UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ECOLE DOCTORALE :

INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL A L'APPLIQUÉ

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

DISCIPLINE : Chimie Organique

ANNÉE 2014 - 2015 SÉRIE DOCTORAT N°

THÈSE DE DOCTORAT
soutenue le 26/03/2015

par

Pierre-Etienne VENOT

Synthèse stéréosélective d'hybrides de lobéline et de ligands naturels des récepteurs nicotiniques centraux à l'acétylcholine

Directrice de thèse :	Delphine JOSEPH	Professeure des Universités (Université Paris-Sud)
Co-directrice de thèse :	Emmanuelle DRÈGE	Maître de conférences (Université Paris-Sud)
Composition du jury :		
Présidente du jury :	Catherine GUILLOU	Directrice de Recherche (Institut de chimie des substances Naturelles)
Rapporteurs :	Isabelle GILLAIZEAU	Professeure des Universités (Université d'Orléans)
	Philippe BELMONT	Professeur des Universités (Université Paris Descartes)
Examinateur :	Laurent MICOUIN	Directeur de Recherche (Université Paris-Descartes)

◆ Résumé de la thèse :

Au cours de ce travail, nous avons développé des voies de synthèses convergentes et énantiosélectives en vue de préparer des analogues pyrrolidiniques des alcaloïdes de *Lobelia* comme nouveaux ligands des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine. Deux familles de ligands ont été réalisées par des méthodes d'élongation mono- ou bi-directionnelle basées respectivement sur des stratégies de désymétrisation précoce ou tardive au départ du succinaldéhyde.

La première partie de ce manuscrit aborde la conception d'hybrides de lobéline, nicotine et d'agonistes naturels. Ces structures originales ont été obtenues diastéréosélectivement grâce à un intermédiaire commun issu d'une élongation monodirectionnelle du succinaldéhyde. Cette voie exploitera la chimie des iminiums masqués. La mise au point de cette synthèse s'est enrichie par la découverte et la valorisation d'une nouvelle famille de ligands chimériques.

La seconde partie étudie la voie d'élongation bidirectionnelle basée sur des réactions de double aza-Michael suivies de la réduction désymétrisante tardive de pyrrolidines 2,5-phénacyl *méso* et pseudo-*méso*. Cette stratégie asymétrique s'inscrit dans une démarche d'économie d'atomes et d'étapes. La perspective majeure de ce travail est l'évaluation par électrophysiologie sur différents sous-types de récepteurs à l'acétylcholine d'une sélection de ligands hybrides.

Les études de RSA menées sur ces familles de composés de haute homologie structurale permettront *in fine* d'améliorer les modèles prédictifs décrivant les transitions allostériques des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine.

◆ Mots clés relatifs au sujet de la thèse :

Aza-Michael, oxazolopyrrolidine, iminium, réduction désymétrisante, alcaloïdes de *Lobelia*, hybrides, approche par fusion de fragments, récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine

◆ BioCIS

UMR CNRS 8076, équipe de "Chimie des Substances Naturelles"

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

◆UNIVERSITÉ PARIS-SUD

UFR DE PHARMACIE DE CHÂTENAY-MALABRY
5, rue Jean-Baptiste Clément
92296 CHÂTENAY-MALABRY Cedex

◆ Abstract:

During this PhD work, convergent and diastereoselective routes for the preparation of pyrrolidine *Lobelia* alkaloid analogues have been developed as novel neuronal nicotinic receptor ligands. Two families of ligands have been synthesized by a strategy of mono- or bi-directional elongation of the succinaldehyde including early or late desymmetrization process respectively.

The first part of this manuscript is dedicated to the preparation of hybrids of lobeline, nicotine and other natural agonists. These original structures have been diastereoselectively obtained thanks to a common intermediate resulting of the mono-elongation of succinaldehyde. This synthetic pathway uses the chemistry of masked iminium. The development of this strategy has been enriched by the discovery and the valorisation of a new chimeric ligand family.

The second part studies the "bidirectional" elongation route, based on a ring-closing double aza-Michael reaction followed by the desymmetrizing reduction of *meso* and pseudo-*meso* 2,5-diphenacyl pyrrolidines. This asymmetric strategy constitutes a step- and atom-economical approach. The major perspective of this work is the biological evaluation of selected ligands by electrophysiology made on different nAChR subtypes.

The SAR studies realized on these structurally homologue ligand families could allow the improvement of the predictive molecular models describing the allosteric conformations of the nAChRs.

◆ Key words:

Aza-Michael, oxazolopyrrolidine, iminium, desymmetrizing reduction, *Lobelia* alkaloids, hybrids, merging, fragment based drug design (FBDD), neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs).

◆ BioCIS

UMR CNRS 8076, équipe de "Chimie des Substances Naturelles"

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

◆UNIVERSITÉ PARIS-SUD

UFR DE PHARMACIE DE CHÂTENAY-MALABRY
5, rue Jean-Baptiste Clément
92296 CHÂTENAY-MALABRY Cedex

Remerciements

J'adresse mes plus sincères remerciements au Professeure Isabelle GILLAIZEAU ainsi qu'au Professeur Philippe BELMONT pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Je remercie également sincèrement le Docteur Laurent MICOUIN pour avoir pris le temps de juger cette thèse ainsi que le Docteur Catherine GUILLOU pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je remercie et resterai profondément reconnaissant envers mes encadrantes, le Pr Delphine JOSEPH et le Dr Emmanuelle DRÈGE. Je tiens à les remercier de m'avoir encouragé dans les phases de doutes, de m'avoir attentivement encadré et écouté au quotidien tout en sachant me laisser un grand degré de liberté. Vous avez su être de véritables guides aussi bien sur le plan professionnel que humain durant ces quatre années. Pour vos précieux conseils notamment lors des réunions du lundi matin je vous remercie. Merci pour votre disponibilité et votre patience à mon égard notamment durant mes phases de laborieuse rédaction. Merci pour toutes vos précieuses relectures. Et je remercie particulièrement le Dr Emmanuelle DRÈGE pour avoir enduré toutes mes sollicitations au laboratoire et de m'avoir supporté en tant que voisin de paillasse pendant près de trois ans. Je remercie particulièrement le Pr Delphine JOSEPH de m'avoir toujours fourni les moyens nécessaires à l'avancement de cette thèse et ce malgré les déménagements. Merci également de m'avoir accordé l'ultime privilège d'aller tester nos molécules à l'ICSN à l'issue de nos travaux de synthèse.

A cette occasion, je souhaite remercier le Dr Romulo ARAOZ de m'avoir accueilli pour l'évaluation de certaines de nos molécules dans son laboratoire d'électrophysiologie et ce malgré l'étroitesse des locaux et d'un déménagement imminent. Je le remercie également pour sa rigueur et pour le soin qu'il porte à nos molécules et à la répétabilité de leurs évaluations. Merci du fond du cœur.

Je tiens à saluer le travail de tous les autres chimistes ayant participé initialement à ce sujet ambitieux notamment le Dr Zacharias AMARA et le Dr Youssef HAJIBI, ainsi que les différents stagiaires ayant participé aux projets notamment Sarah BENAYAD dont le travail rigoureux sur les réductions est venu à point nommé permettant d'inclure les produits de réductions dans notre sélection de ligands à évaluer. Je remercie Axelle STORA et Jean-Baptiste GIBERT de s'être intéressés aux projets. J'encourage sincèrement Yousri RIANI à continuer dans sa voie de chimiste organicien au service des neurosciences, je le remercie d'avoir brillamment pris part aux réductions désymérisantes.

Je tiens à saluer le travail d'analyse de Claire TROUFFLARD, Karine LEBLANC et Camille DEJEAN, pour les multiples résultats obtenus grâce à leur efficacité et leur rigueur irréprochable.

Je remercie également le Dr Bruno FIGADÈRE, en la qualité de directeur, de m'avoir accueilli au sein de BioCIS. Et je remercie le Pr Jean-Daniel BRION en la qualité de directeur du pôle chimie de l'école doctorale d'avoir suivi chaque année l'avancée de mes travaux. De même, je tiens à adresser mes remerciements à l'ensemble du personnel de BioCIS pour leurs

disponibilités, leurs précieux conseils et leurs sympathies notamment autour des temps forts de BioCIS tels que les séminaires du Jeudi et les journées de méthodologies. Merci à tous…

Un remerciement spécial, au Docteur Benoît CROUSSE de m'avoir prodigué ses très bons conseils lors de ma première année pendant les journées de méthodologie.

Pour m'avoir éclairé et relu durant l'écriture de ce manuscrit, je souhaite profondément remercier le Dr Nicolas GIGANT.

Un profond merci également au Dr Johan FENNETEAU et à Noémie SCORNET pour les différentes sollicitations de ma part. Je salue également Natacha BONNEAU, ma collègue de bureau qui m'a enduré pendant cette phase de rédaction.

Je tiens à remercier également l'ensemble des co-thésards avec qui j'ai pu traverser de fort moment de vie, merci pour votre sympathie et votre soutien qui s'est manifesté par un grand nombre d'invitations… Merci à Dimitri, Pierre, Éric et Sara d'avoir toléré mes pouvoirs de sublimation.

Enfin, je souhaite adresser toutes mon affection à ma famille, et en particulier à mes parents. À mon père pour ses principes de vigilance « anticipe & prudence » valable dans toutes les circonstances et particulièrement efficace dans un quotidien au laboratoire. À ma mère pour son indéfectible amour et soutien dans les différents changements de ma vie. MERCI à Alban BEAUDOT, un véritable frère. Je souhaite remercier Jack et Michèle BERNIER pour leurs encouragements durant toute ma scolarité qui finalement fut plus longue que celle prédite... Merci à mes grands-parents VENOT et BEAUDOT, dont le soutient et les conseils furent toujours de bons augures et m'éclairera éternellement. Je pense également au regretté Jean-Pierre BIGOUCHET autodidacte et bricoleur de génie ayant éclairé mon enfance et attisé ma curiosité. Merci également à mes amis du Beuchon de Montceau-les-mines d'avoir vous aussi toléré mes phases d'absences.

Cette thèse est le résultat d'une promesse faite à moi-même, il y a sept ans. Tout faire pour contribuer un tant soit peu à l'avancement des connaissances de ce que nous sommes. Je me suis alors engagé dans la chimie pour offrir mes services dans cette quête de savoir. Je n'aurai jamais rêvé meilleur sujet que celui qui m'a été permis d'investir durant mon doctorat et ce avec les meilleurs compagnons de route. MERCI

Préambule

L'émergence de nouveaux outils physiques, chimiques ou biologiques durant ces trente dernières années a nettement amélioré notre compréhension du vivant jusqu'aux interactions moléculaires.

Cette révolution de pensée amène la chimie thérapeutique à rationaliser la conception de ses molécules. L'une des approches qui remporte un véritable succès est la conception de molécules thérapeutiques par fragments « Fragments-Based Drug Design » (FBDD). Cette approche basée sur l'affinité de fragments moléculaires évolue et remporte actuellement ses premiers succès cliniques. De nouveaux composés obtiennent l'aval des autorités de santé, et chaque année s'ajoutent de plus en plus de molécules issues du FBDD aux essais cliniques. Cette approche rationnelle repose souvent sur des collaborations pluridisciplinaires. Les synergies entre les biochimistes, les modélisateurs et les chimistes sont des apports indéniables à la de création de nouveaux hits.

Mes travaux de thèse s'inscrivent dans une démarche itérative d'optimisation de modèles prédictifs *in-silico* des conformations des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChRs). Ce projet est issu de la collaboration entre les équipes de bio-informaticiens de l'Institut Pasteur, de pharmacologues et notre laboratoire. Il se subdivise en trois parties : modélisation *in-silico*, évaluation biologique et synthèse.

Mes travaux concernent la conception et la synthèse de nouveaux ligands des nAChRs inspirés par les substances naturelles d'activité agoniste sur lesdits récepteurs.

La chimie développée autours de molécules d'intérêt a concerné d'une part la chimie des iminiums sur des substrats pyrrolidiniques et d'autre part le développement de réductions désymétrisantes de dicétones *méso*. Les molécules synthétisées sont actuellement en cous d'évaluation biologique par électrophysiologie sur différents sous-types de nAChRs.

Ces résultats permettront à terme de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la liaison du ligand au récepteur et leurs conséquences sur le réarrangement allostérique desdits récepteurs.

Liste des abréviations

Å	Angström
AL.	Acide de Lewis
ACh	Acétylcholine
AChBP	Acetylcholine binding protein
AcOH	Acide acétique
ADP	Adénosine diphosphate
AIBN	Azobis*iso*butyronitrile
Alk.	Alkyle
AM	Aza-Michael
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization
APTS	Acide *p*-toluène sulfonique
Ar.	Aryle
BACE1	β-sécrétase
Bcl2	B-cell lymphoma 2
Bcl-XL	B-cell lymphoma XL
BINAP	2,2'-Bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphthyle
Boc.	*tert*-Butyloxycarbonyle
Bt.	Benzotriazole
BTM	Benzotétramisole
CAN	Nitrate de cérium et d'ammonium
CAS	Chemical Abstracts Service
CatBH	Catécholborane
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDI	Carbonyldiimidazole
CDKs	Cyclin-dependent kinase
ClogP	Calcul du logarithme du coefficient de partage entre l'octane et l'eau
conc.	Concentré
conv.	Taux de conversion
Cys	Cystéine
Da	Dalton
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane
DAM	Double aza-Michael
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCE	Dichloroéthane
DCM	Dichlorométhane
DFT	Density functional theory
ΔG	Énergie libre de Gibbs
DHβE	Dihydro-β-érythroïdine
DIBAL-H	Hydrure de di*iso*butylaluminium hydride
DIP-Cl ou Ipc2BCl	Chloroborane de di*iso*pinocamphényle
DIPEA	Di*iso*propyléthylamine
DMAP	4-Diméthylaminopyridine

DME	Diméthyléther
DMF	*N*,*N*-Diméthylformamide
DMP	Dess–Martin périodinane
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNPH	2,4-Dinitro-phénylhydrazine
DPPA	Azoture de diphénylphosphoryle
dppf	1,1′-Bis(diphénylphosphino)ferrocène
DSF	Differential scanning fluorimetry
e.d	Excès diastéréomérique
e.e	Excès énantiomérique
E.T.	État de transition
EMA	Agence européenne du médicament
Ent.	Énantiomère
Eq.	Équivalent
ESI	Electron spray ionization
F.S	Fragment screening
F2L	Fragment to lead (optimisation par fragment)
FBDD	Fragment based drug discovery
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GEA	Groupe électroattracteur
GED	Groupe électrodonneur
HFIP	Hexafluoro*iso*propanol
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HPLC	High-performance liquid chromatography
Hsp90	Heat shock protein 90
i.e.	*id est* (c'est-à-dire)
IBCF	*iso*Butyl chloroformate
IC_{50}	Concentration pour laquelle 50% d'inhibition est obtenue
Ile	Isoleucine
Im.	Imidazole
i-PrOH	*iso*Propanol
JAK2	Janus kinase 2
Ka	Constante d'affinité
KHMDS	Bis(trimethylsilyl)amide de potassium
Ki	Constante d'inhibition
L.E	Efficacité du ligand
LiDBB	4,4'-Di-*tert*-butyldiphényllithium
Log P	Logarithme du coefficient de partage entre l'octane et l'eau
m/z	Rapport masse sur charge
MBH	Morita-Baylis-Hillman
MCCPM	4-(Dicyclohexylphosphino)-2-[(diphénylphosphino)méthyl]-pyrrolidine
MOMCl	Chlorure de méthoxyméthyle
MsCl	Chlorure de méthanesulfonyle
nAChR(s)	Récepteur nicotinique à l'acétylcholine

