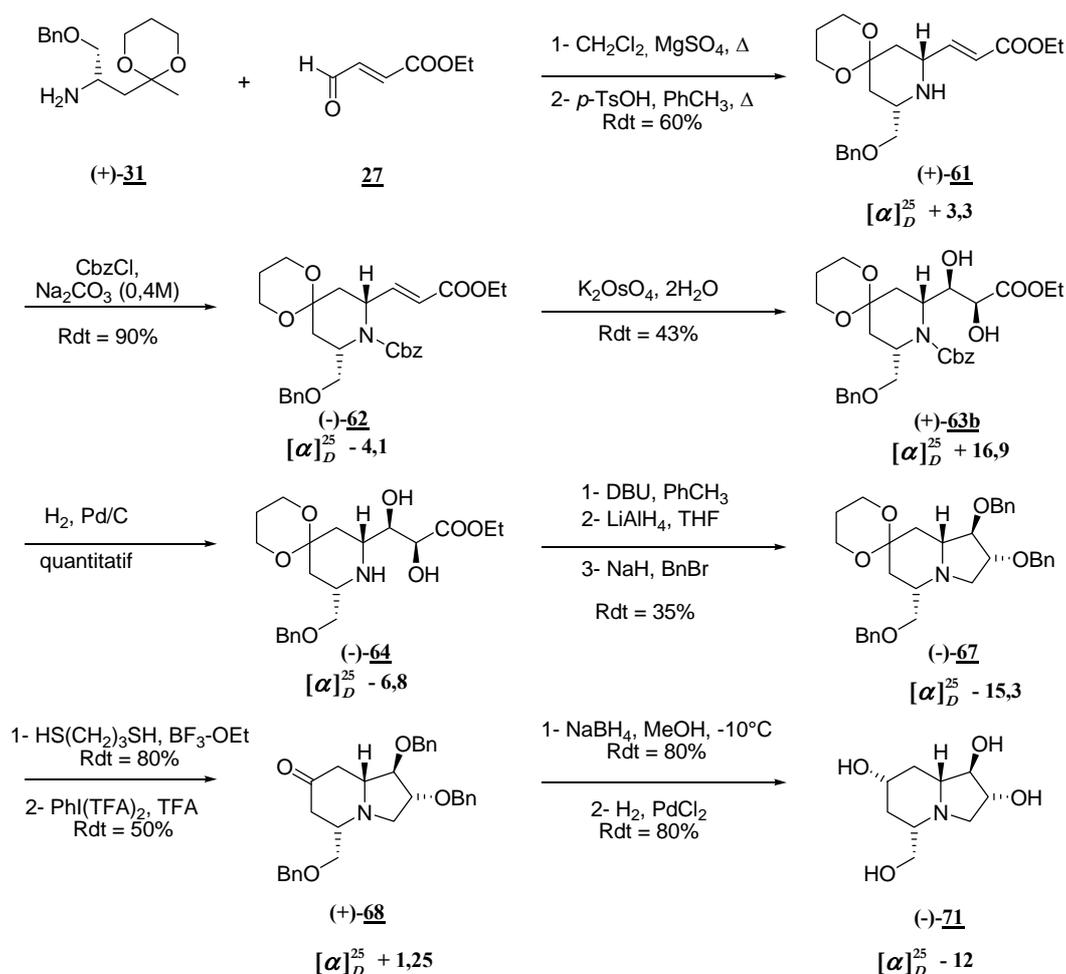


Schéma 67

Ayant ainsi préparé deux nouvelles indolizidines polyhydroxylées inhibiteurs potentiels de glycosidases, de façon racémique et énantiopure, analogue de la swainsonine (tri- et tétra-hydroxylé). Nous avons réalisé des tests d'inhibition sur différentes glycosidases.

Dans un premier temps, les tests ont été réalisés sur les molécules racémiques. S'ils s'avèrent concluants, on pourra envisager de tester les molécules optiquement pures.

Trois types d'inhibition différents sont généralement rencontrés en fonction de l'affinité de l'inhibiteur avec l'enzyme et le substrat. Nous avons choisi de présenter uniquement l'inhibition compétitive qui est le type d'inhibition le plus largement rencontré dans le cas des inhibiteurs de glycosidases.

X. Evaluation des propriétés inhibitrices

X.1. Inhibition compétitive

Dans le cas d'une inhibition compétitive, l'inhibiteur est le plus souvent un analogue structural du substrat. Ainsi, il apparaît une compétition entre le substrat [S] et l'inhibiteur [I] pour l'occupation du site actif de l'enzyme [E] et il y a formation de complexes dissociables [ES] et [EI]. L'existence du complexe [EI] diminue la quantité d'enzyme libre et ralentit fortement la réaction de formation du produit [P]. (Schéma 68).

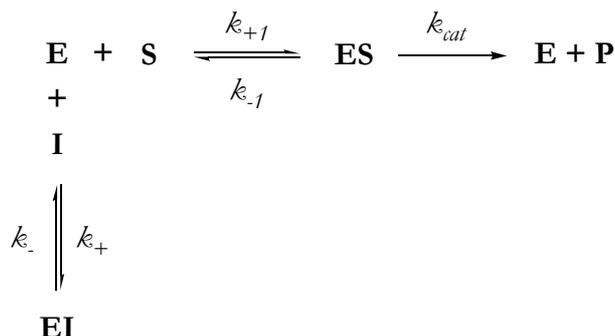


Schéma 68

Avec $K_m = \frac{[E] \times [S]}{[ES]}$, $K_i = \frac{k_-}{k_+} = \frac{[E] \times [I]}{[EI]}$ et $[E]_t = [E] + [ES] + [EI]$, on peut alors définir la vitesse de la réaction en présence d'inhibiteur (**Équation 1**).

$$v_i = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K'_m}$$

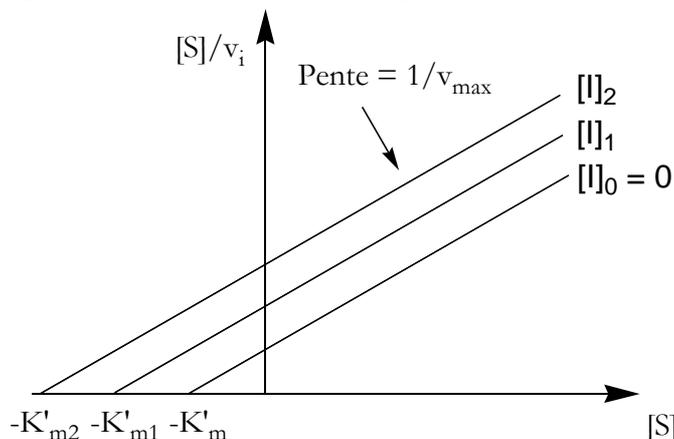
Équation 1

K'_m est dite constante de Michaëlis apparente. Elle augmente avec la concentration en inhibiteur. Par contre, la vitesse maximale v_{\max} est inchangée en présence d'un inhibiteur compétitif. K_i est la constante d'inhibition, qui définit l'affinité de l'enzyme pour l'inhibiteur. Plus la valeur de cette constante est faible et plus l'inhibiteur est efficace.

Pour déterminer ces paramètres cinétiques, on peut transformer, de la même façon que précédemment, l'équation donnant la vitesse de la réaction en :

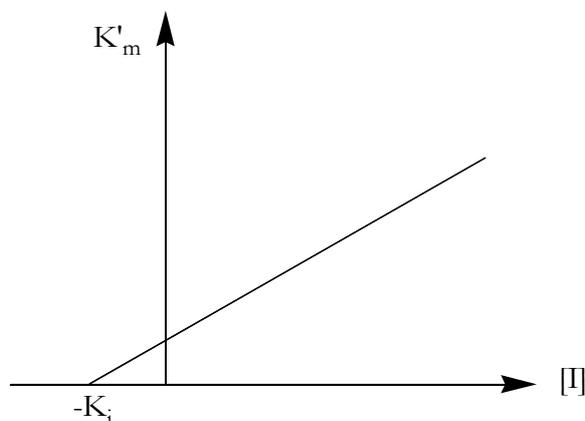
$$\frac{[S]}{v_i} = \frac{[S]}{v_{\max}} + \frac{K'_m}{v_{\max}}$$

La représentation de Hanes-Woolf pour différentes concentrations en inhibiteur donne plusieurs droites parallèles, qui permettent d'obtenir les différents K'_m (**graphique 1**). L'obtention de droites parallèles permet d'affirmer que l'inhibition observée est compétitive.



graphique 1

Si l'on considère l'équation $K'_m = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$ et que l'on reporte les valeurs de K'_m obtenues en fonction de la concentration en inhibiteur $[I]$, on obtient également une droite, qui coupe l'axe des abscisses en $-K_i$ (**graphique 2**).



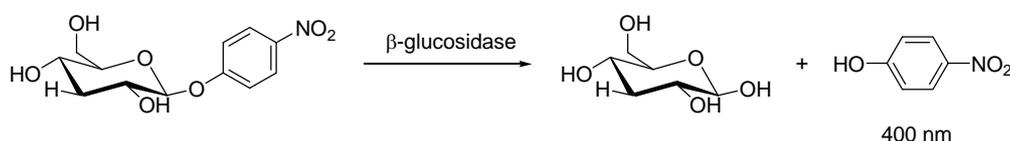
graphique 2

La synthèse d'inhibiteurs d'enzymes consiste le plus souvent à mimer le substrat naturel de l'enzyme ou l'état de transition de la réaction enzymatique. Ainsi, les inhibiteurs obtenus sont en général de type compétitif.

X.2. Détermination des propriétés inhibitrices

Les propriétés inhibitrices des indolizidines polyhydroxylées racémiques et optiquement pures que nous avons synthétisées, ont été évaluées sur différentes glycosidases commerciales. Ces mesures d'inhibition ont été réalisées en collaboration avec le Professeur Marielle Lemaire de l'UMR 6504 de Clermont Ferrand.

Le principe général de ces tests consiste à utiliser, comme substrats des glycosidases, des composés libérant des produits détectables dans l'ultraviolet ou dans le visible. Les substrats classiquement utilisés sont des nitrophénylglucopyranosides. En effet, au moyen d'un spectrophotomètre UV-visible, il est possible de mesurer à 400 nm la vitesse de libération du nitrophénol en dosant l'ion *p*-nitrophénolate.



Ainsi, la mesure de cette vitesse pour différentes concentrations en substrat et en inhibiteur nous permet de déterminer les paramètres cinétiques K_m et K_i .

X.3. Détermination des constantes de Michaëlis

Nous avons travaillé avec six glycosidases commerciales suivantes : l' α -glucosidase de levure de boulanger, la β -glucosidase d'amandes, l' α -galactosidase de grains de café vert, la β -

galactosidase d'*Aspergillus oryzae* et l' α -mannosidase de pois sabre. Toutes les mesures ont été effectuées dans un tampon phosphate 25mM à pH 6,8 et à 25°C.

Commercialement, les activités de ces enzymes ne sont pas forcément définies par rapport aux nitrophénylglucopyranosides correspondants. Ainsi, l'activité de la β -glucosidase est définie par rapport au 2-(hydroxyméthyl)phényl- β -D-glucopyranoside, mais elle est très souvent utilisée avec le *p*-nitrophényl- β -D-glucopyranoside. Par contre, les activités de l' α -glucosidase de levure de boulanger, de l' α -galactosidase et de l' α -mannosidase sont définies par rapport au *p*-nitrophényl- α -D-glycopyranoside et celle de la β -galactosidase par rapport à l'*o*-nitrophényl- β -D-galactopyranoside.

Afin de connaître l'activité de l'enzyme vis-à-vis des substrats utilisés, il est nécessaire de déterminer les constantes de Michaëlis correspondantes. Cela permet également de savoir quelles sont les quantités d'enzyme et de substrat nécessaires pour effectuer les mesures de vitesses.

Nous avons donc déterminé les K_m de ces enzymes en utilisant la méthodologie décrite dans la partie bibliographique.

Enzymes	Substrats	K_m (mM)
α -glucosidase (levure de boulanger)	<i>para</i> -nitrophényl- α -D-glucopyranoside	0,902 \pm 0,089
β -glucosidase (amandes)	<i>para</i> -nitrophényl- β -D-glucopyranoside	4,140 \pm 0,274
α -galactosidase (grains de café vert)	<i>para</i> -nitrophényl- α -D-galactopyranoside	0,513 \pm 0,028
β -galactosidase (<i>Aspergillus oryzae</i>)	<i>ortho</i> -nitrophényl- β -D-galactopyranoside	2,079 \pm 0,154
α -mannosidase (pois sabre)	<i>para</i> -nitrophényl- α -D-mannopyranoside	0,541 \pm 0,006
α -fucosidase (reins de bovins)	<i>para</i> -nitrophényl- α -L-fucopyranoside	2,471 \pm 0,035

L'erreur associée à ces constantes de Michaëlis a été déterminée à l'aide de la relation suivante, où **a** est la pente, $\Delta\mathbf{a}$ l'erreur sur la pente, **b** l'ordonnée à l'origine et $\Delta\mathbf{b}$ l'erreur sur l'ordonnée à l'origine.

$$\text{Erreur} = \sqrt{\left(\frac{\Delta\mathbf{b}}{\mathbf{a}}\right)^2 + \left(\frac{\mathbf{b}}{\mathbf{a}^2} \Delta\mathbf{a}\right)^2}$$

X.4. Indolizidines polyhydroxylées

X.4.1. *Activité restante de l'enzyme en présence d'inhibiteur*

X.4.1.a. Principe

Dans un premier temps, nous avons déterminé le pourcentage d'activité restante de l'enzyme en présence de la molécule testée. Ce pourcentage nous permet d'estimer la valeur de la constante d'inhibition K_i . Il constitue en fait un premier test qualitatif du potentiel inhibiteur du composé.

Comme nous l'avons vu précédemment, la vitesse d'une réaction enzymatique est donnée par l'équation de Michaëlis-Menten :

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

D'autre part, l'équation donnant la vitesse d'une réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur compétitif est :

$$v_i = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

Or le pourcentage d'activité restante (% AR) est défini comme étant le rapport entre la vitesse de libération du nitrophénol en présence d'inhibiteur et cette même vitesse en absence d'inhibiteur.

$$\%AR = \frac{v_i}{v} \times 100 = \frac{[S] + K_m}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \times 100$$

Il est alors possible d'exprimer la constante d'inhibition K_i en fonction du %AR :

$$K_i = \frac{[I]}{\left(\frac{[S]}{K_m} + 1\right) \left(\frac{100}{\%AR} - 1\right)}$$

Lors de la détermination de ces pourcentages, les différentes vitesses ont été mesurées pour une concentration en substrat équivalente au K_m et pour une concentration en inhibiteur de 1mM. L'équation précédente se simplifie donc pour donner :

$$K_i = \frac{1}{2 \times \left(\frac{100}{\%AR} - 1\right)}$$

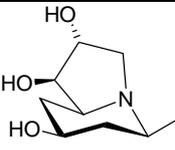
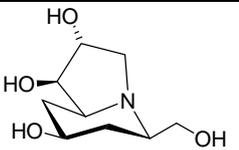
Ainsi, lorsque le pourcentage d'activité restante est inférieur à 66%, le K_i est inférieur à 1mM. S'il est compris entre 67% et 86%, le K_i est compris entre 1mM et 3mM. Les

composés donnant un pourcentage supérieur à 86% ont été considérés comme non inhibiteurs de l'enzyme testée. Ainsi seules les constantes d'inhibition inférieures à 3mM ont été déterminées.

Il est important de souligner que deux mesures d'activité restante ont été effectuées pour chaque test : une première mesure après cinq minutes d'incubation de l'enzyme en présence de l'inhibiteur et une seconde après trente minutes d'incubation, afin de vérifier la réversibilité de l'inhibition.

X.4.1.b. Résultats

Nous avons mesuré le pourcentage d'activité restante de six glycosidases disponibles au laboratoire : l' α -glucosidase de levure de boulanger, la β -glucosidase, l' α -galactosidase, la β -galactosidase, l' α -mannosidase et l' α -fucosidase, en présence des indolizidines polyhydroxylées racémiques et optiquement actives synthétisées.

	 (±)- <u>53</u>	 (±)- <u>71</u>
α -glucosidase (levure de boulanger)	96%	83%
β -glucosidase (amandes)	> 99%	74%
α -galactosidase (grains de café vert)	98%	84%
β -galactosidase (<i>Aspergillus oryzae</i>)	95%	15%
α -mannosidase (pois sabre)	91%	87%
α -fucosidase (reins de bovins)	98%	91%

X.4.2. Détermination des constantes d'inhibition

X.4.2.a. Principe

Lorsque le pourcentage d'activité est inférieur à 66% et donc le K_i est inférieur à 1mM, la constante d'inhibition a été déterminée précisément en utilisant la méthodologie décrite précédemment. Nous avons tracé les valeurs des différents K'_m obtenus grâce à la représentation de Hanes-Woolf, en fonction de la concentration en inhibiteur.

Par contre, pour un pourcentage d'activité restante compris entre 67% et 86% et donc un K_i compris entre 1mM et 3mM, la constante d'inhibition a été déterminée rapidement en utilisant, l'équation de définition de la constante de Michaëlis apparente :

$K'_m = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$. Il est possible de calculer le K_i , en ne déterminant qu'un seul K'_m ,

obtenu pour une concentration donnée en inhibiteur.

$$K_i = \frac{[I]}{\frac{K'_m}{K_m} - 1}$$

Dans ce cas, nous n'avons pas déterminé l'erreur sur la valeur obtenue, ni vérifié que l'inhibition est compétitive.

X.4.2.b. Résultats

Seul le composé (\pm)-**71** présente un pourcentage d'activité restante inférieur à 66% face à la β -galactosidase. Nous avons déterminé la constante d'inhibition de ce composé vis-à-vis de la β -galactosidase : $K_i = 157 \mu\text{M}$.

Nous avons également testé le composé optiquement pur sur la β -galactosidase. Malheureusement, l'indolizidine tétra-hydroxylée (-)-**71** s'est révélée inactive vis-à-vis de l'enzyme utilisée. Ceci sous entant que l'autre énantiomère obtenu à partir de l'acide D-aspartique devrait présenter une inhibition deux fois plus importante que le composé (\pm)-**71**.

XI. Conclusion

Nous avons réalisé la synthèse de deux indolizidines polyhydroxylées, analogues de la swainsonine, à la fois en série racémique et optiquement pure.

L'indolizidine tri-hydroxylée (-)-**53** a été synthétisée en dix étapes à partir de l'amine (-)-**28**, avec un rendement global de 6,6%. Et l'indolizidine tétra-hydroxylée (-)-**71** est obtenue en onze étapes avec un rendement global de 2,5% à partir de l'amine (+)-**31** (Schéma 69).

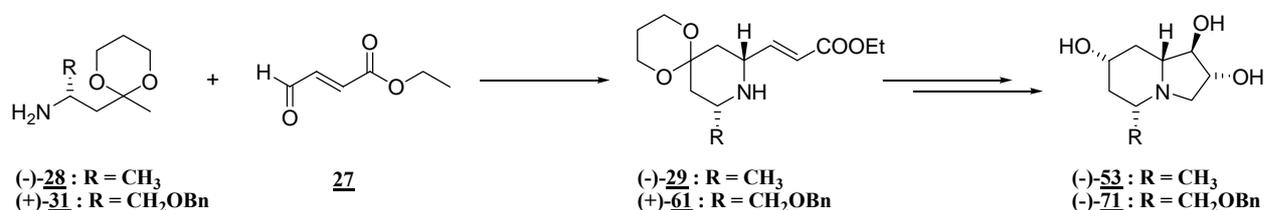


Schéma 69

La préparation de ces deux indolizidines en série optiquement pure a nécessité la préparation de l'amine correspondante optiquement active.

L'amine (-)-**28**, facile d'accès a été obtenue pure en réalisant le dédoublement du racémique par recristallisations successives.

A contrario, la synthèse de l'amine (+)-**31** a nécessité une mise au point délicate. L'amine (+)-**31** optiquement active a été finalement obtenue en huit étapes avec un rendement global de 6,3% à partir de l'acide *L*-aspartique. La pureté énantiomérique de l'amine (+)-**31** a été mesurée par spectrométrie RMN du ¹H en utilisant l'acide (+)-mandélique comme agent chiral de solvation.

Les deux indolizidines préparées ont fait l'objet de tests d'inhibitions sur des différentes glycosidases. Seule l'indolizidine tétra-hydroxylée (\pm)-**71** a présenté une faible activité inhibitrice sur la β -galactosidase. D'autres tests sur d'autres glycosidases sont actuellement en cours.

Dans le chapitre précédent, nous avons démontré la réactivité de la fonction ester α - β -insaturée de la pipéridine (\pm)-**29** obtenue de façon efficace par cyclisation intramoléculaire de type Mannich entre l'amine (\pm)-**28** et l'aldéhyde **27**. Nous avons notamment réalisé une réaction de dihydroxylation de Sharpless. Nous avons également montré sa réactivité en tant qu'accepteur de Michael, mise en évidence lors de la formation du composé (\pm)-**38**, correspondant à la cyclisation intramoléculaire de l'alcoolate en position 4 sur la double liaison.

A ce stade, nous pouvons tirer parti de la fonction ester α - β -insaturée de deux façons différentes :

- En envisageant, après réduction de la double liaison, une cyclisation intramoléculaire de la fonction amine secondaire sur la fonction ester, une seconde de la fonction lactame permet d'obtenir des indolizidines (**Schéma 70**).

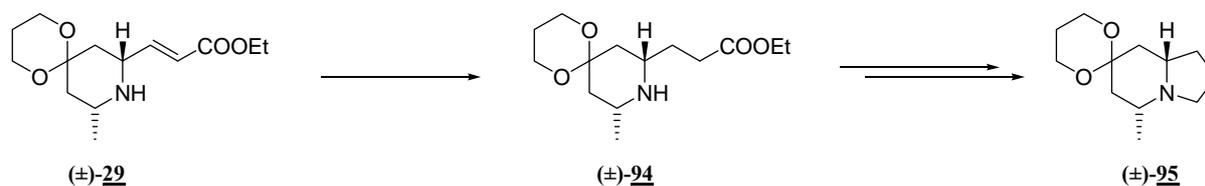


Schéma 70

- En utilisant et en développant le potentiel accepteur de Michael que représente cette fonction.

Aussi, en privilégiant le choix des nucléophiles employés et selon le mode de cyclisation finale utilisée, nous pouvons envisager de préparer des pipéridines de type **I** par addition de différentes amines sur la liaison α - β -insaturée. Celles-ci pourront fournir selon le mode de cyclisation finale soit des indolizidines diversement substituées de type **II** soit des urées cycliques de conformation restreinte de type **III** (**Schéma 71**) :

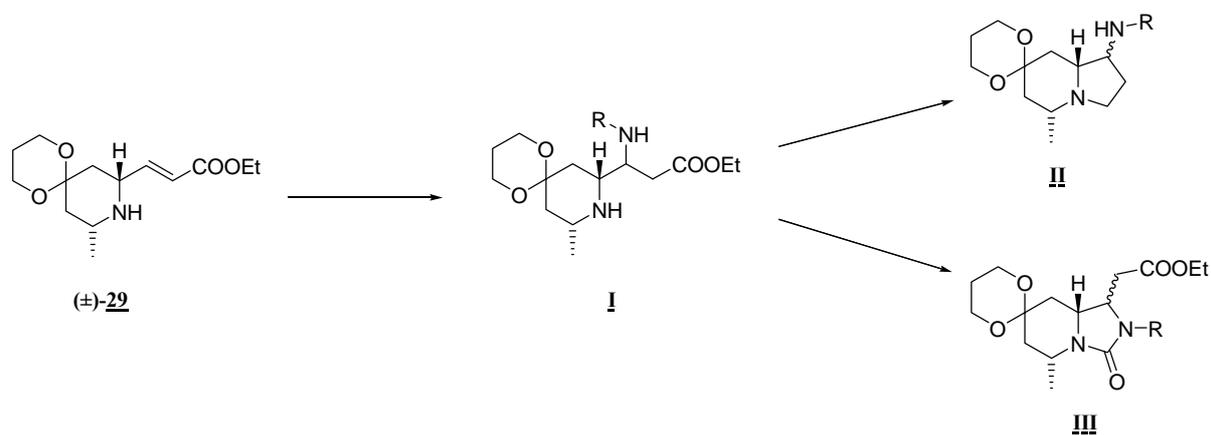


Schéma 71

Si le squelette indolizidine a été largement décrit et utilisé (en particulier dans la synthèse d'alcaloïdes), il n'en est pas de même pour des structures présentant une pipéridine ou un autre hétérocycle couplé à un motif urée. Peu d'exemples sont décrits dans la littérature, mais tous sont liés à des activités biologiques potentielles ou avérées. Nous nous sommes donc consacrés à la préparation d'urées de conformation restreinte auxquelles le deuxième chapitre est dédié.

Chapitre 2 :
Urées cycliques de conformation restreinte

Chapitre 2 : Les urées cycliques de conformation restreinte

I. Généralités

Depuis ces dix dernières années, un regain d'intérêt se manifeste pour le motif urée dans le cadre de nouvelles molécules d'intérêt pharmaceutique. Nous citerons ici, et de façon non exhaustive, quelques exemples de composés pour lesquels le motif urée est directement lié à l'activité biologique de la molécule. Pour cela, nous avons défini quatre grandes classes d'urées (**Figure 21**) en fonction de leur potentiel biologique :

Tout d'abord, les pipéridines de type **IV**⁸² qui ont été décrites comme une nouvelle classe d'agonistes sélectifs des récepteurs δ opioïdes non peptidique. Ces molécules présentent potentiellement beaucoup d'applications dans le domaine médical, en tant qu'agents contre la douleur, l'incontinence urinaire, la dépression, et l'ischémie cardiaque.

Les urées cycliques polyhydroxylées de type **V**⁸³ sont connues pour leur caractère inhibiteur potentiel de glycosidases. Dernièrement, ces molécules ont été également évaluées contre les infections virales, le cancer et les désordres métaboliques.

Les urées linéaires *N*-alkylées de type **VI**⁸⁴ constituent la troisième classe d'urées développées pour leur activité antimétabolique. Un grand nombre de ces molécules sont connues pour leurs propriétés antiprolifératives utilisées dans le traitement contre le cancer, notamment en chimiothérapie.

Enfin, très récemment, des diarylurées de type **VII**^{85, 86} ont été décrites comme de nouveaux inhibiteurs sélectifs de CDK (Cycline Dependante Kinase), protéine de régulation agissant sur le déroulement du cycle cellulaire.

⁸² Trabanco, A. A. ; Pullan, S. ; Alonso, J. M. ; Alvarez, R. M. ; Andrés, J. I. ; Boeckx, I. ; Fernández, J. ; Gómez, A. ; Iturrino, L. ; Janssens, F. E. ; Leenaerts, J. E. ; De Lucas, A. I. ; Matesanz, E. ; Meert, T. ; Steckler, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 146-149.

⁸³ Díaz Pérez, V. M. ; García Moreno, M. I. ; Ortiz Mellet, C. ; Fuentes, J. ; Díaz Arribas, J. C. ; Cañada, J. F. ; García Fernández, J. M. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 136-143.

⁸⁴ a) Mounetou, E. ; Legault, J. ; Lacroix, J. ; Gaudreault, R. C. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 694-702. b) Mounetou, E. ; Legault, J. ; Lacroix, J. ; Gaudreault, R. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5055-5063. c) Moreau, E. ; Fortin, S. ; Desjardins, M. ; Rousseau, J.-L. ; Petitclerc, E. ; Gaudreault, R. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6703-6712.

⁸⁵ Honma, T. ; Hayashi, K. ; Aoyama, T. ; Hashimoto, N. ; Machida, T. ; Fukasawa, K. ; Iwama, T. ; Ikeura, C. ; Ikuta, M. ; Suzuki-Takahashi, I. ; Iwasawa, Y. ; Hayama, T. ; Nishimura, S. ; Morishima, H. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4615-4627.

⁸⁶ Honma, T. ; Yoshizumi, T. ; Hashimoto, N. ; Hayashi, K. ; Kawanishi, N. ; Fukasawa, K. ; Takaki, T. ; Ikeura, C. ; Ikuta, M. ; Suzuki-Takahashi, I. ; Hayama, T. ; Nishimura, S. ; Morishima, H. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4627-4640.

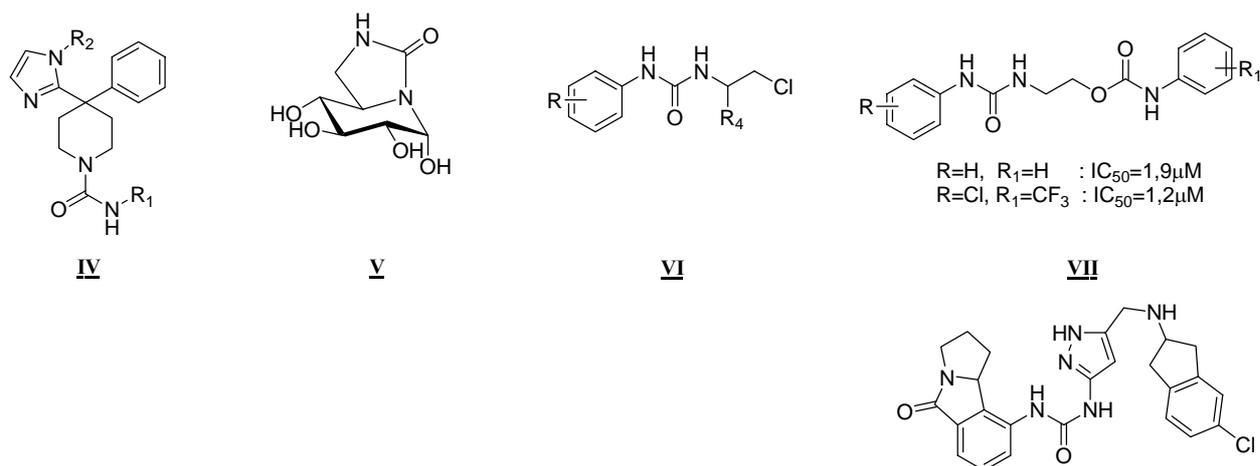


Figure 21

Nous nous sommes plus spécifiquement intéressés aux deux dernières classes de molécules. Nous rapportons plus loin (*vide infra*) quelques synthèses issues de la littérature qui présentent le motif urée. Pour notre part, et dans une première approche, nous avons souhaité introduire une partie urée cyclique ainsi qu'un groupement chloroéthyle ou aromatique sur un cycle pipéridinique, afin d'évaluer les propriétés antiprolifératives de ces molécules.

La chimiothérapie anti-cancer correspond à l'ensemble des substances susceptibles de tuer des cellules cancéreuses qui se multiplient et prolifèrent de façon anarchique et plus rapidement que les cellules saines. Ces substances visent généralement à inhiber la synthèse de molécules utiles à la cellule pour se diviser. Elles agissent en endommageant le matériel héréditaire soit plus spécifiquement l'ADN de la cellule mère qui le transmettra à la cellule fille. Ceci aboutit à la mort de la cellule.

Or, l'efficacité de la chimiothérapie clinique est surtout limitée par deux problèmes importants qui restent toujours à surmonter : le premier est le manque de sélectivité des agents anti-cancéreux et le second est constitué par les résistances causant des effets indésirables significatifs et quelquefois des échecs dans le traitement. Le défi actuel de la chimiothérapie anti-cancer est de surmonter ces deux inconvénients majeurs.

Les urées linéaires *N*-alkylées sont développées pour leur activité antimétabolique : ce sont des agents électrophiles ou agents d'alkylation pouvant réagir avec des centres nucléophiles (NH, OH). Le mécanisme d'action de ces molécules se révèle être une alkylation de l'ADN. De nombreux constituants cellulaires sont porteurs de tels centres (acides nucléiques, protéines, enzymes...) mais ce sont les effets sur les bases azotées des acides nucléiques qui semblent les mieux corrélés avec la toxicité de ces molécules, laquelle dépend étroitement de l'activité des systèmes de réparation.

Parmi les principaux agents alkylants, les moutardes à l'azote (chloroéthylurées) et les dérivés du platine sont les plus fréquemment cités.

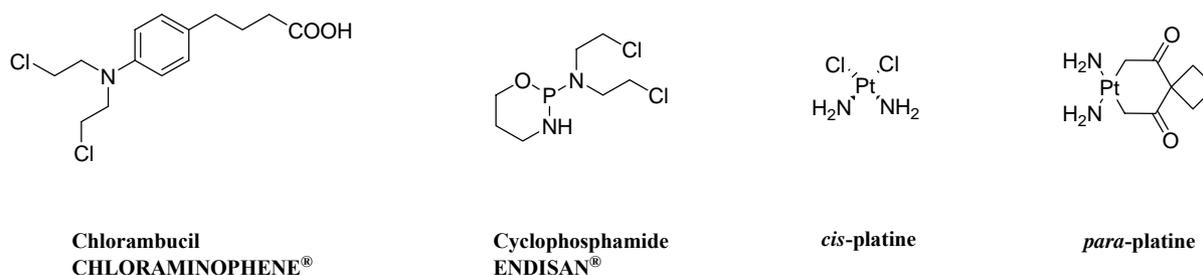


Figure 22

Ainsi, nous avons cherché à combiner les différents caractères de ces molécules pour essayer de découvrir de nouveaux agents antitumoraux cytotoxiques potentiels, puissants et sélectifs. Nous avons ainsi conçu de nouvelles molécules basées sur la présence d'un groupement chloroéthyle comme dans le Chlorambucil (la moutarde d'azote) ou le Cyclophosphamide, et comportant un motif urée en tant que pharmacophore (**Figure 22**). Toutefois, les molécules préparées étant de conformation restreinte, proche du type **V**, nous les évaluerons également comme inhibiteur de glycosidases.

Avant d'exposer nos travaux, nous rapportons ici quelques synthèses de la littérature. Depuis ces dix dernières années, de nombreuses synthèses de molécules comportant une fonction urée ont été développées mais les chercheurs s'intéressent toujours à la synthèse de nouveaux composés afin de déterminer leur activité biologique, aussi bien en tant qu'inhibiteurs de glycosidases que comme agent contre le cancer.

II. Différentes synthèses d'urées linéaires

II.1. Synthèse d'urées linéaires comportant un motif *N*-chloroéthyle

E. Moreau *et al.*⁸⁴ ont décrit la synthèse de diverses *N*-phényl-*N*-(2-chloroéthyle)-urées pour lesquelles ils ont évalué leur activité antiproliférative sur différentes lignées cellulaires.

La réduction du groupement nitro du composé **96** est réalisée en présence de SnCl₂ ou bien par simple hydrogénation catalytique pour libérer l'aniline **97**. Ensuite le groupement *N*-chloroéthyle urée est introduit par addition de l'isocyanate de 2-chloroéthyle pour former l'urée correspondante **98** (**Schéma 72**). Le groupement R correspond à une chaîne alkyle avec jusqu'à 7 carbones, plus ou moins insaturée, avec une fonction hydroxyle en bout de chaîne. De plus, le groupement R est positionné en position 3 ou en position 4 sur le cycle aromatique.

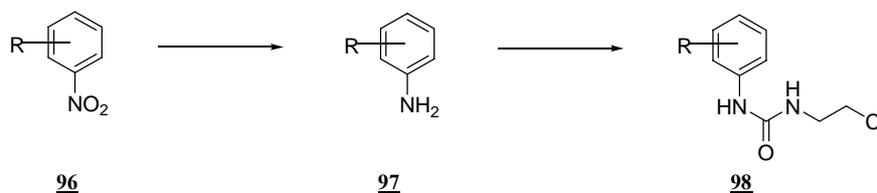


Schéma 72

⁸⁴ Moreau, E. ; Fortin, S. ; Desjardins, M. ; Rousseau, J.-L. ; Petitclerc, E. ; Gaudreault, R. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6703-6712.

Les tests d'inhibition de ces différentes *N*-phényl-*N*-(2-chloroéthyl)-urées ont été réalisés sur trois lignées cellulaires humaines cancéreuses (HT-29 : adénocarcinome de colon ; M-21 : mélanome ; MCF-7 : adénocarcinome mammaire). En faisant varier la nature du groupement R et sa position sur le noyau aromatique, les auteurs ont déterminé que les molécules ayant les meilleurs résultats vis-à-vis de ces trois lignées cellulaires, ont leur chaîne alkyle R ayant 5 à 7 carbones en position 3 sur le cycle aromatique, et ne présentant pas d'insaturation (**Figure 23**).

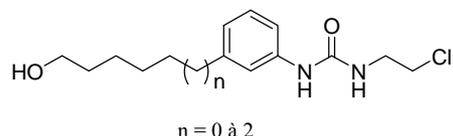


Figure 23

II.2. Synthèse d'urées linéaires portées par une pipéridine

Récemment, une synthèse d'urées linéaires sur une pipéridine a été décrite par P. S. Watson *et al.*⁸⁷. L'activité de ces molécules a été déterminée sur différents récepteurs.

La déprotonation en α de l'atome d'azote de la *N*-Boc pipéridine **99** substituée en position 4 par un groupement R, par du *s*-BuLi, suivie de l'alkylation par l'iodure d'allyle forme l'oléfine **100**. L'hydroboration de l'intermédiaire **100** par du 9-BBN suivi d'un traitement oxydant fournit l'alcool **101**. La conversion de la fonction alcool en amine est réalisée après tosylation, azidation et réduction du groupement azoture. La fonction urée est ensuite introduite par addition de l'isocyanate de 3-cyanophényle sur la fonction amine libre. Enfin, le traitement acide (TFA) permet de déprotéger l'atome d'azote de la pipéridine pour former le composé **102** (**Schéma 73**).

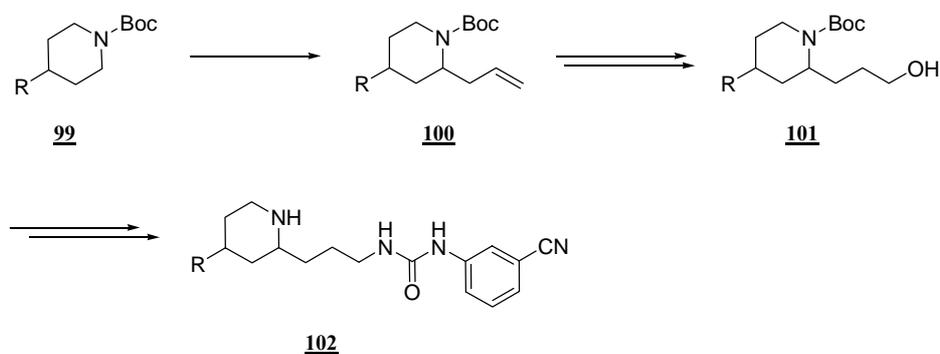


Schéma 73

Ces molécules ont été testées comme antagonistes sur les récepteurs CCR3 pour lutter contre l'asthme.

⁸⁷ Watson, P. S. ; Kim Harrison, B. J. ; Asakawa, N. ; Welch, P. K. ; Covington, M. ; Stowell, N. C. ; Wadman, E. A. ; Davies, P. ; Solomon, K. A. ; Newton, R. C. ; Trainor, G. L. ; Friedman, S. M. ; Decicco, C. P. ; Ko, S. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 5695-5699.

III. Synthèse d'urée cyclique sur une pipéridine

A. Kilonda *et al.*⁸⁸ ont mis au point une synthèse d'urée cyclique sur une pipéridine à partir du 1-amino-1-désoxy-D-glucitol (**Schéma 74**).

Leur synthèse débute par la protection de l'atome d'azote du 1-amino-1-désoxy-D-glucitol **103** par un groupement BOC, puis protection des diols par des isopropylidènes, et enfin protection du dernier groupement hydroxyle en position 4 par un acétate pour former l'intermédiaire **104**. Ensuite, une succession de déprotection sélective de l'isopropylidène, protection et substitution permet d'isoler l'intermédiaire **105**. La déprotection du groupement BOC par le chlorure de triméthylsilyle permet dans un premier temps de générer l'amine libre puis le traitement par NaOMe permet de former l'époxyde **106**, qui est directement cyclisé pour former la pipéridine **107**. Ensuite la réduction de l'azoture est réalisée par hydrogénation catalytique en présence de Pd/C, suivie de la déprotection de l'isopropylidène en milieu acide. La réaction de cyclisation réalisée en présence de chloroformate de phényle et de carbonate de potassium permet de générer l'urée **108**.

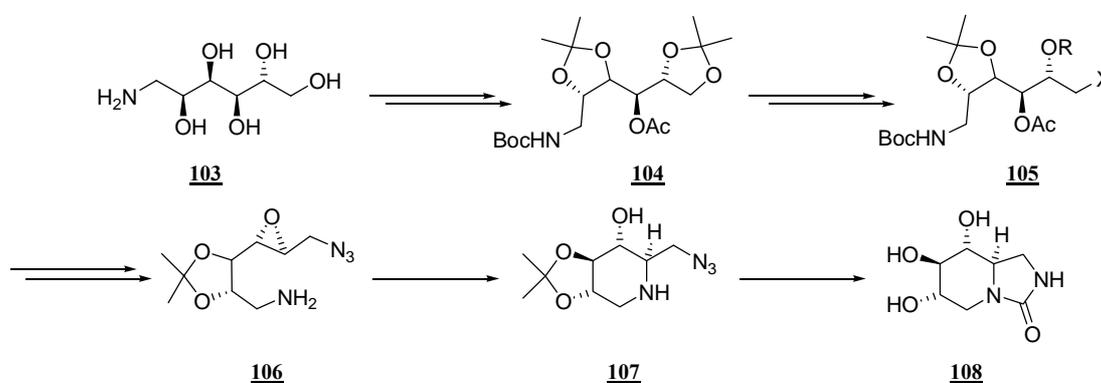


Schéma 74

Les urées linéaires et les urées cycliques de conformation restreinte présentent des propriétés biologiques intéressantes et variées. Dans un premier temps, compte tenu du caractère accepteur de Michael de la double liaison de l'intermédiaire (\pm)-**29** mis en évidence précédemment, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'urées cycliques à cinq chaînons de conformation restreinte.

IV. Schéma de synthèse

Dans la perspective de préparer des urées cycliques de type **IX**, en utilisant le caractère accepteur de Michael de la liaison α - β -éthylénique de la pipéridine (\pm)-**29**, nous avons défini le schéma de synthèse suivant (**Schéma 75**) :

⁸⁸ Kilonda, A. ; Compennolle, F. ; Peeters, K. ; Joly, G. J. ; Toppet, S. ; Hoornaert, G. J. *Tetrahedron*, **2000**, 56, 1005-1012.

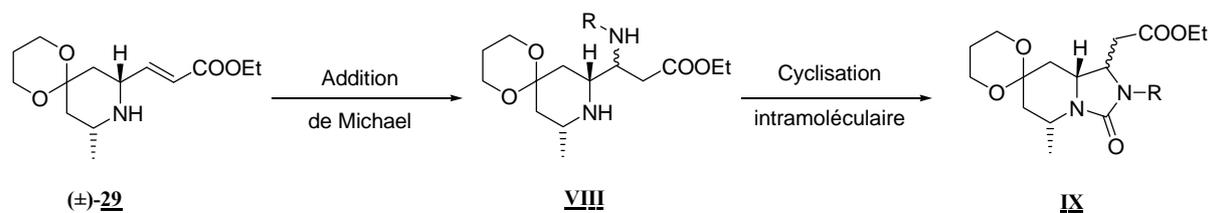


Schéma 75

Différentes amines peuvent être additionnées sur la double liaison de la pipéridine $(\pm)\text{-29}$ pour former l'intermédiaire **VIII**, qui après cyclisation intramoléculaire permet de générer l'urée cyclique **IX**.

A ce stade, nous avons choisi d'utiliser différentes amines primaires commerciales possédant soit un motif aromatique, soit un motif chloroéthyle, car comme nous l'avons vu en introduction ces urées pourraient posséder des propriétés cytotoxiques.

V. Formation d'urées cycliques

V.1. Addition d'amines primaires sur la double liaison

Dans un premier temps, la condensation de la benzyle amine sur la pipéridine $(\pm)\text{-29}$ à 40°C dans l'éthanol, conduit à la formation d'un mélange de diastéréoisomères $(\pm)\text{-109}$, dans des proportions équivalentes (1-1), avec un rendement de 60%⁸⁹ (Schéma 76).

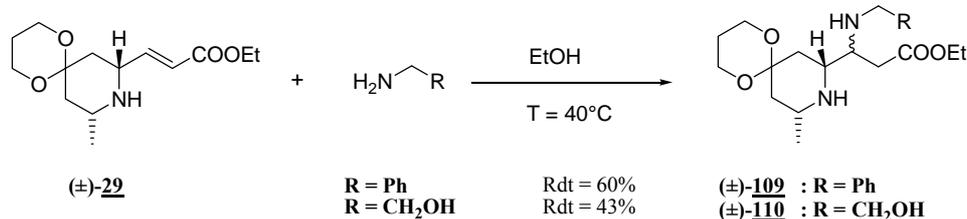


Schéma 76

Dans un deuxième temps, toujours dans l'optique d'améliorer les propriétés biologiques de ces composés, nous avons souhaité introduire une chaîne chloroéthyle. Dans ce but, nous avons réalisé l'addition de l'éthanol amine, qui après substitution du groupement hydroxyle par un atome de chlore, fournira une chloroéthylurée.

Ainsi, la condensation de l'éthanolamine sur la pipéridine $(\pm)\text{-29}$ réalisée dans les conditions précédentes, conduit à la formation d'un mélange de diastéréoisomères $(\pm)\text{-110}$, dans des proportions équivalentes (1-1) avec un rendement plus faible de 43% (Schéma 76).

L'addition de ces deux amines sur la double liaison n'est pas stéréosélective, et conduit à la formation de deux diastéréoisomères dans les mêmes proportions. De plus, ces deux diastéréoisomères ne sont pas séparables par chromatographie sur gel de silice.

A une température supérieure à 40°C, le lactame $(\pm)\text{-111}$ correspondant à la cyclisation de la fonction amine secondaire de la pipéridine sur la fonction ester est isolé majoritairement (Schéma 77). Le composé $(\pm)\text{-111}$ pourrait permettre, après réduction du carbonyle, de synthétiser des indolizidines substituées par une fonction amine.

⁸⁹ Baumann, D. ; Bennis, K. ; Ripoché, I. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8363-8365.

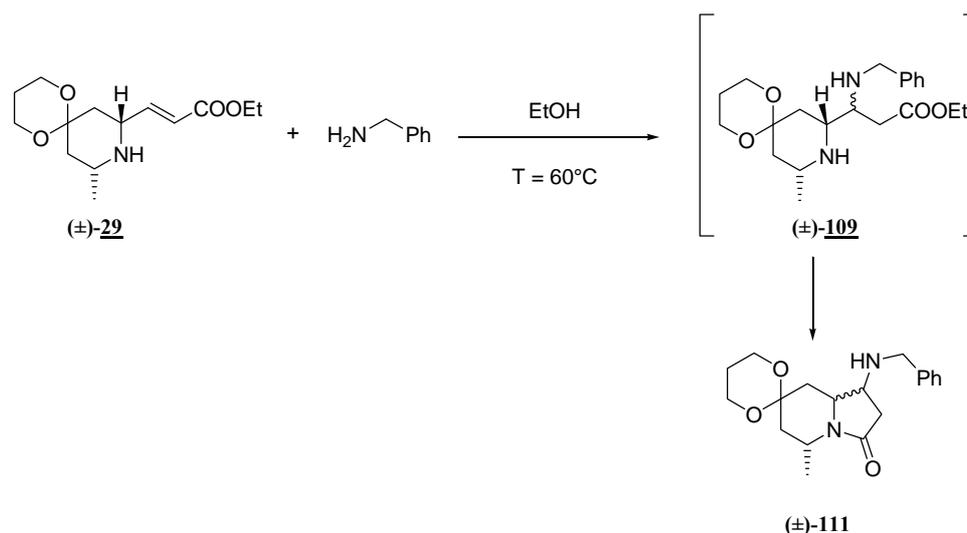


Schéma 77

Pour éviter cette cyclisation intramoléculaire, nous avons envisagé de réaliser l'addition de Michael sur la piperidine $(\pm)\text{-34}$ ayant l'atome d'azote protégé par un groupement carbamate de benzyle (Schéma 78).

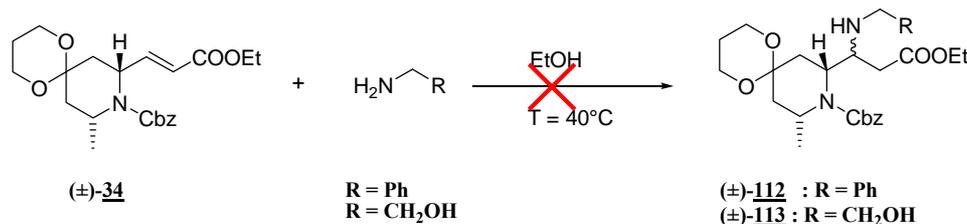


Schéma 78

Cependant, dans ce cas les produits résultants de l'addition de Michael sur la liaison α - β -éthylénique $(\pm)\text{-112}$ et $(\pm)\text{-113}$ ne se forment pas. La double liaison du composé $(\pm)\text{-34}$ n'est pas accessible. En effet, la présence du groupement carbamate de benzyle provoque une inversion de chaise, ainsi la double liaison se trouve en position axiale.

V.2. Cyclisation intramoléculaire

Les composés issus de l'addition des différentes amines sur la double liaison isolés étant préparés, nous avons réalisé la cyclisation intramoléculaire de l'amine primaire sur l'atome d'azote de la piperidine.

V.2.1. Synthèse de l'urée $(\pm)\text{-115}$

Dans un premier temps, nous avons réalisé l'hydrogénolyse du groupement benzyle porté par l'atome d'azote, avant de former l'urée cyclique.

Cette hydrogénolyse réalisée en présence de Pd/C, sous atmosphère d'hydrogène conduit au composé $(\pm)\text{-114}$. Celui-ci n'est pas isolé, mais directement engagé dans la réaction de cyclisation (Schéma 79).

Des conditions classiques de cyclisation en présence de CDI⁹⁰ ne permettent pas de former le produit attendu, mais dégradent le milieu réactionnel.

Nous avons donc choisi d'utiliser le triphosgène en présence de triéthylamine⁹¹. Ces conditions nous ont permis d'accéder à l'urée cyclique (±)-**115**⁸⁹ (Schéma 79).

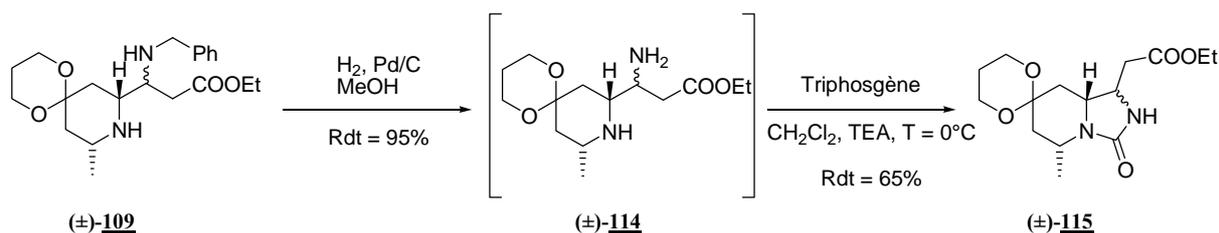


Schéma 79

L'urée cyclique (±)-**115** de conformation restreinte est isolée avec un rendement global sur les deux dernières étapes de l'ordre de 60%.

V.2.2. Synthèse de l'urée (±)-**116**

Cette méthode a été appliquée à la préparation de l'urée (±)-**116**. Le traitement du composé (±)-**110** par du triphosgène et de la triéthylamine conduit directement à la 2-chloroéthyle urée (±)-**116** avec un rendement de 70% (Schéma 80). Dans ce cas, la formation de l'urée à 5 chaînons s'accompagne de la substitution du groupement hydroxyle par un atome de chlore du triphosgène. Cette substitution est décrite dans la littérature sur d'autres composés⁹².

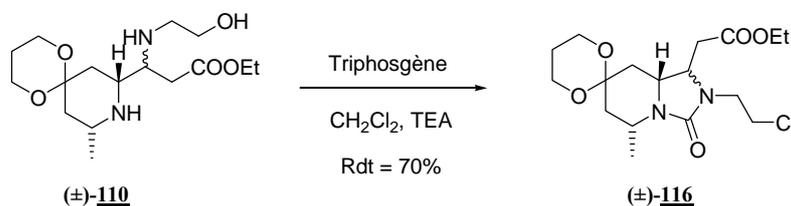


Schéma 80

Nous avons ainsi mis au point une méthode de synthèse d'urées cycliques à 5 chaînons de conformation restreinte obtenues sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères. Afin d'améliorer la diastéréosélectivité et le rendement des urées formées, nous avons développé une autre stratégie de synthèse qui consiste à inverser l'ordre des réactions précédentes. En effet, une cyclisation intramoléculaire de type Michael, en dernière étape devrait privilégier un diastéréoisomère par rapport à l'autre (Schéma 81).

Comme nous l'avons présenté précédemment, il existe une autre méthode pour former des urées qui consiste à additionner des isocyanates sur une amine libre.

⁹⁰ Sales, M. ; Charrette, A. B. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5773-5776.

⁹¹ Dragovich, P. S. ; Barker, J. E. ; French, J. ; Imbacuan, M. ; Kalish, V. J. ; Kissinger, C. R. ; Knighton, D. R. ; Lewis, C. T. ; Moomaw, E. W. ; Parge, H. E. ; Pelletier, L. A. K. ; Prins, T. J. ; Showalter, R. E. ; Tatlock, J. H. ; Tucker, K. D. ; Villafranca, J. E. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1872-1884.

⁸⁹ Baumann, D. ; Bennis, K. ; Ripoché, I. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8363-8365.

⁹² Nicolaou, K. C. ; Li, Y. ; Uesaka, N. ; Koftis, T. V. ; Vyskocil, S. ; Ling, T. ; Govindasamy, M. ; Qian, W. ; Bernal, F. ; Chen, D. Y.-K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3643-3648.

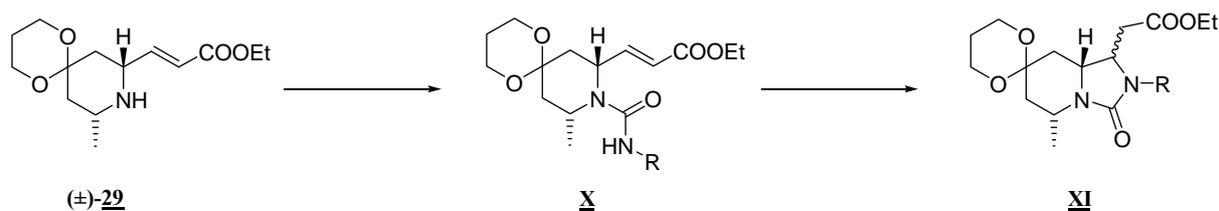


Schéma 81

L'intermédiaire de type **X** est obtenu par addition sur l'atome d'azote de la pipéridine **(±)-29** d'isocyanates diversement substitués. Les différents isocyanates ont été choisis en fonction de leurs substituants.

Puis, l'urée **XI** est isolée après cyclisation intramoléculaire de la fonction amine secondaire sur l'ester α - β -éthylénique de l'intermédiaire **X** (Schéma 81).

V.3. Addition de différents isocyanates et cyclisation intramoléculaire

Dans un premier temps, pour valider notre nouvelle stratégie de synthèse, nous avons réalisé l'addition de l'isocyanate de phényle sur la pipéridine **(±)-29**, pour obtenir l'urée **(±)-118** (Schéma 82).

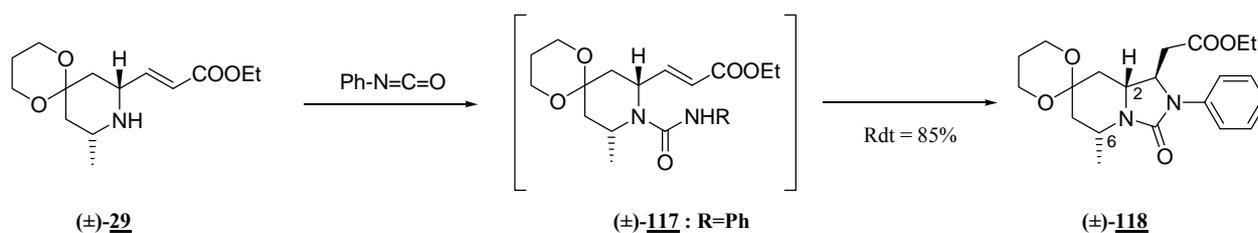
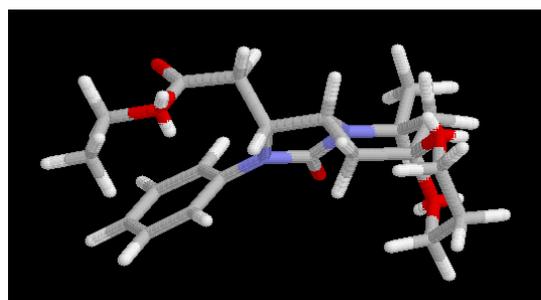


Schéma 82

Dans ce cas, l'atome d'azote de l'intermédiaire **(±)-117** est suffisamment nucléophile pour réagir spontanément sur la double liaison, et former un seul diastéréoisomère de l'urée cyclique **(±)-118** avec un rendement de 85%⁸⁹.

Le spectre RMN du ¹H permet de confirmer la stéréochimie de l'urée **(±)-118**, avec les substituants portés par les carbones 2 et 6 en position équatoriale. La présence d'une constante de couplage de 12 Hz spécifique d'un couplage *trans*-diaxial avec respectivement les protons H-2 et H-6 valide la stéréochimie de l'urée **(±)-118**.

Une étude par modélisation moléculaire (Macromodel, Champ de force MM2) a permis de déterminer que la conformation de plus basse énergie de l'urée **(±)-118** correspond à une conformation « bateau » de la pipéridine.



⁸⁹ Baumann, D. ; Bennis, K. ; Ripoché, I. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8363-8365.

Au vu de ce résultat encourageant, nous avons élargi notre étude en utilisant différents isocyanates aromatiques commerciaux (**Schéma 83**). En effet, comme nous l'avons vu précédemment les urées aromatiques présentent des activités biologiques intéressantes.

Nous avons choisi d'ajouter l'isocyanate de *para*-trifluorométhylphényle car cet isocyanate présente un intérêt majeur résidant dans la présence d'un groupement trifluorométhyle substituant le noyau aromatique. La présence d'atomes de fluor sur une molécule améliore ses propriétés lipophiles et sa solubilité⁹³ et par conséquent ses propriétés biologiques.

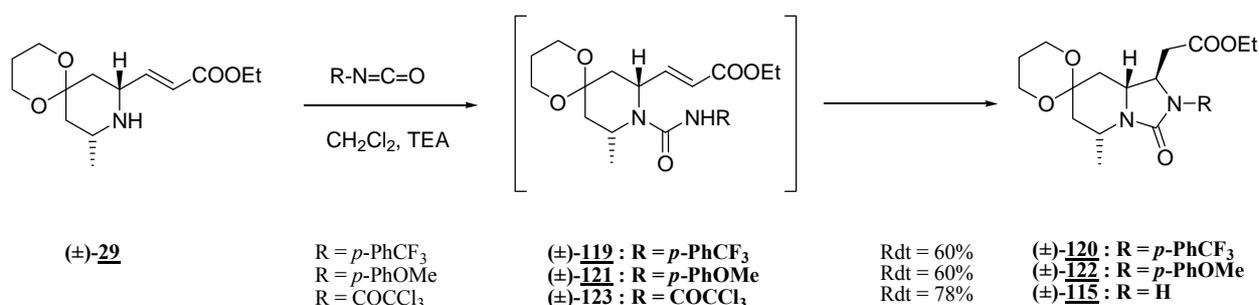


Schéma 83

L'isocyanate de *para*-trifluorométhylphényle, puis l'isocyanate de *para*-méthoxyphényle ont été additionnés afin de déterminer l'influence d'un groupement électrodonneur ou électroattracteur porté par le noyau aromatique. Dans les deux cas, les urées cycliques $(\pm)\text{-120}$ et $(\pm)\text{-122}$ sont isolées avec des rendements de 60% (**Schéma 83**). Ainsi, le groupement porté par le noyau aromatique n'a aucune influence sur la réactivité de la fonction amine secondaire vis-à-vis de la double liaison.

Le troisième isocyanate utilisé, est l'isocyanate de trichloroacétyle. Celui-ci s'additionne comme les isocyanates précédents sur l'atome d'azote de la pipéridine. Mais dans ce cas, seule l'urée cyclique $(\pm)\text{-115}$ ayant subi une déprotection *in situ* de l'atome d'azote⁹⁴ est isolée avec un rendement de 78% (**Schéma 83**). Dans ce cas précis, la sélectivité est moins bonne, on obtient un mélange de deux diastéréoisomères dans des proportions de l'ordre de 4-1.

Nous avons également réalisé l'addition de l'isocyanate de benzyle sur la pipéridine $(\pm)\text{-29}$ ce qui nous a permis d'obtenir l'urée linéaire $(\pm)\text{-124}$ ⁸⁸ (**Schéma 84**).

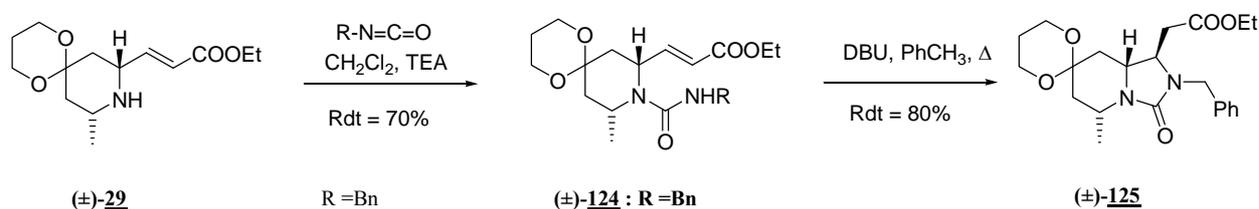


Schéma 84

⁹³ Bégue, J.-P. ; Bonnet-Delpon, D. *Chimie bioorganique et médicinale du fluor*, EDP Science/CNRS Ed., 2005.

⁹⁴ Murakami, Y. ; Hara, H. ; Okada, T. ; Hashizume, H. ; Kii, M. ; Ishihara, Y. ; Ishikawa, M. ; Shimamura, M. ; Mihara, S.-I. ; Kato, G. ; Hanasaki, K. ; Hagishita, S. ; Fujimoto, M. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 2621-2632.

⁸⁹ Baumann, D. ; Bennis, K. ; Ripoché, I. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 8363-8365.

Dans ce cas, l'atome d'azote du composé (\pm)-**124** n'est pas suffisamment nucléophile pour réagir spontanément sur la liaison α - β -éthylénique, et former un seul diastéréoisomère de l'urée cyclique (\pm)-**125**. Après avoir isolé l'intermédiaire (\pm)-**124** pour confirmer le mécanisme de la réaction, l'ajout d'une base est nécessaire pour former l'urée (\pm)-**125**. Dans un premier temps, nous avons ajouté de la triéthylamine. Cette base ne s'étant pas révélée suffisamment efficace pour déprotoner l'atome d'azote et former l'urée cyclique (\pm)-**125**, nous avons augmenté la force de la base en utilisant du DBU. La cyclisation est alors totale et permet d'isoler l'urée (\pm)-**125** avec un rendement de 80% (Schéma 84).

Cette nouvelle stratégie de synthèse nous a permis de synthétiser des urées cycliques à 5 chaînons de conformation restreinte, en une seule étape avec des rendements variant de 60 à 80%. De plus, un seul diastéréoisomère est formé majoritairement quand l'isocyanate additionné est suffisamment encombré, car l'intermédiaire formé présente moins de degré de liberté.

Afin d'augmenter le potentiel biologique des différentes urées formées, notamment leur biodisponibilité, nous avons choisi d'introduire un groupement hydroxyle supplémentaire sur le cycle pipéridinique de la molécule.

VI. Introduction d'un groupement hydroxyle en position 4

Comme nous l'avons évoqué dans le chapitre précédent, le traitement de la pipéridine (\pm)-**125** par une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50%, est une méthode efficace de coupure de l'acétal (Schéma 85). La pipéridone (\pm)-**126** est obtenue avec un rendement de 90%⁸⁹.

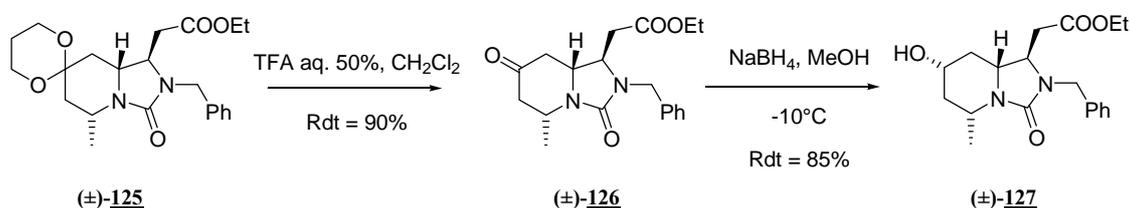


Schéma 85

La structure de la pipéridone (\pm)-**126** a été confirmée par RMN du ^1H , on observe bien la disparition des signaux relatifs à l'acétal. Pour des raisons de stabilité des pipéridones évoquées précédemment, nous avons réduit rapidement de façon diastéréosélective la fonction carbonyle de la pipéridone (\pm)-**126**. Ainsi, le traitement de celle-ci par NaBH_4 à -10°C conduit à la formation d'un seul épimère (\pm)-**127** ayant l'alcool en position équatoriale.

Nous avons ainsi préparé cinq urées cycliques de conformation restreinte diversement substituées et possédant une chaîne alkyle avec un groupement ester en α de l'atome d'azote avec de bons rendements et une bonne stéréosélectivité. Afin de synthétiser une plus large gamme d'urées, en vue de quantifier leurs propriétés cytotoxiques, nous avons envisagé de préparer des urées sans fonction ester sur le substituant porté par le carbone 1' du cycle urée. Pour ce faire, nous avons dû développer une autre méthode de synthèse (Schéma 86).

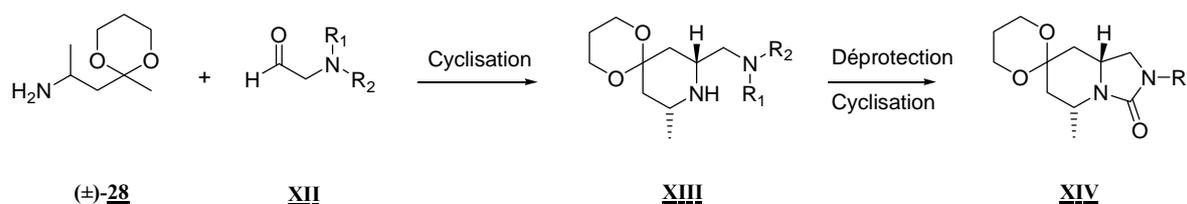


Schéma 86

Notre stratégie de synthèse est basée sur la formation d'une pipéridine possédant un atome d'azote sur la chaîne latérale. Ainsi, la condensation de l'amine **(±)-28** sur un aldéhyde de type **XII** devrait permettre d'obtenir une pipéridine de type **XIII**. L'intermédiaire **XIII** pourrait ensuite subir une déprotection et une cyclisation intramoléculaire pour donner l'urée cyclique de type **XIV**.

VII. Préparation de la pipéridine **(±)-131**

Dans un premier temps, afin de réaliser une déprotection sélective de l'atome d'azote, nous avons choisi de synthétiser un aldéhyde possédant des groupements protecteurs orthogonaux sur l'atome d'azote. Ensuite, la déprotection sélective réalisée avant la cyclisation intramoléculaire permettra d'obtenir des urées cycliques soit avec l'atome d'azote libre, soit avec l'atome d'azote substitué.

VII.1. Synthèse de l'aldéhyde **130**

Les groupements protecteurs de l'atome d'azote que nous avons choisis sont le benzyle et le carbamate de benzyle. En effet, il est possible de les déprotéger sélectivement soit en milieu basique⁹⁵, soit par hydrogénation catalytique. Ainsi, la formation de cet aldéhyde consiste à réaliser deux protections successives de l'atome d'azote avant de libérer la fonction aldéhyde lors de la dernière étape.

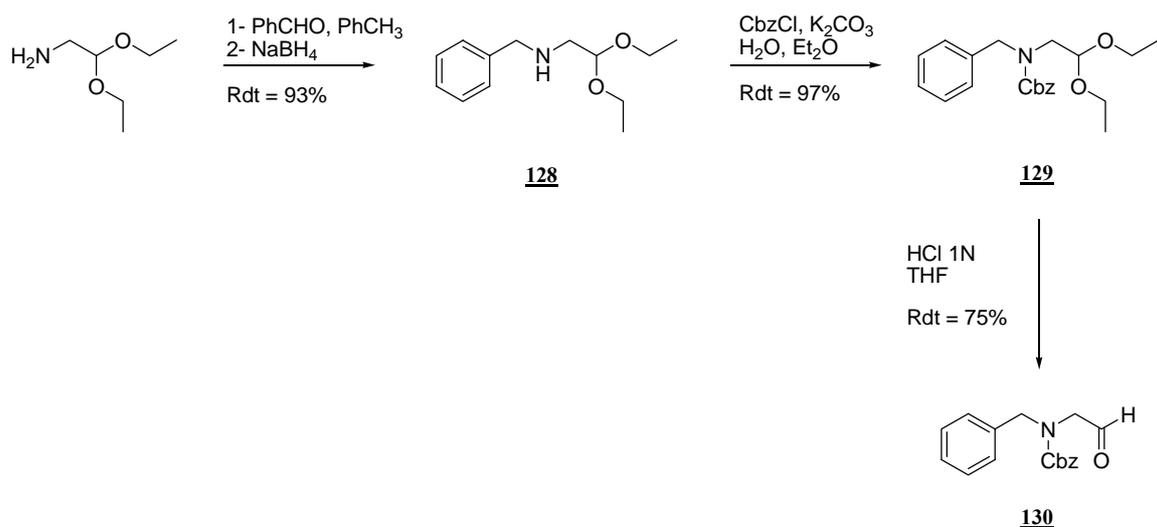


Schéma 87

⁹⁵ Deng, W. ; Overman, L. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11241-11250.

Dans un premier temps, l'atome d'azote de la (2,2-diéthoxy)éthylamine commerciale est protégé par un groupement benzyle⁹⁶ par amination réductrice avec le benzaldéhyde pour conduire au composé **128** avec un rendement de 93%. Puis une deuxième protection de l'atome d'azote par un carbamate de benzyle, réalisée en milieu biphasique en présence de K₂CO₃ et de chloroformate de benzyle, permet de former l'intermédiaire **129** avec un rendement de 97%. L'acétal du composé **129** est ensuite hydrolysé par une solution aqueuse d'HCl 1N pour former l'aldéhyde **130** correspondant (Schéma 87).

L'aldéhyde **130** est isolé en trois étapes à partir de la (2,2-diéthoxy)éthylamine avec un rendement global de 68%.

VII.2. Synthèse de la pipéridine (±)-**131**

La condensation de l'amine (±)-**28** sur l'aldéhyde **130**, réalisée dans les conditions habituelles, conduit à la formation de l'imine correspondante dont le traitement en milieu acide génère la pipéridine (±)-**131** (Schéma 88).

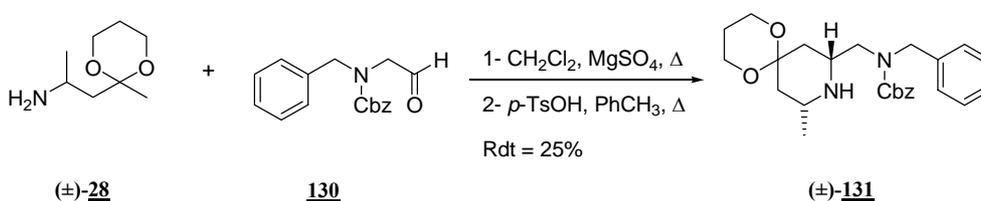


Schéma 88

La pipéridine (±)-**131**, 2,6-*cis*-disubstituée, est isolée par chromatographie sur gel de silice, avec un faible rendement de 25%. Ce rendement est inférieur à celui obtenu lors de la formation de la pipéridine (±)-**29**. Il faut noter que dans ce cas, l'aldéhyde **130** possède un carbone énolisable contrairement à l'aldéhyde **27**, ce qui peut conduire à la formation de sous-produits. Cette réaction parasite a déjà été rencontrée par Davis *et coll.*⁹⁷ lors de la synthèse de pipéridines en présence de 4-benzyloxybutanal.

*Nous avons donc préparé un autre aldéhyde de structure voisine de celle de l'aldéhyde **130** mais ayant l'atome d'azote protégé par un groupement phtalimide.*

VIII. Préparation de la pipéridine (±)-**136**

VIII.1. Synthèse de l'aldéhyde **133**

Différentes synthèses de l'aldéhyde **133** sont décrites dans la littérature^{98, 99}. Nous avons choisi deux méthodes différentes pour le préparer.

La première méthode consiste à protéger l'atome d'azote de l'éthanolamine en présence d'anhydride phtalique pour conduire au phtalimido éthanol **132** (Schéma 88). Puis l'oxydation du composé **132** en présence de trois équivalents de triéthylamine et trois

⁹⁶ Boisbrun, M. ; Jeannin, L. ; Toupet, L. ; Laronze, J.-Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 17, 3051-3057.

⁹⁷ Davis, F. A. ; Yang, B. *Org. Lett.* **2003**, 5, 5011-5014.

⁹⁸ Falck, J. R. ; He, A. ; Fukui, H. ; Tsutsui, H. ; Radha, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4527-4529.

⁹⁹ Thayumanavan, R. ; Tanaka, F. ; Barbas III, C. F. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3541-3544.

équivalents de complexe pyridine-SO₃ en solution dans le DMSO⁶⁷, génère l'aldéhyde **133**, avec un rendement de 60% (Schéma 89). L'aldéhyde **133** est ainsi obtenu en deux étapes à partir de l'éthanolamine avec un rendement global de 51%.

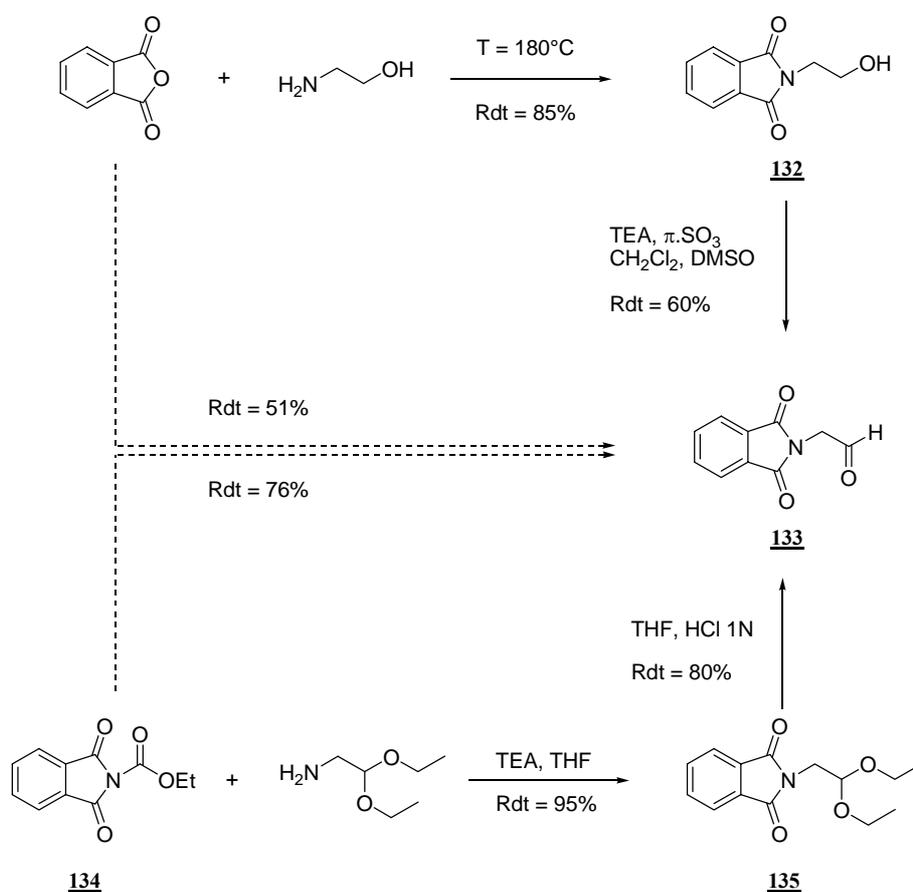


Schéma 89

La seconde méthode également décrite dans la littérature^{100, 101} consiste à réaliser la protection de l'atome d'azote de la (2,2-diéthoxy)éthylamine par le composé **134** pour isoler le composé **135** qui après hydrolyse acide du diéthylacétal conduit à l'aldéhyde **133** avec un rendement global de 76%.

Il nous faut désormais réaliser la synthèse de la pipéridine en utilisant la méthode développée précédemment.

VIII.2. Synthèse de la pipéridine (±)-**136**

La condensation de l'amine (±)-**28** sur l'aldéhyde **133**, réalisée dans les conditions habituelles, conduit à la formation de l'imine correspondante dont le traitement en milieu acide génère la pipéridine (±)-**136** (Schéma 90).

⁶⁷ Parikh, J. R. ; Doering, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505-5507.

¹⁰⁰ Álvarez, M. ; Fernández, D. ; Joule, J. A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 315-317.

¹⁰¹ Wang, X. ; Bhatia, P. A. ; Daanen, J. F. ; Latsaw, S. P. ; Rohde, J. ; Kolasa, T. ; Hakeem, A. A. ; Matulenko, M. A. ; Nakane, M. ; Uchic, M. E. ; Miller, L. N. ; Chang, R. ; Moreland, R. B. ; Brioni J. D. ; Stewart A. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4667-4678.

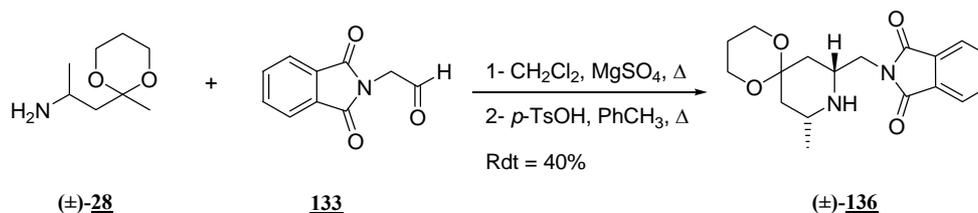


Schéma 90

La pipéridine $(\pm)\text{-136}$, 2,6-*cis*-disubstituée, est isolée par chromatographie sur gel de silice, avec un rendement de 40%. Le rendement obtenu est meilleur que celui obtenu avec l'aldéhyde **133** mais reste inférieur au rendement habituellement observé lors de la préparation de pipéridines avec l'amine méthyle $(\pm)\text{-28}$.

Afin d'améliorer le rendement, nous avons effectué la cyclisation en utilisant un acide de Lewis tel que $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$, et en faisant varier les quantités ajoutées (1,5 éq. ou 2 éq.). Les différentes conditions employées ne nous ont pas permis d'avoir un rendement supérieur à 40%.

D'après notre stratégie de synthèse, une fois la pipéridine $(\pm)\text{-136}$ isolée, il faut déprotéger l'atome d'azote avant de former l'urée cyclique.

IX. Synthèse d'urée cyclique

La synthèse de l'urée $(\pm)\text{-138}$ est effectuée en deux étapes. La première étape consiste à réaliser la coupure basique du phtalimide $(\pm)\text{-136}$ par hydrazinolyse en milieu méthanolique pour libérer l'amine primaire du composé $(\pm)\text{-137}$ (Schéma 91).

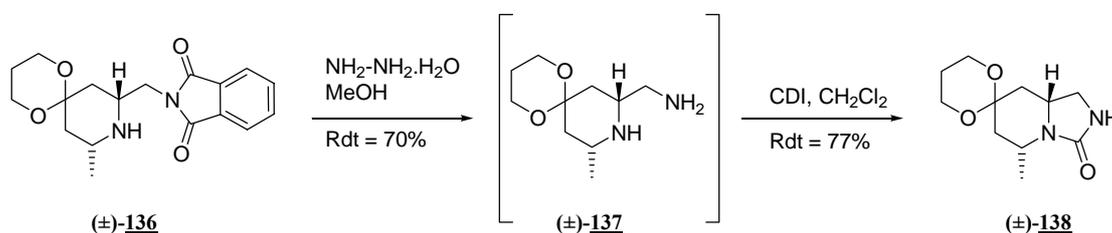


Schéma 91

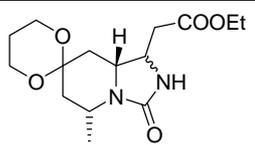
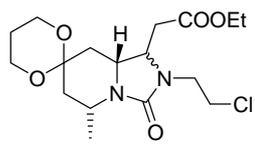
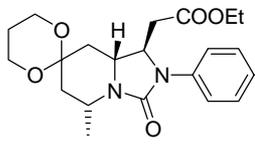
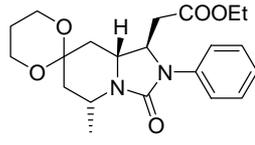
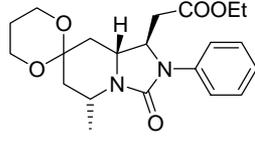
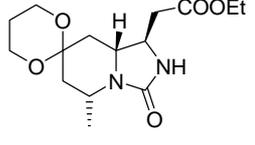
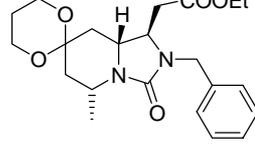
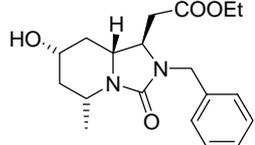
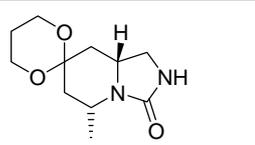
Le composé $(\pm)\text{-137}$ n'est pas purifié mais directement engagé dans l'étape de cyclisation intramoléculaire en présence de CDI pour former l'urée $(\pm)\text{-138}$. Celle-ci est donc obtenue en trois étapes à partir de la condensation de l'aldéhyde **133** sur l'amine $(\pm)\text{-28}$ avec un rendement global de 28%.

Nous avons ainsi mis au point deux méthodes efficaces qui nous ont permis de synthétiser huit nouvelles urées cycliques de conformation restreinte.

X. Tableau récapitulatif

Nous avons ainsi réalisé la synthèse de huit nouvelles urées cycliques de conformation restreinte, diversement substituées avec des rendements acceptables variant de 24% à 64% selon la méthode utilisée.

Ces huit urées cycliques de conformation restreinte ont fait l'objet de tests *in-vitro* afin de déterminer leur cytotoxicité. Dans le tableau suivant, nous avons répertorié les différentes urées sur lesquelles des tests biologiques ont été réalisés, ainsi que le rendement global d'obtention.

Urées cycliques de conformation restreinte	Rendement à partir de la formation de la pipéridine
 <p style="text-align: right;">(±)-115</p>	29% (sous la forme de deux diastéréoisomères)
 <p style="text-align: right;">(±)-116</p>	24% (sous la forme de deux diastéréoisomères)
 <p style="text-align: right;">(±)-118</p>	64%
 <p style="text-align: right;">(±)-120</p>	48%
 <p style="text-align: right;">(±)-122</p>	48%
 <p style="text-align: right;">(±)-115</p>	62%
 <p style="text-align: right;">(±)-125</p>	64%
 <p style="text-align: right;">(±)-127</p>	46%
 <p style="text-align: right;">(±)-138</p>	28%

La première méthode que nous avons utilisée correspond à l'addition d'amines sur la double liaison en β de l'ester éthylique. Celle-ci donne accès à un mélange de diastéréoisomères inséparables par chromatographie sur gel de silice.

La deuxième méthode permet de former des urées cycliques de conformation restreinte en utilisant la voie des isocyanates. Celle-ci donne de meilleurs rendements que la méthode précédente. De plus, la « voie des isocyanates » est plus sélective et nous permet d'accéder en une seule étape à un diastéréoisomère largement majoritaire.

Le composé (\pm)-**127** est différent du composé (\pm)-**125** par la présence en position 4 du cycle pipéridinique d'une fonction alcool. Les tests biologiques sur ces deux molécules nous permettront de déterminer l'influence du groupement hydroxyle sur l'activité antiproliférative.

Le composé (\pm)-**138** est formé avec un faible rendement mais, à la différence du composé (\pm)-**115**, il ne comporte pas de substitution en α de l'atome d'azote de l'urée. Il sera intéressant de comparer leurs activités pour définir l'intérêt du groupement CH_2COOEt en α de l'atome d'azote.

XI. Quantification de la cytotoxicité des urées

Le caractère cytotoxique de ces molécules a été évalué *in-vitro* sur différentes lignées cellulaires cancéreuses.

Ces tests ont été réalisés en collaboration avec le Docteur Eric Debiton de l'UMR-INSERM U-484 de Clermont-Ferrand.

XI.1. Principe

L'activité antiproliférative est exprimée comme étant la concentration de la molécule induisant une survie cellulaire de 50% (IC_{50} en μM).

La mesure de la cytotoxicité globale est réalisée *in-vitro* à l'aide de deux tests complémentaires effectués séquentiellement afin de déterminer l' IC_{50} ¹⁰².

La première partie du test repose sur la propriété de la résazurine à être réduite en résorufine fluorescente par les systèmes d'oxydo-réduction de la cellule viable¹⁰³ (**Schéma 92**).

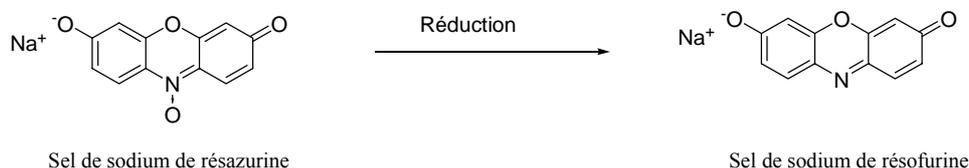


Schéma 92

La deuxième partie consiste en la mesure directe de la biomasse par agent intercalant de l'ADN spécifique des zones riches en AT nommé Hoechst 33342¹⁰⁴ (**Figure 24** : Hoechst

¹⁰² Debiton, E. ; Madelmont, J.-C. ; Legault, J. ; Barthomeuf, C. *Cancer Chemother. Pharm.* **2003**, *51*, 474-482.

¹⁰³ O'Brien, J. ; Wilson, I. ; Orton, T. ; Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5421-5426.

¹⁰⁴ Rago, R. ; Mitchen, J. ; Wilding, G. *Anal. Biochem.* **1990**, *191*, 31-34.

33342). Son intercalation dans l'ADN provoque une forte augmentation de sa fluorescence et permet d'évaluer la quantité d'ADN cellulaire dans le puits de culture.

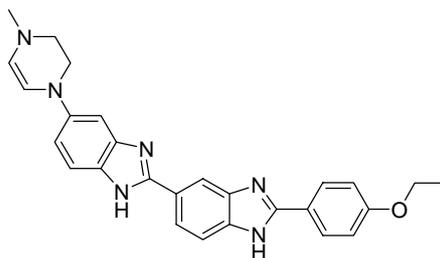
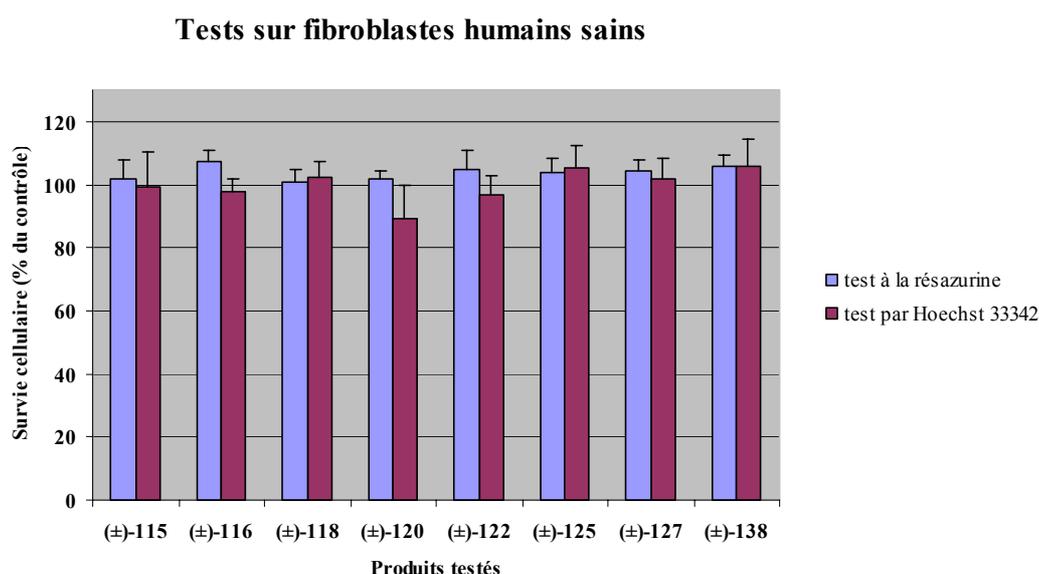


Figure 24 : Hoechst 33342

Pour ces deux techniques, la fluorescence est proportionnelle à la quantité de cellules présentes dans l'échantillon. Ainsi, par comparaison avec le témoin, il est possible de déterminer la quantité de cellules présentes en fonction du traitement réalisé. Cependant, il est important de remarquer que le test à la résazurine donne une évolution du métabolisme cellulaire alors que celui à l'Hoechst 33342 mesure la biomasse. Ceci explique les différences de résultats parfois obtenus entre les deux tests. En effet, pour certaines lignées cellulaires, le potentiel réducteur est important et pas forcément directement proportionnel à la quantité de cellules encore vivantes.

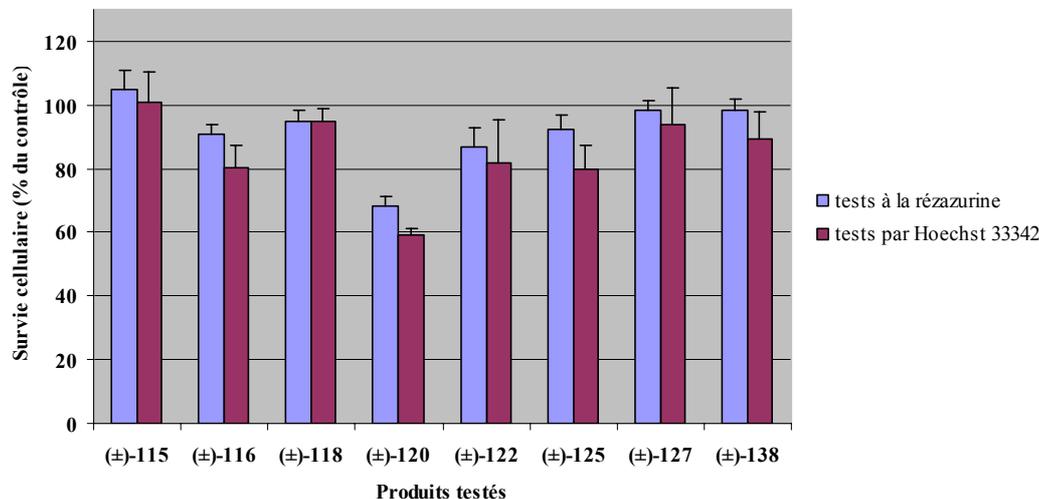
XI.2. Résultats

L'activité antiproliférative des huit urées cycliques formées a été mesurée sur trois lignées cellulaires différentes : fibroblastes humains sains, ainsi que sur diverses lignées de cellules cancéreuses humaines : MCF7 (adénocarcinome mammaire), PC3 (adénocarcinome prostatique). Les résultats obtenus sont présentés sous la forme d'histogramme en fonction du pourcentage de survie cellulaire.