NMM	*N*-méthylmorpholine
NMP	*N*-méthyl-2-pyrrolidone
nOe	Nuclear Overhauser effect
nOesy	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
[Ox]	Oxydation
PDGFR	Platelet-derived growth factor
PET	Positron emission tomography
pLGICs	Pentameric ligand-gated ion channels
PMB	*p*-Méthoxybenzyl
PPAR (PARP)	Poly[ADP-Ribose] polymérase
PSA	Aire de surface polaire
r.d.	Ratio diastéréomérique
Rac.	Racémique
rdt.	Rendement
[Red]	Réduction
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RSA	Relation structure-activité
RX	Rayons X
Sat.	Saturé(e)
S_N2	Substitution nucléophile d'ordre 2
S_NAr	Substitution nucléophile aromatique
SNC	Système nerveux central
SPECT	Single photon emission computed tomography
T.A	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétra-*n*-butylammonium
TBSCl ou TBDMSCl	Chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle
TBTU	Tetrafluoroborate de *O*-(benzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetramethyluronium
TEA	Triéthylamine
TFA	Acide trifluoroacétique
Tf	Triflate
THF	Tétrahydrofurane
THFA	Tétrahydro-furfuryl alcool
TMEDA	Tétraméthyléthylènediamine
TMSCl	Chlorure de triméthylsilyle
TNKS	Tankyrase
Tps réact.	Temps de réaction
Troc(Cl)	Chlorure de 2,2,2-trichloréthoxycarbonyle
Trp	Tryptophane
TsDPEN	*N*-*p*-Tosyl-1,2-diphényléthylènediamine
Tyr	Tyrosine
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Δ	Chauffage à reflux
µM	Micromolaire
µW	Micro-onde

Contenu

CHAPITRE I : CONCEPTION D'HYBRIDES : APPROCHE PAR FRAGMENTS 17

2 DES CONCEPTS DE L'APPROCHE PAR FRAGMENTS AUX SUCCES CLINIQUES 18

2.1. Généralités 18

2.2. Évolution des concepts fondamentaux de l'approche par fragment 22

3 GRANDES STRATEGIES D'OPTIMISATION D'UN FRAGMENT EN CHEF DE FILE 26

3.1. Optimisation par croissance d'un fragment : le « Growing » 26

3.1.1. Définition 26

3.1.2. Exemple d'optimisation d'un fragment par croissance 26

3.1.3. Conclusion 29

3.2. Optimisation par assemblage de fragments : le « linking » 29

3.2.1. Définition 29

3.2.2. Exemple d'optimisation par assemblage de fragments 30

3.2.3. Conclusion 34

3.3. Optimisation de fragments par fusion : le « Merging » 34

3.3.1. Définition 34

3.3.2. Exemple d'optimisation de hit par fusion de fragments 35

3.3.3. Conclusions 39

4 APPROCHE CIBLANT LES RECEPTEURS NICOTINIQUES A L'ACETYLCHOLINE 40

4.1. Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine 40

4.1.1. Les nAChRs : une cible thérapeutique 40

4.1.2. Structure et allostérie des nAChRs 40

4.1.3. Localisation et diversité sous-typique 42

4.1.4. Les récepteurs modèles des nAChRs 43

4.1.5. Vers une meilleure compréhension des transitions allostériques 44

4.2. Les ligands naturels, de synthèse et hybrides 48

4.2.1. Les ligands agonistes d'origine naturelle et de synthèse 48

4.2.2. Les hybrides d'agonistes des nAChRs possédant un fragment de l'épibatidine 41 52

4.2.3. Les hybrides de ligands agonistes des nAChRs possédant un fragment de la lobéline 46 55

4.2.4. La (-)-lobéline 46, un ligand d'exception 59

5 PROJET DE RECHERCHE 66

5.1. Les acquis du laboratoire sur la double aza-Michael cyclisante: opportunités de synthèse 66

5.2. Projet de recherche : synthèse de deux séries chimiques hybrides de lobéline 67

CHAPITRE II : LES HYBRIDES DE LOBELINE ET DE NICOTINE ET/OU D'AGONISTES NATURELS DES NACHRS 71

1 INTRODUCTION 72

1.1. Synthèse d'hybrides de nicotine et de lobéline 72

1.2. Stratégie et Rétrosynthèse 73

2 SYNTHESE DES OXAZOLOPYRROLIDINES CHIRALES 75

2.1. Voies d'accès aux oxazolopyrrolidines chirales pivot : état de l'art ... 75
2.1.1. La méthode CN(*R*, *S*) ... 75
2.1.2. La voie du benzotriazole ... 76
2.1.3. Synthèse multi-étape d'oxazolopyrrolidines selon Higashiyama ... 77
2.1.4. Synthèse multi-étapes d'oxazolopyrrolidines selon Kadouri-Puchot et Mangeney ... 78
2.1.5. La synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales par réactions tandem d'hémi-aminalisation/aza-Michael ... 80
2.2. Stéréochimie des oxazolopyrrolidines chirales ... 81
2.3. Résultats personnels ... 82
2.3.1. Préparation d'oxazopyrrolidines chirales par désymétrisation précoce ... 83
2.3.2. Détermination de la stéréochimie des oxazopyrrolidines ... 90
3 SYNTHESE DE PYRROLIDINES 2,5-*TRANS*-DISUBSTITUEES PAR ARYLATION DIASTEREOSELECTIVE ... 95
3.1. Réactivité des oxazolopyrrolidines vis-à-vis des nucléophiles carbonés : état de l'art ... 95
3.1.1. Réactivité ambivalente des oxazolopyrrolidines ... 95
3.1.2. Addition de cétones énolisables ... 96
3.1.3. Addition de nucléophiles organométalliques ... 98
3.2. Résultats personnels ... 103
3.2.1. Protection de la fonction carbonyle du bras phénacyle ... 103
3.2.2. Additions d'arylgrignards sur des oxazolopyrrolidines chirales ... 104
4 SYNTHESE DES PYRROLIDINES 2,5-*TRANS*-DISUBSTITUEES *N*-METHYLEES ... 108
4.1. Stratégies de clivage du motif chiral N-2-hydroxy-1-phénéthyle: état de l'art ... 108
4.1.1. Clivage par hydrogénolyse ... 109
4.1.2. Clivage indirect par substitution/élimination ... 110
4.1.3. Clivage par formation d'ammonium quaternaire/élimination de Hofmann ... 113
4.1.4. Clivage par oxydation/hydrolyse d' "osazone" ... 114
4.1.5. Clivages oxydants appliqués à des amines acycliques dérivées du phénylglycinol 107 ... 114
4.2. N-Déprotection : résultats personnels ... 116
4.2.1. Essais de clivage par hydrogénolyse : résultats préliminaires ... 116
4.2.2. Essais de clivage par substitution/élimination : résultats préliminaires ... 118
4.2.3. Essais de clivage par élimination de Hofmann : résultats préliminaires ... 119
4.2.4. Essais de clivage oxydant : études des conditions ... 120
4.3. Les grandes stratégies de N-méthylation ... 125
4.3.1. Méthylation par alkylation directe ... 125
4.3.2. Méthylation par réduction de carbamates ... 125
4.3.3. Méthylation par amination réductrice ... 126
4.4. N-Méthylation de pyrrolidines 2,5-trans-disubstituées: résultats personnels ... 128
4.5. Déprotection de la fonction cétone : rappels bibliographiques ... 130
4.5.1. Hydrolyse en présence d'acide de Brønsted ... 130
4.5.2. Hydrolyse en présence d'acide de Lewis ... 131
4.5.3. Déprotection par transacétalisation ... 132
4.6. Déprotection de la fonction carbonyle : résultats personnels ... 132
5 CONCLUSIONS ... 135

5.1. Synthèse d'hybrides de nicotine 38 et lobéline 46 ... 135

5.2. Synthèse de chimères de lobéline et d'agonistes nicotiniques ... 136

CHAPITRE III : ETUDES DE REDUCTIONS DESYMETRISANTES : ACCES AUX ANALOGUES PYRROLIDINIQUES DE LA (-)-LOBELINE. ... 139

1 APPROCHES CONVERGENTES DE LA (-)-LOBELINE PAR DESYMETRISATION : ASPECTS BIBLIOGRAPHIQUES ... 140

1.1. Approches par mono-oxydation ... 141

1.1.1. 1ère Approche industrielle ... 141

1.1.2. Approche de Birman ... 142

1.1.3. Approche de Stoltz ... 143

1.1.4. Approche de Chênevert ... 145

1.2. Approches par mono-réduction : approche de Klingler (Boehringer Ingelheim) ... 146

2 SYNTHESE STEREOSELECTIVE DE PYRROLIDINES CHIRALES ET ACHIRALES SOUS ULTRASONS ... 148

2.1. Synthèse stéréoselective de pyrrolidines chirales ... 149

2.2. Synthèse stéréoselective de pyrrolidines méso sous ultra-sons ... 152

3 ETUDES DE REDUCTIONS DESYMETRISANTES ... 159

3.1. Aspects bibliographiques ... 159

3.1.1. Approches diastéréosélectives ... 161

3.1.2. Approches énantiosélectives ... 162

3.2. Présentation des résultats ... 173

3.2.1. Réduction de la série de pyrrolidines *méso* ... 173

3.2.2. Réduction de l'homologue pyrrolidinique de la lobélanine 82l ... 177

3.2.3. Etude du potentiel de désymétrisation par le substrat ... 188

4 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ... 201

CHAPITRE IV : CONCLUSION & PERSPECTIVES ... 205

PARTIE EXPÉRIMENTALE ... 209

Chapitre I : Conception d'hybrides : approche par fragments

Dans ce chapitre sont présentés les différents aspects de la conception par fragments qui a guidé le design de nos structures chimiques ciblant les nAchRs. Les différentes notions propres à ce domaine seront présentées, couvrant les aspects généraux jusqu'aux premiers succès cliniques. Les démarches par fragments en thérapeutique seront illustrées par les grandes réussites du domaine en développant les outils associés. Nous porterons une attention plus particulière à l'état de l'art concernant la conception de molécules ciblant les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChRs). Nous terminerons ce chapitre en abordant les travaux clés des molécules hybrides élaborées à partir de fragments actifs issus de ligands naturels agonistes ou antagonistes.

2 Des concepts de l'approche par fragments aux succès cliniques

2.1. Généralités

L'approche par fragments connait aujourd'hui un succès incontestable compte-tenu du grand nombre d'articles scientifiques et du nombre croissant de molécules atteignant les phases de développements cliniques.[1] Ces résultats reposent sur le rationalisme de la démarche.

La conception d'un nouveau candidat-médicament est initiée par la détection d'un fragment affin pour une cible thérapeutique donnée. Cette démarche rationnelle se poursuit pendant l'optimisation du fragment initial. L'optimisation est alors guidée par un ensemble de résultats scientifiques (activité, affinité, stabilité …).[2,3] La pertinence de ces informations peut s'affiner au fur et à mesure du processus de conception. Ce processus se déroulera avec plus de rationalisme quand une phase d'optimisation itérative est intégrée dans la démarche. Pour être applicable, la conception de candidat-médicament par une approche par fragment implique :

- ✓ La bonne connaissance d'une cible biologique et de sa pharmacologie,
- ✓ L'accessibilité et la disponibilité de la cible (production, …),
- ✓ La capacité de modéliser les interactions molécules active-cible biologique,
- ✓ La validation des voies de synthèse des molécules envisagées,

[1] Hajduk P J, Greer J, A decade of fragment-based drug design: strategic advances and lessons learned, *Nat. Rev. Drug Discov*. **2007**, *6*, 211-9.
[2] Law R, Barker O, Barker J, Hesterkamp T, Godemann R, Andersen O, Fryatt T, Courtney S, Hallett D, Whittaker M, The multiple roles of computational chemistry in fragment-based drug design, *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **2009**, *23*, 459-73.
[3] Davis B J, Erlanson D A, Learning from our mistakes: The 'unknown knowns' in fragment criblage, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2844-52.

- ✓ Et la maîtrise de l'évaluation biologique.

La conception de candidat-médicament se développe au départ d'une cible thérapeutique identifiée. Ce sont les connaissances de la cible et de sa pharmacologie qui définiront la technique employée pour le criblage des « fragments » ou des molécules de faibles poids moléculaires. Ce criblage doit permettre de détecter une molécule active dit « fragment initial » parmi une librairie de quelques milliers de petites molécules, de structure chimique le plus souvent simple et achirale, mais aussi parfois complexe et chirale.

Les fragments constituant la librairie peuvent avoir été choisis par des règles empiriques ou par selon une réflexion rationnelle. Ainsi, par analogie aux règles empiriques de Lipinski (ou règle des 5)[4] est apparue la règle des 3 en matière de librairie de fragments.[5,6] Cette dernière conseille d'utiliser des molécules de moins de 300 Da contenant au maximum 3 accepteurs de liaisons hydrogènes et/ou au maximum 3 donneurs de liaisons hydrogènes. Ces molécules ne doivent pas posséder plus de trois liaisons en libre rotation, un cLogP inférieur ou égal à 3, ainsi qu'une aire de surface polaire inférieure à 60 (PSA <60 $Å^2$, correspond principalement au nombre d'atomes d'oxygène et d'azote). De manière plus rationnelle, la composition d'une librairie de fragments peut aussi tenir compte des données pharmacologiques en lien avec la cible thérapeutique choisie. De même, la déconstruction de ligands avérés mais de hauts poids moléculaires génère une source rationnelle de fragments.[7] Les fragments-clés sont alors détectés parmi la nouvelle librairie ciblée de fragments.