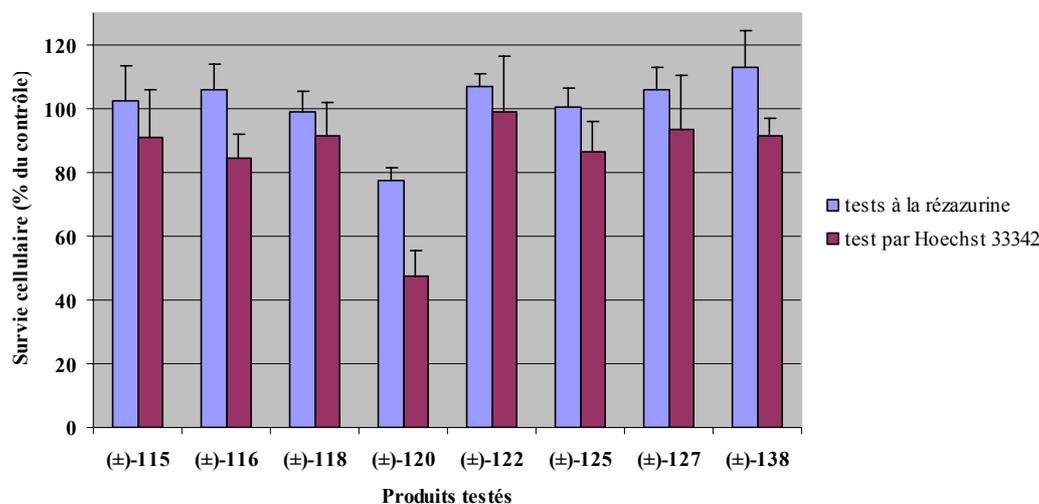


Les résultats obtenus sur les cellules non cancéreuses étaient plutôt encourageants. En effet, une cytotoxicité trop importante de ces composés vis-à-vis des cellules saines compromettrait leur utilisation dans un quelconque traitement.

Tests sur adénocarcinomes mammaires MCF7



Tests sur adénocarcinomes prostatiques PC3



Malheureusement les résultats obtenus sur les deux lignées cellulaires cancéreuses ne sont pas très significatifs. Seul le composé (±)-120 présente une cytotoxicité d'environ 50%. Cette activité est probablement liée la présence du groupement trifluorométhyle sur le noyau aromatique.

XII. Elargissement de la stratégie

Les urées précédentes ne présentent pas d'activité cytotoxique significative. Cependant, nous avons envisagé d'élargir notre stratégie à d'autres substrats, en particulier à la pipéridine (±)-61 précédemment synthétisée. Ceci nous permettra d'introduire un

groupement hydroxyle supplémentaire ce qui pourrait conférer des propriétés biologiques à la molécule (inhibiteur potentiel de glycosidases).

XII.1. Synthèse de l'urée (±)-**140**

Compte tenu des résultats obtenus précédemment, nous avons choisi la méthode des isocyanates pour former l'urée cyclique correspondante. Nous avons ainsi additionné l'isocyanate de phényle, sur la pipéridine (±)-**61** dans les conditions précédentes pour former l'urée cyclique (±)-**140** sous la forme d'un diastéréoisomère majoritaire (95:5) avec un rendement de 80% (Schéma 93).

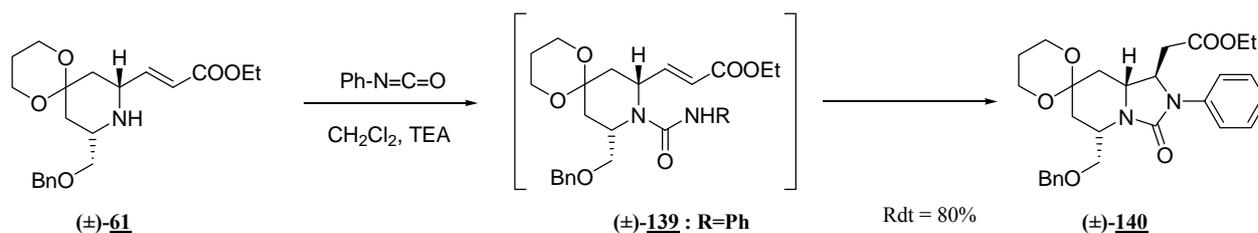


Schéma 93

Nous avons ainsi montré que notre méthode peut s'appliquer à des pipéridines diversement substituées sur le carbone 6.

Nous pouvons envisager d'hydrolyser le groupement dioxane, réduire la pipéridone et enfin hydrogéner le groupement benzyle pour accéder à des urées cycliques de conformation restreinte de type **XV** ayant deux groupements hydroxyle supplémentaires (Figure 25).

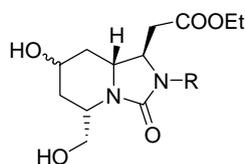


Figure 25

La présence de ces groupements hydroxyle permettrait d'améliorer la biodisponibilité de la molécule. Or les urées précédentes ne présentant pas d'activité suffisante, nous n'avons pas jugé nécessaire de réaliser ces transformations. Cependant, les pipéridines de type **XV** pourraient être testées en tant qu'inhibiteurs de glycosidases.

D'un point de vue purement « synthétique », nous avons souhaité élargir notre étude en réalisant la synthèse de thiourées cycliques de conformation restreinte, en adaptant la méthode précédente.

XII.2. Synthèse de thiourées cycliques

Nous pouvons envisager d'adapter la méthode des isocyanates précédemment développée pour former des thiourées cycliques de conformation restreinte. Ensuite, l'alkylation de l'atome de soufre devrait nous permettre de réaliser des réactions de couplage pallado-catalysées avec des organoboranes ou des organostannanes.

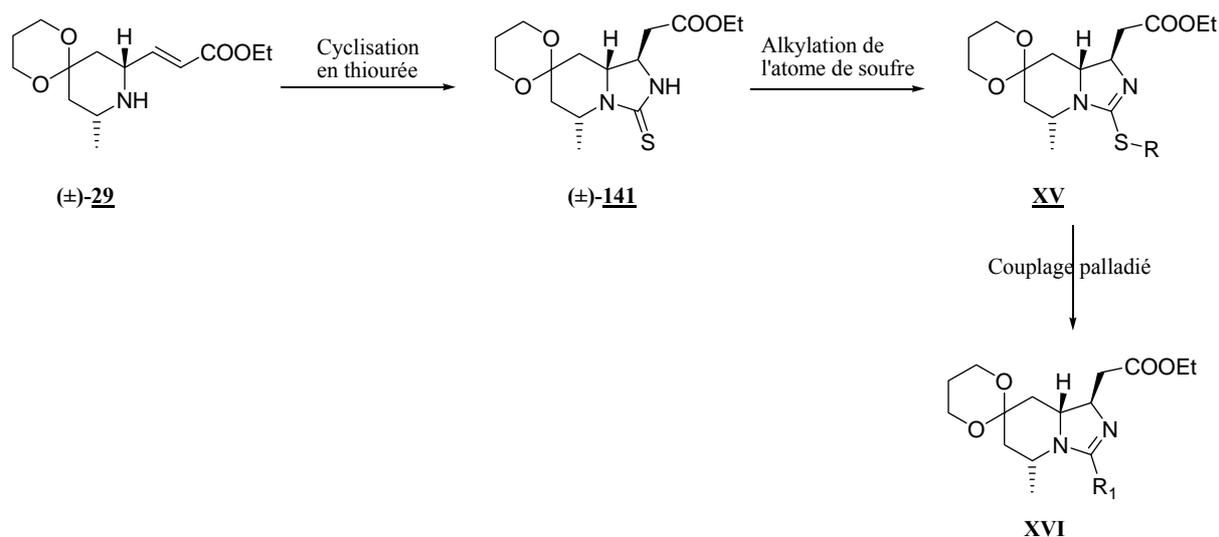


Schéma 94

Ce procédé permettrait d'obtenir des imidazopyridines de type **XVI** diversement substituées (Schéma 94).

XII.2.1. Utilisation de thioisocyanates

Dans un premier temps, en vue de réaliser des couplages palladiés, il nous est nécessaire de former des thiourées avec l'atome d'azote de la thiorée libre ou facilement déprotégeable. Nous avons choisi le thioisocyanate de benzoyle pour former la thiorée correspondante dont l'hydrolyse serait aisée.

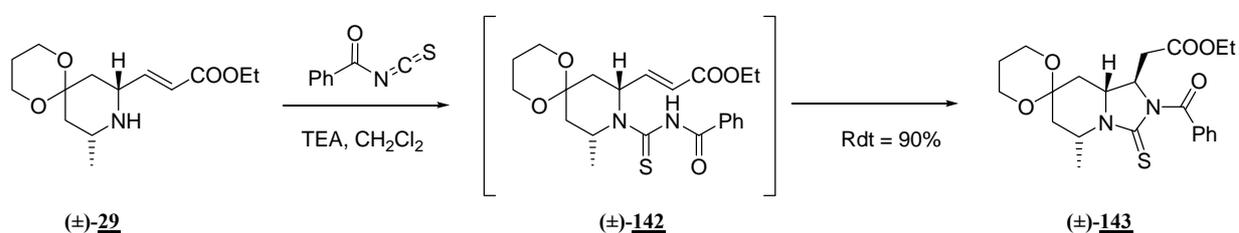


Schéma 95

Dans ce cas, le composé $(\pm)\text{-143}$ est obtenu de façon majoritaire avec un rendement de 90% (Schéma 95). De la même manière que pour les isocyanates précédents, l'atome d'azote de l'intermédiaire $(\pm)\text{-142}$ est suffisamment nucléophile pour réagir spontanément sur la double liaison, et former un seul diastéréoisomère de la thiorée cyclique $(\pm)\text{-143}$.

La thiorée doit être déprotégée avant d'envisager un couplage pallado-catalysé.

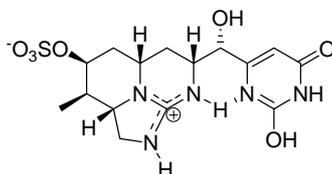
XII.2.2. Synthèse du composé $(\pm)\text{-141}$

Différentes conditions de déprotection de l'atome d'azote de la thiorée ont été envisagées.

Dans un premier temps, nous avons réalisé la déprotection en présence de K_2CO_3 . Ces conditions ne se sont pas révélées suffisamment basiques pour couper le groupement benzoyle.

- ensuite, en préparant des thiourées cycliques en utilisant la voie des thioisocyanates. Par manque de temps, nous n'avons pas pu poursuivre les essais de déprotection de la thiourée, réaction indispensable à la réalisation des couplages palladiés.

Par ailleurs, toujours dans une optique structure-réactivité, nous avons souhaité introduire un groupement guanidine. Ce groupement, intéressant à plus d'un titre, est également le cœur d'une molécule naturelle : la cylindrospermopsine.



C'est un alcaloïde de structure tricyclique contenant une guanidine sulfatée substituée par une dioxypyrimidine (uracile).

En 1992, Moore *et al.*¹⁰⁷ ont isolé cette hépatoxine d'une cyanobactérie *Cylindrospermopsis racibroskii* qu'ils nomment cylindrospermopsine. Plus récemment, la même toxine a été isolée dans d'autres variétés d'algues telles qu'*Umezakia nantans*¹⁰⁸, collectées dans le Lac Mikata (Japon) et *Aphanizomenon ovalisporum*¹⁰⁹ dans le lac Kinneret (Mer de Galilée, Israël). Cette substance présente une hépatotoxicité aiguë chez les souris et est supposée être la cause d'une sérieuse épidémie d'hépto-entérite chez les humains lors de la contamination de l'eau potable à Palm Island en 1979.

La cylindrospermopsine continue d'être un sérieux problème de santé publique particulièrement dans les zones tropicales. Elle a également été identifiée chez du bétail retrouvé mort en Australie. C'est pourquoi de nombreux chercheurs^{110, 111} se sont intéressés depuis ces dernières années à sa synthèse.

Notre laboratoire est engagé dans la synthèse totale de cet alcaloïde. Plusieurs voies ont déjà été explorées, permettant de mieux cerner les problèmes de réactivité rencontrés. C'est donc tout naturellement que nous avons préparé des dérivés contenant le motif guanidine, présent dans cet alcaloïde.

XII.3. Formation de dérivés de guanidine

Nous avons choisi d'ajouter sur la double liaison des pipéridines (\pm)-**29** et (\pm)-**61**, le dérivé guanidine **144** que nous avons préalablement synthétisé¹¹². L'addition est réalisée à 0°C en présence d' HgCl_2 et de triéthylamine dans du DMF¹¹³, et permet de former les guanidines (\pm)-**145** et (\pm)-**146**.

¹⁰⁷ Ohtani, I. ; Moore, R. E. ; Runnegar, M. T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7941-7942.

¹⁰⁸ Harada, K.-I. ; Ohtani, I. ; Iwamoto, K. ; Suzuki, M. ; Watanabe, M. F. ; Watanabe, M. ; Terao, K. *Toxicol.* **1994**, *32*, 73-84.

¹⁰⁹ Banker, R. ; Carmeli, S. ; Hadas, O. ; Teltsch, B. ; Porat, R. ; Sukenik, A. *J. Phycol.* **1997**, *33*, 613-616.

¹¹⁰ Xie, C. ; Runnegar, M. T. C. ; Snider, B. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5017-5024.

¹¹¹ a) White, J. D. ; Hansen, J. D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1963-1977. b) White, J. D. ; Hansen, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4950-4951.

¹¹² Lal, B. ; Gangopadhyay, A. K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *14*, 2483-2486.

¹¹³ Soon Kim, K. ; Qian, L. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7677-7680.

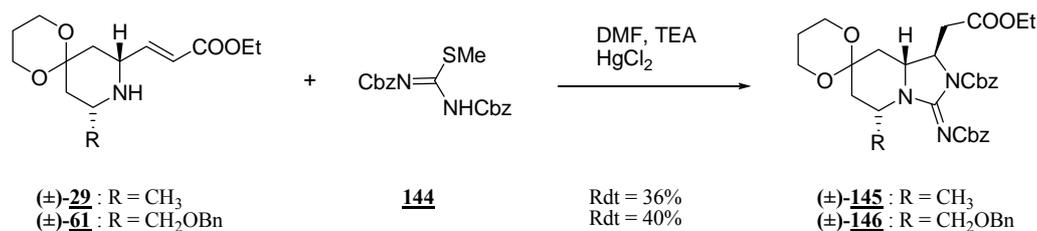


Schéma 98

Dans ces deux cas, la formation de la guanidine se fait spontanément. Le noyau guanidine est obtenu avec des rendements acceptables de l'ordre de 40% (Schéma 98). Ceci met bien en évidence la réactivité du dérivé guanidine **144**.

Nous avons montré que la formation des urées cycliques à 5 chaînons de conformation restreinte, sur des pipéridines diversement substituées (soit par un méthyle soit par une chaîne CH₂OBn en position 6) donne de bons résultats. Nous avons également montré qu'il est aussi possible de former des thiourées à 5 chaînons en utilisant la même méthode de synthèse. Enfin, nous avons prouvé que l'ester α - β -insaturé est également très réactif vis-à-vis de la formation d'une guanidine.

Nous avons alors exploré une méthode de préparation d'urées cycliques à six chaînons. En effet, cette dernière est aussi un synthon clé dans la synthèse de la cylindrospermopsine décrite par G. R. Heintzelam *et al*¹¹⁴ (Schéma 99).

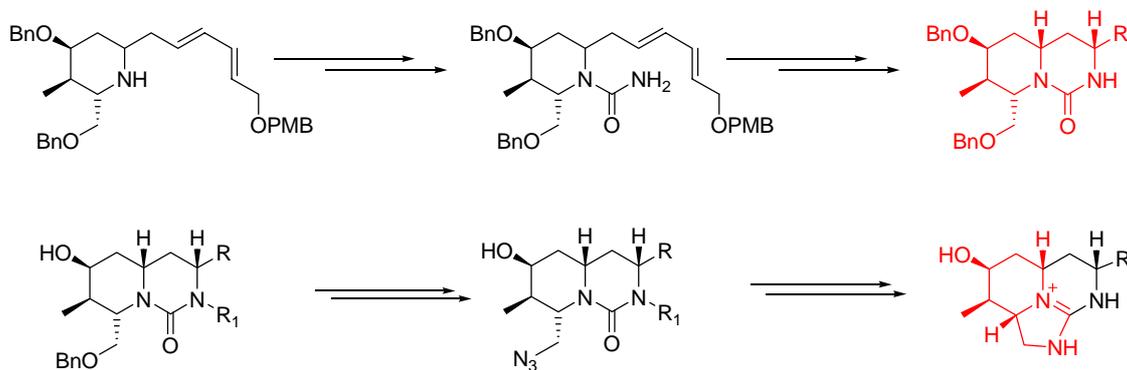


Schéma 99

Le protocole mis au point dans le chapitre précédent (formation du motif urée par cyclisation en présence de triphosgène) a été appliqué à la synthèse d'une urée à six chaînons. Il nécessite la préparation de nouvelles pipéridines et donc l'utilisation de nouveaux aldéhydes pour la réaction de Mannich. En ce qui concerne les amines, nous avons utilisé, dans un premier temps, l'amine (\pm) -**28** qui est plus facilement accessible. Une fois la mise au point expérimentale terminée, nous utiliserons l'amine benzyle (\pm) -**31**, et, à la manière de G. R. Heintzelman *et al*.¹¹⁴, nous pourrons former le cycle guanidine.

Le schéma synthétique suivant résume notre stratégie de synthèse (Schéma 100).

¹¹⁴ a) Heintzelam, G. R. ; Fang, W.-K. ; Keen, S. P. ; Wallace, G. A. ; Weinreb, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3939-3945. b) Heintzelam, G. R. ; Fang, W.-K. ; Keen, S. P. ; Wallace, G. A. ; Weinreb, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8851-8853.

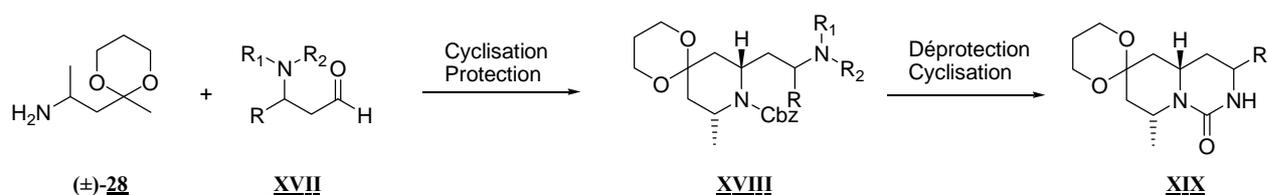


Schéma 100

Comme précédemment, elle est basée sur la formation d'une pipéridine ayant un atome d'azote présent sur la chaîne latérale. Ainsi, la condensation de l'amine $(\pm)\text{-28}$ sur un aldéhyde **XVII**, où R_1 et R_2 sont des groupements protecteurs de la fonction amine et R une fonction ester nécessaire à l'élaboration de la chaîne latérale, permet d'obtenir une pipéridine qui est ensuite protégée par un carbamate de benzyle pour fournir l'intermédiaire **XVIII**. La déprotection de la fonction amine suivie de la cyclisation intramoléculaire devrait générer l'urée cyclique **XIX** (Schéma 100).

XIII. Synthèse de la pipéridine 149

XIII.1. Synthèse de l'aldéhyde $(-)\text{-148}$

La synthèse de cet aldéhyde a été réalisée en s'appuyant sur la méthode développée par Meffre *et coll.*¹¹⁵, en utilisant l'ester méthylique de la méthionine (Schéma 101).

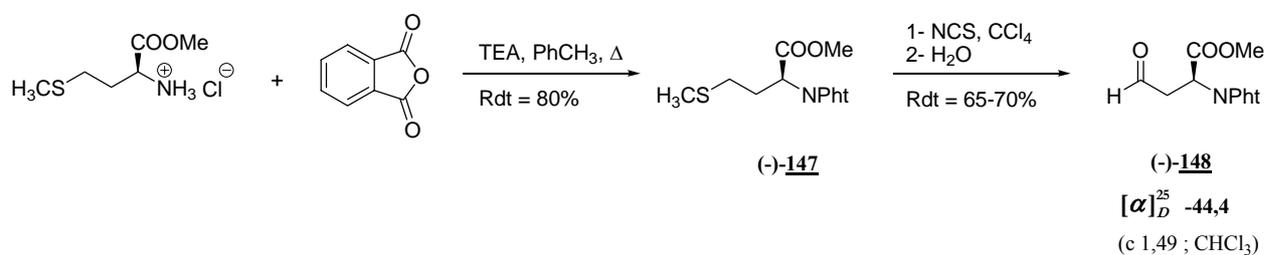


Schéma 101

Dans un premier temps, nous réalisons la protection de la fonction amine de l'ester méthylique de la méthionine sous la forme d'un phtalimide, en présence d'anhydride phtalique et de triéthylamine au reflux du toluène. Le composé $(-)\text{-147}$ est ainsi obtenu avec un bon rendement. Puis la chaîne latérale soufrée du composé $(-)\text{-147}$ subit un réarrangement du type Pummerer, en présence de *N*-chlorosuccinimide et d'eau.

L'aldéhyde $(-)\text{-148}$ est obtenu avec un rendement et une pureté optique supérieure à 95%.

Les structures des différents intermédiaires réactionnels ont été confirmées par comparaison avec les caractéristiques spectrales de la littérature (RMN du ^1H , RMN du ^{13}C , spectroscopie infrarouge et spectrométrie de masse).

¹¹⁵ Meffre, P. ; Durand, P. ; Le Goffic, F. *Org. Synth.* **1999**, 75, 123-132.

XIII.2. Réaction de cyclisation à partir de l'aldéhyde (-)-148

La condensation de l'amine (\pm)-**28** sur l'aldéhyde (-)-**148**, réalisée dans les conditions habituelles utilisées au laboratoire, conduit à la formation de l'imine correspondante dont le traitement par deux équivalents d'acide *para*-toluènesulfonique génère majoritairement la pipéridine 2,6-*cis*-disubstituée, sous la forme de deux diastéréoisomères inséparables **149a** et **149b**, avec un rendement compris entre 50% et 60% (Schéma 102).



Schéma 102

Le rendement observé est relativement moyen, mais dans ce cas nous sommes également en présence d'un aldéhyde énolisable. Malgré ce faible rendement, nous avons poursuivi la synthèse.

XIII.3. Formation de la pipéridine **151**

La protection de l'atome d'azote de la pipéridine est nécessaire pour la suite de la synthèse, notamment pour éviter toute cyclisation intramoléculaire de l'atome d'azote sur la fonction ester lors de l'hydrazinolyse du phtalimide.

La protection de l'atome d'azote de la pipéridine (-)-**149** dans un mélange biphasique dichlorométhane-carbonate de sodium aqueux (solution de molarité 0,4M) en présence de chloroformate de benzyle conduit au carbamate **150**, avec un très bon rendement de 85% (Schéma 103).

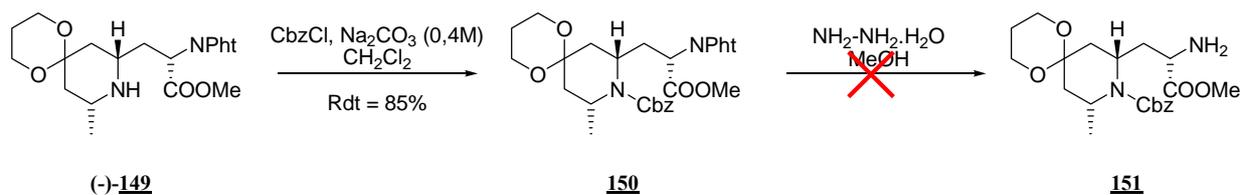


Schéma 103

La coupure basique du phtalimide par hydrazinolyse en milieu méthanolique conduit à une dégradation du milieu réactionnel et ne génère pas le composé **151** désiré.

A ce stade, nous avons choisi de changer de groupement protecteur de l'atome d'azote de l'aldéhyde. Notre choix c'est porté sur le tétra-chlorophthalimide qui se déprotège dans des conditions basiques moins fortes.

XIV. Synthèse de l'urée

XIV.1. Synthèse de l'aldéhyde (-)-153

Nous avons réalisé la synthèse de l'aldéhyde (-)-153 en employant la méthode précédente à partir de l'anhydride *tétra*-chlorophthalique pour protéger l'atome d'azote de l'ester méthylique de la méthionine (**Schéma 104**).

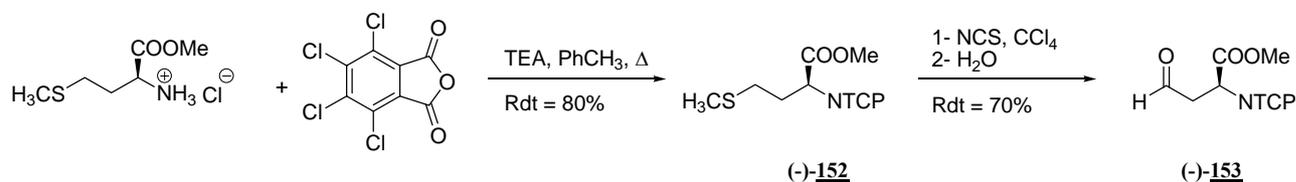


Schéma 104

La protection de la fonction amine de l'ester méthylique de la méthionine en présence d'anhydride *tétra*-chlorophthalique et de triéthylamine au reflux du toluène, conduit au composé (-)-152 avec un rendement de 80%. Ensuite, la chaîne latérale soufrée du composé (-)-152 subit un réarrangement du type Pummerer, en présence de *N*-chlorosuccinimide et d'eau comme précédemment.

L'aldéhyde (-)-153 a été préparé selon le même schéma de synthèse que son homologue non chloré, avec un rendement global de 56%. Les conditions de synthèse étant non racémisantes, l'aldéhyde (-)-153 obtenu avec une pureté optique supérieure à 95%.

XIV.2. Réaction de cyclisation à partir de l'aldéhyde (-)-153

La condensation de l'amine (±)-28 sur l'aldéhyde (-)-153, réalisée dans les conditions habituelles, génère majoritairement la pipéridine 2,6-*cis*-disubstituée 154 avec un rendement faible de 20%. Cette pipéridine est très instable et se transforme rapidement en la pipéridine 155, issue de l'élimination du tétrachlorophalimide (**Schéma 105**). L'analyse du spectre RMN du ¹H de la pipéridine 155 confirme la présence de deux protons éthyléniques.

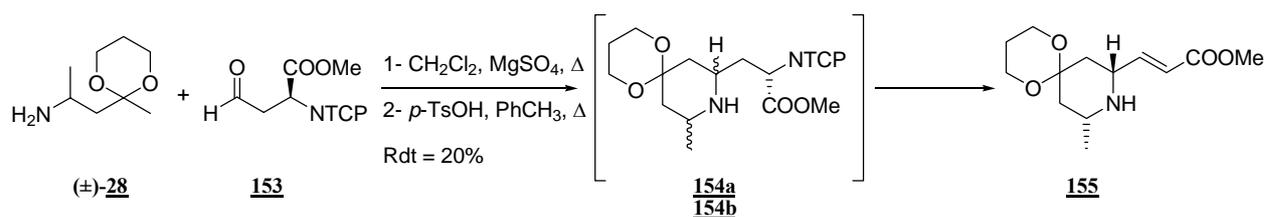


Schéma 105

Compte tenu de ces résultats, nous avons dû changer de stratégie de synthèse, nous introduirons l'atome d'azote après avoir formé la pipéridine. Pour cela, l'atome d'azote sur la chaîne latérale sera introduit par réaction de Wittig, sur une fonction aldéhyde portée par une pipéridine.

XV. Stratégie de synthèse

Dans la perspective de préparer une pipéridine comportant une urée cyclique de conformation restreinte de type **XXI**, nous avons défini le schéma synthétique suivant (**Schéma 106**) :

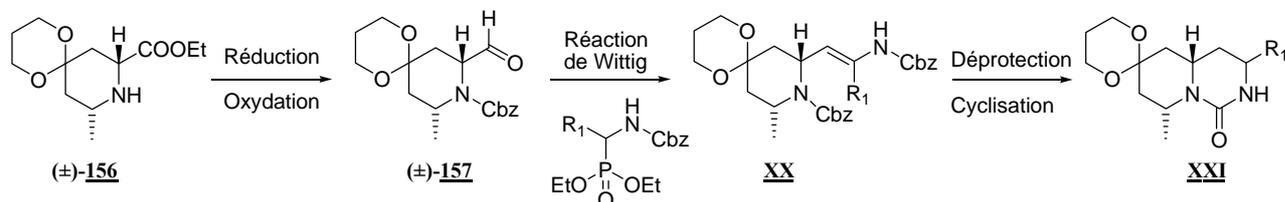


Schéma 106

La cyclisation de type Mannich intramolécule entre l'amine (±)-**28** et le glyoxylate d'éthyle permet de former la pipéridine (±)-**156**. Ensuite, la protection de l'atome d'azote par un carbamate de benzyle, suivie de la réduction de la fonction ester en alcool, puis l'oxydation en aldéhyde, fourniront l'intermédiaire de type (±)-**157**.

Une réaction de Wadsworth et Horner peut être réalisée sur la pipéridine (±)-**157** pour former l'intermédiaire de type **XX**. Après hydrolyse des groupements protecteurs portés par les atomes d'azote et hydrogénation de la double liaison, la cyclisation intramolécule pourra être réalisée pour former l'urée cyclique à six chaînons de type **XXI**.

XVI. Synthèse de la pipéridine comportant l'urée cyclique à six chaînons

XVI.1. Formation de la pipéridine (±)-156

La condensation de l'amine (±)-**28** sur le glyoxylate d'éthyle, réalisée dans les conditions habituelles, génère majoritairement la pipéridine (±)-**156a** 2,6-*cis*-disubstituée, avec un rendement de 70%³³ (**Schéma 107**).

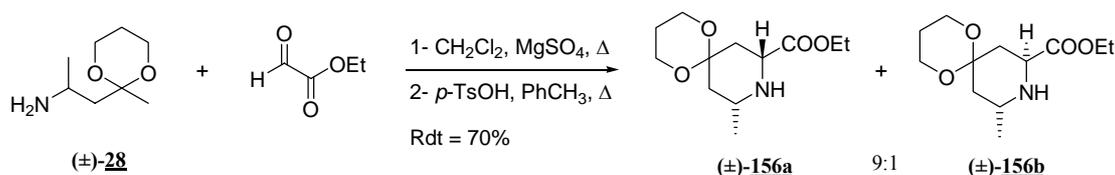


Schéma 107

Les données spectroscopiques de ces deux composés sont accord avec les données de la littérature⁴¹.

XVI.2. Préparation de l'aldéhyde (±)-157

Après avoir isolé la pipéridine 2,6-*cis*-disubstituée (±)-**156a**, il est nécessaire de protéger l'atome d'azote de la pipéridine avant de réaliser la réduction de la fonction ester. Comme précédemment, la protection par un carbamate de benzyle est réalisée dans un

⁴¹ Carbonnel, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, 2001, D.U. 1273.

mélange biphasique dichlorométhane-carbonate de sodium aqueux (solution de molarité 0,4M) en présence de chloroformate de benzyle pour isoler la pipéridine protégée (±)-**158** avec un rendement de 98% (Schéma 108).

Le traitement de la pipéridine (±)-**158** par le DIBAL-H conduit à l'aldéhyde (±)-**157** de façon minoritaire, alors que l'alcool (±)-**159** est obtenu de façon majoritaire avec un rendement de 64%. L'oxydation de Swern de ce dernier permet d'obtenir l'aldéhyde désiré (±)-**157** avec un rendement de 90%.

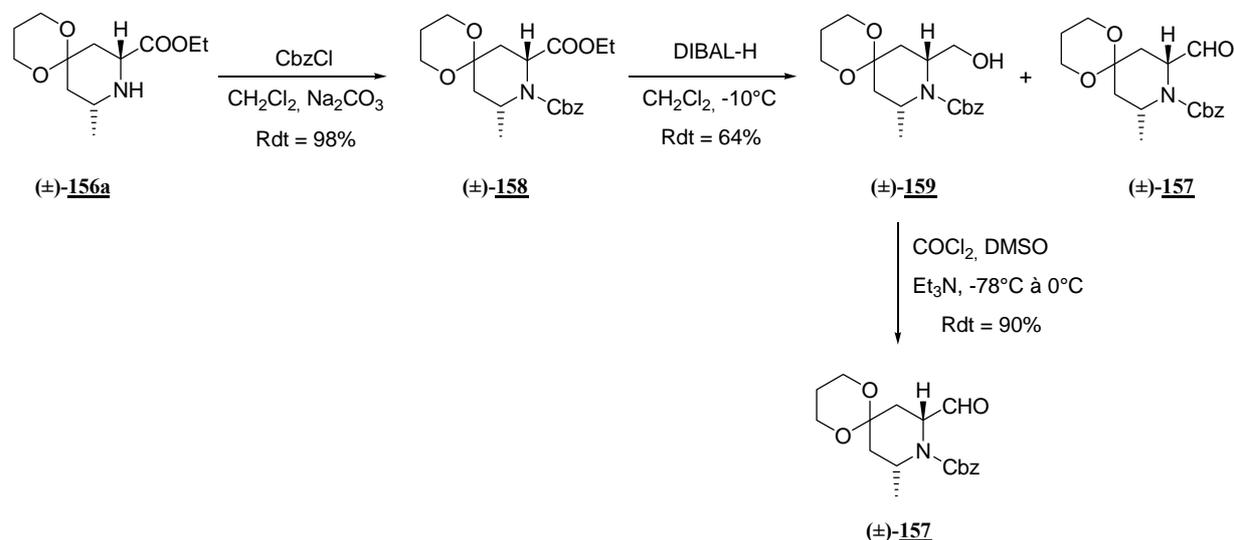


Schéma 108

Ce dernier est isolé en trois étapes à partir de la pipéridine (±)-**156a** avec un rendement global de 55%. Afin de préparer la pipéridine **163**, il faut réaliser au préalable la synthèse du réactif de Wadsworth et Horner.

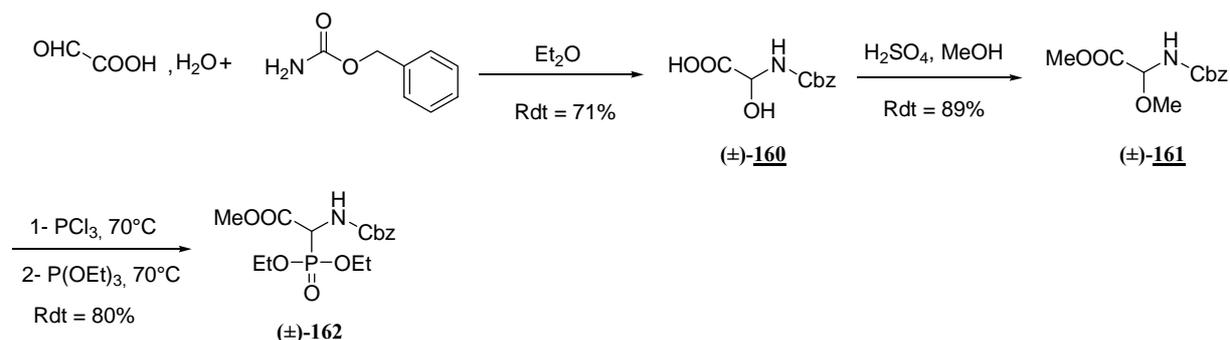
XVII. Préparation du réactif de Wadsworth et Horner

La synthèse du réactif de Wadsworth et Horner comporte trois étapes (Schéma 109).

La première étape consiste en la formation du composé (±)-**160** par action du carbamate de benzyle sur l'hydrate de l'acide glyoxylique¹¹⁶ dans l'éther. Le traitement du composé (±)-**160** par l'acide sulfurique concentré dans le méthanol conduit au composé (±)-**161** avec un rendement de 89%. Enfin, la dernière étape est la formation du phosphonate (±)-**162**¹¹⁷ par action de PCl₃ à 70°C puis ajout de triéthylphosphite.

¹¹⁶ Schmidt, U. ; Lieberknecht, A. ; Wild, J. *Synthesis*. **1984**, 53-60.

¹¹⁷ Ben, R. N. ; Liu, S. *Org. Lett.* **2005**, 7, 2385-2388.

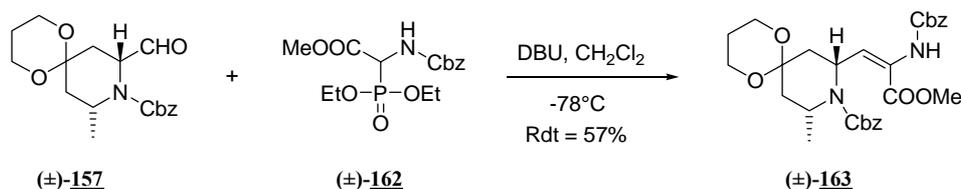


Le phosphonate (±)-**162** est obtenu en trois étapes avec un rendement global de 50%.

XVIII. Réaction de Wadsworth et Horner

La réaction de Wadsworth et Horner est réalisée entre l'aldéhyde (±)-**157** et le phosphonate (±)-**162**.

Dans un premier temps, nous avons choisi la méthode de Scolastico *et coll.*¹¹⁸ Ils utilisent le *tert*-butoxyde de potassium pour générer l'ylure du phosphonate (±)-**162** qui par réaction sur l'aldéhyde (±)-**157** permet de former le composé (±)-**163**. Dans ces conditions, le composé (±)-**163** est obtenu avec un très faible rendement (**Schéma 110**).



Ainsi, nous avons choisi d'augmenter la force de la base et d'utiliser du DBU, comme Hruby *et coll.*¹¹⁹. Dans ce cas, la pipéridine (±)-**163** est obtenue avec un rendement de 57%.

XIX. Formation de l'urée cyclique à six chaînons

La pipéridine (±)-**163** isolée, une hydrogénation catalytique permet d'hydrolyser les deux groupements carbamate de benzyle portés par les atomes d'azote et de réduire la double liaison, pour obtenir le composé (±)-**164**. Celui-ci est obtenu de façon quantitative, il est directement engagé dans l'étape suivante (**Schéma 111**).

Des essais préliminaires de cyclisation au triphosgène n'ont pas permis d'isoler l'urée à six chaînons (±)-**165**.

¹¹⁸ Angiolini, M. ; Araneo, S. ; Belvisi, L. ; Cesarotti, E. ; Checchia, A. ; Crippa, L. ; Manzoni, L. ; Scolastico, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 14, 2571-2581.

¹¹⁹ Wang, W. ; Yang, J. ; Ying, J. ; Xiong, C. ; Zhang, J. ; Cai, C. ; Hruby, V. J. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 6353-6360.

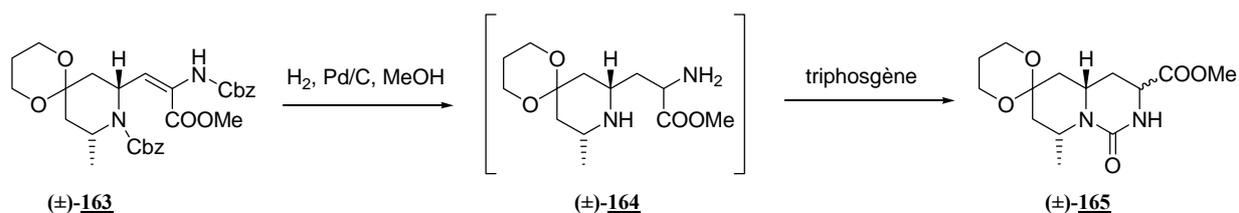


Schéma 111

Ces résultats encourageants nous ont amenés à poursuivre la mise au point de la formation de l'urée cyclique à six chaînons $(\pm)\text{-165}$, en vue de la synthèse de la cylindrospermopsine.

Nous avons donc étudié la réactivité de l'ester $\alpha\text{-}\beta$ -éthylénique en réalisant des additions de Michael de différents nucléophiles. Nous avons formé ainsi des urées cycliques de conformation restreinte à 5 chaînons et des thiourées cycliques.

Nous souhaitons à présent étendre notre étude à la synthèse d'indolizidines diversement substituées.

XX. Formation d'indolizidines diversement substituées

XX.1. Cyclisation

En nous appuyant sur les travaux réalisés de P. Somfai *et coll.*¹²⁰, nous avons envisagé de préparer des indolizidines diversement substituées, en utilisant la réactivité de la double liaison et en activant la fonction ester par un acide de Lewis du type AlMe_3 (Schéma 112).

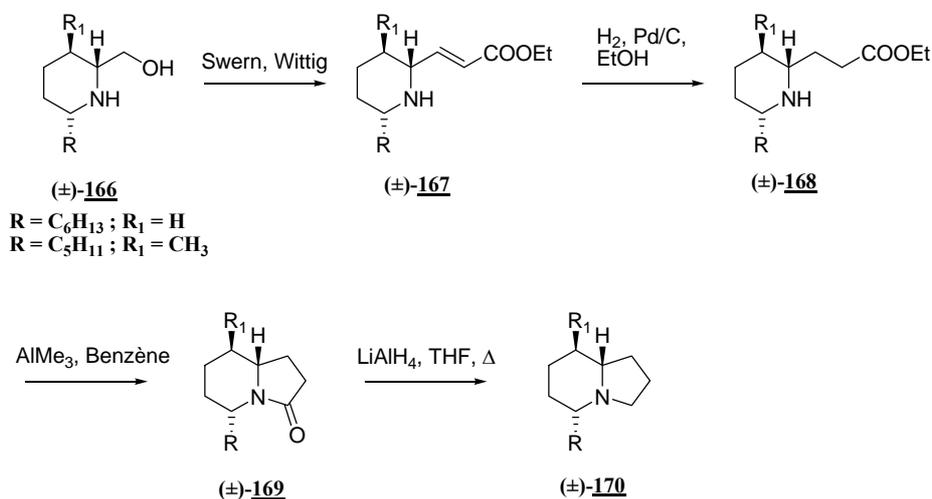


Schéma 112

P. Somfai *et coll.*¹²⁰ décrivent la formation d'indolizidines à partir des piperidines $(\pm)\text{-166}$. L'ester $\alpha\text{-}\beta$ -insaturé $(\pm)\text{-167}$ est obtenu après oxydation de Swern et une réaction de Wittig sur l'alcool $(\pm)\text{-166}$. L'hydrogénation de la double liaison du composé $(\pm)\text{-167}$ permet d'isoler le composé $(\pm)\text{-168}$. Le traitement de ce dernier par AlMe_3 dans le benzène permet de

¹²⁰ Ahman, J. ; Somfai, P. *Tetrahedron*, **1995**, 35, 9747-9756.

¹²⁰ Ahman, J. ; Somfai, P. *Tetrahedron*, **1995**, 35, 9747-9756.

former le lactame (\pm)-**169** qui, après réduction par LiAlH_4 , conduit à l'indolizidine correspondante (\pm)-**170**.

Nous avons envisagé d'appliquer cette stratégie à la pipéridine (\pm)-**29** présentant une structure similaire à celle du composé (\pm)-**167**.

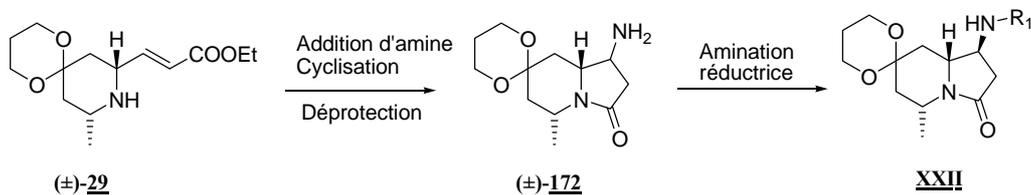


Schéma 113

Afin d'introduire un substituant sur l'indolizidine, nous avons choisi de réaliser la cyclisation en présence d'une amine. Celle-ci devrait s'additionner sur la double liaison comme nous l'avons montré précédemment, et enfin par cyclisation de la fonction ester activée par AlMe_3 , nous obtiendrions l'indolizidine substituée (\pm)-**172** (Schéma 113). Ensuite, une amination réductrice avec différents aldéhydes permettrait de fournir l'intermédiaire **XXII** diversement substitué.

XX.1.1. Formation de l'indolizidine

Dans un premier temps, nous avons ainsi choisi d'utiliser la dibenzylamine de manière à libérer facilement la fonction amine primaire par hydrogénation catalytique.

La synthèse de l'indolizidinone (\pm)-**171** a été effectuée après addition de la dibenzylamine sur la double liaison et cyclisation intramoléculaire de l'atome d'azote de la pipéridine sur la fonction ester, en présence d' AlMe_3 (Schéma 114).

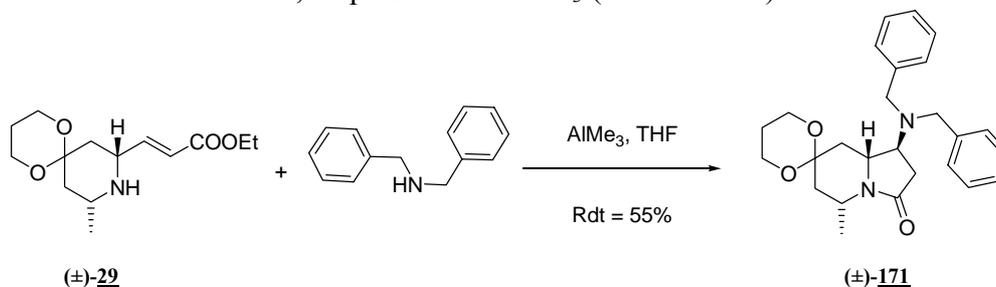


Schéma 114

L'indolizidinone (\pm)-**171** est isolée sous la forme d'un seul diastéréoisomère avec un rendement moyen de 55%. Cette méthode est très intéressante puisqu'elle est stéréosélective.

XX.1.2. Synthèse du composé (\pm)-**172**

La fonction amine primaire est libérée par hydrogénation catalytique en présence de Pd/C pour conduire au composé (\pm)-**172** avec un rendement de 90% (Schéma 115).

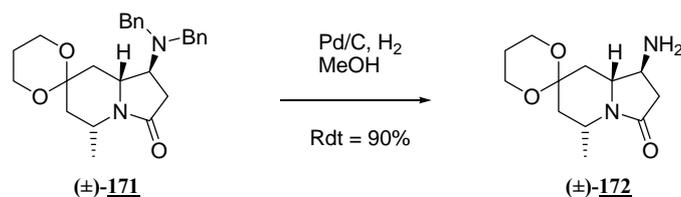


Schéma 115

A partir de cette indolizidinone substituée par une fonction amine primaire, nous pouvons envisager de réaliser des aminations réductrices en présence de différents aldéhydes.

XX.1.3. Aminations réductrices

A partir de l'indolizidinone (±)-172, nous avons illustré deux aminations réductrices avec deux aldéhydes différents (Schéma 116).

Une première amination réductrice a été réalisée avec l'aldéhyde **27** en présence de NaBH_3CN et permet de former l'indolizidinone (±)-173, avec un rendement de 50%. Notre choix s'est orienté vers cet aldéhyde **27** qui présente un ester α - β -éthylénique dont la réactivité a été mise en évidence précédemment et que nous pourrions exploiter ultérieurement.

L'indolizidinone (±)-174 a été préparée dans les conditions précédentes, avec un rendement de 60%, à partir de l'aldéhyde **56** qui présente une fonction alcool protégée par un groupement benzyle.

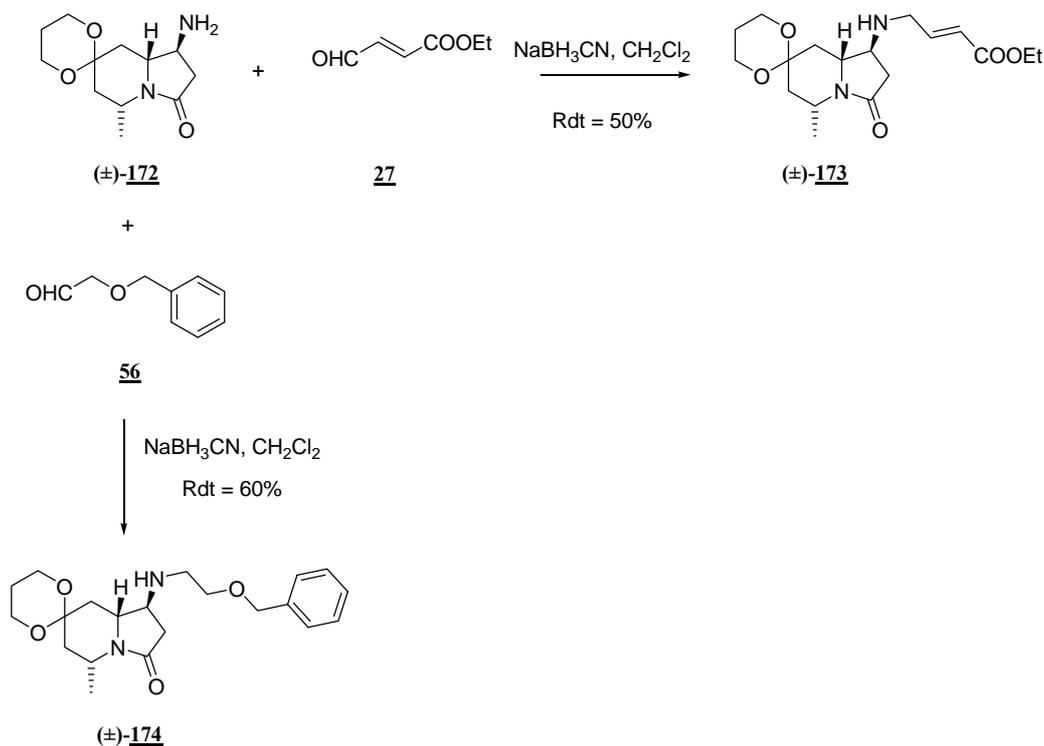


Schéma 116

Nous avons ainsi mis au point une méthode efficace et stéréospécifique pour synthétiser des indolizidinones substituées par une fonction amine.

XXI. Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre deux méthodes de synthèse d'urées cycliques de conformation restreinte, à partir de l'intermédiaire clé (\pm)-**29**.

La première méthode consiste à additionner des amines primaires sur l'ester α - β -insaturé, puis à réaliser le motif urée par cyclisation intramoléculaire à l'aide de triphosgène.

La seconde méthode consiste à additionner des isocyanates diversément substitués sur l'atome d'azote de la pipéridine, puis une cyclisation intramoléculaire permet d'isoler l'urée cyclique portée par le cycle pipéridinique. La méthode « *via* les isocyanates » particulièrement efficace, nous a permis de préparer une large gamme d'urées dont les propriétés cytotoxiques ont été évaluées *in vitro*. Malheureusement, ces molécules n'ont pas révélé une activité antiproliférative significative.

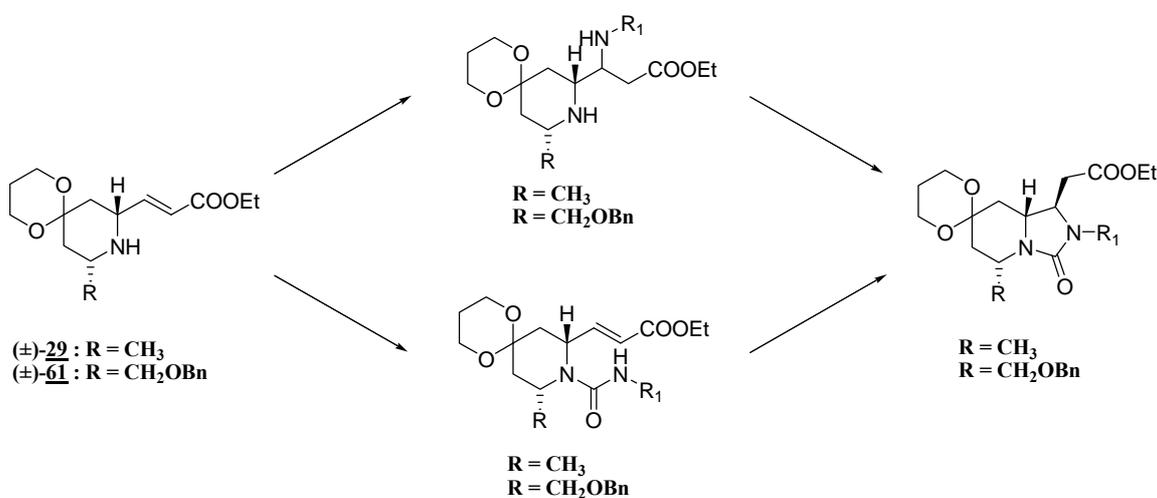


Schéma 117

Nous avons ensuite étendu notre méthode à la synthèse de thiourées et de guanidines cycliques.

Enfin, nous avons envisagé de synthétiser des urées cycliques à six chaînons de conformation restreinte à partir de différents précurseurs.

Nous avons déterminé une stratégie de synthèse en préparant l'intermédiaire (\pm)-**163** en quatre étapes à partir de la pipéridine (\pm)-**156**, avec un rendement global de 32%. Des essais préliminaires n'ont pas permis d'isoler l'urée cyclique à six chaînons (\pm)-**165**. Cette urée est un intermédiaire clé dans la synthèse de la cylindrospermopsine. Des études sont actuellement en cours au laboratoire afin d'étudier ce manque de réactivité.

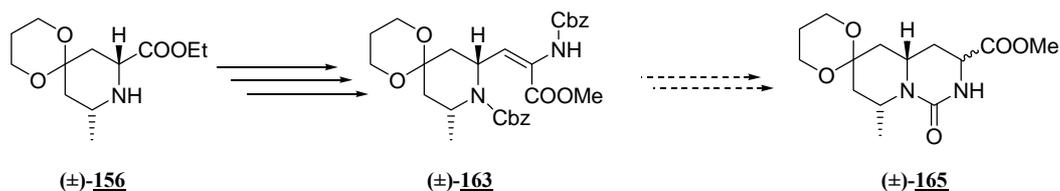


Schéma 118

Conclusion générale et Perspectives

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons utilisé la méthode de synthèse de pipéridines développée au laboratoire pour préparer les deux synthons clés **29** et **61**, à la fois en série racémique et en série optiquement pure (**Schéma 119**).

Nous avons donc mis au point la synthèse de l'amine (+)-**31** en série optiquement pure à partir de l'acide *L*-aspartique en huit étapes avec un rendement global de 6,3%.

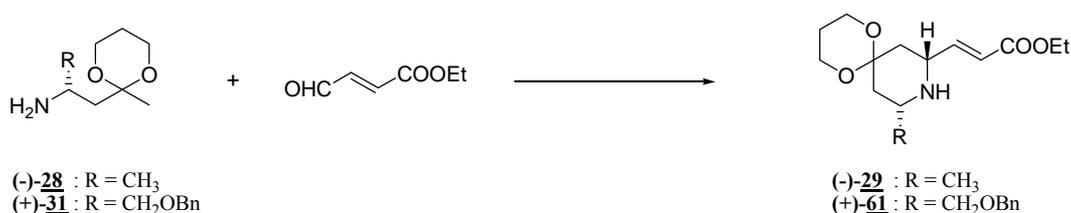


Schéma 119

Ces deux molécules clés nous ont permis de préparer une large gamme de composés de structure variée en utilisant la réactivité de l'ester α - β -insaturé (**Schéma 120**).

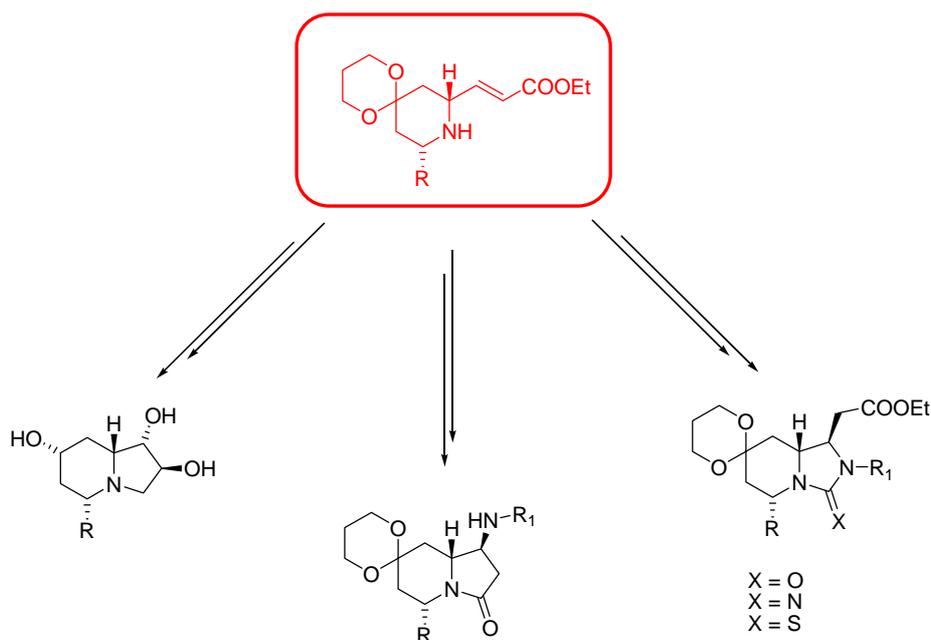


Schéma 120

Dans un premier temps, nous avons préparé des indolizidines polyhydroxylées en une dizaine d'étapes. Des tests d'inhibition sur différentes glycosidases ont été réalisés, mais seule l'indolizidine (\pm)-**71** présente une faible activité vis-à-vis de la β -galactosidase.

Nous avons ensuite préparé de nouvelles indolizidines substituées par une fonction amine. Ces composés qui peuvent être considérés comme des peptides contraints sont également en cours d'étude au laboratoire.

Enfin, nous avons également mis au point une méthode de synthèse diastérosélective d'urées cycliques à cinq chaînons, à partir des synthons clés (\pm)-**29** et (\pm)-**61**, en une seule

Nous pouvons ensuite envisager de préparer un analogue de la pipéridine (\pm)-**165** à partir de l'amine (\pm)-**31**. Le tricyclique guanidinium, caractéristique de la cylindrospermopsine, former en utilisant la méthode de Heintzelman *et al.*.

Indolizidines substituées par une fonction amine primaire

Enfin, nous avons synthétisé des indolizidinones substituées par un atome d'azote, sur lequel les aminations réductrices effectuées donnent des résultats satisfaisants. Nous avons également montré que l'hydrolyse de l'acétal de l'indolizidine (\pm)-**173** donne de bons résultats. Désormais, il serait intéressant d'utiliser la réactivité de l'ester α - β -éthylénique pour former le tricycle correspondant (**Schéma 123**). La présence d'une fonction carbonyle, associée à la réactivité de l'ester α - β -insaturé devrait permettre la formation des composés tricycliques correspondants. L'étude de cette réactivité est actuellement en cours au laboratoire.

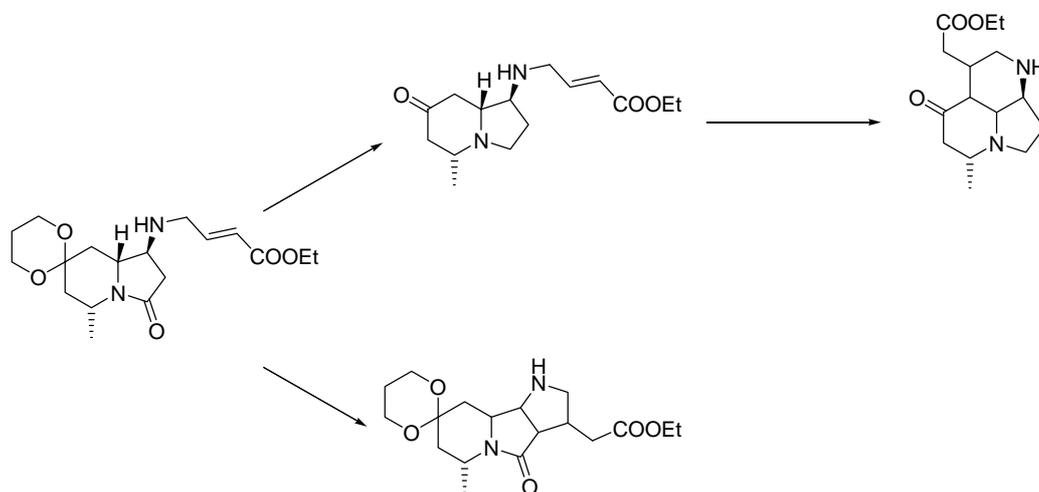


Schéma 123

Partie expérimentale

XXII. Généralités

XXII.1. Matériels

➤ Les *spectres infra-rouge* (IR) ont été réalisés sur un appareil PERKIN ELMER Paragon 500 sous forme de film entre deux lames de NaCl, ou sous forme de pastille de KBr. Les positions des bandes d'absorption caractéristiques sont exprimées en cm^{-1} .

➤ Les *spectres de Résonance Magnétique Nucléaire* (RMN) ont été enregistrés sur un appareil BRUKER AVANCE 400 (400,13 MHz en ^1H et 100,13 MHz en ^{13}C) ou BRUKER AVANCE 500 (pour les spectres NOESY). Les spectres du ^{13}C ont été réalisés en JMOD pour un plus grand confort d'interprétation. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport à celui du solvant utilisé pour référence interne. Les constantes de couplage (J) sont données en Hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour décrire les signaux sont :

- s : singulet	- t : triplet	- éq : équatorial
- se : singulet élargi	- td : triplet dédoublé	- ax : axial
- d : doublet	- q : quadruplet	- ABX : système ABX
- dd : doublet dédoublé	- m : multiplet	- AB : système AB
- ddd : doublet de doublets dédoublé		

➤ Les *points de fusion* (F en $^{\circ}\text{C}$) ont été déterminés au moyen d'un microscope à platine chauffante REICHERT. Les produits ont été préalablement recristallisés dans un solvant indiqué entre parenthèses.

➤ Les *pouvoirs rotatoires* ont été mesurés sur un polarimètre JASCO modèle DIP-370 à 25°C et à la longueur d'onde de la raie D du sodium ($\lambda = 589 \text{ nm}$). Les produits sont en solution, et la concentration c est exprimée en g pour 100 mL de solvant.

➤ Les *spectres de masse haute résolution* ont été effectués par le Centre Régional de Mesures Physiques de Clermont-Ferrand sur un spectromètre Haute Résolution Q-TOF de marque WATERS, en électrospray (ESI), en ionisation en phase liquide (LSIMS) ou en ionisation chimique (IC) en mode positif (+).

XXII.2. Méthodes

➤ Les *chromatographies sur couches minces* (CCM) ont été effectuées sur des plaques en verre de silice DURACIL 25 UV₂₅₄ (MACHEREY NAGEL).

➤ Les *chromatographies sur colonne* ont été réalisées sur gel de silice KIESELGEL 60 0,063-0,200 nm en mode **normal**.

➤ Les *purifications sur alumine* ont été réalisées sur oxyde d'aluminium (FLUKA) 0,05-0,15 mm, pH = $7,0 \pm 0,5$.

➤ Les *purifications sur résine* ont été effectuées sur une résine échangeuse de cations DOWEX 50WX8 (ALDRICH) sous forme H^+ , lavée à l'ammoniaque 1N et régénérée au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique 1N.

- Les *solvants* sont rendus *anhydres* par distillation :
 - sur potassium pour le tétrahydrofurane
 - sur hydrure de calcium pour le dichlorométhane
 - sur méthylate de magnésium pour le méthanol

- Le *révélateur* chimique utilisé pour suivre les réactions est principalement l'acide phosphomolybdique.

XXII.3. Nomenclature et numérotation

Dans la majorité des cas, la nomenclature utilisée est la nomenclature officielle recommandée par l'IUPAC.

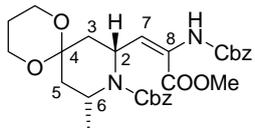
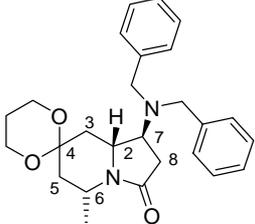
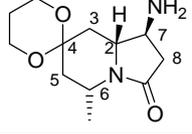
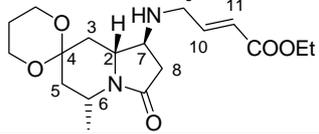
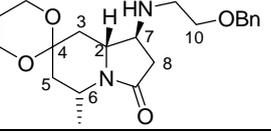
Par contre, la numérotation des atomes utilisée pour l'interprétation des spectres de RMN est le plus souvent arbitraire. Elle est mentionnée dans chaque cas sur les molécules encadrées.

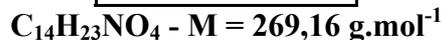
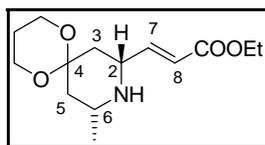
XXIII. Sommaire molécules

(-)- <u>29</u>		(+)- <u>34</u>	
(±)- <u>35</u>		(±)- <u>36</u>	
(±)- <u>38</u>		(-)- <u>41a</u>	
(+)- <u>41b</u>		(±)- <u>43</u>	
(±)- <u>44</u>		(±)- <u>45a</u>	
(±)- <u>45b</u>		(±)- <u>46a</u>	
(+)- <u>46b</u>		(±)- <u>47a</u>	
<u>47b</u>		<u>48</u>	
(±)- <u>49</u>		(-)- <u>50</u>	
(-)- <u>51</u>		(-)- <u>52</u>	
(-)- <u>53</u>		(±)- <u>59</u>	
(±)- <u>60</u>		(±)- <u>31</u>	

(+)-61		(-)-62	
(+)-63a		(+)-63b	
(-)-64		65	
66		(-)-67	
(+)-68		(-)-69	
(-)-70		(-)-71	
73		77	
78		85	
(+)-86		(+)-87	
(-)-88		(-)-89	
(+)-31		90	
91		92	
(±)-112		(±)-113	

(±)- <u>114</u>		(±)- <u>115</u>	
(±)- <u>116</u>		(±)- <u>118</u>	
(±)- <u>120</u>		(±)- <u>122</u>	
(±)- <u>124</u>		(±)- <u>125</u>	
(±)- <u>126</u>		(±)- <u>127</u>	
(±)- <u>131</u>		(±)- <u>136</u>	
(±)- <u>137</u>		(±)- <u>138</u>	
(±)- <u>140</u>		(±)- <u>143</u>	
(±)- <u>145</u>		(±)- <u>146</u>	
(-)- <u>152</u>		(-)- <u>153</u>	
<u>154</u>		(±)- <u>158</u>	

<p>(±)-<u>163</u></p>		<p>(±)-<u>171</u></p>	
<p>(±)-<u>172</u></p>		<p>(±)-<u>173</u></p>	
<p>(±)-<u>174</u></p>			

(E)-3-[(8R,10R)-10-Méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]acrylate d'éthyle (-)-29

A une solution d'amine méthyle (-)-28 (1 éq., 12,6 mmol, 2,00 g) dans du dichlorométhane anhydre (100 mL) sont ajoutés successivement le *trans*-4-oxo-2-buténoate d'éthyle (1,1 éq., 13,8 mmol, 1,22 mL) puis du sulfate de magnésium anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux du dichlorométhane pendant 2 heures, sous atmosphère inerte. La formation de l'imine est suivie par CCM (AcOEt, R_f = 0,9).

Parallèlement, l'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate (2 éq., 25,2 mmol, 4,80 g) est déshydraté par distillation azéotrope avec du toluène (150 mL) au moyen d'un montage Dean-Stark pendant 4 heures.

Les deux milieux réactionnels sont refroidis à température ambiante, puis l'imine est ajoutée dans l'acide *para*-toluènesulfonique déshydraté sous courant d'argon, au moyen d'une canule. Le mélange réactionnel obtenu est chauffé à 60°C pendant 2 heures.

Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (50 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×50 mL). Les phases organiques réunies sont lavées par une solution aqueuse saturée de NaCl (2×50 mL), puis séchées et concentrées.

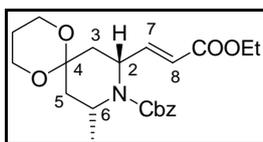
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt puis AcOEt-MeOH 9:1) pour fournir la pipéridine (-)-29 (2,71 g, 80%) sous la forme d'une huile jaune.

- **Aspect** : huile jaune.
- **R_f** = 0,54 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **[α]_D²⁵** - 16,7 (c 1,14 ; CHCl₃)
- **IR**
ν (cm⁻¹) 3311 (N-H) ; 1720 (C=O ester) ; 1656 (C=C) ; 1144 ; 1011 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 6,91 (dd, 1H, *J* = 15 ; 6 Hz, **H-7**) ; 5,98 (d, 1H, *J* = 15 Hz, **H-8**) ; 4,20 (q, 2H, *J* = 7 Hz, CH₂ ester) ; 3,91 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,53 (m, 1H, **H-2**) ; 2,92 (m, 1H, **H-6**) ; 2,31 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 2,21 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,78 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,27 (t, 3H, *J* = 7Hz, CH₃ ester) ; 1,21 (t, 1H, *J* = 12 Hz, **H-3ax.**) ; 1,13-1,06 (m, 4H, CH₃, **H-5ax.**).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 166,5 (C=O) ; 149,5 (C-7) ; 120,5 (C-8) ; 97,1 (C-4) ; 60,4 (OCH₂ ester) ; 59,4 ; 59,2 (2×OCH₂ dioxane) ; 53,8 (C-6) ; 47,8 (C-2) ; 41,1 (C-5) ; 38,2 (C-3) ; 25,5 (CH₂ dioxane) ; 22,3 (CH₃) ; 14,2 (CH₃ ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{14}H_{23}NO_4 (M + H)^+$: 270,1709.
calculée : 270,1705.

.....

(E)-3-[(8R,10R)-9-Benzoyloxycarbonyl-10-méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]acrylate d'éthyle (+)-34



La pipéridine (-)-29 (1 éq., 12,6 mmol, 3,38 g) est dissoute dans du dichlorométhane (400 mL). Une solution de K_2CO_3 0,4M (2 éq., 25,2 mmol, 66 mL) est ajoutée, puis le mélange biphasique est refroidi à 0°C. Une solution de chloroformiate de benzyle (1,5 éq., 18,9 mmol, 2,34 mL) dans du dichlorométhane (50 mL) est additionnée goutte à goutte.

Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 24 heures.

Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×100 mL). Les phases organiques réunies sont séchées et concentrées.

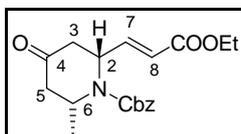
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la pipéridine (+)-34 (4,57 g, 90%) sous la forme d'une huile brune.

- **Aspect** : huile brune.
- $R_f = 0,56$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- $[\alpha]_D^{25} + 3,1$ (c 1,03 ; $CHCl_3$)
- **IR**
 ν (cm^{-1}) 1714 (C=O ester) ; 1698 (C=O carbamate) ; 1655 (C=C) ; 1149 (C-O).
- **RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$)**
 δ (ppm) 7,34 (m, 5H, H aromatiques) ; 7,05 (dd, 1H, $J = 16 ; 7 \text{ Hz}$, H-7) ; 5,87 (d, 1H, $J = 16 \text{ Hz}$, H-8) ; 5,14 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,94 (t, 1H, $J = 7 \text{ Hz}$, H-2) ; 4,40 (m, 1H, H-6) ; 4,09 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 3,88 (m, 4H, 2× OCH_2 dioxane) ; 2,26 (dt, 1H, $J = 14 ; 2,5 \text{ Hz}$, H-5éq.) ; 2,15 (dt, 1H, $J = 14 ; 2,5 \text{ Hz}$, H-3éq.) ; 1,84 (dd, 1H, $J = 14 ; 7 \text{ Hz}$, H-5ax.) ; 1,82 (dd, 1H, $J = 14 ; 7 \text{ Hz}$, H-3ax.) ; 1,65 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,27 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3 ester) ; 1,20 (t, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3).
- **RMN ^{13}C (100MHz, $CDCl_3$)**
 δ (ppm) 166,4 (C=O ester) ; 155,4 (C=O carbamate) ; 149,2 (C-7) ; 136,5 (C ipso) ; 128,5 ; 128,0 ; 127,9 (C aromatiques) ; 121,7 (C-8) ; 96,1 (C-4) ; 67,4 (CH_2Ph) ; 60,3 (CH_2 ester) ; 59,5 (2× OCH_2 dioxane) ; 51,4 (C-6) ; 48,8 (C-2) ; 35,9 (C-5) ; 35,7 (C-3) ; 25,2 (CH_2 dioxane) ; 21,8 (CH_3) ; 14,2 (CH_3 ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{22}H_{29}NO_6$ ($M + Na$)⁺ : 426,1901.
calculée : 426,1893.

.....

2-[(*E*)-2-Ethoxycarbonyl-vinyl]-6-méthyl-4-oxopipéridine-1-benzyloxycarbonyle (±)-**35**



La pipéridine protégée (±)-**34** (1 éq., 0,53 mmol, 213 mg) est placée en solution dans du dichlorométhane (30 mL) et 2,3 mL d'une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50% (11,6 éq., 6,2 mmol) est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 3 jours.

Le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NH_4Cl . Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×20 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la pipéridone (±)-**35** (165 mg, 90%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect :** huile jaune pâle.

- $R_f = 0,54$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 1715 ; 1698 (C=O) ; 1651 (C=C) ; 1173 (C-O).

- **RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$)**

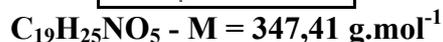
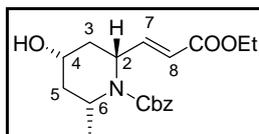
δ (ppm) 7,36 (m, 5H, H aromatiques) ; 6,94 (dd, 1H, $J = 16 ; 5 \text{ Hz}$, H-7) ; 5,93 (d, 1H, $J = 16 \text{ Hz}$, H-8) ; 5,38 (m, 1H, H-2) ; 5,19 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,71 (m, 1H, H-6) ; 4,19 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 2,81-2,63 (m, 3H, H-3ax., H-3éq., H-5éq.) ; 2,35 (dd, 1H, $J = 15 ; 5 \text{ Hz}$, H-5ax.) ; 1,28 (m, 6H, CH_3 ester, CH_3).

- **RMN ^{13}C (100MHz, $CDCl_3$)**

δ (ppm) 206,1 (C-4) ; 166,5 (C=O ester) ; 153,8 (C=O carbamate) ; 147,6 (C-7) ; 135,9 (C ipso) ; 128,6 ; 128,4 ; 128,1 (C aromatiques) ; 122,4 (C-8) ; 68,1 (CH_2Ph) ; 64,1 (CH_2 ester) ; 52,3 (C-2) ; 48,9 (C-6) ; 45,6 (C-3) ; 42,2 (C-5) ; 22,7 (CH_3) ; 14,2 (CH_3 ester).

.....

8-2-[(E)-3-Ethoxy-3-oxoprop-1-ènyl]-4-hydroxy-6-méthylpipéridine-1-benzyloxycarbonate (±)-36



La pipéridone (±)-35 (1 éq., 0,41 mmol, 140 mg) est placée en solution dans du méthanol (9 mL), sous atmosphère inerte, à -10°C , puis NaBH_4 est ajouté (1 éq., 0,41 mmol, 16 mg) par petites fractions. Le milieu réactionnel est maintenu à -10°C pendant 30 minutes.

Le méthanol est ensuite évaporé. Le résidu obtenu est dissout dans l'eau (2 mL) et la phase aqueuse extraite au dichlorométhane (4×10 mL). Les phases organiques sont réunies, lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl et ensuite séchées et concentrées.

Les deux diastéréoisomères du pipéridinol (±)-36 (117 mg, 82%) sont obtenus dans un rapport 3éq.-7ax. Ils n'ont pu être séparés par chromatographie sur gel de silice. Cependant un échantillon du diastéréoisomère majoritaire a pu être isolé afin d'effectuer les analyses spectroscopiques.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,41$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

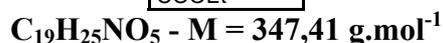
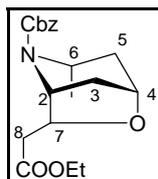
δ (ppm) 7,34 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 7,18 (dd, 1H, $J = 16 ; 6,5 \text{ Hz}$, **H-7**) ; 5,86 (dd, 1H, $J = 16 ; 1,5 \text{ Hz}$, **H-8**) ; 5,14 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,94 (m, 1H, **H-2**) ; 4,38 (m, 1H, **H-6**) ; 4,17 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 4,13 (m, 1H, **H-4**) ; 2,08 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 1,94 (m, 2H, **H-3ax.**, **H-5éq.**) ; 1,67 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 1,39 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3) ; 1,27 (t, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3 ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 166,5 (**C=O** ester) ; 157,7 (**C=O** carbamate) ; 150,3 (**C-7**) ; 141,2 (**C ipso**) ; 128,5 ; 128,1 ; 127,9 (**C** aromatiques) ; 121,3 (**C-8**) ; 67,4 (CH_2Ph) ; 64,5 (**C-4**) ; 60,4 (CH_2 ester) ; 50,2 (**C-2**) ; 45,9 (**C-6**) ; 36,5 (**C-3**) ; 35,6 (**C-5**) ; 42,2 (**C-5**) ; 23,7 (CH_3) ; 14,2 (CH_3 ester).

.....

(2-Ethoxy-2-oxoéthyl)-3-méthyl-6-oxa-2-azabicyclo[3.2.1]octane-2-benzyloxycarbonate (±)-38



A une solution du mélange de pipéridinols (±)-36 (1 éq., 0,34 mmol, 117 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (5 mL), refroidie à 0°C , est ajouté de l'hydruure de sodium (2 éq.,

0,68 mmol, 16 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C, sous atmosphère inerte (courant d'argon) pendant 30 minutes.

Le bromure de benzyle (2,1 éq., 0,37 mmol, 44 µL) en solution dans du diméthylformamide (5 mL) est ensuite ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

L'excès d'hydruure de sodium est hydrolysé. Les phases sont séparées et la phase aqueuse extraite à l'éther (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées et concentrées.

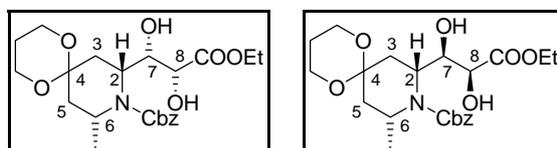
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Toluène 2:8) pour fournir le produit de cyclisation (±)-**38** (83 mg, 70%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,53 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **IR**
ν (cm⁻¹) 1736 (C=O ester) ; 1693 (C=O carbamate).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 7,35 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 5,15 (m, 2H, CH₂Ph) ; 4,94 (m, 1H, **H-2**) ; 4,58 (t, 1H, *J* = 4,5 Hz, **H-4**) ; 4,51 (t, 1H, *J* = 6,5 Hz, **H-7**) ; 4,18 (m, 3H, **H-6**, CH₂ ester) ; 2,42 (m, 2H, **H-8**) ; 1,98 (m, 1H, **H-3**éq.) ; 1,75 (m, 2H, **H-5**éq., **H-5ax.**) ; 1,56 (m, 1H, **H-3ax.**) ; 1,37 (d, 3H, *J* = 6,5 Hz, CH₃) ; 1,26 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃ ester).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 170,5 (C=O ester) ; 155,1 (C=O carbamate) ; 136,7 (C *ipso*) ; 128,5 ; 128,0 ; 127,9 (C aromatiques) ; 79,3 (C-7) ; 75,3 (C-4) ; 67,2 (CH₂Ph) ; 60,8 (CH₂ ester) ; 56,2 (C-2) ; 45,7 (C-6) ; 40,7 (C-8) ; 35,7 (C-5) ; 33,8 (C-3) ; 24,4 (CH₃) ; 14,2 (CH₃ ester).

.....

(8R,10R)-8-[(1S,2R)-2-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroxy-éthyl]-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undécane-9-benzyloxycarbonyle (-)-**41a**

(8R,10R)-8-[(1R,2S)-2-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroxy-éthyl]-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undécane-9-benzyloxycarbonyle (+)-**41b**



C₂₂H₃₁NO₈ - M = 437,20 g.mol⁻¹

A une solution de pipéridine (+)-**34** (1 éq., 2,5 mmol, 1 g) dans un mélange acétone-eau (15 mL-10 mL) est ajouté de l'oxyde de *N*-méthylmorpholine (2 éq., 5 mmol, 577 mg) et du K₂OsO₄·2H₂O (0,05 éq., 0,13 mmol, 45 mg).

Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures. Les solvants sont évaporés à l'évaporateur rotatif, et les sels d'osmium sont éliminés par filtration sur silice.

Les deux diastéréoisomères obtenus sont séparés par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1), pour fournir le premier diastéréoisomère (-)-**41a** (212 mg, 20%) et le deuxième diastéréoisomère (+)-**41b** (638 mg, 60%).

- **Aspect** : huile jaune pâle.

Diastéréoisomère (-)-41a

- $R_f = 0,57$ (AcOEt)

- $[\alpha]_D^{25} - 9,5$ (c 1,145 ; CHCl₃)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 3478 (O-H) ; 1714 (C=O ester) ; 1680 (C=O carbamate).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,35 (m, 5H, H aromatiques) ; 5,15 (s, 2H, CH₂Ph) ; 4,69 (m, 1H, H-2) ; 4,57 (m, 1H, H-6) ; 4,39 (m, 1H, H-7) ; 4,30-4,23 (m, 3H, CH₂ ester, H-8) ; 4,00-3,84 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 2,32 (m, 1H, H-5_{éq.}) ; 2,19 (m, 1H, H-3_{éq.}) ; 1,87 (m, 1H, CH₂ dioxane) ; 1,85 (dd, 1H, $J = 14 ; 7,5$ Hz, H-3_{ax.}) ; 1,77 (dd, 1H, $J = 14 ; 7,5$ Hz, H-5_{ax.}) ; 1,62 (m, 1H, CH₂ dioxane) ; 1,37 (d, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃) ; 1,29 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃ ester).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 194,1 (C=O ester) ; 173,4 (C=O carbamate) ; 136,5 (C ipso) ; 128,5 ; 128,1 ; 127,9 (C aromatiques) ; 96,2 (C-4) ; 71,3 ; 71,1 (C-7, C-8) ; 67,6 (CH₂Ph) ; 62,1 (CH₂ ester) ; 59,7 (2×OCH₂ dioxane) ; 51,9 (C-6) ; 46,5 (C-2) ; 37,1 (C-5) ; 33,3 (C-3) ; 25,2 (CH₂ dioxane) ; 20,7 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₂₂H₃₁NO₈ (M + Na)⁺ : 460,1955.
calculée : 460,1947.

Diastéréoisomère (+)-41b

- $R_f = 0,52$ (AcOEt)

- $[\alpha]_D^{25} + 9,5$ (c 1,145 ; CHCl₃)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 3442 (O-H) ; 1732 (C=O ester) ; 1692 (C=O carbamate).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,35 (m, 5H, H aromatiques) ; 5,16 [système AB, 2H, $\Delta\nu = 25$ Hz, $\delta_A = 5,19$ (d, 1H, $J_{AB} = 12,5$ Hz), $\delta_B = 5,14$ (d, 1H, $J = 12,5$ Hz)] ; 4,58 (m, 1H, H-6) ; 4,33 (m, 1H, H-7) ; 4,24 (m, 3H, H-8, CH₂ ester) ; 3,95 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,03 (m, 1H, H-5_{éq.}) ; 2,02 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz, H-3_{éq.}) ; 1,81 (dd, 1H, $J = 14 ; 7,5$ Hz, H-3_{ax.}) ; 1,61 (m, 3H, H-5_{ax.}, CH₂ dioxane) ; 1,29 (d, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃) ; 1,27 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃ ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 184,4 (C=O ester) ; 169,5 (C=O carbamate) ; 135,9 (C *ipso*) ; 128,6 ; 128,4 ; 128,0 (C aromatiques) ; 96,2 (C-4) ; 72,4 ; 69,9 (C-7, C-8) ; 68,2 (CH_2Ph) ; 61,3 (CH_2 ester) ; 59,7 ; 59,6 ($2\times\text{OCH}_2$ dioxane) ; 52,6 (C-6) ; 46,7 (C-2) ; 41,3 (C-5) ; 37,1 (C-3) ; 25,2 (CH_2 dioxane) ; 21,3 (CH_3) ; 14,1 (CH_3 ester).

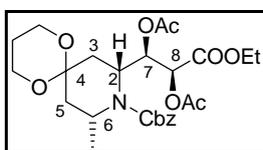
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_8$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$: 460,1951.

calculée : 460,1947.

.....

8-[1,2-diacétoxy-2-éthoxycarbonyl-éthyl]-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undécane-9-benzyloxycarbonyle (\pm)-43



$\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_{10}$ - $\text{M} = 521,56 \text{ g.mol}^{-1}$

A une solution de pipéridine (\pm)-41b (1 éq., 0,12 mmol, 50 mg) dans de la pyridine anhydre (18 éq., 2,07 mmol, 166 μL) sont ajoutés de l'anhydride acétique (18 éq., 2,07 mmol, 196 μL) et un cristal de DMAP. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

Les solvants sont ensuite éliminés sous pression réduite, et par entraînement au toluène la majorité de la pyridine est évaporée.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 8:2) pour fournir la pipéridine (\pm)-43 (50 mg, 80%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.

- **R_f** = 0,87 (AcOEt)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 1754 (C=O ester) ; 1698 (C=O carbamate) ; 1293 ; 1222 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,36 (m, 5H, H aromatiques) ; 5,86 (dd, 1H, $J = 10,5 ; 1,5 \text{ Hz}$, H-7) ; 5,31 (m, 1H, H-8) ; 5,15 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,82 (m, 1H, H-2) ; 4,51 (m, 1H, H-6) ; 4,13 (q, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 4,02-3,82 (m, 4H, $2\times\text{OCH}_2$ dioxane) ; 2,43 (td, 1H, $J = 14 ; 2,5 \text{ Hz}$, H-5 éq.) ; 2,35 (s, 3H, COCH_3) ; 2,04-1,92 (m, 2H, H-3 éq. , CH_2 dioxane) ; 1,83 (s, 3H, COCH_3) ; 1,76 (dd, 1H, $J = 14 ; 7 \text{ Hz}$, H-3 ax.) ; 1,71 (dd, 1H, $J = 14 ; 7,5 \text{ Hz}$, H-5 ax.) ; 1,56 (m, 1H, CH_2 dioxane) ; 1,30-1,24 (m, 6H, CH_3 , CH_3 ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

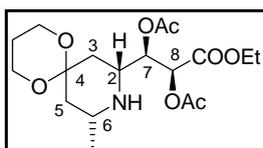
δ (ppm) 170,9 (C=O ester) ; 169,8 ; 167,6 ($2\times\text{C=O}$ ester) ; 156,0 (C=O carbamate) ; 136,6 (C *ipso*) ; 129,0 ; 128,6 ; 128,2 ; 128,1 ; 127,8 (C aromatiques) ; 95,9 (C-4) ; 71,1 (C-7, C-8) ; 67,3 (CH_2Ph) ; 61,8 (CH_2 ester) ; 59,8 ($2\times\text{OCH}_2$ dioxane) ; 46,6 (C-2, C-6) ;

34,2 (C-5) ; 33,3 (C-3) ; 25,3 (CH₂ dioxane) ; 21,8 (CH₃) ; 20,8 (2×OCH₃) ; 13,9 (CH₃ ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour C₂₆H₃₅NO₁₀ (M + Na)⁺: 544,1815.
calculée : 544,1938.

.....

**2,3-diacétoxy-3-[10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undéc-8-yl]-propanoate d'éthyle
(±)-44**



C₁₈H₂₉NO₈ - M = 387,42 g.mol⁻¹

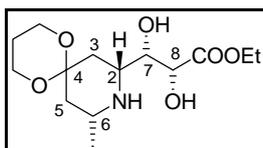
A une solution du composé (±)-43 (1 éq., 0,09 mmol, 45 mg) dans du méthanol (5 mL) une quantité catalytique de Pd/C à 10% (9 mg) est ajoutée. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite, lavé au dichlorométhane puis les solvants sont évaporés. La pipéridine (±)-44 (31 mg, 90%) est obtenue sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect :** huile incolore.
- **R_f** = 0,1 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 5,42 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, **H-7**) ; 5,22 (dd, 1H, *J* = 8 ; 2,5 Hz, **H-8**) ; 4,17 (q, 2H, *J* = 7 Hz, CH₂ ester) ; 4,00-3,80 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,05 (ddd, 1H, *J* = 11 ; 8 ; 2,5 Hz, **H-2**) ; 2,80 (m, 1H, **H-6**) ; 2,40 (dt, 1H, *J* = 13,5 ; 2,5 Hz, **H-5éq.**) ; 2,23-2,16 (m, 4H, **H-3éq.**, COCH₃) ; 2,09 (s, 3H, COCH₃) ; 1,84-1,60 (m, 3H, CH₂ dioxane, NH) ; 1,26 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃ ester) ; 1,13 (t, 1H, *J* = 12,5 Hz, **H-3ax.**) ; 1,08 (d, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃) ; 0,98 (m, 1H, **H-5ax.**).

.....

**2,3-dihydroxy-3-[10-méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]propanoate d'éthyle
(±)-46a**



C₁₄H₂₅NO₆ - M = 303,17 g.mol⁻¹

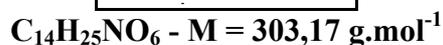
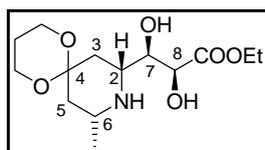
A une solution du composé (\pm)-**41a** (1 éq., 0,66 mmol, 290 mg) dans du méthanol (10 mL) une quantité catalytique de Pd/C à 10% (66 mg) est ajoutée. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite, rincé au dichlorométhane et les solvants sont évaporés. La pipéridine (\pm)-**46a** (190 mg, 95%) est obtenue sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 4,36-4,11 (m, 4H, **H-7**, **H-8**, **CH₂** ester) ; 3,97-3,76 (m, 4H, 2×**OCH₂** dioxane) ; 3,57 (t, 1H, $J = 10,5$ Hz, **H-2**) ; 3,47 (m, 1H, **H-6**) ; 2,52 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 2,24 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,91 (m, 2H, **CH₂** dioxane) ; 1,75 (m, 1H, **H-3ax.**) ; 1,65 (m, 1H, **H-5ax.**) ; 1,48 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz, **CH₃**) ; 1,26 (t, 3H, $J = 7$ Hz, **CH₃**).