Le criblage de librairie peut s'effectuer selon des méthodes virtuelles et/ou par des évaluations biologiques *in vitro*. Différentes techniques sont alors à disposition en fonction de l'accessibilité et la nature de la cible thérapeutique. On peut citer, entre autres, les techniques de thermostabilité par fluorescence, de spectrométrie de masse, de résonnance magnétique nucléaire, de résonnance plasmonique de surface, de cristallographie aux rayons-X ou encore

[4] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, Feeney P J, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3-25.
[5] Lipinski C A, Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution, *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, *1*, 337-41.
[6] Siegal G, Ab E, Schultz J, Integration of fragment criblage and library design, *Drug Discov. Today* **2007**, *12*, 1032-39.
[7] Barelier S, Pons J, Marcillat O, Lancelin J-M, Krimm I, Fragment-Based Deconstruction of Bcl-xL Inhibitors, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2577-88.

les différentes méthodes de criblage à haut débit *in silico* par des techniques d'ancrage moléculaire (Docking) (Figure **1**).[8]

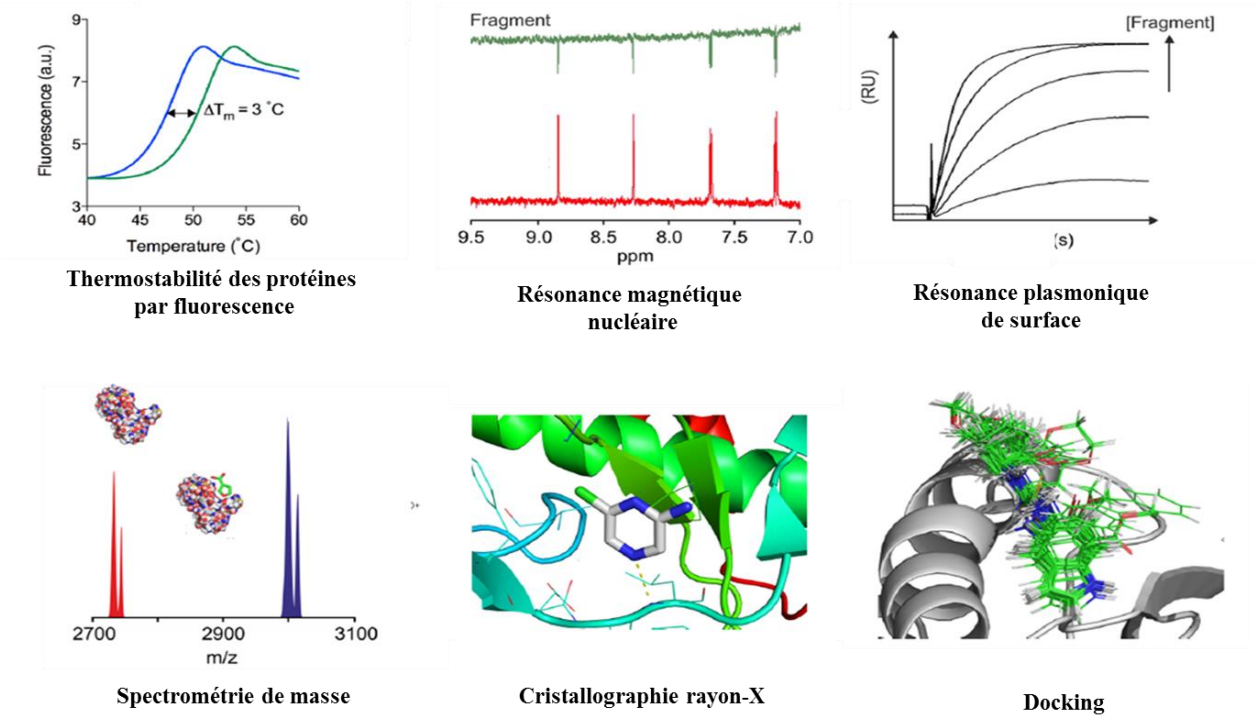


Figure 1 Exemples de techniques de criblage de librairie de fragments.

Le criblage *in silico* nécessite l'obtention de données structurales de la cible permettant la construction d'un model informatique. Deux techniques permettent d'atteindre une résolution atomique d'une protéine, la radiocristallographie et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire RMN. Les études radiocristallographiques requièrent l'obtention de structures cristallines. Si cela n'est techniquement pas possible, il existe une alternative qui consiste à exploiter des données cristallographiques de protéines homologues. Celles-ci apportent des informations structurales très proches qui peuvent satisfaire la construction d'un model *in silico*.

Les fragments identifiés pour leur efficacité notable mesurée au travers d'une ou plusieurs méthodes différentes de criblage, sont alors comparés. Pour normaliser cette comparaison, la notion d'efficacité du ligand (L.E ou Ligand Efficiency) a été définie. Elle permet de mesurer l'énergie de liaison par atome du ligand lié à sa cible. L'efficacité d'un ligand est calculée en

[8] Scott D E, Coyne A G, Hudson S A, Abell C, Fragment-Based Approaches in Drug Discovery and Chemical Biology, *Biochemistry* **2012**, *51*, 4990-003.

effectuant le rapport entre l'énergie libre de Gibbs (ΔG) calculée et le nombre (N) d'atomes considérés pour le fragment, hors atomes d'hydrogène : [9]

$$L.E = \frac{\Delta G}{N} = \frac{-\mathrm{RT}.\ln(\mathrm{Ki})}{N}$$

N : nombre d'atomes du ligand hors atomes d'hydrogène

Ki : constante d'affinité

D'autres mesures d'efficacité d'un composé sont également utilisables comme le K_d ou l'IC_{50}. Cette valeur pondérée de l'efficacité du ligand peut être évaluée tout au long du processus d'identification d'un « hit » jusqu'à son optimisation en « lead ».[10] Généralement, la littérature conseille de conserver une valeur de *L.E* supérieure à 0,3 kJ par nombre d'atomes.

D'autres valeurs métriques peuvent être introduites pour affiner la mesure d'efficacité d'un ligand dans le but de répondre à des problématiques liées au développement d'un candidat médicament telles que l'amélioration de ses propriétés pharmacocinétiques, de sa toxicité ou de sa biodisponibilité (*i.e.* capacité à passer la barrière hématoencéphalique). On peut ainsi intégrer d'autres valeurs telles les valeurs de Log P. Ainsi, de nombreux outils de comparaison d'efficacité de ligand ont vu le jour. Ils contribuent à concevoir de manière rationnelle de nouveaux candidats médicaments au départ du fragment identifié par criblage jusqu'à son optimisation en chef de file.

L'optimisation d'un fragment repose sur différents éléments-clé comme :

- ✓ des données structurales de l'interaction fragment-cible
- ✓ des stratégies de synthèse divergentes pour les études de RSA
- ✓ des méthodes d'évaluations biologiques robustes et fiables
- ✓ des modèles moléculaires réalistes.

La phase d'optimisation d'un fragment est souvent itérative. Après que chaque molécule soit synthétisée et évaluée, de nouvelles données sont générées et intégrables aux modèles *in silico.* Ainsi, à chaque nouvelle génération de molécules, les connaissances des interactions molécules-cibles mises en jeu ainsi que les données structurales et conformationelles essentielles à l'activité, gagnent en précision. La compréhension des interactions molécule-cible s'affine, et leur modélisation *in silico* devient alors de plus en plus réaliste. Par conséquent, guidée par une compréhension plus exacte des interactions molécule-cible, la conception rationnelle de nouvelles molécules devient plus efficace (Figure **2**).

[9] Abad-Zapatero C, Metz J T, Ligand efficiency indices as guideposts for drug discovery, *Drug Discov. Today* **2005**, *10*, 464-69.

[10] Reynolds C H, Tounge B A, Bembenek S D, Ligand Binding Efficiency: Trends, Physical Basis, and Implications, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2432-38.

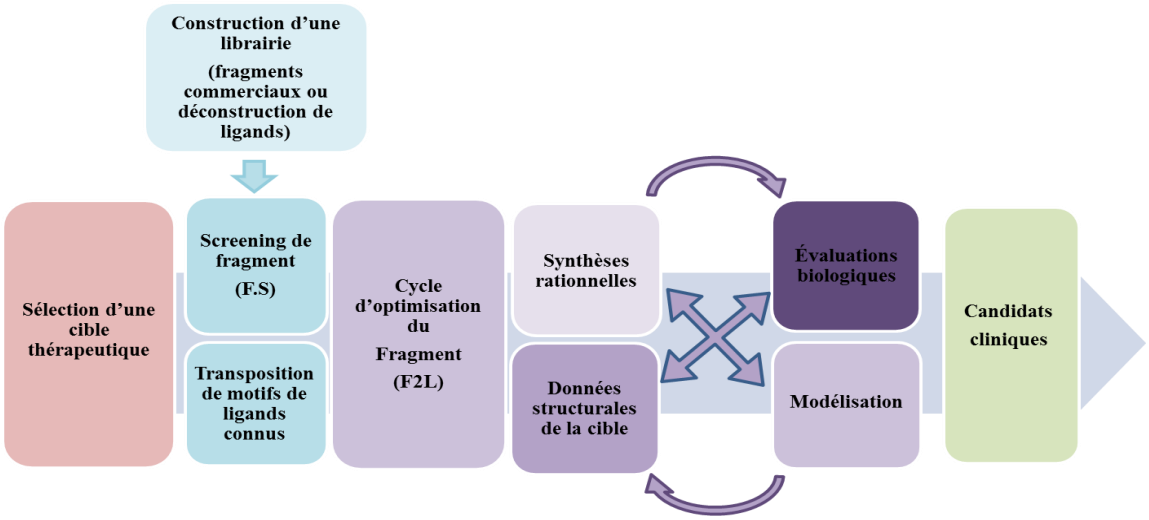


Figure 2 Conception d'un candidat-médicament selon une approche par fragment.

A la fin de ce processus de conception, les molécules issues de l'approche par fragments seront engagées dans les phases d'évaluation précliniques et cliniques.

2.2. Évolution des concepts fondamentaux de l'approche par fragment

Les concepts fondateurs de l'approche par fragment sont apparus il y a une trentaine d'années.[11] En 1981, Jencks pose le premier jalon de l'approche par fragment. Il postule qu'une molécule complexe peut être considérée comme l'association de différents fragments essentiels à son affinité pour une cible donnée (Figure **3**).[12]

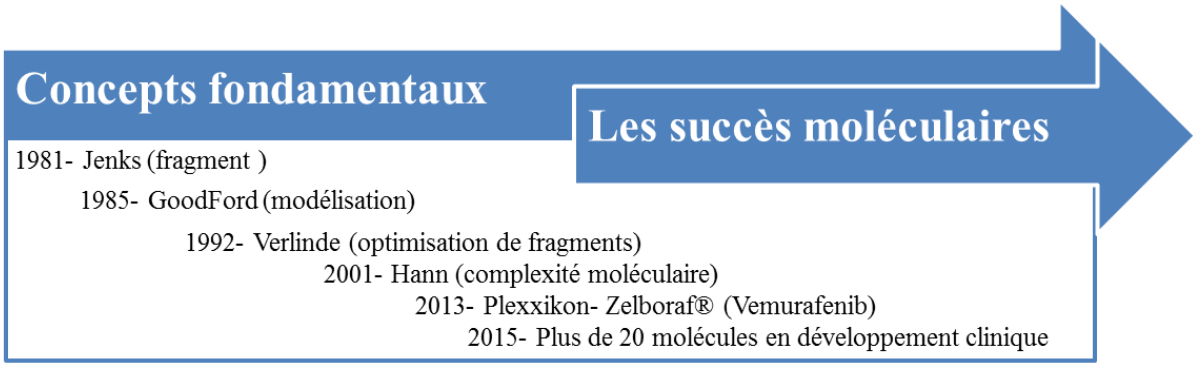


Figure 3 Approches par fragments : des concepts fondamentaux aux succès cliniques.

En 1985, les premiers travaux de modélisation moléculaire appliqués au « drug design » selon une approche par fragments, sont initiés par Goodford qui développe le programme

[11] Chessari G, Woodhead A-J, From fragment to clinical candidate—a historical perspective, *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 668-75.
[12] Jencks W-P, On the attribution and additivity of binding energies, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 4046-50.

informatique GRID capable d'analyser et de modéliser l'interaction de petites molécules avec une protéine.[13] En 1992, grâce à une étude menée par modélisation moléculaire, Verlinde conçoit une série de chefs de file issus d'une approche par fragments.[14] En 2001, Hann *et al.* s'intéressent à l'impact de la complexité moléculaire d'un composé sur son affinité envers une protéine et de fait, sur la probabilité d'identifier directement un chef de file par criblage de molécules complexes. Les conclusions de ces travaux suggèrent que plus la molécule est complexe, plus il est probable d'induire des interactions défavorables voire répulsives. A l'inverse, les petites molécules augmentent la probabilité d'obtenir des interactions favorables.[15] D'autres conclusions statistiques ont abondé dans ce sens, mettant en valeurs la dimension de l'espace chimique exploré par les approches par fragments : ce dernier est bien plus vaste que celui exploré par des approches classiques criblant des architectures complexes.[16,17]

L'approche par fragments a montré son efficacité dans le développement de médicament avec, en 2013, la mise sur le marché du vemurafénib **1** (Zelboraf®), indiqué en chimiothérapie anticancéreuse.[18] Plexxikon est la première société à avoir développé une molécule jusqu'aux applications thérapeutiques en suivant une approche par fragments. Le vemurafénib **1** est issu d'un criblage *in vitro* de fragments (test d'inhibition de l'enzyme sérine-thréonine kinase B-Raf) dont l'optimisation en chef de file puis en médicament a pu être réalisée grâce à une bonne connaissance de la structure atomique de la protéine cible B-Raf et de ses interactions avec les molécules candidates. Aujourd'hui, Plexxikon possède d'autres candidats-médicaments en développement clinique de phase 2 également conçus selon une approche par fragments (Indéglitazar **9** – Tableau **1**).

Actuellement, l'industrie pharmaceutique continue à développer ses approches de conception de médicaments par fragments. Parmi les entreprises du médicament, trois d'entre elles,

[13] Goodford P-J, A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 849-57.
[14] Verlinde C M J, Rudenko G, Hol W J, In search of new lead compounds for trypanosomiasis drug design: A protein structure-based linked-fragment approach, *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **1992**, *6*, 131-47.
[15] Hann M M, Leach A R, Harper G, Molecular Complexity and Its Impact on the Probability of Finding Leads for Drug Discovery, *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **2001**, *41*, 856-64.
[16] Fink T, Reymond J-L, Virtual Exploration of the Chemical Universe up to 11 Atoms of C, N, O, F: Assembly of 26.4 Million Structures (110.9 Million Stereoisomers) and Analysis for New Ring Systems, Stereochemistry, Physicochemical Properties, Compound Classes, and Drug Discovery, *J. Chem. Inf. Model.***2007**, *47*, 342-53.
[17] Reymond J-L, Awale M, Exploring Chemical Space for Drug Discovery Using the Chemical Universe Database, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, 649-57.
[18] Monothérapie en première ligne des mélanomes métastatiques ou non ré-sécables exprimant une mutation BRAF-V600 (Soit 40 à 60% des mélanomes).

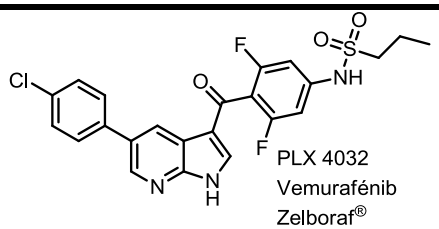
Abbott, Astex et Plexxikon, ont particulièrement contribué à l'avancée de l'approche par fragments : deux tiers des molécules en développement clinique au-delà de la phase 1 et issues de l'approche par fragments ont été développées par ces trois firmes (Tableau **1**). Ainsi, Abbott possède actuellement deux candidats médicaments en phase 2 dans le traitement du cancer, le navitoclax **2** (ABT-263) et le Linifanib **3**. Ces molécules sont issues des travaux de Fesik et ses collaborateurs qui ont développé une méthode de criblage par RMN. Cette technique quantifie les perturbations induites sur la protéine par la fixation ou l'interaction avec un fragment. La maîtrise de cette technique requiert la nécessité de produire la protéine cible et de connaître la structure du site de fixation de la cible. Astex Therapeutics, quant à elle, possède trois candidats médicaments élaborés selon une approche par fragments : AT9283 **4**, AT7519 **5** et AT13387 **6** (Tableau **1**). Ces molécules sont issues d'un criblage *in silico* associé à des évaluations biologiques par RMN reposant sur une grande expertise en cristallographie et en détermination structurale.