.....

(2S,3R)-2,3-dihydroxy-3-[(8R,10R)-10-méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]propanoate d'éthyle (+)-**46b**



A une solution du composé (+)-**41b** (1 éq., 0,66 mmol, 290 mg) dans du méthanol (10 mL) une quantité catalytique de Pd/C à 10% (66 mg) est ajoutée. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite, rincé au dichlorométhane et les solvants sont évaporés. La pipéridine (+)-**46b** (190 mg, 95%) est obtenue sous la forme de cristaux blancs.

- **Aspect** : cristaux blancs.
- **Pf** = 118 °C.
- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **[α]_D²⁵** + 2,9 (c 1,035 ; CHCl₃)
- **IR (KBr)**
 ν (cm⁻¹) 1652 (**C=O** ester) ; 1436 ; 1385 (**C-H**) ; 1288 ; 1246 (**C-O**).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 4,95 (s élargi, 3H, 2×**OH**, -**NH**) ; 4,40 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, **H-8**) ; 4,25 (qd, 2H, $J = 7 ; 2$ Hz, **CH₂** ester) ; 4,00-3,85 (m, 5H, **H-7**, 2×**OCH₂** dioxane) ; 3,27 (ddd, 1H, $J = 12,5 ; 4,5 ; 2,5$ Hz, **H-2**) ; 3,01 (m, 1H, **H-6**) ; 2,54 (td, 1H, $J = 13,5 ; 2,5$ Hz, **H-3éq.**) ;

2,22 (td, 1H, $J = 13,5 ; 3 \text{ Hz}$, **H-5éq.**) ; 1,82-1,64 (m, 2H, **CH₂** dioxane) ; 1,43 (dd, 1H, $J = 13 ; 12,5 \text{ Hz}$, **H-3ax.**) ; 1,37-1,27 (m, 4H, **H-5ax.**, **CH₃** ester) ; 1,18 (d, 3H, $J = 6,5 \text{ Hz}$, **CH₃**).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 172,7 (**C=O** ester) ; 96,2 (**C-4**) ; 72,1 ; 71,9 (**C-7**, **C-8**) ; 62,1 (**CH₂** ester) ; 59,5 ; 59,4 (2×**OCH₂** dioxane) ; 56,9 (**C-6**) ; 49,4 (**C-2**) ; 40,4 (**C-5**) ; 32,7 (**C-3**) ; 25,4 (**CH₂** dioxane) ; 20,6 (**CH₃**) ; 14,2 (**CH₃** ester).

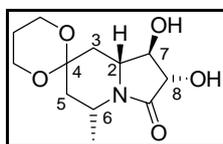
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour **C₁₄H₂₆NO₆** (**M + H**)⁺: 304,1774.

calculée : 304,1760.

.....

1',2'-Dihydroxy-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizin]-3'-one (±)-47a



C₁₂H₁₉NO₅ - M = 257,13 g.mol⁻¹

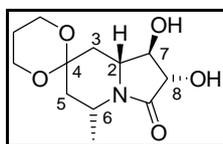
A une solution de la pipéridine (±)-**46a** (1 éq., 0,27 mmol, 80 mg) dans du toluène anhydre (10 mL) est ajoutée de la base de Hünig fraîchement distillée (2,5 éq., 0,66 mmol, 128 μ L). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation, au reflux du toluène pendant 12 heures, puis les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif.

Le brut obtenu est engagé ainsi dans l'étape suivante sans être purifié.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,36 (AcOEt-MeOH 9:1)

.....

(1'R,2'S,5'R,8a'R)-1',2'-Dihydroxy-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizin]-3'-one 47b



C₁₂H₁₉NO₅ - M = 257,13 g.mol⁻¹

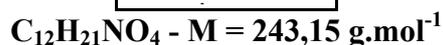
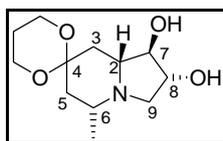
A une solution de la pipéridine (+)-**46b** (1 éq., 0,27 mmol, 80 mg) dans du toluène anhydre (10 mL) est ajoutée de la base de Hünig fraîchement distillée (2,5 éq., 0,66 mmol, 128 μ L). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation, au reflux du toluène pendant 12 heures, puis les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif.

Le brut obtenu est engagé ainsi dans l'étape suivante sans être purifié afin d'éviter la formation du composé (±)-**49**.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- $R_f = 0,35$ (AcOEt-MeOH 9:1)

.....

(1'R,2'R,5'R,8a'R)-5'-Méthylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diol
48



A une solution de pipéridine **47** (1 éq., 0,55 mmol, 142 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (16 mL) est ajouté de l'hydrure de lithium aluminium (4 éq., 2,2 mmol, 86 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation au reflux du tétrahydrofurane pendant 2 heures.

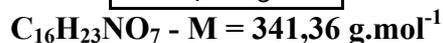
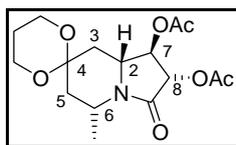
Le milieu réactionnel, refroidi dans un bain de glace, est hydrolysé avec de l'eau (2 mL) et une solution de soude 1N (2 mL).

Le résidu obtenu est filtré sur célite et Na_2SO_4 , lavé à l'acétate d'éthyle et concentré à l'évaporateur rotatif. La pipéridine **48** (87 mg, 65%) est obtenue brute sous la forme d'une huile jaune pâle et engagée directement dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- $R_f = 0,17$ (AcOEt-MeOH 9:1)

.....

5'-Méthyl-3'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diyl diacétate
(±)-**45a**



A une solution de la pipéridine (±)-**47a** (1 éq., 0,06 mmol, 15,0 mg) dans de la pyridine anhydre (18 éq., 1,05 mmol, 85 μ L) de l'anhydride acétique (18 éq., 1,05 mmol, 100 μ L) ainsi qu'un cristal de DMAP sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

Les solvants sont ensuite éliminés sous pression réduite, et par entraînement au toluène la majorité de la pyridine est évaporée.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir l'indolizidinone diacétylé (±)-**45a** (14,3 mg, 70%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore

- $R_f = 0,75$ (AcOEt-MeOH 9:1)

- **RMN ^1H (400MHz, C_6D_6)**

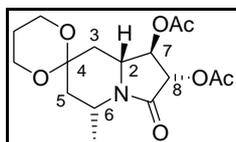
δ (ppm) 5,57 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz, **H-8**) ; 5,36 (d, 1H, $J = 7,5$; $5,5$ Hz, **H-7**) ; 3,78 (m, 1H, **H-2**) ; 3,36 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,12 (m, 1H, **H-6**) ; 2,13 (td, 1H, $J = 13$; 3 Hz, **H-3éq.**) ; 1,96 (td, 1H, $J = 13,5$; 3 Hz, **H-5éq.**) ; 1,71 (s, 3H, COCH_3) ; 1,66 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz, CH_3) ; 1,49 (s, 3H, COCH_3) ; 1,34-1,11 (m, 4H, CH_2 dioxane, **H-5ax.**, **H-3ax.**).

- **RMN ^{13}C (100MHz, C_6D_6)**

δ (ppm) 170,4 ; 166,2 ($3 \times \text{C ipso}$) ; 96,4 (**C-4**) ; 75,0 (**C-7**) ; 71,9 (**C-8**) ; 59,1 ; 59,0 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 55,1 (**C-6**) ; 50,0 (**C-2**) ; 40,8 (**C-5**) ; 34,1 (**C-3**) ; 25,5 (CH_2 dioxane) ; 20,1 (OCH_3) ; 19,0 (CH_3).

.....

5'-Méthyl-3'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diyl diacétate
(±)-**45b**



$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_7$ - $M = 341,36 \text{ g.mol}^{-1}$

A une solution de la pipéridine (±)-**47b** (1 éq., 0,06 mmol, 15,0 mg) dans de la pyridine anhydre (18 éq., 1,05 mmol, 85 μL) de l'anhydride acétique (18 éq., 1,05 mmol, 100 μL) ainsi qu'un cristal de DMAP sont ajoutés. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

Les solvants sont ensuite éliminés sous pression réduite, et par entraînement au toluène la majorité de la pyridine est évaporée.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir l'indolizidinone diacétylé (±)-**45b** (14,3 mg, 70%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore

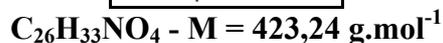
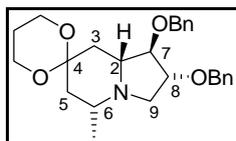
- $R_f = 0,72$ (AcOEt-MeOH 9:1)

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 5,37 (d, 1H, $J = 6,5$ Hz, **H-8**) ; 5,00 (t, 1H, $J = 6,5$ Hz, **H-7**) ; 3,96-3,85 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,53 (m, 1H, **H-6**) ; 3,44 (ddd, 1H, $J = 12$; 6 ; 3 Hz, **H-2**) ; 2,68 (td, 1H, $J = 13$; 3 Hz, **H-3éq.**) ; 2,18-2,12 (m, 4H, **H-5éq.**, COCH_3) ; 2,10 (s, 3H, COCH_3) ; 1,81-1,69 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,66 (d, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3) ; 1,50 (dd, 1H, $J = 14$; $11,5$ Hz, **H-5ax.**) ; 1,42 (t, 1H, $J = 13$ Hz, **H-3ax.**).

- **RMN ^{13}C (100MHz, C_6D_6)**

δ (ppm) 170,4 ; 166,2 ($3 \times \text{C ipso}$) ; 96,1 (**C-4**) ; 76,3 (**C-7**) ; 75,4 (**C-8**) ; 59,2 ; 59,1 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 56,2 (**C-6**) ; 49,1 (**C-2**) ; 41,1 (**C-5**) ; 37,4 (**C-3**) ; 25,5 (CH_2 dioxane) ; 20,2 (OCH_3) ; 19,6 (CH_3).

(1'R,2'R,5'R,8a'R)-5'-Méthylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diyl dibenzyle (-)-50

A une solution de la pipéridine **48** (1 éq., 0,69 mmol, 167 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (7 mL), refroidie à 0°C, est ajouté de l'hydrure de sodium (4 éq., 2,75 mmol, 69 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C, sous atmosphère inerte (courant d'argon) pendant 45 minutes.

Le bromure de benzyle (2,1 éq., 1,44 mmol, 168 μL) en solution dans du diméthylformamide (7 mL) est ensuite ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 48 heures.

L'excès d'hydrure de sodium est hydrolysé. Les phases sont séparées et la phase aqueuse extraite à l'éther (3 \times 10 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées et concentrées.

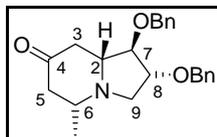
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir la pipéridine (-)-**50** (234 mg, 80%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,63 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **[\alpha]_D²⁵** - 21,9 (c 1,035 ; CHCl₃)
- **IR**
 ν (cm⁻¹) 2964 ; 2930 (C-H aromatiques) ; 2868 (C-H) ; 1454 ; 1378 (C-H) ; 1325 ; 1300 (C-O) ; 1142 ; 1092 (C-H).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,35-7,20 (m, 10H, H aromatiques) ; 4,46 [système AB, 2H, CH₂Ph, $\Delta\nu = 60$ Hz, $\delta_A = 4,54$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz), $\delta_B = 4,39$ (d, 1H, $J = 12$ Hz)] ; 4,50 [système AB, 2H, CH₂Ph, $\Delta\nu = 21$ Hz, $\delta_A = 4,52$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz), $\delta_B = 4,48$ (d, 1H, $J = 12$ Hz)] ; 3,93-3,74 (m, 5H, 2 \times OCH₂ dioxane, H-8) ; 3,61 (m, 1H, H-7) ; 3,45 (m, 1H, H-9) ; 3,14 (d, 1H, $J = 10,5$ Hz, H-9') ; 2,55 (m, 1H, H-6) ; 2,29 (m, 1H, H-2) ; 2,19 (m, 1H, H-3éq.) ; 1,98 (m, 1H, H-5éq.) ; 1,65 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,31 (m, 2H, H-3ax., H-5ax.) ; 0,98 (d, 3H, $J = 6$ Hz, CH₃).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 138,4 ; 138,1 (2 \times C *ipso*) ; 128,7 ; 128,3 ; 127,9 ; 127,7 ; 127,6 (C aromatiques) ; 97,4 (C-4) ; 88,9 (C-7) ; 82,5 (C-8) ; 72,1 ; 71,4 (2 \times CH₂Ph) ; 64,1 (C-6) ; 59,5 ; 59,1 (2 \times OCH₂ dioxane) ; 55,5 (C-9) ; 53,7 (C-2) ; 41,7 (C-5) ; 34,9 (C-3) ; 25,6 (CH₂ dioxane) ; 19,9 (CH₃).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{26}H_{34}NO_4$ ($M + H$)⁺: 424,2481.
calculée : 424,2488.

.....

(1R,2R,5R,8aR)-1,2-Bis(benzyloxy)-5-methyl-hexahydro-indolizin-7-one (-)-51



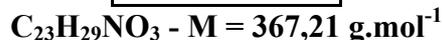
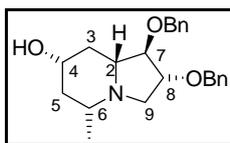
A une solution de la pipéridine protégée (-)-50 (1 éq., 0,09 mmol, 39 mg) dans du dichlorométhane (5 mL), 160 μL d'une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50% (11,6 éq., 1,1 mmol) est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 3 jours.

Le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 . Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 et concentrées.

La pipéridone (-)-51 (23,3 mg, 69%) est isolée suffisamment pure pour être engagée dans l'étape suivante.

- **Aspect :** huile jaune pâle.
- $R_f = 0,66$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- $[\alpha]_D^{25} - 4,8$ (c 0,88 ; CHCl_3)
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 7,47-7,27 (m, 10H, **H** aromatiques) ; 4,51 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 18 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,53$ (d, 1H, $J_{AB} = 11,5 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,49$ (d, 1H, $J = 11,5 \text{ Hz}$)] ; 4,48 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 52 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,55$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,42$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 3,99 (dd, 1H, $J = 6 ; 2,5 \text{ Hz}$, **H-8**) ; 3,79 (dd, 1H, $J = 7 ; 2,5 \text{ Hz}$, **H-7**) ; 3,32 (d, 1H, $J = 10,5 \text{ Hz}$, **H-9**) ; 2,65 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 2,50-2,35 (m, 4H, **H-2**, **H-3ax.**, **H-6**, **H-9'**) ; 2,28 (m, 2H, **H-5ax.**, **H-5éq.**) ; 1,17 (d, 3H, $J = 6 \text{ Hz}$, **CH}_3**).
- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 208,0 (**C-4**) ; 137,8 ; 137,7 (2 \times *ipso*) ; 128,4 ; 128,1 ; 127,9 ; 127,7 (**C** aromatiques) ; 89,5 (**C-7**) ; 82,1 (**C-8**) ; 72,1 ; 71,5 (2 \times CH_2Ph) ; 67,5 (**C-6**) ; 56,7 (**C-2**) ; 55,3 (**C-9**) ; 48,3 (**C-5**) ; 45,5 (**C-3**) ; 20,6 (**CH}_3**).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{23}H_{27}NO_3$ ($M + H$)⁺: 366,2057.
calculée : 366,2069.

.....

(1R,2R,5R,7S,8aR)-1,2-bis(benzyloxy)-5-méthyl-octahydro-indolizin-7-ol (-)-52

La pipéridine (-)-**51** (1 éq., 0,17 mmol, 60 mg) est placée en solution dans du méthanol (5 mL), sous atmosphère inerte, à -10°C , puis NaBH_4 est ajouté (1 éq., 0,17 mmol, 6,3 mg) par petites fractions. Le milieu réactionnel est maintenu à -10°C pendant 15 minutes.

Le méthanol est ensuite évaporé. Le résidu obtenu est dissout dans l'eau (0,1 mL) et la phase aqueuse extraite à l'acétate d'éthyle (4×3 mL). Les phases organiques sont réunies, séchées et concentrées. Le pipéridinol (-)-**52** (56 mg, 90%) est obtenu suffisamment pur sous la forme d'une huile jaune pâle pour être engagé dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,23$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- $[\alpha]_D^{25} - 12,5$ (c 0,82 ; CHCl_3)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 3390 (O-H) ; 2854 (C-H) ; 1496 ; 1453 (C-H) ; 1198 ; 1094 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,40-7,27 (m, 10H, H aromatiques) ; 4,52 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 62 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,60$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,45$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 4,55 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 16 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,57$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,54$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 3,94 (m, 1H, H-8) ; 3,75 (dd, 1H, $J = 8,5 ; 2,5 \text{ Hz}$, H-7) ; 3,65 (m, 1H, H-4) ; 3,23 (d, 1H, $J = 10,5 \text{ Hz}$, H-9) ; 2,36-2,24 (m, 2H, H-9', H-5éq.) ; 2,12-2,02 (m, 2H, H-2, H-6) ; 1,87 (m, 1H, H-3éq.) ; 2,21-1,42 (m, 3H, H-3ax., H-5ax., OH) ; 1,09 (d, 3H, $J = 6 \text{ Hz}$, CH_3).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

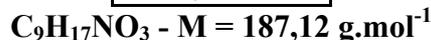
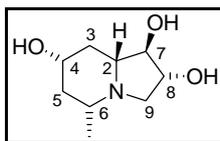
δ (ppm) 138,1 (2×C *ipso*) ; 128,4 ; 128,3 ; 127,9 ; 127,8 ; 127,7 (C aromatiques) ; 88,7 (C-7) ; 82,4 (C-8) ; 73,1 ; 72,2 (2× CH_2Ph) ; 69,6 (C-4) ; 66,4 (C-6) ; 55,8 (C-2) ; 55,5 (C-9) ; 42,8 (C-5) ; 38,4 (C-3) ; 20,1 (CH_3).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ (M + H)⁺: 368,2209.

calculée : 368,2226.

.....

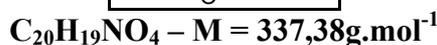
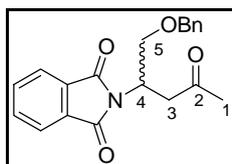
(1R,2R,5R,7S,8aR)-5-Méthyl-octahydro-indolizine-1,2,7-triol (-)-53

Le pipéridinol (-)-52 (1 éq., 0,22 mmol, 80 mg) est placé en solution dans 10 mL de méthanol avec du chlorure de palladium II (1 éq., 0,43 mmol, 76 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère d'hydrogène, à température ambiante pendant 3 jours.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite et rincé au dichlorométhane. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. Le résidu obtenu est ensuite déposé sur une colonne de résine acide (DOWEX[®] 50WX8, 200-400 mesh, H⁺). La résine est lavée abondamment avec de l'eau distillée puis avec une solution aqueuse de NH₄OH 1N. Les fractions contenant le produit sont rassemblées et évaporées sous pression réduite. L'indolizidine polyhydroxylée (-)-53 (41 mg, quantitatif) est obtenue sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **[α]_D²⁵** - 28,8 (c 0,77 ; MeOH)
- **RMN ¹H (400MHz, MeOD)**
 δ (ppm) 3,93 (m, 1H, **H-8**) ; 3,59 (dd, 1H, $J = 9 ; 4 \text{ Hz}$, **H-7**) ; 3,54 (m, 1H, **H-4**) ; 2,97 (dd, 1H, $J = 11 ; 2 \text{ Hz}$, **H-9**) ; 2,58 (dd, 1H, $J = 11 ; 7,5 \text{ Hz}$, **H-9'**) ; 2,26 (m, 1H, **H-6**) ; 2,16-2,06 (m, 2H, **H-2**, **H-5éq.**) ; 1,83 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 1,21 (m, 5H, **H-3ax.**, **H-5ax.**, 3×OH) ; 1,03 (d, 3H, $J = 6,5 \text{ Hz}$, **CH₃**).
- **RMN ¹³C (100MHz, MeOD)**
 δ (ppm) 83,9 (**C-7**) ; 77,7 (**C-8**) ; 69,2 (**C-2**, **C-4**) ; 59,4 (**C-9**) ; 57,8 (**C-6**) ; 43,2 (**C-3**) ; 37,9 (**C-5**) ; 19,8 (**CH₃**).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
 trouvée pour C₉H₁₇NO₃ (M + H)⁺ : 188,1290.
 calculée : 188,1287.

.....

2-(1-benzyloxyméthyl-3-oxo-butyl)-isoindole-1,3-dione (±)-59

A une solution de (E)-5-(benzyloxy)-pent-3-èn-2-one (1 éq., 53,3 mmol, 10,1 g) dans de l'acétate d'éthyle (250 mL) est ajoutée du phtalimide (1 éq., 53,3 mmol, 7,9 g). Après quelques minutes d'agitation, 200 μL d'une solution d'hydroxyde de benzyltriméthyl ammonium (triton B[®]) est ajoutée au milieu réactionnel.

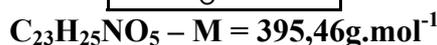
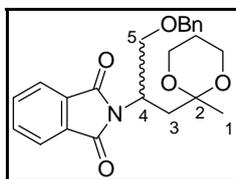
Celui-ci est maintenu sous agitation au reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, l'excès de réactif est neutralisé avec une solution aqueuse de NaOH 1N. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle (3 \times 50 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est recristallisé dans l'éthanol pour fournir le 5-benzyloxy-4-phtalimido-2-pentanone (\pm)-**58** (16,2 g, 89%) sous la forme d'un solide blanc.

- **Aspect** : solide blanc
- **R_f** = 0,60 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **IR**
v (cm⁻¹) 1774 ; 1706 (C=O) ; 1608 ; 1496 (C=C aromatiques) ; 1172 ; 1090 ; 1030 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,81 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,68 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,27 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 5,05 (m, 1H, **H-4**) ; 4,54 (d, 1H, *J* = 12 Hz, CH₂Ph-1') ; 4,53 (d, 1H, *J* = 12 Hz, CH₂Ph-2') ; 3,75 (m, 2H, **H-5**) ; 3,15 (m, 2H, *J* = 8,5 ; 6 Hz, **H-3**) ; 2,15 (s, 3H, CH₃).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 205,1 (C-2) ; 168,3 (2 \times C=O imide) ; 137,7 (C *ipso*) ; 134,3 ; 133,9 (C aromatiques) ; 131,8 (2 \times C *ipso*) ; 128,3 ; 127,7 ; 123,5 ; 123,2 (C aromatiques) ; 72,8 (CH₂Ph) ; 69,1 (C-5) ; 46,1 (C-3) ; 42,3 (C-4) ; 30,1 (C-1).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
trouvée pour C₂₀H₁₉NO₄ (M + H)⁺: 360,0921.
calculée : 360,1210.

.....

2-[1-benzyloxyméthyl-2-(2-méthyl-[1,3]dioxan-2-yl)-éthyl]-isoindole-1,3-dione (\pm)-**60**



Dans un ballon surmonté d'un appareil de Dean-Stark, 3,5 mL de 1,3-propanediol (2 éq., 47,5 mmol, 3,6 g) et 5 mg d'acide *para*-toluènesulfonique sont ajoutés à une solution du phtalimide (\pm)-**59** (1 éq., 23,8 mmol, 8 g) dans 70 mL de toluène.

Le mélange réactionnel est maintenu 6 heures au reflux du toluène. Après refroidissement à température ambiante, le milieu est traité par une solution saturée de NaHCO₃. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane

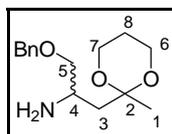
(3×30 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaCl (2×20 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est recristallisé dans l'éthanol pour fournir le 5-benzyloxy-4-phthalimido-2-(1',3'-dioxolane)-pentanone (\pm)-**60** (8,4 g, 90%) sous la forme d'un solide blanc.

- **Aspect** : solide blanc
- **R_f** = 0,65 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,82 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,68 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,27 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 5,01 (m, 1H, **H-4**) ; 4,54 (d, 1H, $J = 12$ Hz, CH₂Ph) ; 4,52 (d, 1H, $J = 12$ Hz, CH₂Ph) ; 3,96 (t, 1H, $J = 9,5$ Hz, **H-5**) ; 3,84 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,72 (dd, 1H, $J = 9,5 ; 6$ Hz, **H-5'**) ; 2,57 (dd, 1H, $J = 15 ; 9$ Hz, **H-3**) ; 1,91 (dd, 1H, $J = 15 ; 3,5$ Hz, **H-3'**) ; 1,83 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,42 (s, 3H, CH₃).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 168,7 (2×C=O imide) ; 138,2 (C *ipso*) ; 133,6 (C aromatiques) ; 132,3 (2×C *ipso*) ; 129,1 ; 128,9 ; 128,3 ; 127,6 ; 127,5 ; 125,3 ; 122,9 (C aromatiques) ; 98,3 (C-2) ; 72,6 (CH₂Ph) ; 70,1 (C-5) ; 59,9 (2×OCH₂ dioxane) ; 45,9 (C-4) ; 38,3 (C-3) ; 25,1 (CH₂ dioxane) ; 19,8 (C-1).

.....

1-benzyloxyméthyl-2-(2-méthyl-[1,3]dioxan-2-yl)-éthylamine (\pm)-**31**



Le phthalimide (\pm)-**60** (1 éq., 5,1 mmol, 2,00 g) est dissout dans 100 mL de méthanol et 1,23 mL d'hydrazine monohydrate (5 éq., 25,3 mmol, 1,27 g) sont additionnés. Le mélange est chauffé au reflux du méthanol pendant 5 heures.

Le méthanol est ensuite éliminé sous pression réduite. Le solide blanc résultant est traité par une solution aqueuse de K₂CO₃ (2,6 N, 14 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (5×30 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

L'amine (\pm)-**31** (1,3 g, 99%) est isolée suffisamment pure, sous la forme d'un solide blanc pour être engagée dans l'étape suivante.

- **Aspect** : solide blanc.
- **Pf** = 146,4°C.
- **R_f** = 0 (AcOEt pur)

- **IR (KBr)**

ν (cm^{-1}) 3422 (N-H) ; 1605 ; 1579 (C=C aromatique) ; 1246 ; 1073 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 8,19 (s élargi, 2H, NH_2) ; 7,40-7,25 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,58 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 12\text{Hz}$, $\delta_A = 4,60$ (d, 1H, $J_{AB} = 12\text{Hz}$), $\delta_B = 4,57$ (d, 1H, $J_{AB} = 12\text{Hz}$)] ; 3,92-3,05 (m, 4H, $3\times\text{OCH}$ dioxane, H-4) ; 3,88-3,79 (m, 2H, $1\times\text{OCH}$ dioxane, H-5) ; 3,78-3,72 (m, 1H, H-5') ; 2,17 (m, 1H, H-3) ; 2,10-1,96 (m, 1H, H-8) ; 1,79 (dd, 1H, H-3') ; 1,46 (s, 3H, CH_3) ; 1,36 (d, 1H, H-8').

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 137,4 (C *ipso*) ; 128,5 ; 127,9 ; 127,8 (C aromatiques) ; 98,9 (C-2) ; 73,3 (CH_2Ph) ; 69,5 (C-5) ; 60,1 ; 60,0 ($2\times\text{OCH}_2$ dioxane) ; 48,1 (C-4) ; 40,6 (C-3) ; 25,2 (CH_2 dioxane) ; 18,9 (C-1).

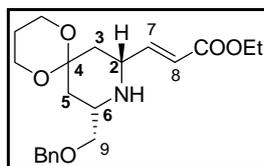
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (M + H)⁺: 266,1750

calculée : 266,1756

.....

(E)-3-[(8R,10S)-10-Benzoyloxyméthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]acrylate d'éthyle (+)-61



$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$ - M = 375,46 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

A une solution d'amine benzyle (+)-31 (1 éq., 7,5 mmol, 2,00 g) dans du dichlorométhane anhydre (60 mL) sont ajoutés successivement le trans-4-oxo-2-buténoate d'éthyle 27 (1,1 éq., 8,3 mmol, 1 mL) puis du sulfate de magnésium anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux du dichlorométhane pendant 2 heures, sous atmosphère inerte. La formation de l'imine est suivie par CCM (AcOEt, Rf = 0,9).

Simultanément, l'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate (2 éq., 15,1 mmol, 2,91 g) est déshydraté par distillation azéotropique avec du toluène (100 mL) au moyen d'un montage Dean-Stark pendant 4 heures.

Les deux milieux réactionnels sont refroidis à température ambiante, puis l'imine est transvasée dans l'acide *para*-toluènesulfonique déshydraté sous courant d'argon, au moyen d'une canule. Le mélange réactionnel obtenu est chauffé à 50°C pendant 30 minutes.

Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (40 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×40 mL). Les phases organiques réunies sont lavées par une solution aqueuse saturée de NaCl (40 mL), puis séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la pipéridine (+)-61 (1,69 g, 60%) sous la forme d'une huile jaune.

- **Aspect** : huile jaune.

- $R_f = 0,25$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- $[\alpha]_D^{25} + 3,3$ (c 1,015 ; CHCl_3)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 3311 (N-H) ; 1719 (C=O ester) ; 1655 (C=C) ; 1145 ; 1094 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,34-7,20 (m, 5H, H aromatiques) ; 6,83 (dd, 1H, $J = 16 ; 6 \text{ Hz}$, H-7) ; 5,89 (d, 1H, $J = 16 \text{ Hz}$, H-8) ; 4,44 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 18 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,46$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,43$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 4,11 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 3,83 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,43 (m, 2H, H-2ax., H-9) ; 3,29 (m, 1H, H-9') ; 3,03 (m, 1H, H-6) ; 2,25 (m, 1H, H-3éq.) ; 2,07 (m, 1H, H-5éq.) ; 2,02 (s élargi, 1H, NH) ; 1,65 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,25-1,17 (m, 4H, H-3ax., CH_3 ester) ; 1,12 (t, 1H, $J = 12,5 \text{ Hz}$, H-5ax.).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 166,5 (C=O ester) ; 149,4 (C-7) ; 138,1 (C ipso) ; 128,9 ; 128,5 ; 127,7 (C aromatiques) ; 120,7 (C-8) ; 96,8 (C-4) ; 74,6 (C-9) ; 73,4 (CH_2Ph) ; 60,6 (OCH_2 ester) ; 59,3 ; 59,2 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 53,3 (C-2) ; 52,0 (C-6) ; 38,5 (C-3) ; 35,5 (C-5) ; 25,5 (CH_2 dioxane) ; 14,2 (CH_3 ester).

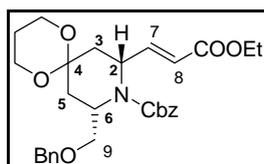
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$ ($\text{M} + \text{H}^+$) : 376,2106.

calculée : 376,2124.

.....

(E)-3-[(8R,10S)-9-Benzyloxycarbonyl-10-benzyloxyméthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl]acrylate d'éthyle (-)-62



$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_7$ - $\text{M} = 509,59 \text{ g.mol}^{-1}$

La pipéridine (+)-61 (1 éq., 5,6 mmol, 2,10 g) est dissoute dans du dichlorométhane (170 mL). Une solution aqueuse de Na_2CO_3 0,4M (2 éq., 11,2 mmol, 30 mL) est ajoutée, puis le mélange biphasique est refroidi à 0°C . Une solution de chloroformiate de benzyle (1,5 éq., 8,4 mmol, 1,1 mL) dans du dichlorométhane (20 mL) est additionnée goutte à goutte.

Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 24 heures.

Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×70 mL). Les phases organiques réunies sont séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir la pipéridine protégée (-)-62 (2,5 g, 90%) sous la forme d'une huile brune.

- **Aspect** : huile brune.

- $R_f = 0,62$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- $[\alpha]_D^{25} - 4,1$ (c 1,025 ; CHCl_3)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 1713 (C=O ester) ; 1768 (C=O carbamate) ; 1656 (C=C) ; 1290 ; 1113 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,34-7,17 (m, 10H, **H** aromatiques) ; 6,95 (dd, 1H, $J = 16 ; 6,5 \text{ Hz}$, **H-7**) ; 5,84 (d, 1H, $J = 16 \text{ Hz}$, **H-8**) ; 5,12 [système AB, 2H, CH_2Ph carbamate, $\Delta\nu = 18 \text{ Hz}$, $\delta_A = 5,14$ (d, 1H, $J_{AB} = 12,5 \text{ Hz}$), $\delta_B = 5,11$ (d, 1H, $J = 12,5 \text{ Hz}$)] ; 4,97 (m, 1H, **H-2**) ; 4,56 (m, 1H, **H-6**) ; 4,49 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 22 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,52$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,47$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 4,11 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 3,92-3,71 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,61 (m, 1H, **H-9**) ; 3,48 (m, 1H, **H-9'**) ; 2,54 (m, 1H, $J = \text{H-5éq.}$) ; 2,20 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 1,85 (dd, 1H, $J = 14 ; 7 \text{ Hz}$, **H-3ax.**) ; 1,72 (m, 1H, CH_{2a} dioxane) ; 1,64 (dd, 1H, $J = 14,5 ; 7 \text{ Hz}$, **H-5ax.**) ; 1,59 (m, 1H, CH_{2b} dioxane) ; 1,19 (m, 3H, CH_3 ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 166,5 (C=O ester) ; 155,7 (C=O carbamate) ; 148,9 (C-7) ; 138,3 ; 136,4 ($2 \times \text{C}_{ipso}$) ; 128,5 ; 128,3 ; 128,1 ; 128,0 ; 127,7 ; 127,6 ; 126,9 (C aromatiques) ; 121,6 (C-8) ; 95,8 (C-4) ; 72,9 (C-9) ; 71,1 ; 67,7 ($2 \times \text{CH}_2\text{Ph}$) ; 60,3 (CH_2 ester) ; 59,5 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 51,2 (C-2) ; 50,3 (C-6) ; 36,6 (C-3) ; 29,7 (C-5) ; 25,1 (CH_2 dioxane) ; 14,2 (CH_3 ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

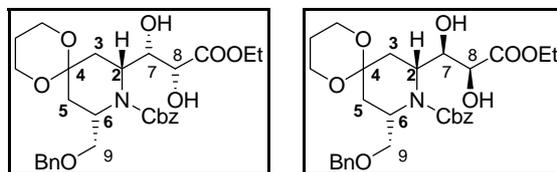
trouvée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_7$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ : 532,2285.

calculée : 532,2329.

.....

(8S,10R)-8-benzyloxyméthyl-10-[(1S,2R)-2-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroxy-éthyl]-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undecane-9- benzyloxycarbonyle (+)-63a

(8S,10R)-8-Benzyloxyméthyl-10-[(1R,2S)-2-éthoxycarbonyl-1,2-dihydroxy-éthyl]-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undécane-9-benzyloxycarbonyle (+)-63b



$\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{NO}_9$ - $\text{M} = 543,60 \text{ g.mol}^{-1}$

A une solution de pipéridine (**-62**) (1 éq., 1,4 mmol, 710 mg) dans un mélange acétone-eau (9 mL-6 mL) est ajouté de l'oxyde de *N*-méthylmorpholine (2 éq., 2,8 mmol, 325 mg) et du $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05 éq., 0,07 mmol, 28 mg).

Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures. Les solvants sont évaporés à l'évaporateur rotatif, et les sels d'osmium sont éliminés par filtration sur silice.

Les deux diastéréoisomères obtenus sont séparés par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7), pour fournir le premier diastéréoisomère (+)-**63a** (106 mg, 14%) et le deuxième diastéréoisomère (+)-**63b** (327 mg, 43%).

- **Aspect** : huile jaune pâle.

Diastéréoisomère (+)-63a

- $R_f = 0,28$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- $[\alpha]_D^{25} + 1,3$ (c 0,955 ; CHCl₃)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

Le spectre RMN du ¹H du composé **63a** est inexploitable, ceci étant probablement dû à la présence de rotamères.

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 171,7 (C=O ester) ; 158,2 (C=O carbamate) ; 138,2 ; 135,8 (2×C *ipso*) ; 128,5 ; 128,3 ; 128,2 ; 128,0 ; 127,6 ; 127,3 (C aromatiques) ; 95,9 (C-4) ; 72,7 (CH₂Ph) ; 72,6 (C-7) ; 72,1 (C-9) ; 70,1 (C-8) ; 68,4 (CH₂Ph) ; 61,3 (CH₂ ester) ; 59,7 ; 59,6 (2×OCH₂ dioxane) ; 52,9 (C-6) ; 50,3 (C-2) ; 34,5 (C-5) ; 27,9 (C-3) ; 25,1 (CH₂ dioxane) ; 14,3 (CH₃ ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₂₉H₃₇NO₉ (M + Na)⁺ : 566,2387.

calculée : 566,2366.

Diastéréoisomère (+)-63b

- $R_f = 0,27$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- $[\alpha]_D^{25} + 16,9$ (c 0,955 ; CHCl₃)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 3442 (O-H) ; 1732 (C=O ester) ; 1692 (C=O carbamate).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,37-7,20 (m, 10H, H aromatiques) ; 5,10 (s, 2H, CH₂Ph) ; 4,75 (m, 1H, H-6) ; 4,55 (m, 1H, CH₂Ph) ; 4,42 (m, 1H, CH₂Ph) ; 4,35-4,19 (m, 4H, CH₂ ester, H-7, H-8) ; 4,12-3,99 (m, 2H, OCH₂ dioxane) ; 3,90-3,80 (m, 2H, OCH₂ dioxane) ; 3,68 (m, 1H, H-9) ; 3,50 (m, 1H, H-9') ; 3,14 (m, 1H, H-2) ; 2,08 (m, 1H, H-5_{éq.}) ; 1,86 (m, 1H, H-3_{éq.}) ; 1,77 (dd, 1H, $J = 14 ; 7,5$ Hz, H-5_{ax.}) ; 1,58 (m, 1H, H-3_{ax.}) ; 1,29 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃ ester).

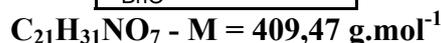
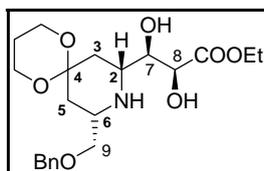
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 184,4 (C=O ester) ; 169,5 (C=O carbamate) ; 138,3 ; 135,9 (2×C *ipso*) ; 128,6 ; 128,4 ; 128,0 (C aromatiques) ; 96,2 (C-4) ; 72,6 (CH₂Ph) ; 72,0 (C-9) ; 70,0 (C-7, C-8) ; 68,3 (CH₂Ph) ; 61,3 (CH₂ ester) ; 59,7 ; 59,6 (2×OCH₂ dioxane) ; 50,2 (C-2, C-6) ; 34,5 (C-5) ; 27,9 (C-3) ; 25,0 (CH₂ dioxane) ; 14,1 (CH₃ ester).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{29}H_{37}NO_9$ ($M + Na$)⁺: 566,2387.
calculée : 566,2366.

.....

(2S,3R)-3-[(8R,10S)-10-Benzyloxyméthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5.5]undéc-8-yl]-2,3-dihydroxy-propanoate d'éthyle (-)-64

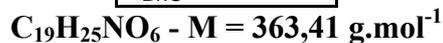
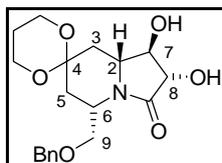


Le composé (+)-63b (1 éq., 0,5 mmol, 270 mg) est placé en solution dans du méthanol (40 mL) avec une quantité catalytique de Pd/C à 10% (50 mg). Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite, rincé au dichlorométhane et les solvants sont évaporés. La pipéridine (-)-64 (204 mg, quantitatif) est obtenue sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect :** huile incolore.
- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)
- **[α]_D²⁵** - 6,8 (c 0,555 ; CHCl₃)
- **IR** (KBr)
ν (cm⁻¹) 3436 (O-H) ; 1737 (C=O ester) ; 1250 ; 1218 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 7,38-7,27 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,56-4,44 (m, 2H, CH₂Ph) ; 4,28 (qd, 2H, J = 7 ; 2,5 Hz, CH₂ ester) ; 4,00-3,78 (m, 6H, 2×OCH₂ dioxane, H-7, H-8) ; 3,46 (m, 1H, H-9) ; 3,35 (m, 1H, H-9') ; 3,10 (m, 1H, H-2) ; 3,00 (m, 1H, H-6) ; 2,50 (m, 1H, H-3éq.) ; 2,17 (m, 1H, H-5éq.) ; 1,78-1,63 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,35-1,20 (m, 5H, H-3ax., H-5ax. ; CH₃ ester).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 173,1 (C=O ester) ; 138,1 (C ipso) ; 128,4 ; 128,3 ; 127,8 ; 127,7 ; 127,5 (C aromatiques) ; 97,2 (C-4) ; 74,0 (CH₂Ph) ; 73,4 (C-7 ou C-8) ; 73,3 (C-9) ; 72,2 (C-7 ou C-8) ; 61,8 (CH₂ ester) ; 59,3 (2×OCH₂ dioxane) ; 55,4 (C-6) ; 52,2 (C-2) ; 36,3 (C-5) ; 35,1 (C-3) ; 25,5 (CH₂ dioxane) ; 14,2 (CH₃ ester).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{21}H_{31}NO_7 + H$ ⁺: 410,2169.
calculée : 410,2179.

.....

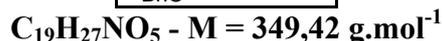
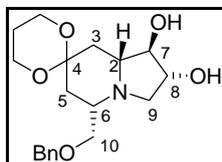
(1'R,2'S,5'S,8a'R)-1',2'-dihydroxy-5'-benzyloxyméthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizin]-3'-one 65

A une solution de la pipéridine (-)-64 (1 éq., 0,2 mmol, 80 mg) dans du toluène anhydre (15 mL) est ajouté du DBU (3 éq., 0,59 mmol, 90 μL). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation, au reflux du toluène pendant 12 heures, puis les solvants sont éliminés à l'évaporateur rotatif.

Le résidu ainsi obtenu est filtré sur silice neutralisée avec 0,1% de triéthylamine (éluant : AcOEt pur). L'indolizidinone 65 ainsi obtenue est engagée directement dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- $R_f = 0,57$ (AcOEt-MeOH 9:1)

.....

(1'R,2'R,5'S,8a'R)-5'-benzyloxyméthylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diol 66

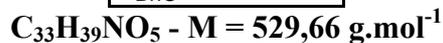
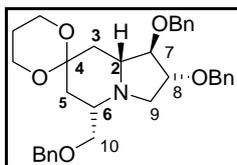
A une solution de l'indolizidinone 65 (1 éq., 0,2 mmol, 71 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (13 mL) est ajouté de l'hydruire de lithium aluminium (4 éq., 0,78 mmol, 30 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation au reflux du tétrahydrofurane pendant 4 heures.

Le milieu réactionnel refroidi dans un bain de glace est hydrolysé avec de l'eau (0,5 mL) et une solution aqueuse de NaOH 1N (0,5 mL).

Le résidu obtenu est filtré sur célite et Na_2SO_4 , rincé à l'acétate d'éthyle et concentré à l'évaporateur rotatif. L'indolizidine 66 est isolée suffisamment pure sous la forme d'une huile jaune pâle pour être engagée dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- $R_f = 0,21$ (AcOEt-MeOH 9:1)

.....

(1'R,2'R,5'S,8a'R)-5'-Benzyloxyméthylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizine]-1',2'-diyl dibenzyle (-)-67

A une solution de l'indolizidine 66 (1 éq., 0,2 mmol, 70 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (10 mL), refroidie à 0°C, est ajouté de l'hydruure de sodium (4 éq., 0,8 mmol, 40 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C, sous atmosphère inerte (courant d'argon) pendant 15 minutes.

Le bromure de benzyle (2,2 éq., 0,44 mmol, 52 µL) est ensuite ajouté goutte à goutte, puis de l'iodure de tétrabutylammonium (0,15 éq., 0,03 mmol, 11 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 24 heures.

L'excès d'hydruure de sodium est hydrolysé. Les phases sont séparées et la phase aqueuse extraite à l'acétate d'éthyle (3×5 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la pipéridine (-)-67 (38 mg, 35%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,63 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **[α]_D²⁵** - 15,3 (c 0,990 ; CHCl₃)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 1496, 1454 (C=C aromatiques) ; 1246; 1092 (C-O).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,37-7,27 (m, 15H, **H** aromatiques) ; 4,61-4,50 (m, 4H, 2×CH₂Ph) ; 4,43 [système AB, 2H, CH₂Ph, Δν = 58 Hz, δ_A = 4,50 (d, 1H, J_{AB} = 12 Hz), δ_B = 4,36 (d, 1H, J = 12 Hz)] ; 3,87 (m, 5H, 2×OCH₂ dioxane, **H-8**) ; 3,71 (dd, 1H, J = 8,5 ; 3 Hz, **H-7**) ; 3,37 [partie AB du système ABX, 2H, **H-10**, Δν = 64 Hz, δ_A = 3,45 (dd, 1H, J_{AX} = 5 Hz, J_{AB} = 10 Hz), δ_B = 3,30 (d, 1H, J_{BX} = 4,5 Hz, J_{AB} = 10 Hz)] ; 3,23 (d, 1H, J = 10,5 Hz, **H-9**) ; 2,57 (dt, 1H, J = 12,5 ; 3 Hz, **H-3éq.**) ; 2,53-2,43 (m, 2H, **H-9'**, **H-6**) ; 2,33 (m, 1H, **H-2**) ; 2,23 (dt, 1H, J = 13 ; 3 Hz, **H-5éq.**) ; 1,80-1,63 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,45 (m, 1H, **H-5ax.**) ; 1,37 (m, 1H, **H-3ax.**).

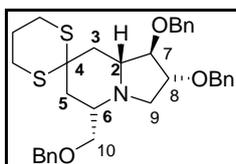
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 138,3 (C ipso) ; 128,4 ; 128,3 ; 127,9 ; 127,7 ; 127,6 (C aromatiques) ; 97,3 (C-4) ; 88,4 (C-7) ; 82,8 (C-8) ; 73,1 ; 73,0 ; 72,1 ; 71,4 (3×CH₂Ph, C-10) ; 71,4 (C-6) ; 64,3 (C-2) ; 59,5 ; 59,1 (2×OCH₂ dioxane) ; 57,9 (C-6) ; 56,0 (C-9) ; 36,5 (C-5) ; 35,4 (C-3) ; 25,5 (CH₂ dioxane).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**
trouvée pour $C_{33}H_{39}NO_5$ ($M + H$)⁺: 530,3892.
calculée : 530,3866.

.....

(1'R,2'R,5'S,8a'R)-5'-benzyloxymethylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dithiane-2,7'-indolizine]-1',2'-diyl dibenzyle (-)-69



$C_{33}H_{39}NO_3S_2$ - $M = 561,24 \text{ g.mol}^{-1}$

A une solution de la pipéridine protégée (-)-67 (1 éq., 0,47 mmol, 250 mg) dans du dichlorométhane anhydre (50 mL), sont ajoutés goutte à goutte du 1,3-propanedithiol (5 éq., 2,36 mmol, 237 μL) et du $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (5 éq., 2,36 mmol, 302 μL). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte (courant d'argon) pendant 24 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite dilué dans du dichlorométhane et neutralisé par une solution aqueuse de NaOH 1N. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 20 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl (20 mL), séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir la pipéridinedithiolane (-)-69 (175 mg, 80%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect :** huile incolore.
- **R_f** = 0,62 (AcOEt-Cyclohexane 3:7)
- **[α]_D²⁵** - 18,6 (c 0,880 ; CHCl_3)
- **IR**
 ν (cm^{-1}) 1496; 1453 (C-C aromatiques) ; 1112 ; 1075 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,39-7,28 (m, 15H, H aromatiques) ; 4,47 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 24 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,50$ (d, 1H, $J_{AB} = 11,5 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,45$ (d, 1H, $J = 11,5 \text{ Hz}$)] ; 4,44 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,42 [système AB, 2H, CH_2Ph , $\Delta\nu = 55 \text{ Hz}$, $\delta_A = 4,49$ (d, 1H, $J_{AB} = 12 \text{ Hz}$), $\delta_B = 4,36$ (d, 1H, $J = 12 \text{ Hz}$)] ; 3,86 (dd, 1H, $J = 6 ; 3 \text{ Hz}$, H-8) ; 3,63 (dd, 1H, $J = 8 ; 3 \text{ Hz}$, H-7) ; 3,37 [partie AB du système ABX, 2H, H-10, $\Delta\nu = 64 \text{ Hz}$, $\delta_A = 3,45$ (dd, 1H, $J_{AX} = 5 \text{ Hz}$, $J_{AB} = 9,5 \text{ Hz}$), $\delta_B = 3,29$ (d, 1H, $J_{BX} = 4,5 \text{ Hz}$, $J_{AB} = 9,5 \text{ Hz}$)] ; 3,15 (d, 1H, $J = 10,5 \text{ Hz}$, H-9) ; 2,82-2,52 [partie X du système ABX (m, 7H, H-3éq., 2 \times OCH₂ thioacétal, H-2, H-6)] ; 2,48 (m, 1H, H-9') ; 2,27 (td, 1H, $J = 14 ; 2,5 \text{ Hz}$, H-5éq.) ; 1,93 (m, 2H, CH₂ thioacétal) ; 1,68 (dd, 1H, $J = 14 ; 11,5 \text{ Hz}$, H-5ax.) ; 1,64 (dd, 1H, $J = 13 ; 11,5 \text{ Hz}$, H-3ax.).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 138,3 ; 138,2 ; 138,1 (3 \times C *ipso*) ; 130,5 ; 128,9 ; 128,5 ; 128,4 ; 127,9 ; 127,8 ; 127,7 ; 126,9 ; 125,9 (C aromatiques) ; 88,5 (C-7) ; 82,4 (C-8) ; 73,3 ; 72,8 ; 72,2 ; 71,4 (3 \times CH₂-Ph, C-10) ; 63,1 (C-6) ; 57,5 (C-2) ; 56,1 (C-9) ; 48,6 (C-4) ; 40,5 (C-5) ; 37,3 (C-3) ; 26,3 ; 25,9 ; 25,6 (2 \times SCH₂, CH₂).

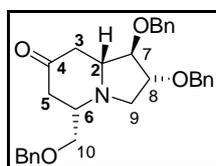
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₃₃H₃₉NO₃S₂ (M + H)⁺: 562,2408.

calculée : 562,2429.

.....

(1R,2R,5S,8aR)-1,2-bis(benzyloxy)-5-benzyloxymethyl-hexahydro-indolizin-7-one
(+)-68



C₃₀H₃₃NO₄ - M = 471,58 g.mol⁻¹

La pipéridine protégée (-)-69 (1 éq., 0,31 mmol, 175 mg) est placée en solution dans un mélange acétonitrile-eau 9:1 (11 mL). Du [bis-(trifluoroacetoxy)iodo]benzène (2,5 éq., 0,78 mmol, 342 mg) est ajouté en une seule fois suivi d'acide trifluoroacétique (10 éq., 3,1 mmol, 235 μ L). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

Celui-ci est ensuite dilué dans du cyclohexane. La phase aqueuse est extraite au cyclohexane (3 \times 8 mL) et neutralisée par du K₂CO₃ puis du 1,2-éthanedithiol (1,4 mL) est ajouté. Le milieu réactionnel est maintenu 5 minutes sous agitation. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 8 mL). Les phases organiques réunies sont séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir la pipéridone (+)-68 (87 mg, 50%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,75 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **[α]_D²⁵** + 1,25 (c 0,640 ; CHCl₃)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 1719 (C=O) ; 1496 ; 1454 (C-C aromatiques) ; 1241 ; 1103 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,30-7,17 (m, 15H, H aromatiques) ; 4,46 [système AB, 2H, CH₂Ph, $\Delta\nu = 49$ Hz, $\delta_A = 4,52$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz), $\delta_B = 4,40$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz)] ; 4,44 (m, 4H, 2 \times CH₂Ph) ; 3,92 (m, 1H, H-8) ; 3,73 (m, 1H, H-7) ; 3,41 [partie AB du système ABX, 2H, H-10, $\Delta\nu = 42$ Hz, $\delta_A = 3,46$ (dd, 1H, $J_{AX} = 5$ Hz, $J_{AB} = 10$ Hz), $\delta_B = 3,36$ (d, 1H, $J_{BX} = 4,5$ Hz, $J_{AB} =$

10 Hz] ; 3,25 (d, 1H, $J = 11$ Hz, **H-9**) ; 2,58 (d, 1H, $J = 11$ Hz, **H-3éq.**) ; 2,49 [partie X du système ABX (m, 2H, **H-6**, **H-9'**)] ; 2,36 (m, 4H, **H-2**, **H-5ax.**, **H-5éq.**, **H-3ax.**).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 207,8 (**C-4**) ; 137,9 ; 137,8 ; 137,7 (3 \times **C ipso**) ; 128,9 ; 128,5 ; 128,0 ; 127,9 ; 127,8 (**C aromatiques**) ; 89,1 (**C-7**) ; 82,4 (**C-8**) ; 73,3 ; 72,5 ; 72,1 ; 71,5 (3 \times **CH₂Ph**, **C-10**) ; 67,5 (**C-2**) ; 60,6 (**C-6**) ; 55,8 (**C-9**) ; 45,4 (**C-3**) ; 43,5 (**C-5**).

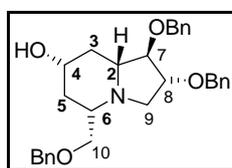
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{NO}_4$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺: 472,2488.

calculée : 472,2504.

.....

(1R,2R,5S,7S,8aR)-1,2-bis(benzyloxy)-5-benzyloxymethyl-octahydro-indolizin-7-ol
(-)-70



$\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{NO}_4$ - $\text{M} = 473,60 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

A une solution de la pipéridone **(+)-68** (1 éq., 0,17 mmol, 80 mg) dans du méthanol (8 mL), sous atmosphère inerte, à -10°C , du NaBH_4 est ajouté (1 éq., 0,17 mmol, 6,4 mg) par petites fractions. Le milieu réactionnel est maintenu à -10°C pendant 15 minutes.

Le méthanol est ensuite évaporé. Le résidu obtenu est dissout dans l'eau (0,2 mL) et la phase aqueuse extraite à l'acétate d'éthyle (4 \times 5 mL). Les phases organiques sont réunies, séchées et concentrées. Le pipéridinol **(-)-70** (64 mg, 80%) est obtenu suffisamment pur, sous la forme d'une huile jaune pâle, pour être engagé dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,6 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **$[\alpha]_D^{25}$** -8,60 (c 0,790 ; CHCl_3)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 3400 (**O-H**) ; 1495, 1453 (**C=C aromatiques**) ; 1091-1074 (**C-O**).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,30-7,19 (m, 15H, **H aromatiques**) ; 4,46 (m, 4H, 2 \times **CH₂Ph**) ; 4,42 [système AB, 2H, **CH₂Ph**, $\Delta\nu = 60$ Hz, $\delta_A = 4,50$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz), $\delta_B = 4,35$ (d, 1H, $J_{AB} = 12$ Hz)] ; 3,86 (dd, 2H, $J = 6 ; 3$ Hz, **H-8**) ; 3,67 (dd, 1H, $J = 8 ; 3$ Hz, **H-7**) ; 3,59 (m, 1H, **H-4**) ; 3,40 [partie AB du système ABX, 2H, **H-10**, $\Delta\nu = 76$ Hz, $\delta_A = 3,50$ (dd, 1H, $J_{AX} = 5$ Hz, $J_{AB} = 10$ Hz), $\delta_B = 3,31$ (d, 1H, $J_{BX} = 4,5$ Hz, $J_{AB} = 10$ Hz)] ; 3,18 (d, 1H, $J = 11$ Hz, **H-9**) ; 2,37 (dd, 1H, $J = 11 ; 6$ Hz, **H-9'**) ; 2,21 [partie X du système ABX (m, 2H, **H-6**, **H-3éq.**)] ; 2,04 (m, 1H, **H-2**) ; 1,93 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,34-1,24 (m, 2H, **H-5ax.**, **H-3ax.**).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 138,2 ; 138,1 ; 138,0 (3 \times C *ipso*) ; 128,4 ; 128,3 ; 127,9 ; 127,7 (C aromatiques) ; 88,3 (C-7) ; 82,6 (C-8) ; 73,3 ; 73,2 ; 72,2 (3 \times CH₂Ph, C-10) ; 69,0 (C-4) ; 66,6 (C-2) ; 60,1 (C-6) ; 56,1 (C-9) ; 38,2 ; 38,0 (C-3, C-5).

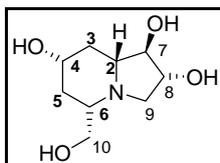
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₃₀H₃₅NO₄ (M + H)⁺: 474,2662.

calculée : 474,2644.

.....

(1R,2R,5S,7S,8aR)-5-Hydroxyméthyl-octahydroindolizine-1,2,7-triol (-)-71



C₉H₁₇NO₄ - M = 203,24 g.mol⁻¹

Le pipéridinol (-)-70 (1 éq., 0,17 mmol, 80 mg) est placé en solution dans 10 mL de méthanol avec du chlorure de palladium II (1 éq., 0,17 mmol, 30 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère d'hydrogène, à température ambiante pendant 3 jours.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite et rincé au méthanol. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. Le résidu obtenu est ensuite déposé sur une colonne de résine acide (DOWEX[®] 50WX8, 200-400 mesh, H⁺). La résine est lavée abondamment avec de l'eau distillée puis avec une solution aqueuse de NH₄OH 1N. Les fractions contenant le produit sont rassemblées et évaporées sous pression réduite. L'indolizidine polyhydroxylée (-)-71 (28 mg, 80%) est obtenue sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle

- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)

- **[α]_D²⁵** -12,0 (c 0,300 ; MeOH)

- **RMN ^1H (400MHz, MeOD)**

δ (ppm) 4,02 (m, 1H, H-8) ; 3,82-3,47 (m, 3H, H-7, H-4, H-10) ; 3,32-3,25 (m, 1H, H-10') ; 3,27 (m, 1H, H-9) ; 3,09 (m, 1H, H-9') ; 2,84-2,56 (m, 2H, H-2, H-6) ; 2,19 (m, 1H, H-3_{éq.}) ; 1,92 (m, 1H, H-5_{éq.}) ; 1,62-1,35 (m, 2H, H-3_{ax.}, H-5_{ax.}).

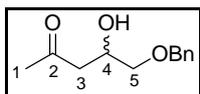
- **RMN ^{13}C (100MHz, MeOD)**

δ (ppm) 84,1 (C-7) ; 78,3 (C-8) ; 69,5 (C-2, C-4) ; 64,9 (C-10) ; 64,3 (C-6) ; 59,9 (C-9) ; 38,2 (C-3, C-5).

- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₉H₁₇NO₄ (M + H)⁺: 205,2458.

calculée : 205,2479.

5-Benzyloxy-4-hydroxy-pentan-2-one 73

L'aldéhyde **56** (1 éq., 3,33 mmol, 500 mg) est placé en solution dans 33 mL d'acétone, et du carbamate d'amine (1,1 éq., 3,66 mmol, 555 mg) est ajouté ainsi que de la *L*-proline en quantité catalytique (0,35 éq., 1,17 mmol, 134 mg). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 3 jours à température ambiante.

La proline est ensuite filtrée et le filtrat est concentré sous pression réduite.

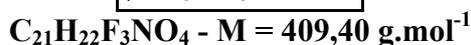
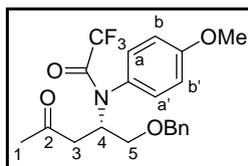
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir le composé **73** (272 mg, 30%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore
- **R_f** = 0,17 (AcOEt-Cyclohexane 3:7)
- **IR**
 ν (cm⁻¹) 3446 (**O-H**) ; 2921 (**C-H** aromatiques) ; 2862 (**C-H** aliphatiques) ; 1713 (**C=O**) ; 1454 (**C=C**) ; 1362 (**C-H**) ; 1268 (**C-O**) ; 1099 (**C-H**).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,28 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 4,50 (s, 2H, CH₂Ph) ; 4,21 (q, 1H, *J* = 6 Hz, **H-4**) ; 3,41 (m, 2H, **H-5**) ; 2,59 (m, 2H, **H-3**) ; 2,13 (s, 3H, **CH₃**).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 208,6 (**C=O**) ; 137,9 (**C ipso**) ; 128,5 ; 127,8 ; 127,8 (**C** aromatiques) ; 73,4 (**C-5**) ; 73,2 (CH₂Ph) ; 66,8 (**C-4**) ; 46,7 (**C-3**) ; 30,8 (**C-1**).
- **Masse GC-MS**
 trouvée pour C₁₂H₁₆O₃ (M + H)⁺ : 208
 calculée : 208.

.....

***N*-[(*S*)-1-Benzyloxyméthyl-3-oxo-butyl]-2,2,2-trifluoro-*N*-(4-méthoxy-phényl)-acétamide**

77



A une solution du composé **74** (1 éq., 0,32 mmol, 100 mg) dans 10 mL de dichlorométhane à 0°C sont additionnés de la triéthylamine (8 éq., 1,27 mmol, 356 μ L), et de

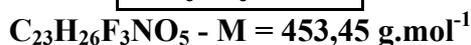
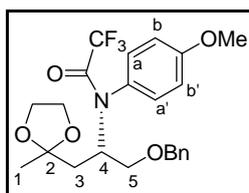
l'acide trifluoroacétique (4 éq., 1,27 mmol, 177 μ L) puis un cristal de DMAP. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est maintenu sous agitation pendant 12 heures

Les solvants sont ensuite éliminés sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir le composé **77** (105 mg, 80%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- **R_f** = 0,44 (AcOEt-Cyclohexane 3:7)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,31 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 7,15 (m, 2H, **H_b**, **H_{b'}**) ; 6,85 (m, 2H, **H_a**, **H_{a'}**) ; 5,18 (m, 1H, **H-4**) ; 4,51 (m, 2H, **CH₂Ph**) ; 3,82 (s, 3H, **OCH₃**) ; 3,51 (m, 2H, **H-5**) ; 2,63 (m, 2H, **H-3**) ; 2,13 (s, 3H, **CH₃**).

.....

N*-[(R)-2-Benzoyloxy-1-(2-méthyl-[1,3]dioxolan-2-yl)méthyl]-éthyl]-2,2,2-trifluoro-*N*-(4-méthoxy-phényl)-acetamide **78*

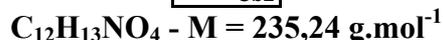
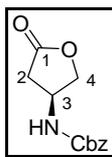


Dans un ballon surmonté d'un Dean-Stark, 41 μ L d'éthylène glycol (2 éq., 0,73 mmol, 46 mg) et 2 mg d'acide *para*-toluènesulfonique sont ajoutés à une solution du composé **77** (1 éq., 0,36 mmol, 150 mg) dans 18 mL de toluène.

Le mélange réactionnel est maintenu 12 heures au reflux du toluène. Après refroidissement à température ambiante, le milieu est traité par une solution saturée de NaHCO₃. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le composé **78** (147 mg, 90%) est isolé suffisamment pur pour être engagé dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- **R_f** = 0,45 (AcOEt-Cyclohexane 3:7)
- **IR**
 ν (cm⁻¹) 1694 (**C=O**) ; 1578-1512 (**C=C**) ; 1374-1302 (**C-H**) ; 1256-1191 (**C-O**).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,40-7,17 (m, 7H, **H** aromatiques) ; 6,86 (m, 2H, **H_a**, **H_{a'}**) ; 5,26 (m, 1H, **H-4**) ; 4,62 (m, 1H, **CH₂Ph**) ; 4,49 (m, 1H, **CH₂Ph**) ; 4,05-3,90 (m, 4H, 2 \times **OCH₂** dioxolane) ; 3,83 (s, 3H, **OCH₃**) ; 3,40 (m, 2H, **H-5**) ; 1,92 (m, 1H, **H-3**) ; 1,58 (m, 1H, **H-3'**) ; 1,32 (s, 3H, **CH₃**).

[(S)-5-Oxo-tétrahydrofuran-3-yl]-benzyloxycarbonyl **85**

A une solution du composé (-)-**83** (1 éq., 3 mmol, 800 mg) dans du diméthylformamide anhydre (8 mL), refroidie à 0°C, est ajouté de l'hydruure de sodium (1,1 éq., 3,3 mmol, 152 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C, sous atmosphère inerte (courant d'argon) pendant 15 minutes.

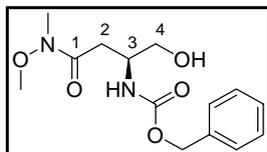
Le bromure de benzyle (1,25 éq., 3,7 mmol, 445 µL) en solution dans 7 mL de diméthylformamide est ensuite ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 4 heures.

L'excès d'hydruure de sodium est hydrolysé avec 15 mL de méthanol. Les solvants sont ensuite éliminés sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissous dans du dichlorométhane et lavé avec une solution aqueuse saturée de NaCl (3×8 mL). Les phases organiques réunies sont séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la lactone **85** (481 mg, 70%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- **R_f** = 0,38 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **IR**
 ν (cm⁻¹) 1779 (C=O lactone) ; 1694 (C=O carbamate) ; 1531-1472 (C=C) ; 1372-1348 (C-H) ; 1268 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 Le spectre RMN est identique à celui décrit dans la littérature.
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 176,1 (C=O) ; 155,7 (C=O carbamate) ; 135,9 (C ipso) ; 128,7 ; 128,4 ; 128,2 (C aromatiques) ; 73,5 (C-4) ; 67,2 (CH₂Ph) ; 48,1 (C-3) ; 34,8 (C-2).

.....

[(S)-1-Hydroxyméthyl-2-(méthoxy-méthyl-carbamoyl)-éthyl]-carbamate de benzyle (+)-**86**

A une solution de chlorure de *N,O*-diméthylhydroxylamine (2 éq., 18,7 mmol, 1,82 g) dans du dichlorométhane anhydre (90 mL) à 0°C, est additionné lentement une solution de triméthylaluminium (2 mol.L⁻¹ dans l'hexane) (2 éq., 18,7 mmol, 9,35 mL). Après 2 heures d'agitation à température ambiante, une solution de β -aminoester (-)-**83** (1 éq., 9,36 mmol, 2,5 g) dans du dichlorométhane anhydre (20 mL) est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu pendant 12 heures sous agitation à température ambiante.

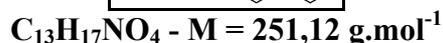
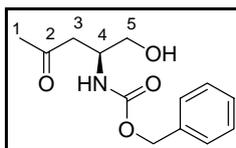
Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé à 0°C avec une solution aqueuse saturée de NH₄Cl. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×50 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt) pour fournir l'amide de Weinreb (+)-**86** (1,9 g, 70%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- **R_f** = 0,59 (AcOEt pur)
- **[α]_D²⁵** + 4,2 (c 1,03 ; CHCl₃)
- **IR**
v (cm⁻¹) 1715 (C=O carbamate) ; 1650 (C=O amide) ; 1531 ; 1455 (C=C) ; 1389 ; 1342 (C-H) ; 1255 ; 1056 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,40-7,28 (m, 5H, H aromatiques) ; 5,79 (m, 1H, NH) ; 5,08 (s, 2H, CH₂Ph) ; 4,05 (m, 1H, H-3) ; 3,75 (m, 2H, H-4) ; 3,70 (s, 3H, OCH₃) ; 3,30 (s élargi, 1H, OH) ; 3,16 (s, 3H, NCH₃) ; 2,82 (m, 2H, H-2).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 172,3 (C=O amide) ; 156,3 (C=O carbamate) ; 136,4 (C *ipso*) ; 128,5 ; 128,2 ; 128,1 (C aromatiques) ; 66,7 (CH₂Ph) ; 64,4 (C-4) ; 61,3 (OCH₃) ; 49,7 (C-3) ; 33,4 (C-2) ; 32,0 (NCH₃).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
trouvée pour C₁₄H₂₀N₂O₅ (M + Na)⁺ : 319,1283.
calculée : 319,1270.

.....

[(S)-1-Hydroxyméthyl-3-oxo-butyl]-carbamate de benzyle (+)-87****



A une solution d'amide de Weinreb (+)-**86** (1 éq., 4,7 mmol, 1,4 g) dans du tétrahydrofurane anhydre (100 mL), sous atmosphère inerte et à 0°C, est additionné lentement du bromure de méthyle magnésium (3 mol.L⁻¹ dans du tétrahydrofurane) (10 éq., 47,3 mmol,

16 mL). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes, avant d'être neutralisé à 0°C par ajout d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl (30 mL).

Les deux phases résultantes sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×50 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 9:1) pour fournir la cétone (+)-**87** (0,6 g, 50 %) sous la forme d'un solide blanc.

- **Aspect** : solide blanc.
- **Pf** = 81-81,5°C.
- **R_f** = 0,58 (AcOEt pur)
- **[α]_D²⁵** + 4,8 (c 1,01 ; CHCl₃)
- **IR** (KBr)
ν (cm⁻¹) 1712 ; 1690 (C=O) ; 1539 (C=C) ; 1316 (C-H) ; 1166; 1070 (C-O).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

L'analyse du spectre de RMN du 1H enregistré à 25°C est rendue délicate du fait de la coexistence de rotamères. Le spectre a été enregistré à 50°C. Cette température est plus proche de la libre rotation de la liaison N-CO.

δ (ppm) 7,34 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 5,38 (s élargi, 1H, **NH**) ; 5,09 (s, 2H, **CH₂Ph**) ; 4,03 (m, 1H, **H-4**) ; 3,71 (m, 2H, **H-3**) ; 2,78 (d, 2H, *J* = 6 Hz, **H-5**) ; 3,35 (s élargi, 1H, **OH**) ; 2,15 (s, 3H, **CH₃**).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 208,1 (**C-2**) ; 156,4 (C=O carbamate) ; 136,3 (**C ipso**) ; 128,5 ; 128,2 ; 128,1 (**C aromatiques**) ; 66,8 (**CH₂Ph**) ; 63,9 (**C-5**) ; 49,4 (**C-4**) ; 44,3 (**C-3**) ; 30,5 (**C-1**).

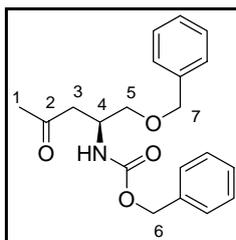
- **Masse haute résolution (HR-EIMS) :**

trouvée pour C₁₃H₁₇NO₄ (M + Na)⁺ : 274,1055

calculée : 274,1055

.....

[(S)-1-Benzoyloxyméthyl-3-oxo-butyl]-carbamate de benzyle (-)-88****



C₂₀H₂₃NO₄ - M = 341,40 g.mol⁻¹

A une solution de la cétone (+)-**87** (1 éq., 1,55 mmol, 390 mg) dans du dichlorométhane anhydre (5 mL) est ajouté du bromure de benzyle (1,5 éq., 2,33 mmol, 280 µL) et de l'oxyde d'argent (0,6 éq., 0,93 mmol, 216 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 4 heures. Du bromure de benzyle (1,5 éq., 2,33 mmol, 280 µL) et de l'oxyde d'argent (0,6 éq., 0,93 mmol, 216 mg) sont rajoutés 2 fois à des intervalles de temps de 4 heures.

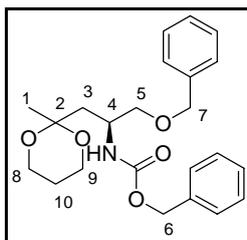
L'oxyde d'argent est ensuite filtré sur célite et rincé au dichlorométhane (3×10 mL). Le filtrat est ensuite concentré sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:9) pour fournir le composé (-)-**88** (370 mg, 70%) sous la forme d'un solide blanc.

- **Aspect** : solide blanc.
- **Pf** = 51,7°C.
- **R_f** = 0,19 (AcOEt-Cyclohexane 1:4)
- **[α]_D²⁵** – 8,5 (c 1,1 ; CHCl₃)
- **IR** (KBr)
ν (cm⁻¹) 1711 ; 1686 (C=O) ; 1543 (C=C) ; 1410 ; 1375 (C-H) ; 1268 ; 1062 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 7,40-7,27 (m, 10H, **H** aromatiques) ; 5,39 (m, 1H, **NH**) ; 5,08 (s, 2H, **CH₂Ph-6**) ; 4,48 (s, 2H, **CH₂Ph-7**) ; 4,20 (m, 1H, **H-4**) ; 3,56 (m, 2H, **H-5**) ; 2,78 (m, 2H, **H-3**) ; 2,12 (s, 3H, **CH₃**).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 207,3 (**C-2**) ; 155,7 (C=O carbamate) ; 137,8 ; 136,5 (2×C *ipso*) ; 128,5 ; 128,4 ; 128,1 ; 128,0 ; 127,8 ; 127,7 ; 126,9 (C aromatiques) ; 73,2 (**C-5**) ; 70,8 (**C-7**) ; 66,7 (**C-6**) ; 47,4 (**C-4**) ; 44,4 (**C-3**) ; 30,5 (**C-1**) .
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
trouvée pour C₂₀H₂₃NO₄ (M + Na)⁺: 364,1526
calculée : 364,1525

.....

[(S)-1-Benzylloxyméthyl-2-(2-méthyl-[1,3]dioxan-2-yl)-éthyl]-carbamate de benzyle (-)-89****



A une solution du composé **(-)-88** (1 éq., 0,504 mmol, 172 mg) dans du triméthylorthoformate (10 éq., 5,04 mmol, 552 μ L), sont ajoutés du 1,3-propanediol (10 éq., 5,04 mmol, 373 μ L) et de l'acide *para*-toluènesulfonique (0,04 éq., 0,02 mmol, 3,8 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

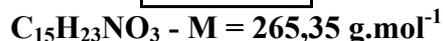
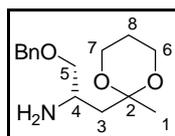
Le milieu réactionnel est dilué par du dichlorométhane (10 mL) et lavé avec une solution saturée de NaHCO₃. La phase aqueuse résultante est extraite au dichlorométhane (3 \times 10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:9) pour fournir le composé **(-)-89** (140 mg, 70%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- **R_f** = 0,20 (AcOEt-Cyclohexane 1:4)
- **[α]_D²⁵** – 18,8 (c 1,015 ; CHCl₃)
- **IR**
v (cm⁻¹) 1715 (C=O) ; 1513 (C=C) ; 1430 ; 1370 (C-H) ; 1249 ; 1094 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,40-7,25 (m, 10H, **H** aromatiques) ; 5,39 (m, 1H, **NH**) ; 5,10 (s, 2H, **CH₂Ph-6**) ; 4,52 (s, 2H, **CH₂Ph-7**) ; 4,12 (m, 1H, **H-4**) ; 3,97-3,89 (m, 2H, **H-8** ou **H-9**) ; 3,85-3,75 (m, 2H, **H-8'** ou **H-9'**) ; 3,66-3,51 (m, 2H, **H-5**) ; 2,05 (dd, 2H, *J* = 14,5 ; 5 Hz, **H-3**) ; 1,92-1,76 (m, 2H, **H-10**) ; 1,43 (s, 3H, **CH₃**).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 156 (C=O carbamate) ; 138,4 ; 136,9 (2 \times C *ipso*) ; 128,8 ; 128,5 ; 128,3 ; 127,9 ; 127,7 ; 127,5 (C aromatiques) ; 98,7 (C-2) ; 73,1 (C-5) ; 72,5 (C-7) ; 66,4 (C-6) ; 59,7 (C-8, C-9) ; 47,6 (C-4) ; 41,3 (C-3) ; 25,4 (C-10) ; 19,9 (C-1).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
trouvée pour C₂₃H₂₉NO₅ (M + Na)⁺: 422,1927
calculée : 422,1943

.....

(S)-1-Benzoyloxyméthyl-2-(2-méthyl-[1,3]dioxan-2-yl)-éthylamine (+)-31



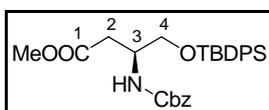
Le carbamate **(-)-89** (1 éq., 0,2 mmol, 80 mg) est placé en solution dans du méthanol (15 mL) avec du Pd/C à 10% en masse (20 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère d'hydrogène pendant 1 heure.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite et rincé au méthanol. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. L'amine benzyle (+)-**31** (45 mg, quantitatif) est obtenue sous la forme d'un solide blanc.

- **Aspect** : solide blanc.
- **Pf** = 146,4°C.
- **R_f** = 0 (AcOEt pur)
- $[\alpha]_D^{25} + 6,5$ (c 1,035 ; CHCl₃)
- **IR** (KBr)
ν (cm⁻¹) 1605 ; 1579 (C=C aromatiques) ; 1384 ; 1365 (C-H) ; 1246; 1073 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 8,19 (s élargi, 2H, NH₂) ; 7,40-7,25 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,58 [système AB, 2H, CH₂Ph, Δν = 12Hz, δ_A = 4,60 (d, 1H, J_{AB} = 12Hz), δ_B = 4,57 (d, 1H, J_{AB} = 12Hz)] ; 3,92-3,05 (m, 4H, 3×OCH dioxane, H-4) ; 3,88-3,79 (m, 2H, 1×OCH dioxane, H-5) ; 3,78-3,72 (m, 1H, H-5') ; 2,17 (m, 1H, H-3) ; 2,10-1,96 (m, 1H, H-8) ; 1,79 (dd, 1H, H-3') ; 1,46 (s, 3H, CH₃) ; 1,36 (d, 1H, H-8').
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 137,4 (C ipso) ; 128,5 ; 127,9 ; 127,8 (C aromatiques) ; 98,9 (C-2) ; 73,3 (CH₂Ph) ; 69,5 (C-5) ; 60,1 ; 60,0 (2×OCH₂ dioxane) ; 48,1 (C-4) ; 40,6 (C-3) ; 25,2 (CH₂ dioxane) ; 18,9 (C-1).
- **Masse haute résolution (HR-EIMS)** :
trouvée pour C₁₅H₂₃NO₃ (M + H)⁺: 266,1750
calculée : 266,1756

.....

(S)-3-Benzyloxycarbonylamino-4-(tert-butyldiphénylsilanyloxy)-butanoate de butyric méthyle 90



A une solution du composé (-)-**83** (1 éq., 3 mmol, 800 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (10 mL), refroidie à 0°C, est ajouté de l'imidazole (2,3 éq., 6,9 mmol, 495 mg) puis du chlorure de *tert*-butyl diphenyle silyle (2,2 éq., 6,6 mmol, 1,7 mL).

Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

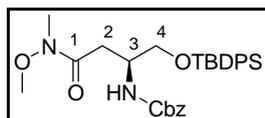
Le milieu réactionnel est ensuite traité par une solution saturée de NaHCO₃ puis extrait à l'éther (3×15 mL). Les phases organiques réunies sont séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:9) pour fournir le composé **90** (910 mg, 60%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle
- $R_f = 0,15$ (AcOEt-Cyclohexane 1:9)
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 7,43 (m, 15H, **H** aromatiques) ; 5,34 (s élargi, 1H, **NH**) ; 5,08 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,17 (m, 1H, **H-3**) ; 3,72 (m, 2H, **H-4**) ; 3,62 (s, 3H, CH_3 ester) ; 2,68 (m, 2H, **C-2**) ; 1,06 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$).
- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 171,8 (**C=O** ester) ; 155,7 (**C=O** carbamate) ; 136,5 ; 132,9 ($3\times\text{C ipso}$) ; 136,5 ; 135,5 ; 129,8 ; 128,5 ; 128,1 ; 127,8 (**C** aromatiques) ; 66,7 (**C-4**) ; 64,8 (CH_2Ph) ; 51,7 (CH_3 ester) ; 49,4 (**C-3**) ; 35,6 (**C-2**) ; 26,8 ($3\times\text{CH}_3$) ; 19,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

.....

[(S)-1-(*tert*-butyldiphénylsilanyloxyméthyl)-2-(méthoxy-méthyl-carbamoyl)-éthyl]-carbamate de benzyle 91



A une solution de chlorure de *N,O*-diméthylhydroxylamine (2 éq., 3 mmol, 290 mg) dans du dichlorométhane anhydre (15 mL) à 0°C, est additionné lentement une solution de triméthylaluminium (2 mol.L⁻¹ dans l'hexane) (2 éq., 3 mmol, 1,5 mL). Après 2 heures d'agitation à température ambiante, une solution de β -aminoester 90 (1 éq., 1,5 mmol, 750 mg) dans du dichlorométhane anhydre (3 mL) est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu pendant 12 heures sous agitation à température ambiante.

Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé à 0°C avec une solution saturée de NH_4Cl . La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×20 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

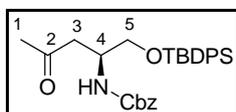
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir l'amide de Weinreb 91 (561 mg, 70%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,29$ (AcOEt-Cyclohexane 3:7)
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 769-7,61 (m, 4H, **H** aromatiques) ; 7,45-7,29 (m, 11H, **H** aromatiques) ; 5,61 (s élargi, 1H, **NH**) ; 5,07 (s, 2H, CH_2Ph) ; 4,19 (m, 1H, **H-3**) ; 3,78 (m, 2H, **H-4**) ; 3,64 (s, 3H, OCH_3) ; 3,13 (s, 3H, NCH_3) ; 2,81 (m, 2H, **H-2**) ; 1,06 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$).
- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 173,5 (**C=O** amide) ; 155,8 (**C=O** carbamate) ; 136,6 (**C ipso**) ; 134,5 (**C** aromatiques) ; 133,2 ($2\times\text{C ipso}$) ; 129,8 ; 128,5 ; 127,9 ; 127,7 (**C** aromatiques) ; 66,5

(CH₂Ph) ; 64,9 (C-4) ; 61,2 (OCH₃) ; 49,5 (C-3) ; 32,0 (NCH₃) ; 26,8 (3×CH₃) ; 19,3 (C-2) ; 19,3 (C(CH₃)₃).

.....

[(S)-1-(*tert*-butyldiphénylsilanyloxyméthyl)-3-oxo-butyl]-carbamate de benzyle 92



C₂₉H₃₅NO₄Si - M = 489,68 g.mol⁻¹

A une solution d'amide de Weinreb 91 (1 éq., 0,34 mmol, 180 mg) dans du tétrahydrofurane anhydre (7 mL), sous atmosphère inerte et à 0°C, est additionné lentement du bromure de méthyle magnésium (3 mol.L⁻¹ dans du tétrahydrofurane) (10 éq., 3,4 mmol, 1,2 mL). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 15 minutes, avant d'être neutralisé à 0°C par ajout d'une solution saturée de NH₄Cl (30 mL).

Les deux phases résultantes sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir la cétone (+)-87 (122 mg, 73 %) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- **R_f** = 0,76 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,68-7,60 (m, 4H, **H** aromatiques) ; 7,44-7,30 (m, 11H, **H** aromatiques) ; 5,30 (s élargi, 1H, **NH**) ; 5,08 (s, 2H, **CH₂Ph**) ; 4,16 (m, 1H, **H-4**) ; 3,79 (m, 2H, **H-3**) ; 2,75 (m, 2H, **H-5**) ; 2,10 (s, 3H, **CH₃**) ; 1,07 (s, 9H, 3×**CH₃**).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 207,2 (**C-2**) ; 155,8 (**C=O** carbamate) ; 136,5 (**C ipso**) ; 135,5 (**C** aromatiques) ; 133 (**C ipso**) ; 129,9 ; 128,5 ; 128,1 ; 127,8 (**C** aromatiques) ; 66,7 (**CH₂Ph**) ; 64,8 (**C-5**) ; 49,1 (**C-4**) ; 44,2 (**C-3**) ; 30,4 (**C-1**) ; 26,9 (3×**CH₃**) ; 19,3 (**C ipso**).

Evaluation des propriétés inhibitrices

I. Généralités

L'ensemble des mesures a été réalisé sur un spectrophotomètre HITACHI U-2010, équipé d'un passeur thermorégulé, dans des cuves en polystyrène à usage unique.

Les expériences ont été réalisées à 25°C dans un tampon phosphate 25 mM à pH 6,8 (3,4 g de KH_2PO_4 ; KOH 1N ; qsp 1L d'eau) sur un volume total de 1 mL. Les variations de densité optique des solutions ont été suivies à 400 nm pendant cinq minutes, excepté pour l' α -glucosidase de riz, pour laquelle vingt minutes de mesure sont nécessaires.

Les enzymes utilisées sont commercialisées par la société Sigma :

- **α -glucosidase** de levure de boulanger ; solide ; activité spécifique : 7,6 U.mg⁻¹.
- **β -glucosidase** d'amandes ; solide ; activité spécifique : 12,4 U.mg⁻¹.
- **α -galactosidase** de grains de café vert ; suspension dans une solution de sulfate d'ammonium (5,3 mg.mL⁻¹) ; activité spécifique : 11,6 U.mg⁻¹.
- **β -galactosidase** d'*Aspergillus oryzae* ; solide ; activité spécifique : 11,7 U.mg⁻¹.
- **α -mannosidase** de pois sabre (Jack beans) ; suspension dans une solution de sulfate d'ammonium (5,0 mg.mL⁻¹) ; activité spécifique : 19 U.mg⁻¹.
- **α -fucosidase** de reins de bovins ; suspension dans une solution de sulfate d'ammonium (3,2 mg.mL⁻¹) ; activité spécifique : 2 U.mg⁻¹.

Les substrats des glycosidases : *para*-nitrophényl- α -D-glucopyranoside, *para*-nitrophényl- β -D-glucopyranoside, *para*-nitrophényl- α -D-galactopyranoside, *ortho*-nitrophényl- β -D-galactopyranoside, *para*-nitrophényl- α -D-mannopyranoside, *para*-nitrophényl- α -L-fucopyranoside sont également commercialisés par la société Sigma.

II. Détermination des constantes de Michaëlis

Un volume de solution enzymatique est additionné à la quantité nécessaire de tampon de façon à atteindre les concentrations indiquées dans le tableau suivant.

Enzymes	Concentration enzymatique dans la cuve (U.mL ⁻¹)
α -glucosidase (levure de boulanger)	0,152
β -glucosidase (amandes)	0,273
α -galactosidase (grains de café vert)	0,018
β -galactosidase (<i>Aspergillus oryzae</i>)	1,638
α -mannosidase (pois sabre)	0,073
α -fucosidase (reins de bovins)	0,025

Après cinq minutes d'incubation, une quantité variable de substrat est additionnée et la variation de la densité optique de la solution est suivie par spectrophotométrie. La pente de la droite obtenue ($\Delta DO/\Delta t$) permet de calculer la vitesse de la réaction enzymatique ($\varepsilon = 18 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Enzymes	Concentration en substrat dans la cuve (mM)
α -glucosidase (levure de boulanger)	0,04 à 0,2
β -glucosidase (amandes)	0,25 à 2,5
α -galactosidase (grains de café vert)	0,2 à 1
β -galactosidase (<i>Aspergillus oryzae</i>)	0,25 à 2
α -mannosidase (pois sabre)	0,31 à 1,83
α -fucosidase (reins de bovins)	0,05 à 0,09

La représentation de Hanes-Woolf des vitesses obtenues en fonction des différentes concentrations en substrat permet de déterminer les constantes de Michaëlis de chaque glycosidases.

III. Activité restante de l'enzyme en présence d'inhibiteur

Un volume de solution enzymatique est incubé en présence d'une concentration de 1 mM en inhibiteur dans la quantité nécessaire de tampon de façon à atteindre les concentrations indiquées dans le tableau suivant.

Enzymes	Concentration enzymatique dans la cuve (U.mL ⁻¹)
α -glucosidase (levure de boulanger)	0,076
β -glucosidase (amandes)	0,136
α -galactosidase (grains de café vert)	0,018
β -galactosidase (<i>Aspergillus oryzae</i>)	1,638
α -mannosidase (pois sabre)	0,073
α -fucosidase (reins de bovins)	0,025

Une quantité de substrat est additionnée de façon à atteindre une concentration égale au K_m , après cinq et trente minutes d'incubation, pour vérifier la réversibilité de l'inhibition. La variation de la densité optique de la solution est suivie par spectrophotométrie et la vitesse de la réaction enzymatique en présence de l'inhibiteur est calculée.

Parallèlement à chacune de ces mesures, des mesures sont effectuées à cinq et trente minutes d'incubation sans inhibiteur. Le quotient de la vitesse obtenue en présence d'inhibiteur sur la vitesse obtenue en absence d'inhibiteur donne le pourcentage d'activité restante de l'enzyme.

En utilisant la relation suivante, le pourcentage d'activité restante permet d'estimer la valeur de la constante d'inhibition.

$$K_i = \frac{[I]}{\left(\frac{[S]}{K_m} + 1\right) \left(\frac{100}{\%AR} - 1\right)}$$

IV. Détermination des constantes d'inhibition

IV.1. Détermination précise

Un volume de solution enzymatique est incubé en présence de différentes concentrations en inhibiteur encadrant le K_i estimé, dans la quantité nécessaire de tampon de façon à atteindre les mêmes concentrations enzymatiques que pour la détermination des K_m .

Après cinq minutes d'incubation, une quantité variable de substrat est additionnée. La variation de la densité optique de la solution est suivie par spectrophotométrie et la vitesse de la réaction enzymatique en présence de l'inhibiteur est calculée.

Pour chaque concentration en inhibiteur, la représentation de Hanes-Woolf des vitesses obtenues en fonction des différentes concentrations en substrat permet de déterminer les constantes de Michaëlis apparentes. Le tracé de ces constantes en fonction de la concentration en inhibiteur permet de déterminer précisément les constantes d'inhibition.

IV.2. Détermination rapide

Un volume de solution enzymatique est incubé en présence d'une concentration de 1 mM en inhibiteur dans la quantité nécessaire de tampon de façon à atteindre les mêmes concentrations enzymatiques que pour la détermination des K_m .

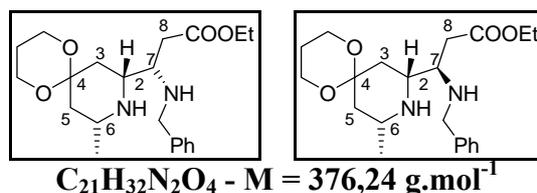
Après cinq minutes d'incubation, une quantité variable de substrat est additionnée. La variation de la densité optique de la solution est suivie par spectrophotométrie et la vitesse de la réaction enzymatique en présence de l'inhibiteur est calculée.

La représentation de Hanes-Woolf des vitesses obtenues en fonction des différentes concentrations en substrat permet de déterminer la constante de Michaëlis apparente correspondant à la concentration de 1 mM en inhibiteur.

La relation suivante permet de déterminer plus rapidement qu'avec la méthode précédente la valeur de la constante d'inhibition.

$$K_i = \frac{[I]}{\frac{K'_m}{K_m} - 1}$$

3-Benzylamino-3-(-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undéc-8-yl)-propanoate d'éthyle (±)-109



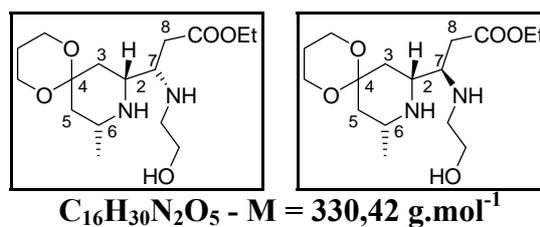
A une solution de pipéridine (±)-29 (1 éq., 1,86 mmol, 500 mg) dans de l'éthanol absolu (20 mL), de la benzyle amine (4 éq., 7,44 mmol, 810 μL) est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 40°C pendant 12 heures.