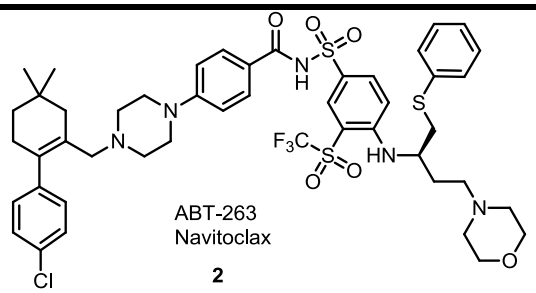
En trente ans, l'évolution des concepts initiaux de l'approche par fragments a conduit à l'émergence de nouveaux outils de criblages et d'évaluations biologiques. La recherche industrielle comme académique exploite aujourd'hui ces approches, découvrant des « fragments » issus de chimiothèques ou de déconstructions de molécules complexes,[7,19] et les optimisant en chefs de file.[20,21] On constate que de plus en plus de nouvelles molécules issues des approches par fragments entrent en développements cliniques.[22]

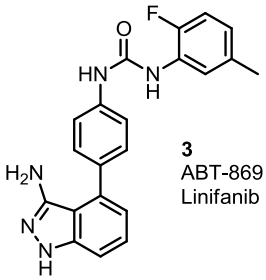
[19] de Kloe G E, Retra K, Geitmann M, Källblad P, Nahar T, van Elk R, Smit A B, van Muijlwijk-Koezen J E, Leurs R, Irth H, Danielson U H, de Esch I J P, Surface Plasmon Resonance Biosensor Based Fragment Criblage Using Acetylcholine Binding Protein Identifies Ligand Efficiency Hot Spots (LE Hot Spots) by Deconstruction of Nicotinic Acetylcholine Receptor α7 Ligands, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7192-201.
[20] Murray C W, Rees D C, The rise of fragment-based drug discovery, *Nat. Chem*. **2009**, *1*, 187-92.
[21] de Kloe G E, Bailey D, Leurs R, de Esch I J P, Transforming fragments into candidates: small becomes big in medicinal chemistry, *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 630-46.
[22] Congreve M, Chessari G, Tisi D, Woodhead A J, Recent Developments in Fragment-Based Drug Discovery, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3661-80.

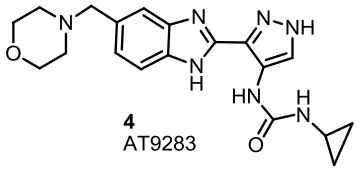
Tableau 1 Médicament et candidats médicaments issus d'une conception par fragments.

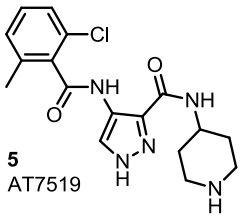
Firme	Nom du composé	N°	Cible	Développement en Phase clinique	Indication thérapeutique
Plexxikon	Vemurafénib	**1**	B-Raf (V600E)	Approuvé	Cancer à mélanome
Abbott	ABT-263 Navitoclax	**2**	Bcl2, Bcl-X_L	Phase 2	Cancer du poumon
Abbott	ABT-869/ Linifanib	**3**	VEGF & PDGFR	Phase 2	Cancer
Astex	AT 9283	**4**	Aurora, JAK2, Bcr-Abl	Phase 2	Cancer
Astex	AT7519	**5**	CDKs	Phase 2	Cancer
Astex	AT13387	**6**	Hsp90	Phase 2	Cancer
Lilly/ Protherics	LY-517717	**7**	FXa	Phase 2	Coagulation sanguine
Lilly	LY2886721	**8**	BACE1	Phase 2	Maladie d'Alzheimer
Plexxikon	PLX204/ Indéglitazar	**9**	PPAR (agoniste)	Phase 2	Diabète
Vernalis/ Novartis	AUY-922	**10**	Hsp90	Phase 2	Cancer

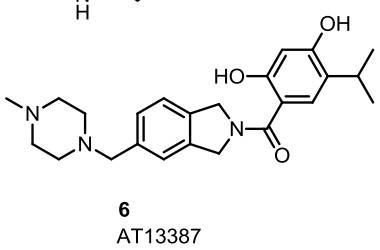


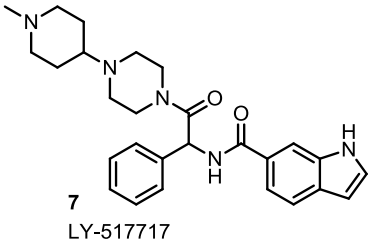


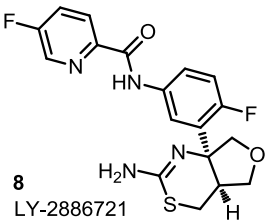


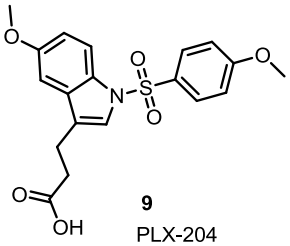


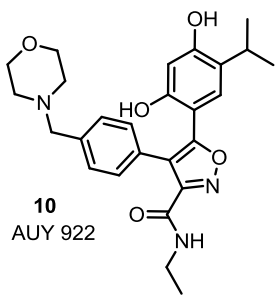












3 Grandes stratégies d'optimisation d'un fragment en chef de file

La phase d'optimisation d'un fragment peut s'opérer selon trois grandes stratégies : par croissance du fragment, le « growing », par assemblage de fragments, le « linking » ou par fusion de fragments, le « merging ».[23] Nous avons choisi trois exemples de la littérature pour illustrer ces trois stratégies.

3.1. Optimisation par croissance d'un fragment : le « Growing »

3.1.1. Définition

L'optimisation par « growing » consiste à augmenter pas à pas la taille d'un fragment en modulant le nombre, la taille et la nature de ses substituants afin d'améliorer l'interaction de la molécule avec sa cible (Figure **4**). Incrémentés d'études de RSA, les pharmacophores indispensables à l'activité sont alors mis en évidence.

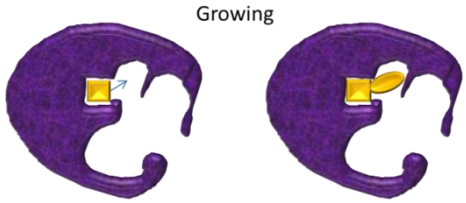


Figure 4 Schématisation de l'optimisation d'un fragment par croissance.

3.1.2. Exemple d'optimisation d'un fragment par croissance

Les tankyrases, sous leurs deux isoformes TNKS-1 et TNKS-2, constituent des cibles thérapeutiques d'intérêt pour le traitement du cancer du colon et des maladies liées à la dégradation de la myéline. Ces enzymes appartiennent à la famille des PARP (Poly[ADP-Ribose] polymérase). Elles permettent le transfert de motif ADP-Ribose sur différents substrats et constituent ainsi des régulateurs de voies de signalisation. Des scientifiques de Singapour et de Stockholm se sont particulièrement intéressés à la conception d'inhibiteurs

[23] Schulz M N, Hubbard R E, Recent progress in fragment-based lead discovery, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2009**, *9*, 615-21.

sélectifs du domaine PARP (Poly[ADP-Ribose] polymérase) de la tankyrase-2 (TNKS-2) selon une approche par fragments.[24]

Le criblage par fluorimétrie différentielle à balayage (DSF-Differential Scanning Fluorimetry) de 500 fragments testés sur TNKS-2 a permis l'identification de deux fragments « hit ». Ce test évalue la dénaturation thermique d'une protéine par mesure de fluorescence. Généralement, le complexe formé d'un fragment en forte interaction avec la protéine-cible possède une plus grande capacité de résistance à la dénaturation thermique. Aux mesures d'affinité des fragments s'ajoutent des informations radiocristallographiques obtenues à partir de co-cristaux avec TNKS-2 qui motiveront le choix du composé **11** comme fragment « hit » initial (Schéma **1**). C'est à partir de ce fragment **11**, actif à 12 µM, que s'opèreront les essais d'optimisation en chef de file.

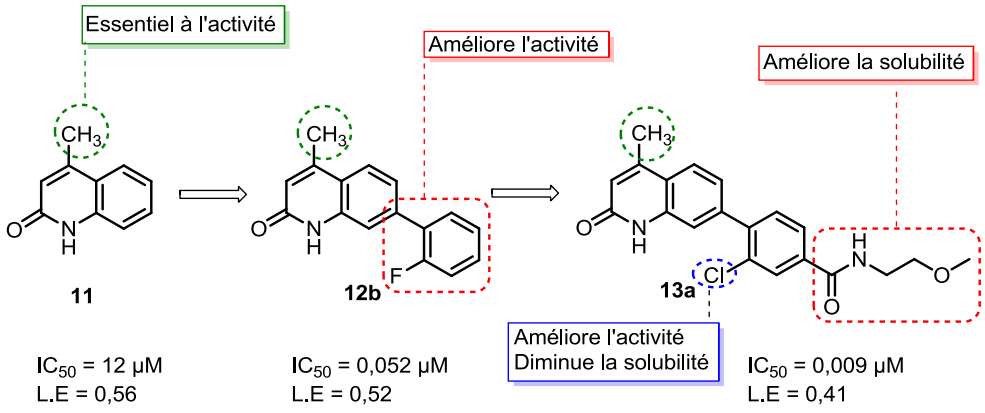


Schéma 1 Optimisation par croissance du fragment « hit » 11.

Les études de relations structure-activité révèlent que le groupement méthyle en C-4 est essentiel à l'activité (Schéma **1**). Les clichés radiocristallographiques des co-cristaux mettent en évidence qu'un substituant en position C-7 occuperait la poche de liaison de l'adénine. Ainsi, l'« accroissement » par l'ajout en position C-7 de phényles substitués, permet d'améliorer l'activité jusqu'à 0,052 µM pour le composé *ortho*-fluoré **12b**. Ce « hit » constituera le premier inhibiteur sélectif avec une sélectivité 16 fois supérieure pour TNKS-2 par rapport à TNKS-1 et six autres PARP. Les études de RSA montrent que le remplacement de l'atome de fluor par un atome de chlore permet d'augmenter encore l'activité mais au détriment de sa solubilité. L'introduction d'une chaîne éther-amide en *para* du substituant

[24] Larsson E A, Jansson A, Ng F M, Then S W, Panicker R, Liu B, Sangthongpitag K, Pendharkar V, Tai S J, Hill J, Dan C, Ho S Y, Cheong W W, Poulsen A, Blanchard S, Lin G R, Alam J, Keller T H, Nordlund P, Fragment-Based Ligand Design of Novel Potent Inhibitors of Tankyrases, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4497-508.

phényle (composé **13a**) permet de rétablir sa solubilité en conservant une bonne activité de 0,009 µM (Schéma **1**). Il s'avère que les composés **12b** et **13a** se placent d'une manière originale au regard des autres inhibiteurs des PARPs (Figure **5**).

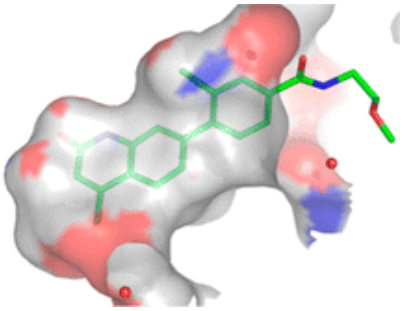


Figure 5 Structure RX de co-cristaux de 13a et TNKS-2.

- **Synthèse des composés optimisés**

La stratégie d'optimisation par croissance de fragment explore pas à pas les relations structure-activité par l'introduction de diversité moléculaire. Afin d'introduire une diversité de substituants en position C-7, la stratégie de synthèse a consisté en la préparation d'un intermédiaire pivot **17** (Schéma **2**). Ce dernier est synthétisé au départ de la 3-bromo-aniline **14** qui, dans une première étape, est condensée à l'acétoacétate d'éthyle **15** pour donner le β-cétoamide **16**. Ce dernier se cyclise dans l'acide sulfurique concentré à chaud pour conduire à la 7-bromo-quinol-2-one **17** qui sera ensuite couplée, selon les conditions de Suzuki, à différents acides phénylboroniques.

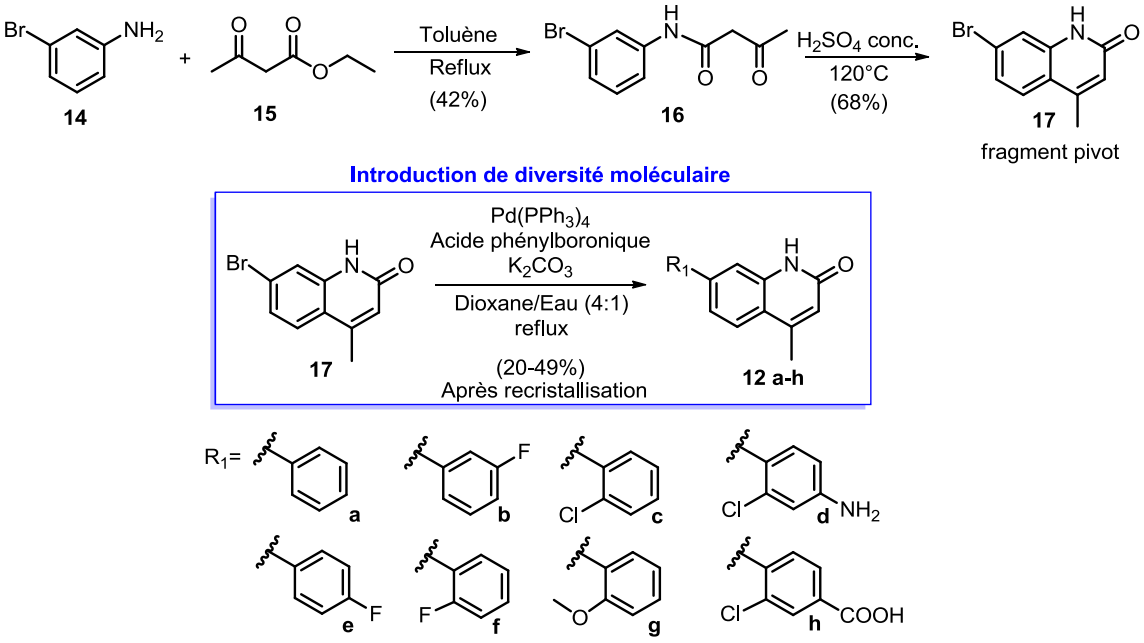


Schéma 2 Introduction de diversité moléculaire par couplage de Suzuki.

Les produits de couplage **12a-g** présentent une amélioration de l'IC_{50} comparée au fragment initial mais une diminution de leur solubilité. Aussi, la seconde phase de croissance du fragment consiste à introduire, par un couplage peptidique au départ de **12h**, des substituants visant à améliorer leurs propriétés physico-chimiques (Schéma **3**).

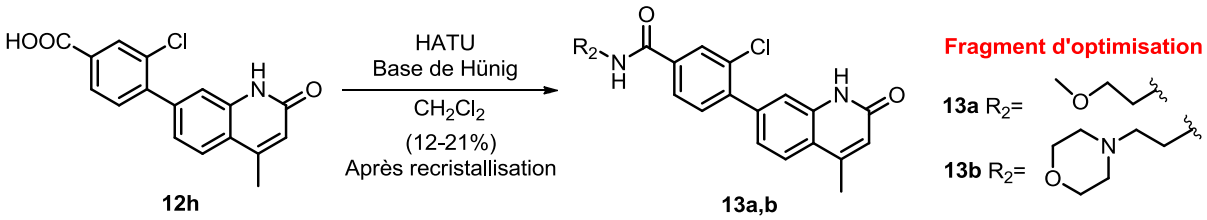


Schéma 3 Optimisation de la solubilité par croissance du fragment 12h.