Après évaporation de l'éthanol, le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt puis AcOEt-MeOH 9:1) pour fournir le composé (±)-109 (420 mg, 60%) sous la forme de deux diastéréoisomères.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,50 (AcOEt-MeOH 5:1).
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,37-7,21 (m, 10H, **H** aromatiques) ; 4,18-4,09 (m, 4H) ; 3,99-3,69 (m, 12H) ; 3,00(m, 1H) ; 2,90 (m, 2H) ; 2,80 (m, 2H) ; 2,76-2,62 (m, 2H) ; 2,52-2,42 (m, 3H) ; 2,37 (m, 1H) ; 2,26 (m, 1H) ; 2,15 (m, 2H) ; 1,79-1,60 (m, 4H) ; 1,30-1,21 (m, 6H) ; 1,18-1,02 (m, 10H).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 172,9 ; 172,3 ; 140,6 ; 128,8 ; 128,4 ; 128,3 ; 128,2 ; 128,1 ; 127,0 ; 126,9 ; 97,8 ; 97,7 ; 60,6 ; 60,5 ; 59,3 ; 59,2 ; 59,2 ; 59,1 ; 59,0 ; 58,4 ; 55,5 ; 54,1 ; 52,0 ; 51,8 ; 47,9 ; 47,7 ; 42,1 ; 42,0 ; 35,8 ; 35,4 ; 35,1 ; 34,4 ; 25,6 ; 22,4 ; 22,3 ; 14,3 ; 14,2.
- **Masse (TOF ES +)** :
 trouvée pour $C_{21}H_{32}N_2O_4$ (M + H)⁺ : 377,2.
 calculée : 377,2.

.....

3-(2-Hydroxy-éthylamino)-3-(-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undéc-8-yl)-propanoate d'éthyle (±)-110



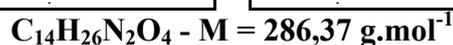
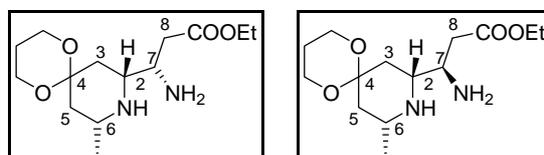
A une solution de la pipéridine (±)-29 (1 éq., 1,10 mmol, 297 mg) dans 10 mL d'éthanol absolu, de l'éthanolamine (3,5 éq., 3,85 mmol, 235 μL) est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 40°C pendant 30 heures.

Après évaporation de l'éthanol, le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel d'alumine (éluant : AcOEt) pour fournir le composé (±)-**110** (156 mg, 43%) sous la forme de deux diastéréoisomères.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- $R_f = 0,40$ (AcOEt-MeOH 1:1).
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 4,21-4,10 (m, 4H) ; 3,92 (m, 4H) ; 3,86 (m, 4H) ; 3,61 (m, 4H) ; 2,99 (m, 1H) ; 2,92-2,79 (m, 6H) ; 2,78-2,67 (m, 3H) ; 2,65-2,56 (m, 2H) ; 2,47-2,32 (m, 3H) ; 2,28 (m, 2H) ; 2,22-2,12 (m, 3H) ; 1,74-1,64 (m, 4H) ; 1,27-1,20 (m, 6H) ; 1,15-1,01 (m, 10H).
- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 172,9 ; 172,3 ; 97,6 ; 97,4 ; 61,9 ; 61,3 ; 60,5 ; 60,3 ; 58,8 ; 58,0 ; 55,6 ; 54,5 ; 49,4 ; 49,1 ; 47,9 ; 47,7 ; 41,3 ; 41,1 ; 39,1 ; 36,3 ; 25,5 ; 22,2 ; 22,1 ; 14,2.
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :
 trouvée pour $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺ : 331,2223.
 calculée : 331,2233.

.....

3-Amino-3-(-10-méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5,5]undéc-8-yl) propanoate d'éthyle (±)-114****



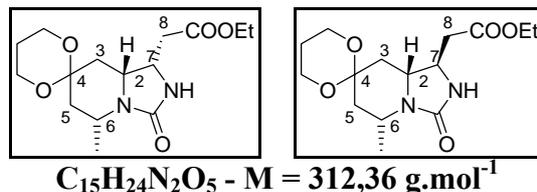
A une solution de la pipéridine (±)-**109** (1 éq., 0,16 mmol, 60 mg) dans du méthanol (20 mL) une quantité catalytique de Pd/C à 10% (16 mg) est ajoutée. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite, rincé au dichlorométhane et les solvants sont évaporés. La pipéridine (±)-**114** (44 mg, 95%) est obtenue sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères. Le produit ainsi obtenu est engagé directement dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,1$ (AcOEt-MeOH 5:1)
- **Masse (TOF ES +)** :
 trouvée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺ : 287,2.
 calculée : 287,4.

.....

(5'-Méthyl-6'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-115



A une solution de la pipéridine (±)-114 (1 éq., 0,24 mmol, 70 mg) dans du dichlorométhane anhydre (15 mL), sous atmosphère inerte (sous argon) et refroidie à 0°C, de la triéthylamine (1 éq., 0,240 mmol, 33 µL) et du triphosgène (1 éq., 0,24 mmol, 70 mg) en solution dans 1 mL dichlorométhane sont additionnés. De la triéthylamine (6 éq., 1,44 mmol, 200 µL) est ajoutée puis le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 6 heures.

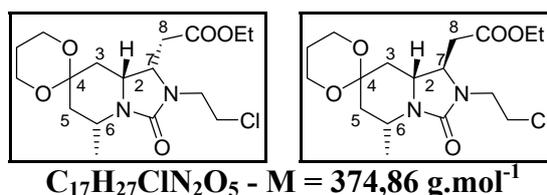
Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques sont réunies puis lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl et ensuite séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 9:1) pour fournir le composé (±)-115 (48 mg, 65%) sous la forme de deux diastéréoisomères.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,45 (AcOEt-MeOH 5:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 4,27-4,09 (m, 4H) ; 3,99-3,83 (m, 8H) ; 3,25 (m, 1H) ; 3,05 (m, 1H) ; 2,88 (m, 2H) ; 2,77 (m, 1H) ; 2,69-2,57 (m, 3H) ; 2,50 (m, 1H) ; 2,42-2,28 (m, 3H) ; 2,28-2,16 (m, 4H) ; 1,76-1,68 (m, 4H) ; 1,26 (m, 6H) ; 1,23-1,05 (m, 10H).
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :
 trouvée pour $C_{15}H_{24}N_2O_5$ (M + H)⁺ : 313,1764.
 calculée : 313,1763.

.....

(2'-Chloroéthyl-5'-méthyl-6'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-116



A une solution de la pipéridine (±)-110 (1 éq., 0,31 mmol, 102 mg) dans du dichlorométhane anhydre (30 mL) sous atmosphère inerte (sous argon), refroidie à 0°C, de la triéthylamine (1 éq., 0,31 mmol, 43 µL) et du triphosgène (1,1 éq., 0,34 mmol, 101 mg) en solution dans 5 mL de dichlorométhane sont additionnés. De la triéthylamine (6 éq.,

1,86 mmol, 258 μ L) est ajouté puis le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 36 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 30 mL). Les phases organiques sont réunies puis lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl et ensuite séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 4:1) pour fournir les deux diastéréoisomères du composé (\pm)-**116** (81 mg, 70%) dans un rapport 70/30.

- **Aspect** : huile incolore.

- **R_f** = 0,65 (AcOEt).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 4,24-4,14 (m, 2H_a, 2H_b) ; 3,96-3,85 (m, 4H_a, 4H_b) ; 3,72-3,58 (m, 5H_a, 5H_b) ; 3,36-3,14 (m, 2H_a, 2H_b) ; 2,67 (m, 1H_a) ; 2,58-2,49 (m, 1H_a, 2H_b) ; 2,41 (m, 1H_a) ; 2,25-2,13 (m, 1H_a, 2H_b) ; 1,80-1,69 (m, 2H_a, 2H_b) ; 1,61 (d, 3H_a, $J = 7$ Hz) ; 1,59 (d, 3H_b, $J = 7$ Hz) ; 1,49-1,34 (m, 2H_a, 2H_b) ; 1,32-1,26 (m, 3H_a, 3H_b).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 170,7 ; 159,0 ; 96,6 ; 61,0 ; 59,4 ; 59,1 ; 57,5 ; 55,9 ; 55,3 ; 53,3 ; 48,6 ; 48,3 ; 43,5 ; 42,4 ; 42,3 ; 41,4 ; 41,1 ; 36,8 ; 36,0 ; 25,4 ; 19,3 ; 18,6 ; 14,2.

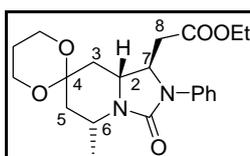
- **Masse (TOF ES +)** :

trouvée pour C₁₇H₂₇ClN₂O₅ (M + Na)⁺ : 397,3.

calculée : 397,8.

.....

(5'-Méthyl-6'-oxo -2'-phénylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (\pm)-118****



C₂₁H₂₈N₂O₅ - M = 388,46 g.mol⁻¹

La pipéridine (\pm)-**29** (1 éq., 0,186 mmol, 50 mg) est placée en solution dans 5 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère inerte (sous argon) puis de la triéthylamine (1,1 éq., 0,205 mmol, 29 μ L) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis l'isocyanate de phényle (1,1 éq., 0,205 mmol, 23 μ L) est rajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

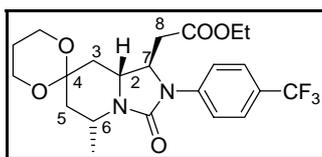
Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 5 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir le composé (\pm)-**118** (62 mg, 85%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,54 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **IR**
ν (cm⁻¹) 1728 ; 1694 (C=O) ; 1503 ; 1422 (C=C aromatiques) ; 1365 ; 1330 (C-H) ; 1257 ; 1049 (C-O).
- **RMN ¹H (400MHz, C₆D₆)**
δ (ppm) 7,64 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,16 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 6,88 (m, 1H, **H** aromatique) ; 3,92 (td, 1H, *J* = 9,5 ; 3 Hz, **H-7**) ; 3,67 (q, 2H, *J* = 7 Hz, CH₂ ester) ; 3,43-3,34 (m, 3H, 3×OCH₂ dioxane) ; 3,32-3,15 (m, 3H, OCH₂ dioxane, **H-2**, **H-6**) ; 2,40 (dd, 1H, *J* = 16,5 ; 3 Hz, **H-8**) ; 2,30 (td, 1H, *J* = 13 ; 3 Hz, **H-3éq.**) ; 2,12 (dd, 1H, *J* = 16,5 ; 9,5 Hz, **H-8'**) ; 1,97 (td, 1H, *J* = 13 ; 2,5 Hz, **H-5éq.**) ; 1,70 (d, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃) ; 1,37 (dd, 1H, *J* = 13 ; 12 Hz, **H-5ax.**) ; 1,28 (dd, 1H, *J* = 13 ; 12 Hz, **H-3ax.**) ; 1,12-1,04 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 0,72 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃ ester).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
δ (ppm) 171,1 (C=O ester) ; 156,7 (C=O urée) ; 138,1 (C *ipso*) ; 128,9 ; 128,4 ; 124,2 ; 121,9 ; 121,7 (C aromatiques) ; 96,7 (C-4) ; 60,9 (CH₂ ester) ; 59,5 ; 59,3 (2×OCH₂ dioxane) ; 56,9 (C-2) ; 55,8 (C-7) ; 48,9 (C-6) ; 41,4 (C-3) ; 36,5 (C-5) ; 36,3 (C-8) ; 25,4 (CH₂ dioxane) ; 18,6 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :
trouvée pour C₂₁H₂₈N₂O₅ (M + H)⁺ : 389,2057.
calculée : 389,2076.

.....

(5'-Méthyl-6'-oxo-2'(4-trifluorométhylphényl)hexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-120



La pipéridine (±)-29 (1 éq., 0,26 mmol, 70 mg) est placée en solution dans 7 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère inerte (sous argon) et est ajoutée goutte à goutte de la triéthylamine (1,2 éq., 0,312 mmol, 44 µL). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis l'isocyanate de *para*-trifluorophényle (1,2 éq., 0,312 mmol, 40 µL) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir le composé (±)-120 (71 mg, 60%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,63 (AcOEt-Cyclohexane 1:1).
- **IR**
ν (cm⁻¹) 1717 (C=O) ; 1616 ; 1525 (C=C aromatique).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,65-7,53 (m, 4H, **H** aromatiques) ; 4,22 (dt, 1H, *J* = 9,5 ; 3 Hz, **H-7**) ; 4,14 (q, 2H, *J* = 7 Hz, **CH₂** ester) ; 3,97-3,86 (m, 4H, **OCH₂** dioxane) ; 3,49-3,41 (m, 2H, **H-2**, **H-6**) ; 2,73 (m, 1H, **H-8**) ; 2,61-2,52 (m, 2H, **H-8'**, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 2,20 (m, 1H, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 1,81-1,71 (m, 2H, **CH₂** dioxane) ; 1,68 (d, 3H, *J* = 7 Hz, **CH₃**) ; 1,56-1,41 (m, 2H, **H-3ax.**, **H-5ax.**) ; 1,25 (t, 3H, *J* = 7 Hz, **CH₃** ester).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 170,6 (C=O ester) ; 155,8 (C=O urée) ; 141,6 (C *ipso*) ; 126,1 ; 126,0 ; 119,6 (C aromatiques) ; 96,5 (C-4) ; 61,3 (CH₂ ester) ; 59,5 ; 59,3 (2×OCH₂ dioxane) ; 56,9 (C-2) ; 55,0 (C-7) ; 49,1 (C-6) ; 41,1 (C-3 ou C-5) ; 36,6 (C-8) ; 35,9 (C-3 ou C-5) ; 25,4 (CH₂ dioxane) ; 18,4 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).

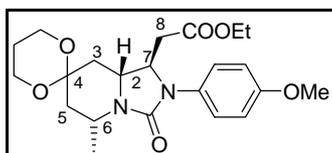
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour C₂₂H₂₇F₃N₂O₅ (M + Na)⁺ : 479,1777.

calculée : 479,1770.

.....

(2'-(4-Méthoxybenzyl)-5'-méthyl-6'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-**122**



C₂₂H₃₀N₂O₆ - M = 418,48 g.mol⁻¹

La pipéridine (±)-**29** (1 éq., 0,26 mmol, 70 mg) est placée en solution dans 7 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère inerte (sous argon) puis de la triéthylamine (1,2 éq., 0,312 mmol, 44 µL) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis l'isocyanate de *para*-méthoxy phényle (1,2 éq., 0,312 mmol, 41 µL) est ajouté goutte à goutte. Le mélange est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir le composé (±)-**122** (65 mg, 60%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,41$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1).

- **IR**

ν (cm^{-1}) 1715 (C=O ester) ; 1694 (C=O urée) ; 1610 ; 1585 (C=C aromatique) ; 1251 ; 1095 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,23 (d, 2H, $J = 9 \text{ Hz}$, H aromatiques) ; 6,85 (d, 2H, $J = 9 \text{ Hz}$, H aromatiques) ; 4,10-4,01 (m, 3H, H-7, CH_2 ester) ; 3,96-3,86 (m, 4H, OCH_2 dioxane) ; 3,76 (s, 3H, OCH_3) ; 3,42-3,35 (m, 2H, H-2, H-6) ; 2,66-2,60 (m, 1H, H-8) ; 2,56-2,45 (m, 2H, H-8', H-3 $\acute{e}q.$ ou H-5 $\acute{e}q.$) ; 2,17 (m, 1H, H-3 $\acute{e}q.$ ou H-5 $\acute{e}q.$) ; 1,81-1,69 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,64 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3) ; 1,55-1,43 (m, 2H, H-3 ax. , H-5 ax.) ; 1,21 (t, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3 ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 170,7 (C=O ester) ; 156,9 (C=O urée) ; 130,9 (C *ipso*) ; 125,0 ; 114,2 (C aromatiques) ; 96,6 (C-4) ; 60,8 (CH_2 ester) ; 59,4 ; 59,2 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 57,0 (C-2) ; 56,8 (C-7) ; 55,4 (OCH_3) ; 48,8 (C-6) ; 41,4 (C-3 ou C-5) ; 36,5 (C-8) ; 36,4 (C-3 ou C-5) ; 25,4 (CH_2 dioxane) ; 18,7 (CH_3) ; 14,1 (CH_3 ester).

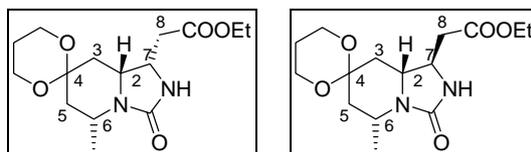
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$ (M + H) $^+$: 419,2183.

calculée : 419,2182.

.....

(5'-Méthyl-6'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl)
acétate d'éthyle (\pm)-**115**



$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ - M = 312,36 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

A une solution de la pipéridine (\pm)-**29** (1 $\acute{e}q.$, 0,186 mmol, 50 mg) dans du dichlorométhane anhydre (5 mL), sous atmosphère inerte (sous argon), est ajouté goutte à goutte de la triéthylamine (1,1 $\acute{e}q.$, 0,205 mmol, 29 μL). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis l'isocyanate de trichloroacétyle (1,1 $\acute{e}q.$, 0,205 mmol, 25 μL) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt) pour fournir le composé (\pm)-**115** (45 mg, 78%) sous la forme de deux diastéréoisomères dans un rapport 4/1 ((\pm)-**115a** diastéréoisomère majoritaire, (\pm)-**115b** diastéréoisomère minoritaire).

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,43$ (AcOEt)

- **IR**

ν (cm^{-1}) 1715 (C=O ester) ; 1698 (C=O urée) ; 1260 ; 1095 (C-O).

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 4,89 (se, 1H_b, NH_b) ; 4,84 (se, 1H_a, NH_a) ; 4,21-4,09 (m, 2H_a, 2H_b, CH₂ ester) ; 4,00-3,82 (m, 4H_a, 5H_b, 2×OCH_{2a} dioxane, 2×OCH_{2b} dioxane, H-7_b) ; 3,71 (m, 1H_b, H-2_b) ; 3,58-3,50 (m, 1H_a, H-7_a) ; 3,33-3,20 (m, 2H_a, 1H_b, H-2_a, H-6_a, H-6_b) ; 2,61-2,42 (m, 2H_a, 2H_b, H-8_a, H-8_b) ; 2,33-2,29 (m, 2H_a, 1H_b, H-3_aéq., H-5_aéq., H-5_béq.) ; 2,10 (m, 1H_b, H-3_béq.) ; 1,83-1,65 (m, 2H_a, 2H_b, CH_{2a} dioxane, CH_{2b} dioxane) ; 1,64-1,59 (m, 3H_a, 3H_b, CH_{3a}, CH_{3b}) ; 1,52-1,30 (m, 2H_a, 2H_b, H-3_aax., H-5_aax., H-3_bax. et H-5_bax.) ; 1,31-1,23 (t, 3H_a, 3H_b, CH_{3a} ester, CH_{3b} ester).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 171,4 ; 171,1 (C=O ester) ; 160,7 (C=O urée) ; 96,6 (C-4) ; 61,0 (CH_{2a} ester) ; 60,4 (CH_{2b} ester) ; 59,5 ; 59,4 (2×OCH_{2b} dioxane) ; 59,4 ; 59,3 (2×OCH_{2a} dioxane) ; 59,1 (C-2_a) ; 56,2 (C-2_b) ; 52,0 (C-7) ; 48,8 (C-6_b) ; 48,1 (C-6_a) ; 41,0 (C-3_a) ; 40,6 (C-3_b) ; 38,7 (C-8) ; 36,8 (C-5) ; 25,4 (CH₂ dioxane) ; 19,3 (CH_{3b}) ; 19,0 (CH_{3a}) ; 14,2 (CH₃ ester).

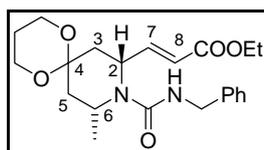
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour C₁₅H₂₄N₂O₅ (M + H)⁺ : 313,1764.

calculée : 313,1763.

.....

(E)-3-(9-Benzylcarbamoyl-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undéc-8-yl)-acrylate d'éthyle (±)-124



C₂₂H₃₀N₂O₅ - M = 402,48 g.mol⁻¹

La pipéridine (±)-29 (1 éq., 0,56 mmol, 150 mg) est placée en solution dans 15 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère inerte (sous argon) puis est ajoutée goutte à goutte de la triéthylamine (1,1 éq., 0,613 mmol, 85 μL). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante, puis de l'isocyanate de benzyle (1,1 éq., 0,613 mmol, 77 μL) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures. Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×15 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir l'urée (±)-124 (155 mg, 70%).

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- $R_f = 0,30$ (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

• **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,35-7,20 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 7,06 (dd, 1H, *J* = 16 ; 6 Hz, **H-7**) ; 5,91 (dd, 1H, *J* = 16 ; 1,5 Hz, **H-8**) ; 5,00 (m, 1H, **H-2**) ; 4,84 (m, 1H, NH) ; 4,40 (m, 2H, CH₂Ph) ; 4,20 (m, 1H, **H-6**) ; 4,16 (q, 2H, *J* = 7 Hz, CH₂ ester) ; 3,91-3,82 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 2,32 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 2,05 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,96 (dd, 1H, *J* = 14 ; 7 Hz, **H-3ax.**) ; 1,90 (dd, 1H, *J* = 14 ; 7 Hz, **H-5ax.**) ; 1,74-1,64 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,33 (d, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃) ; 1,27 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃ ester).

• **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

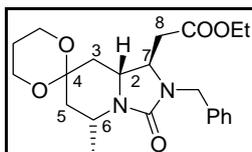
δ (ppm) 166,3 (C=O ester) ; 157,3 (C=O urée) ; 150,1 (C-7) ; 139,3 (C ipso) ; 128,6 ; 127,6 ; 127,2 (C aromatiques) ; 121,4 (C-8) ; 96,1 (C-4) ; 60,4 (CH₂ ester) ; 59,6 ; 59,5 (2×OCH₂ dioxane) ; 50,9 (C-2) ; 46,2 (C-6) ; 45,0 (CH₂Ph) ; 36,7 (C-3) ; 36,0 (C-5) ; 25,2 (CH₂ dioxane) ; 22,1 (CH₃) ; 14,2 (CH₃ ester).

• **Masse haute résolution (TOF ES +) :**

trouvée pour C₂₈H₃₂N₂O₅ (M + Na)⁺ : 425,2060.
calculée : 425,2052.

.....

(2'-Benzyl-5'-méthyl-6'-oxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-**125**



C₂₂H₃₀N₂O₅ - M = 402,48 g.mol⁻¹

L'urée (±)-**124** (1 éq., 0,38 mmol, 155 mg) est solubilisée dans du toluène puis du DBU (6 éq., 2,23 mmol, 335 µL) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation au reflux pendant 12 heures, puis le milieu est concentré sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (±)-**125** (122 mg, 80%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

• **Aspect** : huile jaune pâle.

• **R_f** = 0,48 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

• **IR**

ν (cm⁻¹) 1715 (C=O ester) ; 1698 (C=O, urée) ; 1255 ; 1100 (C-O).

• **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,34-7,20 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 6,64 (d, 1H, *J* = 15,5 Hz, CH₂Ph) ; 4,11-4,05 (m, 3H, CH₂ ester, CH₂Ph) ; 3,93-3,81 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,38-3,24 (m, 3H, **H-2**, **H-6**, **H-7**) ; 2,58-2,50 (m, 1H, **H-8**) ; 2,44-2,36 (m, 1H, **H-8'**) ; 2,35 (td, 1H, *J* = 13 ; 2,5 Hz, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 2,15 (td, 1H, *J* = 13 ; 2,5 Hz, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 1,79-1,60

(m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,68 (d, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃) ; 1,44 (m, 1H, **H-3ax.** ou **H-5ax.**) ; 1,27 (m, 1H, **H-3ax.** ou **H-5ax.**) ; 1,21 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃ ester).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 170,6 (C=O ester) ; 159,2 (C=O urée) ; 137,6 (C *ipso*) ; 128,6 ; 127,9 ; 127,3 (C aromatiques) ; 96,7 (C-4) ; 60,8 (CH₂ ester) ; 59,4 ; 59,3 (2×OCH₂ dioxane) ; 57,2 (C-2) ; 54,8 (C-7) ; 48,6 (C-6) ; 45,2 (CH₂Ph) ; 41,7 (C-3 ou C-5) ; 36,3 (C-3 ou C-5) ; 35,9 (C-8) ; 25,4 (CH₂ dioxane) ; 18,8 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).

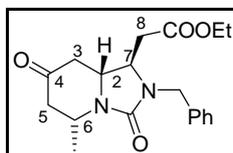
- **Masse haute résolution (TOF ES +) :**

trouvée pour C₂₂H₃₀N₂O₅ (M + H)⁺ : 403,2252.

calculée : 403,2233.

.....

**(2-Benzyl-5-méthyl-3,7-dioxooctahydroimidazo[1,5a]pyridin-1-yl) acétate d'éthyle (±)-
126**



C₁₉H₂₄N₂O₄ - M = 344,17 g.mol⁻¹

La pipéridine (±)-125 (1 éq., 0,248 mmol, 100 mg) est placée en solution dans 20 mL de dichlorométhane et 656 µL d'une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique à 50% (11,6 éq., 2,88 mmol) est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 3 jours.

Le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄ et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir la pipéridone (±)-126 (77 mg, 90%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,40 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **IR**

ν (cm⁻¹) 1723 ; 1700 (C=O) ; 1280 ; 1140 (C-O).

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

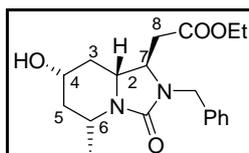
δ (ppm) 7,34-7,24 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,71 (d, 1H, *J* = 15,5 Hz, CH₂Ph) ; 4,16-4,05 (m, 3H, CH₂ ester, CH₂Ph) ; 3,75-3,60 (m, 2H, **H-2**, **H-6**) ; 3,41 (m, 1H, **H-7**) ; 2,66-2,41 (m, 5H, **H-8**, **H-3éq.**, **H-5éq.**, **H-3ax.** ou **H-5ax.**) ; 2,25 (dd, 1H, *J* = 15 ; 12 Hz, **H-3ax.** ou **H-5ax.**) ; 1,62 (d, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃) ; 1,23 (t, 3H, *J* = 7 Hz, CH₃ ester).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 206,3 (C=O cétone) ; 170,2 (C=O ester) ; 158,8 (C=O urée) ; 137,0 (C *ipso*) ; 128,8 ; 127,9 ; 127,7 (C aromatiques) ; 61,1 (CH₂ ester) ; 58,2 (C-2) ; 56,1 (C-7) ; 49,5 (C-6) ; 47,8 (C-8) ; 45,5 (CH₂Ph) ; 44,9 (C-3) ; 36,2 (C-5) ; 20,3 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).

.....

(2-Benzyl-7-hydroxy-5-méthyl-3-oxooctahydroimidazo[1,5a]pyridin-1-yl) acétate d'éthyle (±)-127



C₁₉H₂₆N₂O₄ - M = 346,42 g.mol⁻¹

La pipéridone (±)-126 (1 éq., 0,41 mmol, 140 mg) est placée en solution dans du méthanol (10 mL), sous atmosphère inerte, à -10°C, puis NaBH₄ (1 éq., 0,41 mmol, 16 mg) est ajouté par petites fractions. Le milieu réactionnel est maintenu à -10°C pendant 30 minutes.

Le méthanol est ensuite évaporé. Le résidu obtenu est dissout dans l'eau (1 mL) et la phase aqueuse extraite à l'acétate d'éthyle (4×10 mL). Les phases organiques sont réunies puis lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl et ensuite séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le pipéridinol (±)-127 (121 mg, 85%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,17 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,35-7,20 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,65 (m, 1H, CH₂Ph) ; 4,14-4,03 (m, 3H, CH₂ ester, CH₂Ph) ; 3,72 (m, 1H, H-4) ; 3,38 (m, 1H, H-7) ; 3,19-3,08 (m, 2H, H-2, H-6) ; 2,58-2,49 (m, 1H, H-8) ; 2,45-2,37 (m, 1H, H-8') ; 1,98 (m, 1H, H-3éq. ou H-5éq.) ; 1,92 (m, 1H, H-3éq. ou H-5éq.) ; 1,68 (d, 3H, J = 7 Hz, CH₃) ; 1,35 (q, 1H, J = 11,5 Hz, H-3ax. ou H-5ax.) ; 1,25-1,18 (m, 4H, H-3ax. ou H-5ax., CH₃ ester).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 170,6 (C=O ester) ; 159,4 (C=O urée) ; 137,4 (C *ipso*) ; 128,8 ; 127,9 ; 127,8 (C aromatiques) ; 68,1 (C-4) ; 60,9 (CH₂ ester) ; 58,9 (C-2) ; 55,1 (C-7) ; 50,6 (C-6) ; 45,3 (C-8) ; 43,4 (CH₂Ph) ; 38,4 (C-3) ; 36,2 (C-5) ; 19,1 (CH₃) ; 14,1 (CH₃ ester).

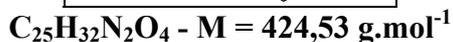
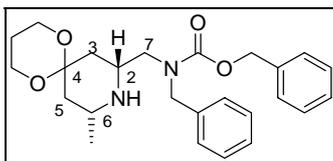
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour C₁₉H₂₆N₂O₄ (M + Na)⁺ : 369,1774.

calculée : 369,1790.

.....

***N*-Benzyl-*N*-benzyloxycarbamate-1-(10-méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5,5]undéc-8-yl)méthanamine (±)-131**



A une solution d'amine méthyle (±)-28 (1 éq., 1,16 mmol, 185 mg) dans du dichlorométhane anhydre (8 mL) sont ajoutés successivement l'aldéhyde (±)-130 (1,05 éq., 1,22 mmol, 345 mg) puis du sulfate de magnésium anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux du dichlorométhane pendant 2 heures, sous atmosphère inerte.

Parallèlement, l'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate (2 éq., 2,66 mmol, 506 mg) est déshydraté par distillation azéotropique avec du toluène (10 mL) au moyen d'un montage Dean-Stark pendant 4 heures.

Les deux milieux réactionnels sont refroidis à température ambiante, puis l'imine est ajoutée dans l'acide *para*-toluènesulfonique déshydraté sous courant d'argon, au moyen d'une canule. Le mélange réactionnel obtenu est chauffé à 60°C pendant 2 heures.

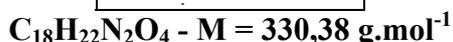
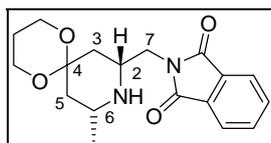
Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (10 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont lavées par une solution aqueuse saturée de NaCl (2×10 mL), puis séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt puis AcOEt-MeOH 5:1) pour fournir la pipéridine (±)-131 (123 mg, 25%) sous la forme d'une huile jaune.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,36$ (AcOEt-MeOH 5:1)
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**
 δ (ppm) 7,46-7,14 (m, 10H, H aromatiques) ; 5,20 (m, 2H, CH_2Ph) ; 4,58 (m, 2H, CH_2Ph) ; 3,90-3,67 (m, 6H, OCH_2 dioxane, H-2, H-6) ; 3,40 (m, 2H, H-7) ; 3,08 (m, 1H, H-3éq. ou H-5éq.) ; 2,79 (m, 1H, H-3éq. ou H-5éq.) ; 1,78-1,55 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,24-0,94 (m, 5H, CH_3 H-3ax. et H-5ax.).

.....

2-(-10-Méthyl-1,5-dioxa-9-azaspiro[5.5]undéc-8-yl)méthyl]-1*H*-isoindole-1,3(2*H*)-dione (±)-136



A une solution d'amine méthyle (±)-28 (1 éq., 2,04 mmol, 325 mg) dans du dichlorométhane anhydre (20 mL) sont ajoutés successivement l'aldéhyde (±)-133 (1,1 éq.,

2,16 mmol, 410 mg) puis du sulfate de magnésium anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux du dichlorométhane pendant 5 heures, sous atmosphère inerte.

Parallèlement, l'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate (2 éq., 4,08 mmol, 775 mg) est déshydraté par distillation azeotropique avec du toluène (20 mL) au moyen d'un montage Dean-Stark pendant 4 heures.

Les deux milieux réactionnels sont refroidis à température ambiante, puis l'imine est ajoutée dans l'acide *para*-toluènesulfonique déshydraté sous courant d'argon, au moyen d'une canule. Le mélange réactionnel obtenu est chauffé à 60°C pendant 2 heures.

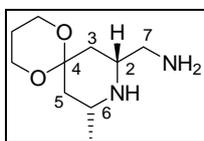
Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (20 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×20 mL). Les phases organiques réunies sont lavées par une solution aqueuse saturée de NaCl (2×10 mL), puis séchées et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt puis AcOEt-MeOH 5:1) pour fournir la pipéridine (±)-**136** (269 mg, 40%) sous la forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- **R_f** = 0,38 (AcOEt-MeOH 5:1)
- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,83 (dd, 2H, $J = 5,5$; 3 Hz, **H** aromatiques); 7,71 (dd, 2H, $J = 5,5$; 3 Hz, **H** aromatiques); 3,90 (m, 2H, OCH₂ dioxane); 3,84 (m, 2H, OCH₂ dioxane); 3,44-3,40 (m, 2H, **H-7**); 3,25-3,18 (m, 1H, **H-2**); 2,95-2,87 (m, 1H, **H-6**); 2,29 (dt, 1H, $J = 13$; 2,5 Hz, **H-3éq.**); 2,23 (dt, 1H, $J = 13$; 2,5 Hz, **H-5éq.**); 1,80 (m, 1H, CH₂ dioxane); 1,69 (m, 1H, CH₂ dioxane); 1,29 (m, 1H, **H-3ax.**); 1,24 (m, 1H, **H-5ax.**); 1,14 (d, 3H, $J = 7$ Hz, CH₃).
- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 167,6 (C=O); 134,5; 133,9 (C aromatiques); 132,1; 131,8 (C *ipso*); 124,0; 123,4; (C aromatiques); 97,2 (C-4); 59,2; 59,1 (2×OCH₂ dioxane); 56,3 (C-2); 48,0 (C-6); 41,3 (C-7); 37,5 (C-3); 34,7 (C-5); 25,5 (CH₂ dioxane); 14,2 (CH₃).

.....

1-(10-Méthyl-1,5-dioxa-9-azapsiro[5,5]undec-8-yl)méthanamine (±)-**137**



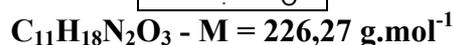
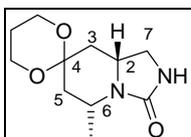
A une solution de la pipéridine (±)-**136** (1 éq., 0,34 mmol, 112 mg) dans du méthanol (8 mL) est ajouté de l'hydrate d'hydrazine (2éq., 0,68 mmol, 33 mL). Le milieu réactionnel est maintenu 3 heures au reflux, puis le méthanol est éliminé.

Le milieu est neutralisé avec une solution de KOH 2,6N, la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×15 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrés et concentrés sous pression réduite pour donner la pipéridine (±)-**137** (47mg, 70%). La pipéridine (±)-**137** est engagée directement dans l'étape suivante.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,38$ (AcOEt-MeOH 5:1)

.....

5-Méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-3'-one (±)-138



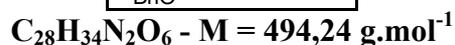
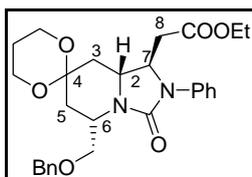
A une solution de la pipéridine (±)-137 (1 éq., 0,23 mmol, 46,1 mg) dans le dichlorométhane anhydre (6 mL) est ajouté du CDI (4 éq., 0,92 mmol, 153 mg). Le mélange est maintenu sous agitation pendant 15 heures.

Puis le milieu est neutralisé avec une solution d'HCl 0,5N. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL), les phases organiques réunies sont séchées, puis concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt) pour donner l'urée (±)-138 (40 mg, 77%) sous forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,45$ (AcOEt-MeOH 5:1)
- **RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$)**
 δ (ppm) 4,82 (m, 1H, NH) ; 3,98-3,83 (m, 4H, OCH_2 dioxane) ; 3,62 (m, 1H, H-2) ; 3,40 (m, 1H, H-7) ; 3,34-3,25 (m, 1H, H-6) ; 2,96 (m, 1H, H-7') ; 2,23 (dt, 1H, $J = 13$; 2,5 Hz, H-3éq.) ; 2,20 (dt, 1H, $J = 13,5$; 2,5 Hz, H-5éq.) ; 1,77-1,69 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,60 (d, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3) ; 1,45 (m, 1H, H-3ax.) ; 1,37 (dd, 1H, $J = 13,5$; 13 Hz, H-5ax.).
- **RMN ^{13}C (100MHz, $CDCl_3$)**
 δ (ppm) 162,4 (C=O urée) ; 96,7 (C-4) ; 59,4 ($2 \times OCH_2$ dioxane) ; 54,4 (C-2) ; 48,3 (C-6) ; 44,0 (C-7) ; 41,5 (C-3) ; 36,9 (C-5) ; 25,4 (CH_2 dioxane) ; 19,0 (CH_3 ester).

.....

(5'-Benzyloxyméthyl-6'-oxo-2'-phénylhexaspiro[1,3-dioxan-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (±)-140



La pipéridine (±)-61 (1 éq., 0,067 mmol, 25 mg) est placée en solution dans 3 mL de dichlorométhane anhydre sous atmosphère inerte (sous argon) et est ajouté goutte à goutte de

la triéthylamine (1,1 éq., 0,074 mmol, 10 μ L). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis l'isocyanate de phényle (1,1 éq., 0,074 mmol, 8 μ L) est rajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 5 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 3:7) pour fournir le composé (\pm)-**140** (27 mg, 80%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- **R_f** = 0,50 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,41 (m, 1H, **H** aromatique) ; 7,38-7,29 (m, 8H, **H** aromatiques) ; 7,10 (m, 1H, **H** aromatique) ; 4,60 (d, 2H, **CH₂Ph**) ; 4,32 (m, 1H, **H-9**) ; 4,20 (m, 1H, **H-7**) ; 4,15-4,06 (m, 3H, **H-9'**, **CH₂ ester**) ; 4,00-3,86 (m, 4H, 2 \times OCH₂ dioxane) ; 3,51 (m, 2H, **H-2**, **H-6**) ; 2,68 (m, 1H, **H-8**) ; 2,58 (m, 2H, **H-8'**, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 2,40 (m, 1H, **H-3éq.** ou **H-5éq.**) ; 1,86-1,64 (m, 2H, **CH₂ dioxane**) ; 1,60 (dd, 1H, $J = 12,5 ; 12$ Hz, **H-5ax.** ou **H-3ax.**) ; 1,46 (dd, 1H, $J = 12,5 ; 12$ Hz, **H-3ax.** ou **H-5ax.**) ; 1,24 (t, 3H, $J = 7$ Hz, **CH₃ ester**).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 185,7 (**C=O ester**) ; 170,8 (**C=O urée**) ; 138,1 ; 137,9 (**C ipso**) ; 129,2 ; 129,1 ; 128,3 ; 127,7 ; 127,5 ; 124,1 ; 123,2 ; 121,4 ; 120,8 (**C aromatiques**) ; 96,7 (**C-4**) ; 73,1 (**CH₂Ph**) ; 70,2 (**CH₂OBn**) ; 60,9 (**CH₂ ester**) ; 59,5 ; 59,3 (2 \times OCH₂ dioxane) ; 56,4 (**C-2**) ; 56,3 (**C-7**) ; 53,1 (**C-6**) ; 37,8 (**C-8**) ; 35,8 (**C-3**) ; 35,3 (**C-5**) ; 25,4 (**CH₂ dioxane**) ; 14,1 (**CH₃ ester**).

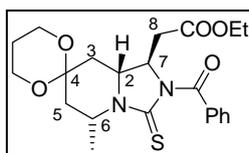
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour C₂₈H₃₄N₂O₆ (M + H)⁺ : 495,2514.

calculée : 495,2495.

.....

(2'-Benzoyl-5'-méthyl-3'-thioxohexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl acétate d'éthyle (\pm)-143



C₂₂H₂₈N₂O₅S - M = 432 g.mol⁻¹

A une solution de la pipéridine (\pm)-**29** (1 éq., 0,372 mmol, 100 mg) dans du dichlorométhane anhydre (10 mL), sous atmosphère inerte (sous argon), est ajouté goutte à goutte de la triéthylamine (1,1 éq., 0,410 mmol, 57 μ L). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante. Puis le thioisocyanate de benzoyle

(1,1 éq., 0,410 mmol, 55 μ L) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures, puis est neutralisé avec de l'eau.

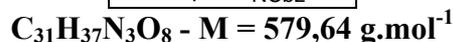
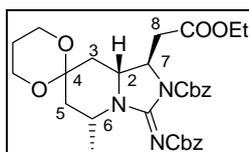
La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (\pm)-**131** (144 mg, 90%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,50 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 8,22 (m, 2H, **H** aromatiques) ; 7,42 (m, 3H, **H** aromatiques) ; 4,22-4,10 (m, 3H, **CH**₂ ester, **H-6**) ; 3,97-3,89 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,68 (m, 1H, **H-2**) ; 3,51 (m, 1H, **H-7**) ; 2,82-2,57 (m, 2H, **H-8**) ; 2,17 (m, 1H, **H-5**éq.) ; 2,04 (dd, 1H, $J = 14 ; 8$ Hz, **H-5ax.**) ; 1,88-1,74 (m, 7H, **H-3**éq., **H-3ax.**, **CH**₂ dioxane, **CH**₃) ; 1,29 (t, 3H, $J = 7$ Hz, **CH**₃ ester).
- **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 170,6 (**C=O**) ; 131,8 ; 129,6 ; 128,0 (**C** aromatiques) ; 97,2 (**C-4**) ; 62,8 (**C-7**) ; 61,2 (**CH**₂ ester) ; 59,7 ; 59,6 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 51,8 (**C-2**) ; 43,3 (**C-6**) ; 38,9 (**C-3**) ; 38,8 (**C-5**) ; 37,2 (**C-8**) ; 25,3 (**CH**₂ dioxane) ; 20,2 (**CH**₃) ; 14,2 (**CH**₃ ester).
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :
trouvée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}(\text{M} + \text{H})^+$: 433,1801.
calculée : 433,1797.

.....

[2',3'-(Dibenzoyloxycarbonyl)imino]-5'-méthylhexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl) acétate d'éthyle (\pm)-145****



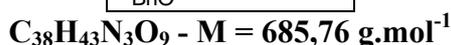
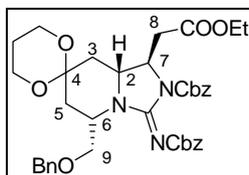
A une solution de la pipéridine (\pm)-**29** (1 éq., 0,621 mmol, 167 mg) et de la guanidine **144** (1éq., 0,621 mmol, 222 mg) dans du DMF (3,5 mL), refroidie à 0°C, sous atmosphère inerte (sous argon), sont ajouté goutte à goutte de la triéthylamine (3,3 éq., 2,05 mmol, 286 μ L) puis HgCl_2 (1,1éq., 0,683 mmol, 186 mg). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C pendant 30 minutes, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le milieu est filtré sur célite. Le filtrat est lavé à l'eau, les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (\pm)-**145** (130 mg, 36%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,40 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 7,36-7,15 (m, 10H, **H** aromatiques); 5,11 (m, 2H, **CH₂Ph**); 5,00 (m, 2H, **CH₂Ph**); 4,19-4,09 (m, 3H, **CH₂ ester, H-7**); 3,95-3,71 (m, 4H, 2×**OCH₂ dioxane**); 3,51 (m, 1H, **H-6**); 3,40 (m, 1H, **H-2**); 2,92 (dd, 1H, $J = 17; 3 \text{ Hz}$, **H-8**); 2,71 (dd, 1H, $J = 17; 10,5 \text{ Hz}$, **H-8'**); 2,54 (m, 1H, **H-3éq.**); 2,11 (m, 1H, **H-5éq.**); 1,80-1,62 (m, 6H, **CH₂ dioxane, CH₃ ester, H-5ax.**); 1,41 (m, 1H, **H-3ax.**); 1,26 (t, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, **CH₃ ester**).
- **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**
 δ (ppm) 170,4 (**C=O ester**); 158,9 (**C=N**); 151,4; 148,8 (2×**C=O carbamate**); 137,2; 135,0 (2×**C ipso**); 128,6; 128,5; 128,4; 128,2; 128,1; 127,6 (**C aromatiques**); 96,4 (**C-4**); 68,4; 67,1 (2×**CH₂Ph**); 61,0 (**CH₂ ester**); 59,6; 59,3 (2×**OCH₂ dioxane**); 58,8 (**C-2**); 56,2 (**C-7**); 51,1 (**C-6**); 41,5 (**C-8**); 37,3 (**C-3**); 36,1 (**C-5**); 25,3 (**CH₂ dioxane**); 18,5 (**CH₃**); 14,1 (**CH₃ ester**).
- **Masse (TOF ES +)** :
 trouvée pour **C₃₁H₃₇N₃O₈ (M + H)⁺** : 580,3.
 calculée : 580,6.

.....

[2',3'-(Dibenzoyloxycarbonyl)-imino]-5'-benzyloxyméthyl hexahydro-1'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-imidazo[1,5a]pyridin]-1'-yl] acétate d'éthyle (\pm)-146



A une solution de la pipéridine (\pm)-61 (1 éq., 0,133 mmol, 50 mg) et de la guanidine 144 (1 éq., 0,133 mmol, 48 mg) dans du DMF (2 mL), refroidie à 0°C, sous atmosphère inerte (sous argon), sont ajoutés goutte à goutte de la triéthylamine (3,3 éq., 0,44 mmol, 62 μ L) puis HgCl₂ (1,1 éq., 0,146 mmol, 40 mg). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0°C pendant 30 minutes, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le milieu est filtré sur célite. Le filtrat est lavé à l'eau, les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (\pm)-146 (36 mg, 40%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,35 (AcOEt-Cyclohexane 1:1)

- **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,37-7,27 (m, 15H, **H** aromatiques) ; 5,16-5,08 (m, 2H, CH_2Ph) ; 5,03-4,94 (m, 2H, CH_2Ph) ; 4,56-4,47 (m, 2H, CH_2Ph) ; 4,33 (m, 1H, **H-9**) ; 4,18 (m, 1H, **H-7**) ; 4,14 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 4,00 (m, 1H, **H-9'**) ; 3,95-3,83 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,55 (m, 1H, **H-6**) ; 3,46 (m, 1H, **H-2**) ; 2,98 (m, 1H, **H-8**) ; 2,77 (m, 1H, **H-8'**) ; 2,50 (m, 1H, **H-3éq.**) ; 2,38 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,79-1,66 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,61 (m, 1H, **H-5ax.**) ; 1,45 (m, 1H, **H-3ax.**) ; 1,25 (t, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3 ester).

- **RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 170,3 (**C=O** ester) ; 158,2 (**C=N**) ; 151,2 ; 148,3 ($2 \times \text{C=O}$) ; 138,3 ; 137,1 ; 134,9 ($3 \times \text{C ipso}$) ; 128,6 ; 128,5 ; 128,4 ; 128,3 ; 128,2 ; 128,0 ; 127,8 ; 127,6 ; 127,5 (**C** aromatiques) ; 96,4 (**C-4**) ; 73,1 (CH_2Ph) ; 69,6 (**C-9**) ; 68,5 (CH_2Ph) ; 67,2 (CH_2Ph) ; 61,0 (CH_2 ester) ; 59,5 ; 59,3 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 58,4 (**C-2**) ; 57,2 (**C-7**) ; 54,8 (**C-6**) ; 37,5 (**C-8**) ; 36,9 (**C-3**) ; 34,9 (**C-5**) ; 25,2 (CH_2 dioxane) ; 14,1 (CH_3 ester).

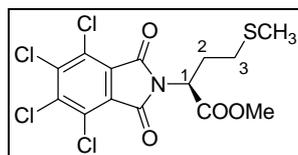
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_9$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺ : 686,3052.

calculée : 686,3078.

.....

(2S)-4-(Méthyl-thio)-2-(4,5,6,7-tétrachloro-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)-butanoate de méthyle (-)-152



$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{S} - \text{M} = 431,12 \text{ g.mol}^{-1}$

Dans un ballon muni d'un appareil de Dean-Stark, de l'anhydride tétrachlorophtalique (1 éq., 5,0 mmol, 1,43 g) et de la triéthylamine (2,9 éq., 14,5 mmol, 2 mL) sont ajoutés à une solution du chlorhydrate de l'ester méthylique de la méthionine (1 éq., 5,0 mmol, 1 g) dans du toluène (20 mL). Le mélange est maintenu 4 heures au reflux.

Après retour à température ambiante, les sels de triéthylamine sont filtrés. Le filtrat est lavé avec une solution d'HCl 1N (4×6 mL), puis avec de l'eau (3×6 mL). La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée puis concentrée sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:3) pour fournir le tétrachlorophtalimide (-)-152 (1,72 g, 80%) sous forme d'une huile jaune pâle.

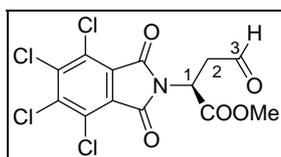
- **Aspect** : huile jaune pâle.
- **R_f** = 0,62 (AcOEt-Cyclohexane 1:3)
- **$[\alpha]_D^{25}$** - 24,5 (c 1,53 ; CHCl_3)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 5,12 (m, 1H, **H-1**) ; 3,77 (s, 3H, CH₃ ester) ; 2,62-2,46 (m, 4H, **H-2**, **H-3**) ; 2,09 (s, 3H, SCH₃).

.....

(2S)-4-Oxo-2-(4,5,6,7-tétrachloro-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)-butanoate de méthyle (-)-153



C₁₃H₇Cl₄NO₅ - M = 399,01 g.mol⁻¹

A une solution du tétrachlorophthalimide **152** (1 éq., 2,41 mmol, 1,04 g) dans du tétrachlorure de carbone (12 mL), sous atmosphère inerte, est ajouté le *N*-chlorosuccinimide (1 éq., 2,4 mmol, 0,32 g). Le mélange est maintenu à température ambiante pendant 2 heures, filtré, puis le solide est lavé au tétrachlorure de carbone (10 mL). Le filtrat est introduit dans un ballon surmonté d'un réfrigérant relié à un bulleur d'eau de Javel puis de l'eau est ajoutée (23 mL).

Le milieu réactionnel est maintenu sous courant d'argon pendant 20 heures, puis du dichlorométhane (20 mL) est ajouté.

Les phases sont séparées, la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL), les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaHCO₃ (3×10 mL), puis avec de l'eau (2×10 mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ puis concentrée.

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:3) pour donner l'aldéhyde (-)-**153** (673 mg, 70%).

- **Aspect** : huile incolore.

- **R_f** = 0,24 (AcOEt-Cyclohexane 1:3)

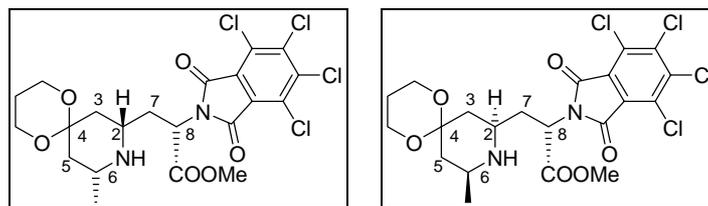
- **[α]_D²⁵** - 15,3 (c 1,25 ; CHCl₃)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 9,79 (s, 1H, **H-3**) ; 5,49 (m, 1H, **H-1**) ; 3,78 (s, 3H, CH₃ ester) ; 3,60-3,51 (m, 1H, **H-2**) ; 3,41-3,34 (m, 1H, **H-2'**).

.....

3-(10-Méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undéc-8-yl)-2-(4,5,6,7-tétrachloro-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propanoate de méthyle 154



A une solution d'amine méthyle (-)-28 (1 éq., 0,58 mmol, 920 mg g) dans du dichlorométhane anhydre (5 mL) sont ajoutés successivement l'aldéhyde 153 (1 éq., 0,58 mmol, 232 mg) puis du sulfate de magnésium anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux du dichlorométhane pendant 12 heures, sous atmosphère inerte. La formation de l'imine est suivie par CCM (AcOEt, $R_f = 0,9$).

Parallèlement, l'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate (2 éq., 1,16 mmol, 220 mg) est déshydraté par distillation azeotropique avec du toluène (10 mL) au moyen d'un montage Dean-Stark pendant 4 heures.

Les deux milieux réactionnels sont refroidis à température ambiante, puis l'imine est ajoutée dans l'acide *para*-toluènesulfonique déshydraté sous courant d'argon, au moyen d'une canule. Le mélange réactionnel obtenu est chauffé à 60°C pendant 3 heures.

Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (10 mL). Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane ($3 \times 10 \text{ mL}$). Les phases organiques réunies sont lavées par une solution aqueuse saturée de NaCl (10 mL), puis séchées et concentrées.

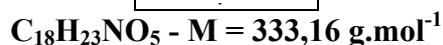
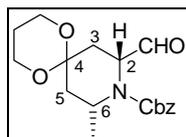
Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt) pour fournir les deux diastéréoisomères de la pipéridine 154 (63 mg, 20%) sous la forme d'une huile jaune.

- **Aspect** : huile incolore.
- $R_f = 0,1$ (AcOEt)
- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

Le spectre RMN du ^1H de la pipéridine 154 est difficilement exploitable. Le produit se dégrade rapidement dans le chloroforme pour donner le produit d'élimination 155.

.....

8-Formyl-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undécane-9-benzyloxycarbonyl (±)-157



A une solution de chlorure d'oxalyle (2 mol.L⁻¹, 3 éq., 1,01 mL) dans le dichlorométhane anhydre (50 mL), sous atmosphère inerte, refroidie à -78°C, est ajouté du diméthylsulfoxyde (4 éq., 2,7 mmol, 192 μL). Après 15 minutes d'agitation à -78°C, l'alcool

(±)-**159** (1 éq., 0,675 mmol, 226 mg) solubilisé dans du dichlorométhane est ajouté. Après 30 minutes d'agitation à -78°C, de la triéthylamine (10 éq., 6,75 mmol, 0,878 µL) est ajoutée, puis on laisse remonter la température à 0°C.

Après 20 minutes d'agitation, le milieu est hydrolysé par une solution de NH₄Cl saturée (100 mL). La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×40 mL) et les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, et concentrées.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 2:8) pour fournir l'aldéhyde (±)-**157** (202 mg, 90%) sous forme d'une huile incolore.

- **Aspect** : huile incolore.

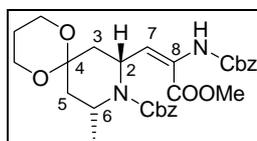
- **R_f** = 0,65 (AcOEt)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 9,51 (d, 1H, CHO) ; 7,32 (m, 5H, H aromatiques) ; 4,50 (dd, 2H, CH₂Ph) ; 4,87 (m, 1H, H-6) ; 4,54 (m, 1H, H-2) ; 3,98 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 2,92 (dt, 1H, J = 12 ; 3 Hz, H-5éq.) ; 2,14 (dt, 1H, J = 12 ; 3 Hz, H-3éq.) ; 1,87 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,73 (m, 1H, H-5ax.) ; 1,63 (m, 1H, H-3ax.) ; 1,23 (d, 3H, CH₃).

.....

8-[(E)-3-Benzoyloxycarbonylamino-3-méthoxycarbonyl-propényl]-10-méthyl-1,5-dioxa-9-aza-spiro[5,5]undécane-9-benzoyloxycarbonyle (±)-163****



C₂₉H₃₄N₂O₈ - M = 538,23 g.mol⁻¹

A une solution du phosphonate (±)-**162** (1,2 éq., 0,391 mmol, 149 mg,) dans du dichlorométhane anhydre (2 mL) est ajouté du DBU (1,3 éq., 0,508 mmol, 63,2 µL). Le milieu réactionnel est maintenu 10 minutes sous agitation puis l'aldéhyde (±)-**157** (1 éq., 0,3 mmol, 100 mg) solubilisé dans du dichlorométhane (2 mL) est additionné.

Le milieu réactionnel est maintenu 12 heures sous agitation puis le dichlorométhane est évaporé sous pression réduite. Le résidu est solubilisé dans l'acétate d'éthyle (20 mL), la phase organique est lavée avec une solution d'HCl 1N (3×3 mL). Les phases aqueuses réunies sont ensuite extraites à l'acétate d'éthyle (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées puis concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (±)-**163** (92 mg, 57%) sous forme d'une huile jaune.

- **Aspect** : huile jaune.

- **R_f** = 0,47 (AcOEt-Cyclohexane 3:7)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

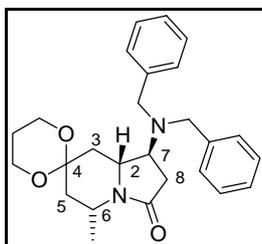
δ (ppm) 8,07 (s, 1H, NH) ; 7,35 (m, 10H, H aromatiques) ; 6,56 (d, 1H, *J* = 7 Hz, H-10) ; 5,05 (m, 4H, 2×CH₂Ph) ; 4,31 (m, 1H, H-6) ; 3,87 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,66 (s, 3H, CH₃ ester) ; 3,55 (m, 1H, H-2) ; 2,51 (td, 1H, *J* = 12 ; 3 Hz, H-5éq.) ; 2,04 (td, 1H, *J* = 12 ; 3 Hz, H-3éq.) ; 1,88 (m, 2H, CH₂ dioxane) ; 1,75 (m, 1H, H-5ax.) ; 1,63 (m, 1H, H-3ax.) ; 1,23 (d, 3H, CH₃).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 167,0 (C=O ester) ; 156,2 ; 154,5 (C=O carbamate) ; 136,2 (C-11) ; 130,5 (C-10) ; 130,5-127,7 (C aromatiques) ; 95,9 (C-4) ; 67,8-67,1 (CH₂Ph) ; 59,3 (C-7, C-9) ; 52,4 (CH₃ ester) ; 48,9 (C-6) ; 47,5 (C-2) ; 37,2 ; 37,5 (C-5, C-3) ; 25,1 (C-8) ; 21,9 (CH₃).

.....

1'-(Dibenzylamino)-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizidin]-3'-one (±)-171



C₂₆H₃₂N₂O₃ - M = 420,54 g.mol⁻¹

A une solution de dibenzylamine (3 éq., 3,345 mmol, 650 µL) dans du dichlorométhane anhydre (15 mL) à 0°C, est additionné lentement une solution de triméthylaluminium (2 mol.L⁻¹ dans l'hexane) (3 éq., 3,345 mmol, 1,7 mL). Après 2 heures d'agitation à température ambiante, une solution de pipéridine (±)-29 (1 éq., 1,115 mmol, 300 mg) dans du dichlorométhane anhydre (15 mL) est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est maintenu pendant 12 heures sous agitation à température ambiante.

Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé à 0°C avec une solution de chlorure d'ammonium saturée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt-Cyclohexane 1:1) pour fournir le composé (±)-171 (240 mg, 55%) sous la forme d'une huile brune.

- **Aspect** : huile brune.

- **R_f** = 0,78 (AcOEt pur)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 7,35-7,14 (m, 10H, H aromatiques) ; 3,85-3,75 (m, 4H, 2×OCH₂ dioxane) ; 3,66 (d, 2H, *J* = 14 Hz, CH₂Ph) ; 3,46 (m, 1H, H-2) ; 3,37 (d, 2H, *J* = 14 Hz, CH₂Ph) ; 3,32 (m, 1H, H-6) ; 3,04 (m, 1H, H-7) ; 2,40 (m, 2H, H-3éq., H-8) ; 2,31 (m, 1H, H-8') ; 2,06

(dt, 1H, $J = 13,5 ; 2,5 \text{ Hz}$, **H-5éq.**) ; 1,76-1,60 (m, 2H, **CH₂** dioxane) ; 1,53 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, **CH₃**) ; 1,29 (dd, 1H, $J = 13,5 ; 11 \text{ Hz}$, **H-5ax.**) ; 0,98 (t, 1H, $J = 12,5 \text{ Hz}$, **H-3ax.**).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 173,1 (**C=O** amide) ; 139,2 ; 138,7 (**C ipso**) ; 128,5 ; 128,4 ; 128,1 ; 127,2 ; 127,1 (**C aromatiques**) ; 97,3 (**C-4**) ; 59,4 (2×**OCH₂** dioxane) ; 57,9 ; 57,8 (**C-7**, **C-2**) ; 54,7 (2×**OCH₂Ph**) ; 48,2 (**C-6**) ; 40,9 (**C-5**) ; 38,7 (**C-3**) ; 32,0 (**C-8**) ; 25,4 (**CH₂** dioxane) ; 19,4 (**CH₃**).

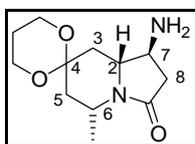
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour **C₂₆H₃₂N₂O₃** (**M + H**)⁺ : 421,2477.

calculée : 421,2491.

.....

1'-Amino-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizidin]-3'-one (±)-172



C₁₂H₂₀N₂O₃ - M = 240,30 g.mol⁻¹

La pipéridine (±)-171 (1 éq., 0,57 mmol, 240 mg) est placée en solution dans du méthanol (20 mL) avec du Pd/C à 10% en masse (20 mg). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère d'hydrogène pendant 12 heures.

Le catalyseur est ensuite filtré sur célite et rincé au méthanol. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. La pipéridine avec l'amine libre (±)-172 (120 mg, 90%) est obtenue sous la forme d'une huile brune.

- **Aspect** : huile brune.

- **R_f** = 0 (AcOEt-MeOH 9:1)

- **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 3,95-3,85 (m, 4H, 2×**OCH₂** dioxane) ; 3,46 (m, 1H, **H-6**) ; 3,13 (m, 2H, **H-2**, **H-7**) ; 2,71-2,60 (m, 2H, **H-3éq.**, **H -8**) ; 2,17-2,07 (m, 2H, **H-5éq.**, **H-8'**) ; 1,78-1,69 (m, 2H, **CH₂** dioxane) ; 1,62 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, **CH₃**) ; 1,51 (s élargi, 2H, **NH₂**) ; 1,43 (dd, 1H, $J = 13,5 ; 11 \text{ Hz}$, **H-5ax.**) ; 1,23 (m, 1H, **H-3ax.**).

- **RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃)**

δ (ppm) 173,1 (**C=O** amide) ; 96,6 (**C-4**) ; 64,1 (**C-7**) ; 59,5 (2×**OCH₂** dioxane) ; 51,5 (**C-2**) ; 48,3 (**C-6**) ; 42,6 (**C-8**) ; 41,3 (**C-5**) ; 37,1 (**C-3**) ; 25,4 (**CH₂** dioxane) ; 19,5 (**CH₃**).

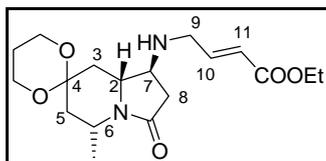
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour **C₂₆H₃₂N₂O₃** (**M + H**)⁺ : 421,2477.

calculée : 421,2491.

.....

1'-[(2E)-(Propèn-2-oate d'éthyle)amino]-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizidin]-3'-one (±)-173



A une solution de pipéridine (±)-172 (1 éq., 0,416 mmol, 100 mg) dans du dichlorométhane (5 mL) est ajouté de l'éthyl-*trans*-4-oxo-butèn-2-oate (1 éq., 0,416 mmol, 50 μL), puis du NaBH_3CN (2 éq., 0,832 mmol, 52,3 mg) et de l'acide acétique (7,3 éq., 6,06 mmol, 350 μL). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé avec une solution de soude 1N. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 \times 5 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt) pour fournir le composé (±)-173 (75,7 mg, 50%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,3$ (AcOEt-MeOH 9:1)

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 6,92 (dt, 1H, $J = 16 ; 5,5 \text{ Hz}$, **H-10**) ; 5,97 (dt, 1H, $J = 16 ; 2 \text{ Hz}$, **H-11**) ; 4,17 (q, 2H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_2 ester) ; 3,92-3,84 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 3,47-3,37 (m, 3H, **H-6**, **H-9**) ; 3,28 (ddd, 1H, $J = 12,5 ; 5,5 ; 3 \text{ Hz}$, **H-2**) ; 2,96 (m, 1H, **H-7**) ; 2,64 (dd, 1H, $J = 17 ; 8 \text{ Hz}$, **H-8**) ; 2,55 (dt, 1H, $J = 13 ; 3 \text{ Hz}$, **H-3éq.**) ; 2,16-2,09 (m, 2H, **H-5éq.**, **H-8'**) ; 1,76-1,68 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,60 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3) ; 1,41 (dd, 1H, $J = 13,5 ; 11 \text{ Hz}$, **H-5ax.**) ; 1,30-1,21 (m, 4H, **H-3ax.**, CH_3).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 172,7 (**C=O** amide) ; 166,2 (**C=O** ester) ; 146,2 (**C-10**) ; 121,8 (**C-11**) ; 96,5 (**C-4**) ; 61,9 (**C-2**) ; 60,4 (CH_2 ester) ; 59,4 ($2 \times \text{OCH}_2$ dioxane) ; 56,6 (**C-7**) ; 48,8 (**C-6**) ; 48,2 (**C-9**) ; 41,2 (**C-3**) ; 40,8 (**C-8**) ; 38,1 (**C-5**) ; 25,4 (CH_2 dioxane) ; 19,3 (CH_3) ; 14,2 (CH_3 ester).

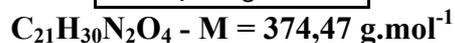
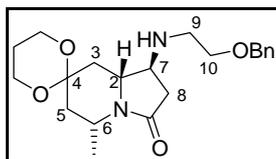
- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour $C_{18}H_{29}N_2O_5$ ($M + H$) $^+$: 353,2069.

calculée : 353,2076.

.....

1'-[2-Benzyloxyéthyl]amino)-5'-méthylhexahydro-3'H-spiro[1,3-dioxane-2,7'-indolizidin]-3'-one (±)-174



A une solution de pipéridine (±)-172 (1 éq., 0,35 mmol, 85 mg) dans du dichlorométhane anhydre (5 mL) est ajouté du 2-(benzyloxy)éthanal (1 éq., 0,35 mmol, 52,5 mg), puis du NaBH_3CN (2 éq., 0,7 mmol, 44 mg) et de l'acide acétique (7,3 éq., 2,55 mmol, 150 μL). Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère inerte pendant 12 heures.

Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé avec une solution de soude 1N. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3×5 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt pur) pour fournir le composé (±)-174 (80 mg, 60%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

- **Aspect** : huile jaune pâle.

- $R_f = 0,13$ (AcOEt-MeOH 9:1)

- **RMN ^1H (400MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 7,38-7,27 (m, 5H, **H** aromatiques) ; 4,51 (s, 2H, CH_2Ph) ; 3,92-3,84 (m, 4H, 2× OCH_2 dioxane) ; 3,58 (m, 2H, **H-10**) ; 3,44 (m, 1H, **H-6**) ; 3,23 (ddd, 1H, $J = 12 ; 5 ; 3 \text{ Hz}$, **H-2**) ; 2,97 (m, 1H, **H-7**) ; 2,80 (m, 2H, **H-9**) ; 2,63 (dd, 1H, $J = 17 ; 8 \text{ Hz}$, **H-8**) ; 2,55 (td, 1H, $J = 13 ; 3 \text{ Hz}$, **H-3éq.**) ; 2,17 (m, 1H, **H-8'**) ; 2,12 (m, 1H, **H-5éq.**) ; 1,99 (s élargi, 1H, **NH**) ; 1,78-1,66 (m, 2H, CH_2 dioxane) ; 1,62 (d, 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, CH_3) ; 1,44 (dd, 1H, $J = 13,5 ; 11 \text{ Hz}$, **H-5ax.**) ; 1,25 (t, 1H, $J = 13 \text{ Hz}$, **H-3ax.**).

- **RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3)**

δ (ppm) 172,8 (**C=O** amide) ; 138,0 (**C ipso**) ; 128,4 ; 127,8 (**C** aromatiques) ; 96,6 (**C-4**) ; 73,3 (CH_2Ph) ; 69,5 (**C-10**) ; 61,9 (**C-2**) ; 59,4 (2× OCH_2 dioxane) ; 56,9 (**C-9**) ; 48,6 (**C-6**) ; 47,4 (**C-7**) ; 42,0 (**C-5**) ; 39,9 (**C-3**) ; 38,3 (**C-8**) ; 25,4 (CH_2 dioxane) ; 19,3 (CH_3).

- **Masse haute résolution (TOF ES +)** :

trouvée pour $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺ : 375,2280.

calculée : 375,2284.

Références Bibliographiques

1. David, S. *Chimie Moléculaire et supramoléculaire des sucres*. **1995**, InterEditions / CNRS Edition, 58-61.
2. Henrissat, B. *Biochem. J.* **1991**, *280*, 309-316.
3. Coutinho, P. M. ; Henrissat, B. *Carbohydrate-Active Enzymes Server*. **1999**, <http://afmb.cnrs-mrs.fr/CASY/>
4. Koshland, D. E. *Biol. Rev.* **1953**, *28*, 416-436.
5. Pearson, M. S. M. ; Mathé-Allainmat, M. ; Fargeas, V. ; Lebreton, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *11*, 2159-2191.
6. McCarter, J. D. ; Withers, S. G. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 885-892.
7. Wang, Q. ; Graham, R. W. ; Trimbur, D. ; Warren, R. A. J. ; Withers, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11594-11595.
8. Ly, H. D. ; Withers, S. G. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 487 et références citées.
9. Heightman, T. D. ; Vasella, A. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 750-770.
10. Kite, G. C. ; Horn, J. M. ; Romeo, J. T. ; Fellows, L. E. ; Lees, D. C. ; Scofield, A. M. ; Smith, N. G. *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 103-105.
11. Wong, C.-H. ; Provencher, L. ; Porco, Jr. J. A. ; Jung, S.-H. ; Wang, Y.-F. ; Chen, L. ; Wang, R. ; Steensma, D. H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1492-1501.
12. Legler, G. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 327-362 et références citées.
13. Truscheit, E. ; Frommer, W. ; Junge, B. ; Müller, L. ; Schmidt, D. D. ; Wingender, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 744-761.
14. Chen, X. ; Fan, Y. ; Zheng, Y. ; Shen, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1955-1977.
15. Horii, S. ; Fukase, H. ; Matsuo, T. ; Kameda, Y. ; Asano, N. ; Matsui, K. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1038-1046.
16. Legler, G. ; Jülich, E. *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 61-72.
17. Miyake, Y. ; Ebata, M. *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 153-158.
18. Straub, A. ; Effenberger, F. ; Fischer, P. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3926-3932 et références citées.
19. Arnone, A. ; Bravo, P. ; Donadelli, A. ; Resnati, G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 984-986 et références citées.
20. Asano, N. ; Oseki, K. ; Kizu, H. ; Matsui, K. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3701-3706.
21. Asano, N. ; Kizu, H. ; Oseki, K. ; Tomioka, E. ; Matsui, K. ; Okamoto, M. ; Baba, M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2349-2356.
22. Yasuda, K. ; Kizu, H. ; Yamashita, T. ; Kameda, Y. ; Kato, A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Molyneux, R. J. ; Asano, N. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 198-202.
23. Martin, O. R. ; Xie, F. ; Liu, L. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4027-4030.
24. Asano, N. ; Nishida, M. ; Kizu, H. ; Matsui, K. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 98-101.
25. Ikeda, K. ; Takahashi, M. ; Nishida, M. ; Miyauchi, M. ; Kizu, H. ; Kameda, Y. ; Arisawa, M. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Asano, N. *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 73-80.
26. Compain, P. ; Martin, O. R. ; Boucheron, C. ; Godin, G. ; Yu, L. ; Ikeda, K. ; Asano, N. *Chem. Bio. Chem.* **2006**, *7*, 1356-1359.
27. Hung, R. R. ; Straub, J. A. ; Whitesides, G. M. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3849-3855.

28. Park, K. H. ; Yoon, Y. J. ; Lee, S. G. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9737-9740.
29. Chen, W. ; Kurtz, D. A. ; Hamlet, T. ; Sim, L. ; Rose, D. R. ; Pinto, B. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8332-8340.
30. Kato, A. ; Kato, E. ; Adachi, I. ; Molyneux, R. J. ; Watson, A. A. ; Nash, R. J. ; Fleet, G. W. J. ; Wormald, M. R. ; Kizu, H. ; Ikeda, K. ; Asano, N. *Tetrahedron : Asymmetry.* **2003**, *14*, 325-331.
31. Shivlock, J. P. ; Wheatley, J. R. ; Nash, R. J. ; Watson, A. A. ; Griffiths, R. C. ; Butters, T. D. ; Müller, M. ; Waykin, D. J. ; Winkler, D. A. ; Fleet, G. W. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.* **1999**, *37*, 2735-2745.
32. Gurjar, M. K. ; Ghosh, L. ; Syamala, M. ; Jayasree, V. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8871-8872.
33. Cronin, L. ; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2691-2693.
34. McDonnell, C. ; Cronin, L. ; O'Brien, J. L. ; Murphy, P. V. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3565-3568.
35. Martín, R. ; Murruzzu, C. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2325-2328.
36. Martín, R. ; Moyano, A. ; Pericàs, M. A. ; Riera, A. *Org. Lett.* **2000**, *1*, 93-95.
37. Cecon, J. ; Greene, A. E. ; Poisson, J. F. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4739-4742.
38. Grubbs, R. H. ; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.
39. Tamura, Y. ; Minamikawa, J. ; Ikeda, M. *Synthesis* **1977**, 1-17.
40. Ciblat, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2000**, D.U. 1218.
41. Carbonnel, S. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2001**, D.U. 1273.
42. Islam, A. M. ; Raphael, R. A. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3151-3154.
43. Greene, T.W. ; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley and Sons, New York, **1991**, 2nd edition.
44. Munchhof, M. J. ; Meyers, A. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5399-5400.
45. Ripoché, I. ; Canet, J.-L. ; Gélas, J. ; Troin, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1517-1521.
46. Seyden-Penne, J. *Reduction par les alumino- et boro-hydrures*. Techniques et documentation Lavoisier, **1988** et références citées.
47. Rougnon Glasson, S. ; Canet, J.-L. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9797-9802.
48. Beak, P. ; Zajdel, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1010-1018.
49. Baxter, A. D. ; Binns, F. ; Javed, T. ; Roberts, S. M. ; Sadler, P. ; Scheinmann, F. ; Wakefield, B. J. ; Lynch, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1986**, 889-900.
50. Denmark, S. E. ; Yang, S.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15196-15197.
51. Alcaro, S. ; Arena, A. ; Neri, S. ; Ottanà, R. ; Ortuso, F. ; Pavone, B. ; Vigorita, M. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 1781-1791.
52. Green, M. E. ; Rech, P. E. ; Floreancig, P. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4117-4120.
53. Criegee, R. *Ann.* **1936**, *522*, 75-96.
54. Milas, N. A. ; Sussman, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1302-1304.
55. Carroll, M. F. *J. Chem. Soc.* **1940**, 704-706.
56. Sharpless, K. B. ; Akashi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1986-1987.
57. Kolb, H. C. ; VanNieuwenhze, M. S. ; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483-2547.
58. Hentges, S. G. ; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4263-4265.
59. Hoi-Lun, K. ; Sorato, C. ; Ogino, Y. ; Hou, C. ; Sharpless, K. B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2999-3002.
60. Sharpless, K. B. ; Amberg, W. ; Bennani, Y. L. ; Crispino, G. A. ; Hartung, J. ; Jeong, K. S. ; Kwong, H. L. ; Morikawa, K. ; Wang, Z. M. ; Xu, D. ; Zhang, X. L. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2768-2771.
61. Zhao, Z. ; Song, L. ; Mariano, P. S. *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 8888-8894.

62. Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441-1547.
63. Li, L.-S. ; Yikang, W. ; Hu, Y.-J. ; Xia, L.-J. ; Wu, Y.-L. *Tetrahedron : Asymmetry*, **1998**, *9*, 2271-2277.
64. Takano, S. ; Akiyama, M. ; Sato, S. ; Ogasawara, K. *Chem. Lett.* **1983**, 1593-1596.
65. Ciblat, S. ; Calinaud, P. ; Canet, J.-L. ; Troin, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **2000**, 353-357 et références citées.
66. Börjesson, L. ; Csöreg, I. ; Welch, C. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2989-2999.
67. Parikh, J. R. ; Doering, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505-5507.
68. Ing, H. R. ; Manske, R. H. F. *J. Chem. Soc.*, **1926**, 2348-2349.
69. Kim, I. S. ; Oh, J. S. ; Zee, O. P. ; Jung, Y. H. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 2622-2633.
70. Fleming, F. F. ; Funk, L. ; Altundas, R. ; Tu, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6502-6504.
71. López, I. ; Diez, A. ; Rubiralta, M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8581-8600.
72. List, B. ; Pojarliev, P. ; Biller, W. T. ; Martin, H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 827-833.
73. Bariau, A. *Thèse de doctorat* de l'Université Blaise Pascal, **2004**, D.U. 420.
74. Ma, N. ; Ma, D. *Tetrahedron : Asymmetry* **2003**, *14*, 1403-1406.
75. Bergeron, R. J. ; McManis, J. S. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3108-3111.
76. De Lamo Marin, S. ; Martens, T. ; Mioskowski, C. ; Royer, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10592-10595.
77. Andrés, J. M. ; Muñoz, E. M. ; Pedrosa, R. ; Pérez-Encabo, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3387-3397.
78. Yonezawa, Y. ; Konn, A. ; Shin, C.-G. *Heterocycles* **2004**, *63*, 2735-2746.
79. Hadri, A. E. ; Abouabdellah, A. ; Thomet, U. ; Baur, R. ; Furtmüller, R. ; Sigel, E. ; Sieghart, W. ; Dodd, R. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2824-2831.
80. Levin, J. I. ; Turos, E. ; Weinreb, S. *Synthetic Communications* **1982**, *12*, 989-993.
81. Peters, O. ; Debaerdemaeker, T. ; Friedrichsen, W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 59-70.
82. Trabanco, A. A. ; Pullan, S. ; Alonso, J. M. ; Alvarez, R. M. ; Andrés, J. I. ; Boeckx, I. ; Fernández, J. ; Gómez, A. ; Iturrino, L. ; Janssens, F. E. ; Leenaerts, J. E. ; De Lucas, A. I. ; Matesanz, E. ; Meert, T. ; Steckler, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 146-149.
83. Díaz Pérez, V. M. ; García Moreno, M. I. ; Ortiz Mellet, C. ; Fuentes, J. ; Díaz Arribas, J. C. ; Cañada, J. F. ; García Fernández, J. M. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 136-143.
84. a) Mounetou, E. ; Legault, J. ; Lacroix, J. ; Gaudreault, R. C. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 694-702. b) Mounetou, E. ; Legault, J. ; Lacroix, J. ; Gaudreault, R. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5055-5063. c) Moreau, E. ; Fortin, S. ; Desjardins, M. ; Rousseau, J.-L. ; Petitclerc, E. ; Gaudreault, R. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6703-6712.
85. Honma, T. ; Hayashi, K. ; Aoyama, T. ; Hashimoto, N. ; Machida, T. ; Fukasawa, K. ; Iwama, T. ; Ikeura, C. ; Ikuta, M. ; Suzuki-Takahashi, I. ; Iwasawa, Y. ; Hayama, T. ; Nishimura, S. ; Morishima, H. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4615-4627.
86. Honma, T. ; Yoshizumi, T. ; Hashimoto, N. ; Hayashi, K. ; Kawanishi, N. ; Fukasawa, K. ; Takaki, T. ; Ikeura, C. ; Ikuta, M. ; Suzuki-Takahashi, I. ; Hayama, T. ; Nishimura, S. ; Morishima, H. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4627-4640.
87. Watson, P. S. ; Kim Harrison, B. J. ; Asakawa, N. ; Welch, P. K. ; Covington, M. ; Stowell, N. C. ; Wadman, E. A. ; Davies, P. ; Solomon, K. A. ; Newton, R. C. ; Trainor, G. L. ; Friedman, S. M. ; Decicco, C. P. ; Ko, S. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5695-5699.
88. Kilonda, A. ; Compernelle, F. ; Peeters, K. ; Joly, G. J. ; Toppet, S. ; Hoornaert, G. J. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1005-1012.
89. Baumann, D. ; Bennis, K. ; Ripoché, I. ; Troin, Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8363-8365.

90. Sales, M. ; Charrette, A. B. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5773-5776.
91. Dragovich, P. S. ; Barker, J. E. ; French, J. ; Imbacuan, M. ; Kalish, V. J. ; Kissinger, C. R. ; Knighton, D. R. ; Lewis, C. T. ; Moomaw, E. W. ; Parge, H. E. ; Pelletier, L. A. K. ; Prins, T. J. ; Showalter, R. E. ; Tatlock, J. H. ; Tucker, K. D. ; Villafranca, J. E. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1872-1884.
92. Nicolaou, K. C. ; Li, Y. ; Uesaka, N. ; Koftis, T. V. ; Vyskocil, S. ; Ling, T. ; Govindasamy, M. ; Qian, W. ; Bernal, F. ; Chen, D. Y.-K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3643-3648.
93. Bégué, J.-P. ; Bonnet-Delpon, D. *Chimie bioorganique et médicinale du fluor*, EDP Science/CNRS Ed., **2005**.
94. Murakami, Y. ; Hara, H. ; Okada, T. ; Hashizume, H. ; Kii, M. ; Ishihara, Y. ; Ishikawa, M. ; Shimamura, M. ; Mihara, S.-I. ; Kato, G. ; Hanasaki, K. ; Hagishita, S. ; Fujimoto, M. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2621-2632.
95. Deng, W. ; Overman, L. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11241-11250.
96. Boisbrun, M. ; Jeannin, L. ; Toupet, L. ; Laronze, J.-Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *17*, 3051-3057.
97. Davis, F. A. ; Yang, B. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 5011-5014.
98. Falck, J. R. ; He, A. ; Fukui, H. ; Tsutsui, H. ; Radha, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4527-4529.
99. Thayumanavan, R. ; Tanaka, F. ; Barbas III, C. F. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3541-3544.
100. Álvarez, M. ; Fernández, D. ; Joule, J. A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 315-317.
101. Wang, X. ; Bhatia, P. A. ; Daanen, J. F. ; Latsaw, S. P. ; Rohde, J. ; Kolasa, T. ; Hakeem, A. A. ; Matulenko, M. A. ; Nakane, M. ; Uchic, M. E. ; Miller, L. N. ; Chang, R. ; Moreland, R. B. ; Brioni J. D. ; Stewart A. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4667-4678.
102. Debiton, E. ; Madelmont, J.-C. ; Legault, J. ; Barthomeuf, C. *Cancer Chemother. Pharm.* **2003**, *51*, 474-482.
103. O'Brien, J. ; Wilson, I. ; Orton, T. ; Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5421-5426.
104. Rago, R. ; Mitchen, J. ; Wilding, G. *Anal. Biochem.* **1990**, *191*, 31-34.
105. Kotke, M. ; Schreiner, P. R. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 434-439.
106. Zhang, P. ; Terefenko, E. A. ; Wrobel, J. ; Zhang, Z. ; Zhu, Y. ; Cohen, J. ; Marschke, K. B. ; Mais, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2747-2750.
107. Ohtani, I. ; Moore, R. E. ; Runnegar, M. T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7941-7942.
108. Harada, K.-I. ; Ohtani, I. ; Iwamoto, K. ; Suzuki, M. ; Watanabe, M. F. ; Watanabe, M. ; Terao, K. *Toxicon*, **1994**, *32*, 73-84.
109. Banker, R. ; Carmeli, S. ; Hadas, O. ; Teltsch, B. ; Porat, R. ; Sukenik, A. *J. Phycol.* **1997**, *33*, 613-616.
110. Xie, C. ; Runnegar, M. T. C. ; Snider, B. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5017-5024.
111. a) White, J. D. ; Hansen, J. D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1963-1977. b) White, J. D. ; Hansen, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4950-4951.
112. Lal, B. ; Gangopadhyay, A. K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *14*, 2483-2486.
113. Soon Kim, K. ; Qian, L. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7677-7680.
114. a) Heintzelam, G. R. ; Fang, W.-K. ; Keen, S. P. ; Wallace, G. A. ; Weinreb, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3939-3945. b) Heintzelam, G. R. ; Fang, W.-K. ; Keen, S. P. ; Wallace, G. A. ; Weinreb, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8851-8853.
115. Meffre, P. ; Durand, P. ; Le Goffic, F. *Org. Synth.* **1999**, *75*, 123-132.
116. Schmidt, U. ; Lieberknecht, A. ; Wild, J. *Synthesis*. **1984**, 53-60.
117. Ben, R. N. ; Liu, S. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2385-2388.
118. Angiolini, M. ; Araneo, S. ; Belvisi, L. ; Cesarotti, E. ; Checchia, A. ; Crippa, L. ; Manzoni, L. ; Scolastico, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *14*, 2571-2581.

119. Wang, W. ; Yang, J. ; Ying, J. ; Xiong, C. ; Zhang, J. ; Cai, C. ; Hruby, V. J. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6353-6360.
120. Ahman, J. ; Somfai, P. *Tetrahedron*, **1995**, *35*, 9747-9756.

Abréviations et Acronymes

Ac	Acétate	%AR	pourcentage d'activité restante
Bn	Benzyle	BOC	
CDI	Carbonyldiimidazole	CYB-3	3-hydroxy-2-hydroxyméthylpyrrolidine
D-AB1	1,4-didésoxy-1,4-imino-D-arabinitol	DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-ène
DGJ	désoxygalactonojirimycine	DIPEA	Diisopropyléthylamine
DMAP	4-(diméthylamino)pyridine	DMDP	(2R,5R)-dihydroxyméthyl-(3R,4R)-dihydroxypyrrolidine
DMF	diméthylformamide	DMJ	1-désoxymannojirimycine
DMSO	diméthylsulfoxyde	DNJ	1-désoxynojirimycine
éq.	Equivalent	Et	Ethyle
HAJ	α -homoallonojirimycine	HGJ	1' α -homonojirimycine
LiAlH ₄	<i>tert</i> -butyldiphénylesilyle	Me	méthyle
<i>N</i> -butyl-	<i>N</i> -butyl-1-désoxynojirimycine	<i>N</i> -méthyl-	<i>N</i> -méthyl-1-désoxynojirimycine
DNJ		DNJ	
NMM	<i>N</i> -méthylmorpholine	NMO	<i>N</i> -méthylmorpholine oxyde
Pd/C	Palladium sur carbon	PhI(TFA) ₂	[bis(trifluoroacétoxy)iodo]benzène
Pht	Phtalimide	<i>p</i> -TsOH	acide <i>para</i> -toluènesulfonique
RMN	résonance magnétique nucléaire	TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphénylesilyle
TCP	Tétrachlorophthalimide	TEA	triéthylamine
TFA	acide trifluoroacétique	THF	Tétrahydrofurane
triton B [®]	hydroxyde de benzyltriméthyl ammonium	Δ	reflux
π	pyridine		

RÉSUMÉ

Nous avons réalisé la synthèse de nouvelles indolizidines polyhydroxylées, analogues de la swainsonine, inhibiteurs potentiels de glycosidases et d'urées cycliques de conformation restreinte portées par une pipéridine, agents permettant de contrôler la prolifération de cellules tumorales.

Ces deux familles de composés ont été préparées à partir d'une pipéridine clé, obtenue par réaction de Mannich intramoléculaire entre le *trans*-4-oxo-2-buténoate d'éthyle et une β -aminocétone protégée sous forme d'acétal.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé une indolizidine tri-hydroxylée en série racémique et en série optiquement pure en 10 étapes. En vue d'accroître l'activité inhibitrice, nous avons mis au point la synthèse d'une indolizidine tétra-hydroxylée possédant un groupement hydroxyle supplémentaire sur le cycle pipéridinique, nécessitant la préparation de la β -aminocétone protégée optiquement pure correspondante.

Les activités de ces deux indolizidines précédemment préparées en série racémique et en série optiquement pure ont été évaluées sur six enzymes commerciales. Seule l'indolizidine racémique tétra-hydroxylée s'est révélée être un inhibiteur sélectif de la β -galactosidase d'*Aspergillus oryzae* (Ki 157 μ M).

Dans un deuxième temps, nous avons synthétisé des urées cycliques de conformation restreinte par réaction de l'intermédiaire clé, sur différents isocyanates commerciaux, suivie d'une cyclisation de Michael hautement stéréosélective. L'activité antiproliférative de ces nouveaux composés a fait l'objet d'une évaluation sur trois lignées cellulaires humaines, mais ils ne se sont malheureusement pas révélés cytotoxiques.

Enfin, nous avons utilisé la réactivité de l'intermédiaire clé pour synthétiser différents types de molécules : des thiourées cycliques et des composés comportant une guanidine cyclique à 5 ou 6 chaînons constituant le squelette de base d'un produit naturel, la *cylindrospermopsine*.

Mots-clés : inhibiteurs de glycosidases, indolizidines polyhydroxylées, réaction de Mannich intramoléculaire, urées cycliques, cyclisation de Michael.

ABSTRACT

We carried out the synthesis of novel polyhydroxylated indolizidines, as potential inhibitors of glycosidases and cyclic ureas of restricted conformation carried by a piperidine, agents allowing the control of the proliferation of cancer cells.

These two families of compounds were prepared starting from a key piperidine intermediate, obtained by intramolecular Mannich reaction between the ethyl *trans*-4-oxo-2-butenate and a protected β -aminoketone in the form of an acetal.

Initially, we synthesised a tri-hydroxylated indolizidine in racemic and optically pure series in 10 steps. In order to increase the inhibiting potential of glycosidases, we developed the synthesis of a tetra-hydroxylated indolizidine having an additional hydroxyl moiety on the piperidine, requiring the preparation of the corresponding optically pure protected β -aminoketone.

The activities of these two indolizidines previously prepared in racemic and optically pure series were evaluated on six commercially available enzymes. Only the racemic tetra hydroxylated indolizidine proved to be a selective inhibitor of the β -galactosidase of *Aspergillus oryzae* (Ki 157 μ M).

Then, we synthesised cyclic ureas of restricted conformation by reaction of the key intermediate on various commercially available isocyanates, followed by a highly stereoselective Michael cyclisation. The antiproliferative activity of these new compounds was the subject of an evaluation on three human cell lines, unfortunately they did not appear cytotoxic.

Finally, we used the reactivity of the key intermediate to synthesise various types of molecules : cyclic thioureas and compounds with 5 or 6 membered guanidine ring constituting the basic skeleton of a natural product, the *cylindrospermopsine*.

Key words : glycosidase inhibitors, polyhydroxylated indolizidines, intramolecular Mannich reaction, cyclic ureas, Michael cyclisation.