3.1.3. Conclusion

Les approches d'optimisation par croissance de fragment reposent généralement sur des données structurales précises telles que des clichés RX de la cible thérapeutique ou de co-cristaux fragment-cible biologique… Le « growing » est une méthode progressive d'optimisation de fragment : le fragment initial « grossit » rationnellement de génération en génération jusqu'à devenir un nouveau chef de file (Figure **6**).

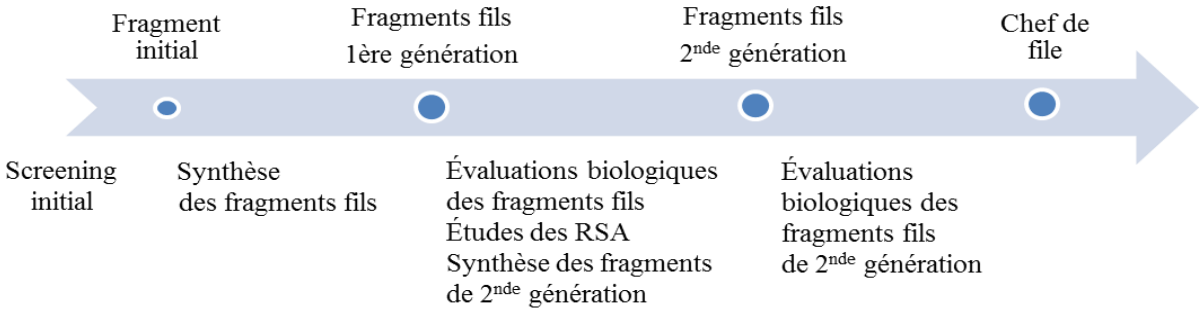


Figure 6 Processus d'optimisation par croissance de fragments ou « growing ».

3.2. Optimisation par assemblage de fragments : le « linking »

3.2.1. Définition

L'optimisation par assemblage de fragments ou « linking » correspond au fait de lier, par un lien moléculaire, deux ou plusieurs fragments interagissant avec une même cible biologique à des endroits différents du site de liaison (Figure **7**). De cette manière, les fragments assemblés

peuvent combiner leurs affinités selon le concept de « l'additivité des énergies de liaisons » défini par Jencks.[12] Cependant, cette affinité apparente peut diminuer si le lien moléculaire, ou « linker », induit des incompatibilités stériques ou électrostatiques avec la cible biologique. Par conséquent, au cours d'une optimisation par assemblage de fragments, la sélection du « linker » est cruciale pour la conservation ou l'amélioration de l'affinité.

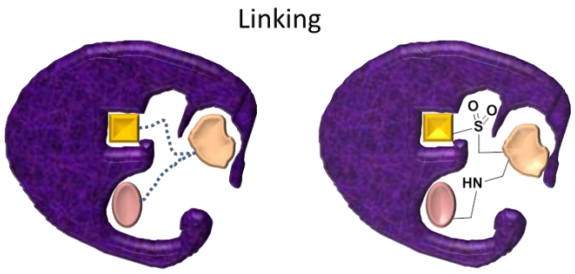
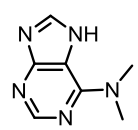


Figure 7 Schématisation de l'optimisation par assemblage de plusieurs fragments.

3.2.2. Exemple d'optimisation par assemblage de fragments

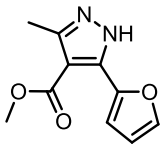
La Hsp90 (Heat shock protein 90) est une protéine chaperonne ATP-dépendante impliquée dans de nombreux processus de signalisation, de prolifération et de survie cellulaire. Elle constitue, de fait, une cible thérapeutique d'intérêt notamment en chimiothérapie anticancéreuse avec la recherche d'inhibiteurs sélectifs. Aussi, de nombreuses campagnes de criblage *in vitro* de petites molécules ont été réalisées. Une librairie de 20 000 fragments a été criblée par Barker et collaborateurs grâce à un test biochimique par déplacement de ligand, la geldamnamycine fluorescente (marquée la tétraméthylrhodamine).[25] Les fragments « hits » les plus prometteurs ont été co-cristallisés avec le domaine *N*-terminal de liaison à l'ATP de la Hsp90. Parmi ceux-ci, les fragments purine **18** et pyrazole **19** ont fait l'objet d'études plus poussées même si ces derniers présentent une faible activité inhibitrice d'Hsp90 (Figure **8**). Les analyses co-cristallographiques de Hsp90-**18** et Hsp90-**19** montrent que le fragment **18** se fixe à dans la même région que celle du noyau adénosine de l'ATP alors que le fragment **19** semble se fixer dans une région adjacente (Figure **8**).

[25] Barker J J, Barker O, Courtney S M, Gardiner M, Hesterkamp T, Ichihara O, Mather O, Montalbetti C A G N, Müller A, Varasi M, Whittaker M, Yarnold C J, Discovery of a Novel Hsp90 Inhibitor by Fragment Linking, *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1697-700.



18

IC_{50} = 1500 µM
L.E = 0,32



19

IC_{50} = 1000 µM
L.E = 0,27

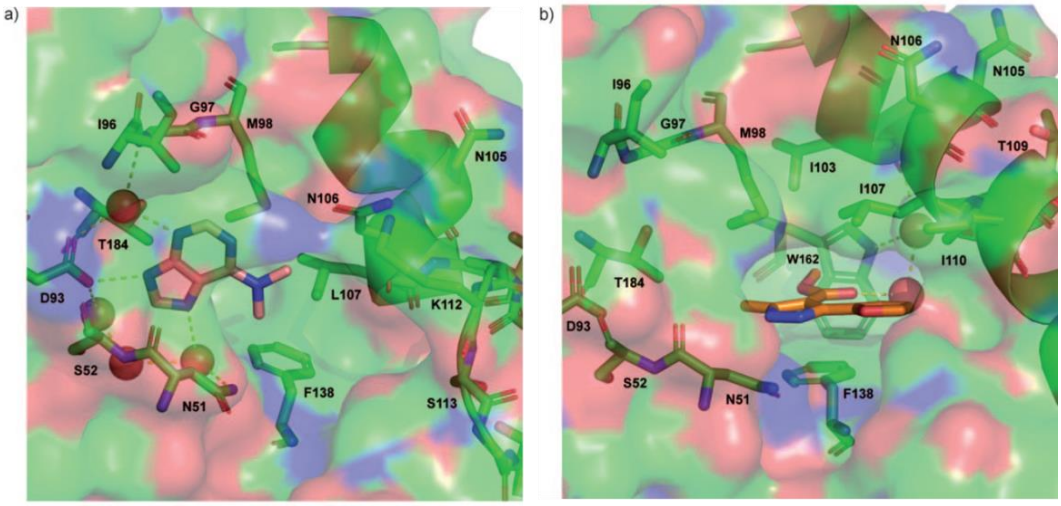


Figure 8 Clichés RX des complexes Hsp90-fragment purine 18 (a) et Hsp90-fragment pyrazole 19 (b).

Cependant la co-cristallisation des deux fragments avec Hsp90, montre que le fragment **19**, en présence du fragment **18**, adopte une conformation différente de fixation au sein du site de liaison à l'adénine; le fragment **18**, quant à lui, conserve son mode de liaison (Figure **9**). Ce cliché RX permet d'estimer la distance, séparant la fonction diméthylamine du fragment **18** de la fonction carboéthoxyle du fragment **19**, à 3Å. L'optimisation de ces fragments selon une stratégie de « linking » est alors envisageable via la conception d'une structure liant les deux hétérocycles par un bras espaceur d'une longueur adaptée.

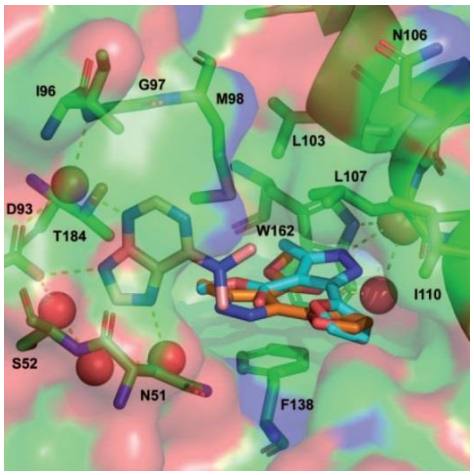


Figure 9 Superposition des clichés RX du complexe Hsp90-fragments 18 et 19 et du complexe Hsp90-19.

Par ailleurs, la fonction ester n'apparaît pas essentielle à la liaison du fragment **19** avec l'Hsp90, et elle pourrait être responsable de l'instabilité du « hit » *in vivo* via sa métabolisation par les estérases. Par conséquent, il a été envisagé de lier les deux fragments par une chaîne alkyle stable (Schéma **4**).

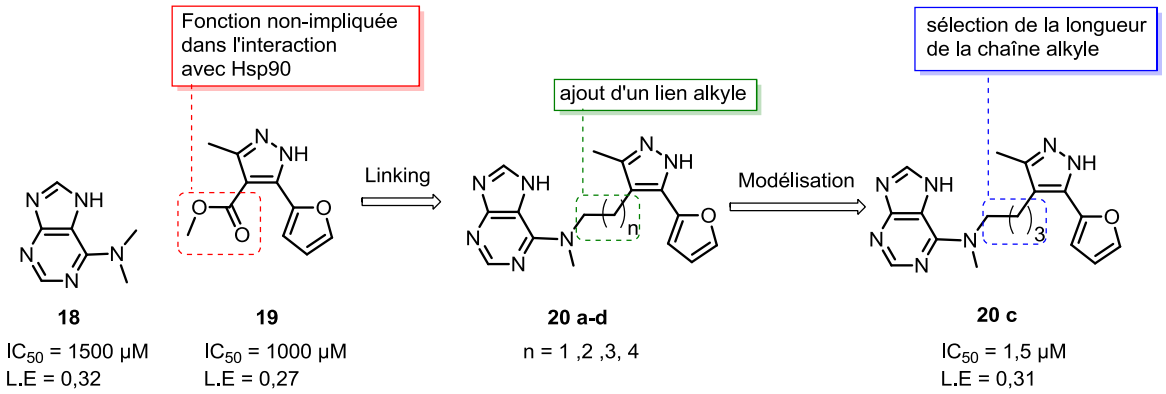


Schéma 4 Optimisation par assemblage de fragments 18 et 19.

Toutefois, l'ajout de ce lien moléculaire peut induire une modification des interactions entre la cible et la nouvelle structure générée et ce, de manière favorable comme défavorable.[26] Le choix de la nature et de la longueur du lien moléculaire devient alors crucial. Aussi avant de procéder à la synthèse du composé optimisé par assemblage, quatre structures **20a-d** différant par la longueur de leur chaîne alkyle ont été générées et étudiées par modélisation moléculaire. Le composé **20c** (n=3) présentant la meilleure énergie de liaison a été synthétisé et révèle une activité inhibitrice 1000 fois meilleure que celle de ses fragments d'origine. De plus, ces résultats viennent corroborer le concept d'additivité des énergies de liaisons proposé par Jenks : l'énergie libre totale de liaison de la molécule fille **20c** est égale à la somme des énergies libres de liaison des fragments **18** et **19** qui la constituent. Par ailleurs, la structure radiocristallographique du complexe Hsp90/**20c** confirme le positionnement et la conformation de **20c**, au sein de la poche de fixation, préalablement prédits par modélisation moléculaire (Figure **10**).

[26] Wilfong E M, Du Y, Toone E J, An enthalpic basis of additivity in biphenyl hydroxamic acid ligands for stromelysin-1, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 6521-4.

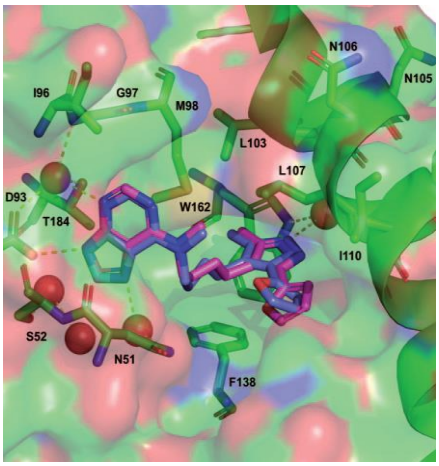


Figure 10 Superposition du cliché RX du complexe Hsp90-20c et du composé 20c modélisé.

- **Synthèse du composés assemblé 20c**

Le dérivé **20c** résultant de l'assemblage des fragments **18** et **19** a été synthétisé en 6 étapes à partir du chlorure de carbamide **21** commercial, constituant le bras de liaison entre les deux fragments hétérocycliques (Schéma **5**). Ce dernier est estérifié pour être transformé en carbamate de benzyle **22**. Après substitution nucléophile dans les conditions de Finkelstein[27], le dérivé iodé résultant réagit avec le 1-(2-furyl)-1,3-butanedione **23**, pour donner la 1,3-dicétone **24**. Condensée à l'hydrazine, cette dernière conduit au pyrazole **25**. Puis, l'autre extrémité du bras moléculaire est hydogénolysée en amine secondaire **26** qui constituera le partenaire nucléophile de la réaction de S_NAr appliquée à la 6-chloropurine conduisant au « lead » **20c**.

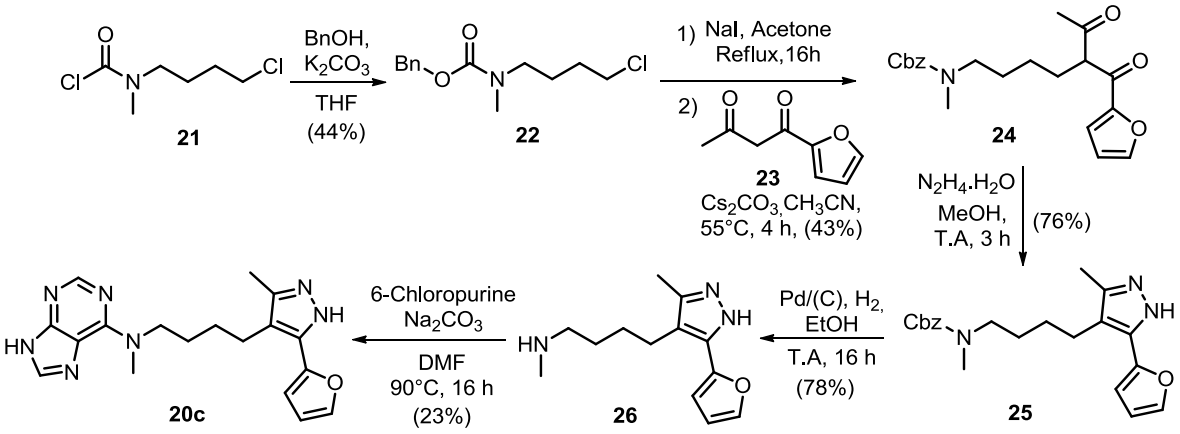


Schéma 5 Synthèse du produit 20c optimisé par assemblage de fragments 18 et 19.

[27] Finkelstein H, Darstellung organischer Jodide aus den entsprechenden Bromiden und Chloriden, *Chem. Ber.* **1910**, *43*, 1528-32.

3.2.3. Conclusion

L'optimisation de fragments par « linking » permet la conception rationnelle de candidats-médicaments, à condition de posséder une excellente connaissance structurale de la cible, permettant ainsi l'obtention d'informations très précises quant au choix de l'espaceur liant les deux fragments « hits ». Auquel cas, la stratégie d'optimisation peut s'affranchir de relations structure-activité liées à la nature et la longueur de lien moléculaire. Dans le cas contraire, les stratégies de synthèse de composés optimisés par assemblage devront prendre en compte la possibilité d'introduire de la diversité au niveau du lien moléculaire pour mener des études de RSA (Figure **11**).

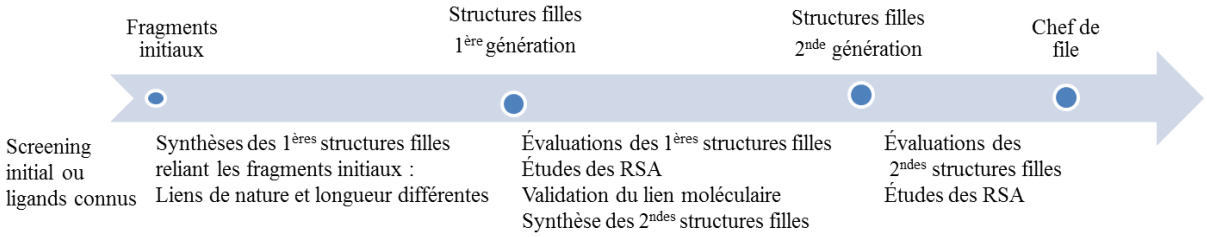


Figure 11 Processus d'optimisation par assemblage de fragments ou « linking».

3.3. Optimisation de fragments par fusion : le « Merging »

3.3.1. Définition

L'optimisation de fragments par fusion se traduit par le « morphing » d'éléments structuraux appartenant à des fragments ou des molécules plus complexes dont les interactions avec une cible biologique s'effectueraient dans une même région du site de liaison (Figure **12**). De cette manière, le hit issu de cette fusion de fragments voit ses interactions avec la cible s'améliorer.

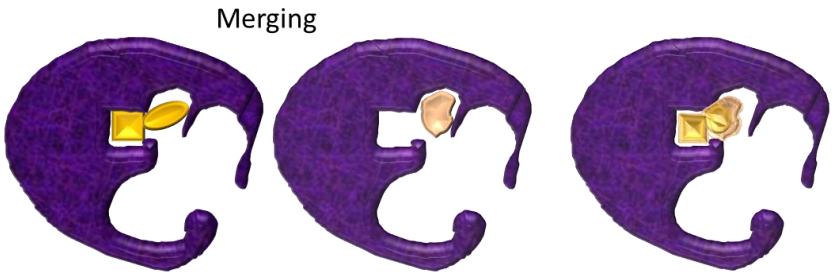


Figure 12 Schématisation de l'optimisation par fusion de fragments.

Pour désigner un composé issu d'une optimisation par fusion de fragments, on parle parfois de molécule « hybride ». Le terme de molécule « chimère » est également parfois employé par analogie à la créature de la mythologie grecque qui combine une tête de lion, un corps et une autre tête de chèvre et une queue de serpent (Figure **13**).



Figure 13 Chimère en bronze datant d'environ 400 ans av. J.-C., découverte à Arezzo (Italie) au XVIe siècle.

Dans la littérature, la stratégie d'optimisation par fusion de fragments est parfois assimilée aux deux autres, le « growing » et le « linking ». En effet, si le composé issu du « merging » peut parfois conserver une taille semblable à l'un des deux fragments initiaux, il peut aussi voir sa taille augmenter comme dans le cas de l'optimisation par « growing » ou comme par « linking » lors d'un assemblage de fragments sans véritable lien moléculaire.

L'optimisation par « merging » rend possible l'amélioration d'un hit sans pour autant faire croître sa taille ce qui peut parfois être un avantage notable lors du développement pharmaceutique d'un candidat-médicament (conservation des propriétés physicochimiques).

3.3.2. Exemple d'optimisation de hit par fusion de fragments

L'épilepsie est un désordre mental chronique qui se caractérise par des décharges d'influx nerveux anormaux dans le cerveau. Il existe plus d'une quarantaine de thérapie utilisée dans le traitement de l'épilepsie. Néanmoins, dans 30% des cas, ces traitements sont inefficaces et dans 40% des cas, ils s'accompagnent d'effets indésirables. Aussi, les pharmacochimistes sont toujours à la recherche de nouveaux antiépileptiques encore plus efficaces. C'est dans ce contexte que Khon et collaborateurs se sont intéressés au développement de composés à activité anticonvulsivante en utilisant le « merging » comme stratégie de conception de

candidats-médicaments.[28] Leur étude est basée d'une part sur le (*R*)-lacosamide **27**, antiépileptique récemment mis sur le marché aux Etats-Unis et en Europe, et le (*S*)-safinamide **28**, d'autre part, chef de file d'une famille de composés et actuellement en phase III d'études cliniques pour le traitement de la maladie de Parkinson (Schéma **6**).

Ces deux molécules agiraient par inactivation sélective des canaux sodiques voltage-dépendants, protéines transmembranaires difficilement cristallisables. Néanmoins, cette inactivation procèderait selon un mécanisme d'action différent pour chacun des deux composés : le (*R*)-lacosamide **27** favorise une inactivation lente du récepteur alors que le (*S*)-safinamide **28** provoque une inactivation rapide du récepteur avec sa stabilisation de son état désensibilisé. De plus, le (*S*)-safinamide **28** possède des propriétés neuroprotectrices contre des chimioconvulsivants contrairement au (*R*)-lacosamide **27**. Si peu de données structurales de la protéine et de l'interaction ligands-récepteurs sont accessibles, des études de RSA autour des deux composés chefs de file **27** et **28** ont permis d'identifier un certain nombre de pharmacophores indispensables à l'inhibition des canaux sodiques. En effet, ces deux composés présentent une homologie structurale avec un motif central de type diamine vicinale portant une fonction carbonyle et substitué par un groupement benzyle. Néanmoins, la différence de mécanisme d'action entre ces deux composés pourrait s'expliquer par leurs divergences structurales. Ainsi, (i) seule l'activité du (*R*)-lacosamide **27** s'avère dépendante de la chiralité ; (ii) le (*R*)-lacosamide **27** est neutre alors que le (*S*)-safinamide **28** est basique ; (iii) dans le composé **27**, le groupement benzylique substitue un amide alors que dans **28**, il substitue une amine.

Et finalement les études de RSA menées au départ de chacun des deux composés ne convergent pas vers les mêmes informations : (iv) pour les analogues de **27**, une augmentation de l'activité est observée quand l'encombrement stérique augmente en position C-2 alors que l'inverse est observé pour le composé **28** (augmentation de l'activité observée quand l'encombrement stérique diminue en C-2) (Schéma **6**). On peut alors conclure que chaque composé possède des pharmacophores distincts qui contribuent spécifiquement à son mode d'action biologique. C'est pourquoi, Khon et collaborateurs ont envisagé de préparer une nouvelle série de composés en combinant les pharmacophores indispensables à l'activité du (*R*)-lacosamide **27** à ceux indispensables à l'activité du (*S*)-safinamide **28** (Schéma **6**). On

[28] Salomé C, Salomé-Grosjean E, Stables J P, Kohn H, Merging the Structural Motifs of Functionalized Amino Acids and α-Aminoamides: Compounds with Significant Anticonvulsant Activities, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3756-71.

peut alors diviser cette nouvelle série chimique en 2 parties : une partie *ouest* **29** reprenant la structure du (*R*)-lacosamide **27**, une partie *est* **31** correspondant l'enchainement aromatique du (*S*)-safinamide **28**. Les pharmaocomodulations ont porté sur le carbone C-2 de la partie *ouest* et la nature et la longueur de l'espaceur entre les deux aromatiques de la partie *est* ainsi que sur le substituant de l'aromatique distal (Schéma **6**).

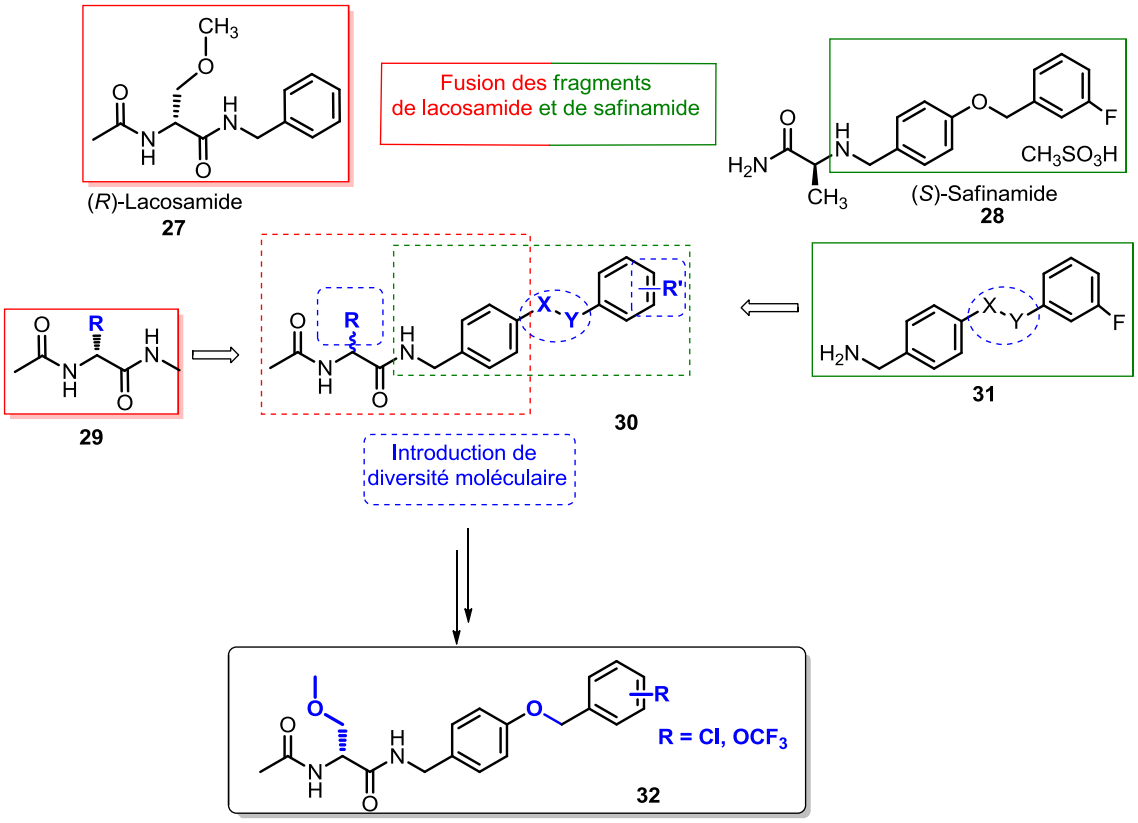


Schéma 6 Nouvelles série d'anticonvulsivants hybrides de (*R*)-lacosamide 27 et (*S*)-safinamide 28.

L'évaluation par électrophysiologie, par déplacement de radioligands et par des essais fonctionnels a permis de faire émerger une nouvelle série d'hybrides **32** à propriétés anticonvulsivante et antalgique.[29] Ces molécules chimères présentent des activités inhibitrices des canaux sodiques 250 à 610 fois plus puissantes que le (*R*)-lacosamide **27** et 38 à 93 fois plus puissantes que le (*S*)-safinamide **28**.

[29] Park K D, Yang X-F, Dustrude E T, Wang Y, Ripsch M S, White F A, Khanna R, Kohn H, Chimeric Agents Derived from the Functionalized Amino Acid, Lacosamide, and the α-Aminoamide, Safinamide: Evaluation of Their Inhibitory Actions on Voltage-Gated Sodium Channels, and Antiseizure and Antinociception Activities and Comparison with Lacosamide and Safinamide, *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *6*, 316-30.

En générale, cette démarche de fusion de ligands connus exploite les similarités et les différences structurales de molécules hybrides ce qui rend capitale l'élaboration de stratégies de synthèse convergentes qui soient compatibles avec l'introduction de diversité moléculaire.

- **Synthèse d'une nouvelle série de molécules chimères 32 issue de la fusion du lacosamide 27 et du safinamide 28**

La stratégie de synthèse mise en œuvre est générale est permet d'obtenir rapidement les hybrides **32a-d**. Ces amides sont obtenus en 6 étapes et leur synthèse repose sur un couplage peptidique entre la *N*-Boc-*D*-sérine **37** et une série de 4-(benzyloxy)benzylamines **36a-d** préalablement préparées. Ce couplage implique la formation d'un anhydride mixte transitoire en présence d'*iso*butylchloroformate (IBCF) et de *N*-méthylmorpholine (NMM) (Schéma **7**). Les 4-(benzyloxy)benzylamines **36a-d** sont préparées à partir du *p*-cyanophénol **33** en deux étapes par alkylation de la fonction phénol par différents bromures de benzyle **34a-d** suivie de la réduction au LAH de la fonction nitrile.

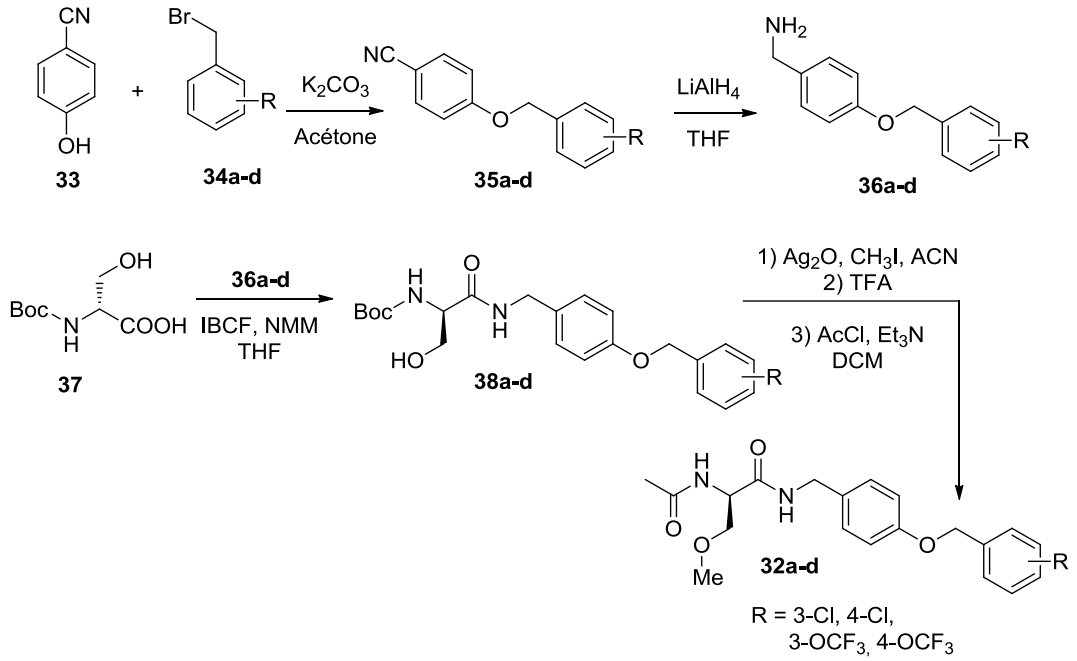


Schéma 7 Synthèse d'hybrides 32 de lacosamide et safinamide

Après le couplage peptidique, les amides **38a-d** sont *O*-méthylés puis le groupement Boc est clivé et l'amine primaire libérée est alors acétylée.

3.3.3. Conclusions

L'optimisation par fusion de fragments ou « merging » peut être guidée par différents types de données préalables telles que la pharmacologie de ligands connus, des structures radiocristallographiques, des données de modélisation moléculaire et/ou des études de RSA. La diversité des sources d'information est un atout pour l'optimisation de « hits » par « merging » qui permet de compenser parfois la part d'incertitude inhérente à des cibles non-cristallisables.

Les connaissances des pharmacophores impliqués dans l'activité biologique de ligands connus orientent le choix des fragments à fusionner. De manière itérative, sont conçues de nouvelles molécules hybrides dont l'évaluation biologique permettra d'identifier de nouveaux hits. Ces derniers seront, à leur tour, optimisés selon des stratégies plus classiques de pharmacomodulations couplées à des études de RSA afin d'affiner les connaissances sur le mode de fixation ou l'activité de ces nouvelles séries de composés. A nouveau, cette optimisation permettra la découverte de molécules plus puissantes qui pourront être engagées dans un nouveau cycle d'optimisation (Figure **14**).

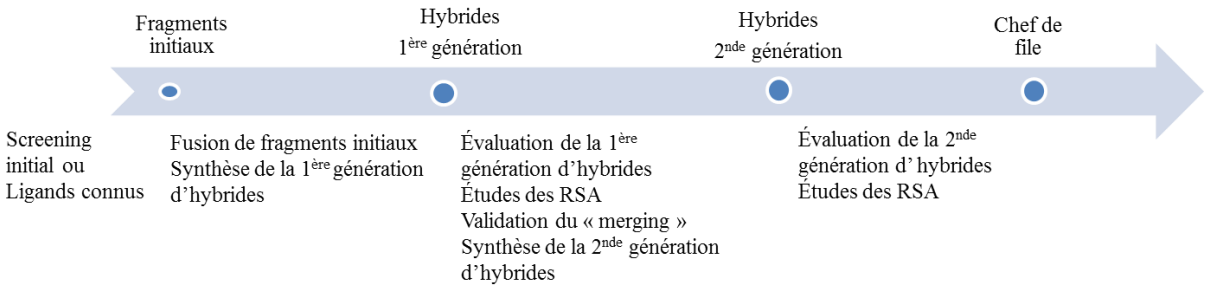


Figure 14 Processus d'optimisation de hit par fusion de fragments ou « Merging »

4 Approche ciblant les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine

4.1. Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine

4.1.1. Les nAChRs : une cible thérapeutique

Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine ont été les premiers récepteurs transmembranaires activés par les neurotransmetteurs à avoir été isolés et identifiés. Il s'agit de l'un des récepteurs ionotropiques le mieux connu en matière de transduction du signal.[30] Les nAChRs font l'objet de nombreux programmes de recherche du fait de leur implication dans un grand nombre de processus physiologiques liés aux fonctions cognitives : ces récepteurs constituent des cibles thérapeutiques majeures, notamment pour les anxiolytiques, les sédatifs, les anesthésiques généraux, les facilitateurs cognitifs, les neuroprotectants (maladies d'Alzheimer et de Parkinson) et les composés anti-tabac (addictions). De récentes avancées sur la connaissance de la structure et des transitions allostériques des nAChRs induite par la fixation de son ligand endogène, l'acétylcholine, ont été rapportées récemment dans la littérature.[31] Cependant, la maîtrise de la pharmacologie et la modulation de l'activité de cette cible thérapeutique requiert une meilleure compréhension de la dynamique de ses changements conformationnels à l'échelle atomique.[32,33] En effet, bien que les informations biochimiques et électrophysiologiques sur les nAChRs soient abondantes, un manque de données structurales sur ce récepteur persiste encore. Cette carence de données provient de la difficulté à cristalliser ces protéines transmembranaires et d'obtenir des clichés radiocristallographiques nécessaires à l'acquisition d'informations à l'échelle atomique. De fait, l'optimisation de ligands ciblant ces récepteurs grâce aux outils bioinformatiques de conception rationnelle reste encore un défi.

4.1.2. Structure et allostérie des nAChRs

Les nAChRs appartiennent à la superfamille des récepteurs canaux activés par des ligands *p*(LGICs). Ils sont considérés comme les prototypes des protéines allostériques, c'est-à-dire qu'ils sont capables d'assurer la transduction du signal *via* des activations topographiques

[30] Changeux J-P, Taly A, Nicotinic receptors, allosteric proteins and medicine, *Trends Mol. Med.* **2008**, *14*, 93-102.
[31] Hurst R, Rollema H, Bertrand D, Nicotinic acetylcholine receptors: From basic science to therapeutics, *Pharmacol. Therapeut.* **2013**, *137*, 22-54.
[32] Changeux J-P, Le récepteur de l'acétylcholine et la dépendance à la nicotine, *Séance solennelle de remise des prix*, Institut de France, Académie des sciences, **2008**, le 21 octobre.
[33] Sauguet L, Shahsavar A, Delarue M, Crystallographic studies of pharmacological sites in pentameric ligand-gated ion channels, *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1850*, 511-23.

distinctes induisant ainsi un changement conformationnel du récepteur au travers de la membrane plasmique.[30] Les connaissances de leurs structures moléculaires, de leurs organisations fonctionnelles et de leurs transitions allostériques sont sans précédent en biologie et font de ces récepteurs un modèle de choix pour étudier les interactions ligand-récepteur.

D'une masse moléculaire d'environ 290 kDa, les nAChRs s'organisent en 5 sous-unités identiques ou homologues arrangées pseudo-symétriquement autour d'un canal ionique. Chez les mammifères, il existe différents sous-types de nAChRs qui diffèrent par leur composition en sous-unités (α, β, γ, δ et ε), dont l'expression est elle-même fonction de leur localisation tissulaire : 9 sous-unités α et 3 sous-unités β sont exprimées dans le système nerveux central (SNC) (Figure **15**). Ces sous-unités protéiques sont codées par 17 gènes. Il existe une multitude de combinaisons pentamériques possibles découlant de l'association de ces sous-unités. Toutefois, seulement certaines d'entre elles sont (pharmacologiquement et cinétiquement) fonctionnelles et leur fonction biologique est directement liée à leur localisation tissulaire.[30,34]

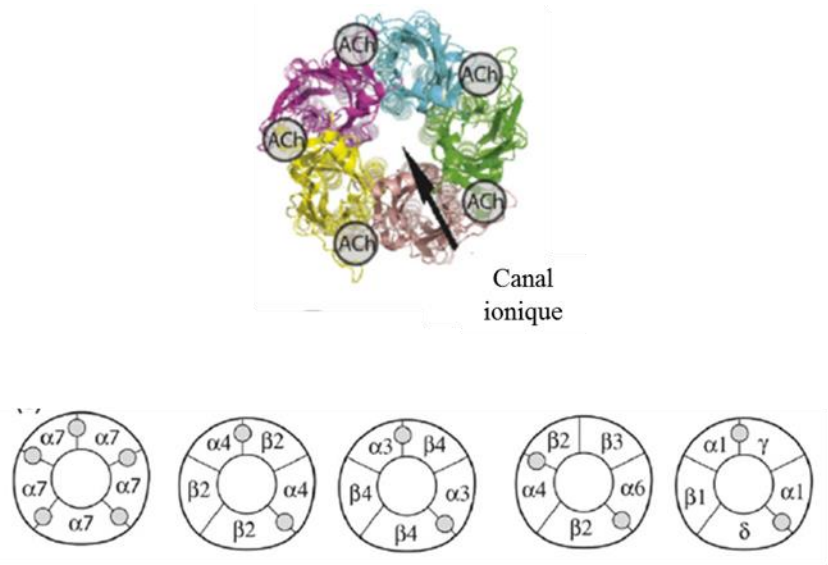


Figure 15 Structure et exemples de sous-types de nAChRs.

[34] Gotti C, Zoli M, Clementi F, Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance, *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 482-91.

4.1.3. Localisation et diversité sous-typique

Les nAChRs sont essentiels à l'ensemble de la physiologie nerveuse. Ils assurent une neurotransmission rapide, induite par l'acétylcholine aussi bien au niveau des muscles squelettiques qu'au niveau de tous les relais ganglionnaires du système nerveux autonome. Ainsi au travers de leurs fonctions, les nAChRs influencent, directement ou non, l'activité de tous les organes. Par ailleurs, leur différence d'expression tissulaire ouvre sur une certaine sélectivité. Dans le SNC, la majorité des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine sont des récepteurs de types α4β2* et α7 (Figure **16**).[35,36]

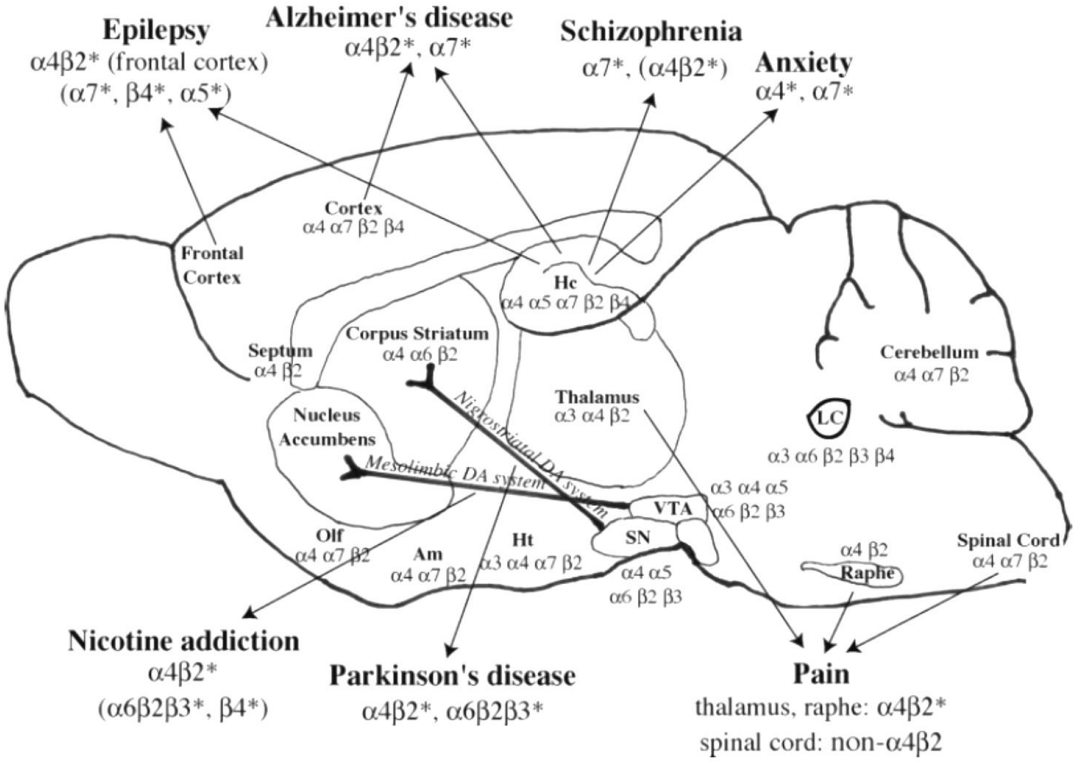


Figure 16 Distribution des sous-types de nAChRs et pathologies associées dans le cerveau (chez les rongeurs).[35]

[35] Jensen A A, Frølund B, Liljefors T, Krogsgaard-Larsen P, Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors: Structural Revelations, Target Identifications, and Therapeutic Inspirations, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4705-45.
[36] Gotti C, Clementi F, Fornari A, Gaimarri A, Guiducci S, Manfredi I, Moretti M, Pedrazzi P, Pucci L, Zoli M, Structural and functional diversity of native brain neuronal nicotinic receptors, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, *78*, 703-11.

4.1.4. Les récepteurs modèles des nAChRs

Il existe peu de données cristallographiques précises des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine du fait des difficultés de cristallisation de ces structures transmembranaires. Depuis 2005, une structure issue des nAChRs de torpille a été publiée mais reste de résolution moyenne à 4Å.[37] Dans le but de contourner les problèmes de cristallisation rencontrés chez les nAChRs, de nombreux travaux ont étudié des protéines homologues solubles telles que les AChBPs d'annélides (*Ct*-AChBP) ou de gastéropodes (*Ls*- *ou Ac*-AChBP) (Figure **17**).[38]

Ces dernières ne possèdent qu'un domaine extracellulaire et sont par conséquent beaucoup plus faciles à cristalliser. Aujourd'hui, une soixantaine de structures cristallines de haute résolution d'AChBP est ainsi disponible. Ces structures ont souvent été réalisées en co-cristallisation avec des ligands nicotiniques au sein du site orthostérique. Ces clichés RX permettent l'analyse des modes de liaison des ligands agonistes, agonistes partiels et antagonistes. Ces précieuses informations issues des AChBP renseignent sur l'amarrage des ligands nicotiniques et constituent une source d'information primordiale pour la conception de nouveaux ligands. Cependant, ce système basé sur les AChBP souffre de plusieurs limites. L'absence de domaine transmembranaire de l'AChBP ne permet pas d'obtenir par exemple les informations sur la transmission coopérative du signal du site orthostérique jusqu'au canal. De plus les AChBPs ne subissent pas de réarrangement global lors de la fixation d'un ligand mais seulement une adaptation conformationnelle de la poche à la taille du ligand.

Il existe d'autres protéines homologues qui ne souffrent pas de ces limites : le récepteur au glutamate GluCl issu d'un nématode (*Caenorhabditis elegans*) et les récepteurs bactériens ELIC (*Erwinia chrysanthemi*) et GLIC (*Gloeobacter violaceus*). Ces trois protéines couvrent à la fois les domaines extracellulaire et transmembranaire. Grâce à elles, des données cristallographiques complémentaires ont pu être acquises. Aujourd'hui, des structures des états ouverts et fermés de ces homologues sont disponibles et constituent ainsi des modèles plus complets (Figure **17**). [38 - 43]

---

[37] Unwin N, Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4Å Resolution, *J. Mol. Biol.* **2005**, *346*, 967-89.

[38] Nys M, Kesters D, Ulens C, Structural insights into Cys-loop receptor function and ligand recognition, *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *86*, 1042-53.

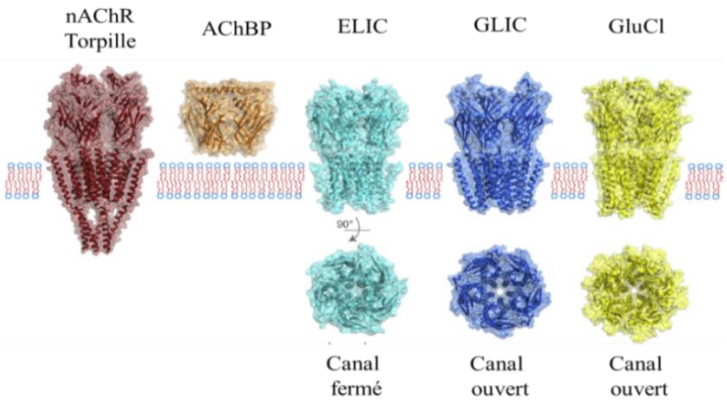


Figure 17 Récepteurs modèles : AChBP[39], ELIC[40], GLIC[41],[42] GluCl[43] et nAChR de torpille[38]

De même, des structures des récepteurs à la sérotonine de souris 5-HT3[44] et des récepteurs $GABA_A$[45] humains ont été résolus récemment et peuvent s'ajouter aux sources d'informations précédentes pour l'élaboration de modèles *in silico* des nAChRs.

4.1.5. Vers une meilleure compréhension des transitions allostériques

De nombreux acides aminés sont mis à contribution pour lier le ligand au sein du site orthostérique. Ce site orthostérique se situe dans la partie extracellulaire à l'interface de deux monomères et est constitué d'une composante principale (monomère α) et d'une composante complémentaire (monomère α ou β). Les séquences d'acides aminés sont définies en plusieurs domaines, référencés comme les boucles A, B et C pour la composante principale (en orange) et les boucles D, E et F pour la composante complémentaire (en bleu) (Figure **18**).

[39] Brejc K, van Dijk W J, Klaassen R V, Schuurmans M, van der Oost J, Smit A B, Sixma T K, Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors, *Nature* **2001**, *411*, 269-76.
[40] Hilf R J C, Dutzler R, X-ray structure of a prokaryotic pentameric ligand-gated ion channel, *Nature* **2008**, *452*, 375-79.
[41] Hilf R J C, Dutzler R, Structure of a potentially open state of a proton-activated pentameric ligand-gated ion channel, *Nature* **2009**, *457*, 115-8.
[42] Bocquet N, Nury H, Baaden M, Le Poupon C, Changeux J-P, Delarue M, Corringer P-J, X-ray structure of a pentameric ligand-gated ion channel in an apparently open conformation, *Nature* **2009**, *457*, 111-4.
[43] Hibbs R E, Gouaux E, Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor, *Nature* **2011**, 474, 54-60.
[44] Hassaine G, Deluz C, Grasso L, Wyss R, Tol M B, Hovius R, Graff A, Stahlberg H, Tomizaki T, Desmyter A, Moreau C, Li X-D, Poitevin F, Vogel H, Nury H, X-ray structure of the mouse serotonin 5-HT3 receptor, *Nature* **2014**, *512*, 276-81.
[45] Miller P S, Aricescu A R, Crystal structure of a human GABAA receptor, *Nature* **2014**, *512*, 270-5.

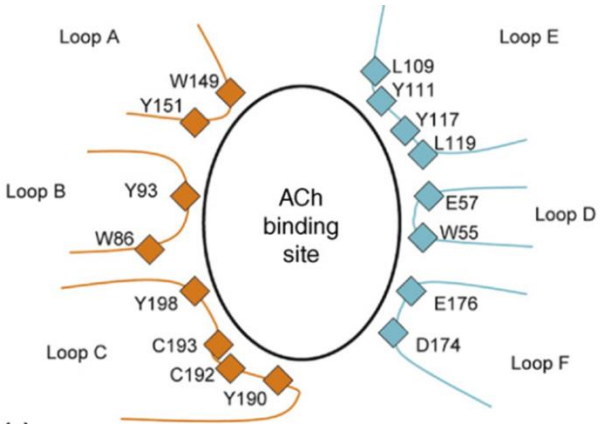


Figure 18 Site de fixation de l'acétylcholine constitué de ses 6 boucles d'acides aminés A, B, C D, E et F

Ces boucles forment une poche compacte d'acides aminés aromatiques qui permettent de stabiliser la partie ammonium du ligand par des interactions π-cations. Cette poche est recouverte par la boucle C. Des ponts disulfure sont notamment présents dans cette boucle et constituent une caractéristique des récepteurs canaux à transmission rapide appelés également les « Cys-loop receptors ».

D'après certaines structures co-cristallisées de l'AChBP,[46] ces résidus cystéine peuvent établir des interactions de type van der Waals avec les ligands nicotiniques. Par ailleurs, ces clichés RX issus des co-cristaux de *Ls*- et *Ac*-AChBPs avec des ligands agonistes ou antagonistes ont révélé la grande capacité de mouvements de la boucle C. L'amplitude maximale observée entre les deux positions extrêmes est ainsi de l'ordre de 11 Å (Figure **19**).



Figure 19 Mouvement de la boucle C issu des structures atomiques de co-cristaux de ligands avec les *Ls*- et *Ac*-AChBPs

La boucle C n'est pourtant pas la seule partie à subir d'importantes modifications conformationelles. Ceci a été montré par nos partenaires biologiques lors des récents travaux

[46] Hansen S B, Sulzenbacher G, Huxford T, Marchot P, Taylor P, Bourne Y, Structures of Aplysia AChBP complexes with nicotinic agonists and antagonists reveal distinctive binding interfaces and conformations, *EMBO J.* **2005**, *24*, 3635-46.

sur GLIC qui ont amélioré la compréhension des transitions allostériques s'opérant au niveau des domaines extracellulaires et transmembranaires.[47]

Ainsi, la comparaison des structures quaternaires de l'*Ac*-AChBP et de GLIC illustre bien les limites du modèle AChBP (Figure **20**). Les structures de l'AChBP liée à l'épibatidine, agoniste (2BYQ, en vert) ou à l'α-conotoxine, antagoniste, (2BYP, en rouge) (Figure **20,** à gauche) montrent le déplacement de la boucle C. Les structures quaternaires de GLIC ouverte (en bleu) et au repos (en jaune) montrent quant à elles un mouvement global de l'ensemble de la structure (Figure **20,** à droite).

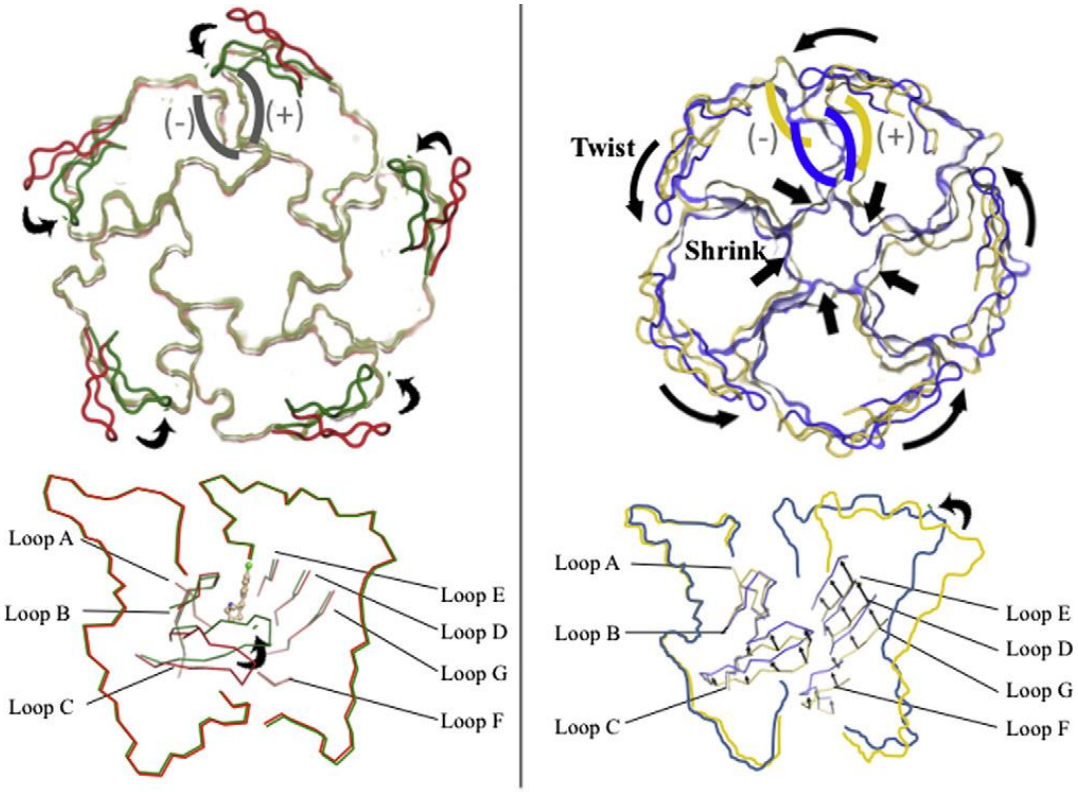


Figure 20 Structures quaternaires de l'*Ac*-AChBP liée à l'épibatidine (vert) et l'α-conotoxine (rouge) (à gauche), structures quaternaire de GLIC ouverte (bleu) et au repos (jaune) (à droite).

En effet, le récepteur vrille globalement sur lui-même et rétrécit ainsi la lumière du canal par les réarrangements allostériques des segments transmembranaires (M2, M2-3 et Pré-M1) (Figure **21**). Au niveau des segments du domaine extracellulaire, les composantes principale et complémentaire du site orthostérique se sont nettement déplacées à l'exception de la boucle A (Figure **21**).

[47] Sauguet L, Shahsavar A, Poitevin F, Huon C, Menny A, Nemecz À, Haouz A, Changeux J-P, Corringer P-J, Delarue M, Crystal structures of a pentameric ligand-gated ion channel provide a mechanism for activation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 966-71.

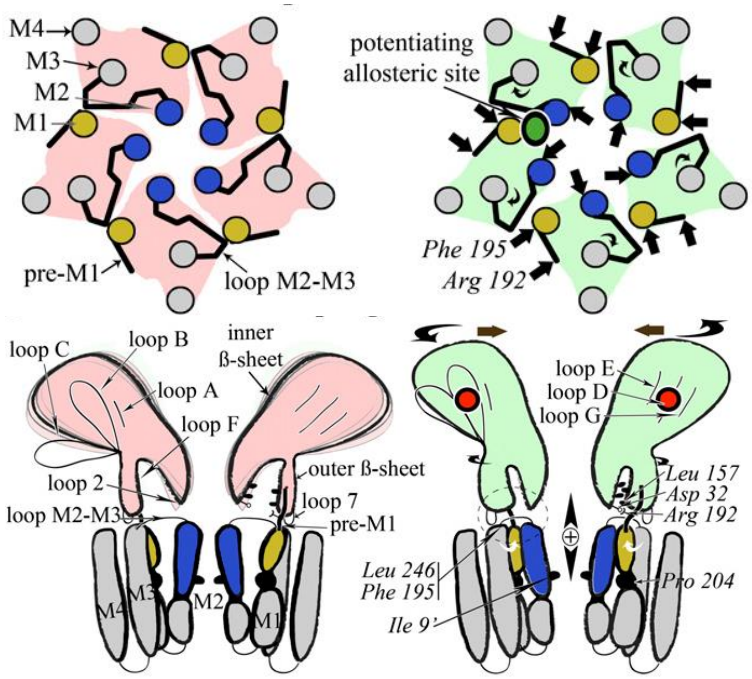


Figure 21 Schématisation des structures quaternaire de GLIC au repos (rose) et ouverte (vert)

Parmi ces boucles, la boucle F paraît jouer un rôle direct dans la reconnaissance d'agonistes selon différentes études sur les nAChRs[48] et les 5-HT3Rs[49] et les $GABA_A$Rs hétéromériques[50], alors qu'elle ne le serait peut-être pas chez les $GABA_A$R de type ρ.[51, 52] Ces études ouvrent la voie d'une meilleure compréhension des différences entre les types et sous-types de récepteurs canaux pentamériques.

Malgré les récents progrès, la compréhension des déterminants moléculaires conduisant à la discrimination entre les ligands agonistes et agonistes partiels est encore insuffisante. Il est donc capital d'explorer la diversité de structures agonistes et agonistes partiels, afin d'en extraire des motifs d'intérêt et ainsi concevoir des ligands plus affins et sélectifs.

[48] Corringer P-J, Galzi J-L, Eiselé J-L, Bertrand S, Changeux J-P, Bertrand D, Identification of a New Component of the Agonist Binding Site of the Nicotinic 7 Homooligomeric Receptor, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 11749-52.
[49] Thompson A J, Padgett C L, Lummis S C R, Mutagenesis and Molecular Modeling Reveal the Importance of the 5-HT3 Receptor F-loop, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 16576-82.
[50] Newell J G, Czajkowski C, The GABAA Receptor α1 Subunit Pro174–Asp191 Segment Is Involved in GABA Binding and Channel Gating, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 13166-72.
[51] Sedelnikova A, Smith C D, Zakharkin S O, Davis D, Weiss D S, Chang Y, Mapping the ρ1 GABAC Receptor Agonist Binding Pocket: constructing a complete model, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 1535-42.
[52] Khatri A, Sedelnikova A, Weiss D S, Structural Rearrangements in Loop F of the GABA Receptor Signal Ligand Binding, Not Channel Activation, *Biophys. J.* **2009**, *96*, 45-5.

4.2. Les ligands naturels, de synthèse et hybrides

Dans cette partie nous nous limiterons à la présentation des ligands agonistes des nAChRs.

4.2.1. Les ligands agonistes d'origine naturelle et de synthèse

Actuellement, un grand nombre de molécules ont été identifiés comme ligands agonistes, ou agonistes partiels ou modulateurs allostériques positifs des nAChRs par des tests électrophysiologiques sur des modèles cellulaires ou animaux. Ces ligands peuvent être scindés en trois grandes classes, les ligands d'origines naturelles, les ligands de synthèse bioinspirés et les ligands hybrides issus de la fusion de fragments de ligands connus. Ces ligands respectent tous les éléments clés du pharmacophore nicotinique proposé en 1970 par Beers et Reich (figure **22**).[53] La fixation avec l'un des sites orthostériques nécessite la présence d'une fonction cationique ainsi qu'une fonction polarisée dans la structure du ligand. La fonction ammonium établit une interaction π-cation avec des résidus riches en électrons (boîte aromatique) et la fonction polaire accepte d'éventuelle liaison hydrogène.

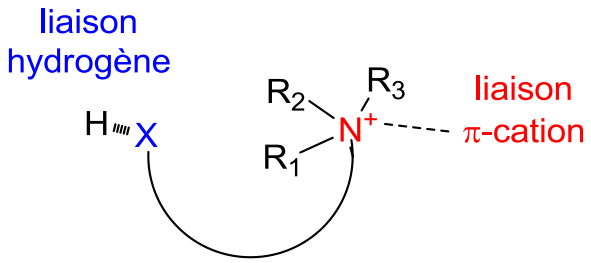


Figure 22 Pharmacophore nicotinique

- **Les ligands naturels**

L'histoire des ligands des récepteurs nicotiniques est ancienne : Louis Vauquelin isole la nicotine en 1809. En plus de deux cents ans, une pléiade de ligands nicotiniques agonistes naturels ont été découverts, parmi eux, la cytisine **42**, l'anatoxine-a **40**, la ferruginine **45**, l'anabasine **44**, l'épibatidine **41**, et la nicotine **38**. Ceux-ci vont fournir des motifs structuraux pour la conception d'une large gamme de ligands synthétiques (Schéma **8**).[54]

[53] Beers W H, Reich E, Structure and activity of acetylcholine, *Nature* **1970**, *228*, 917-22.
[54] Daly J W, Nicotinic agonists, antagonists, and modulators from natural sources, *Cell. Mol. Neurobiol.* **2005**, *25*, 513-52.

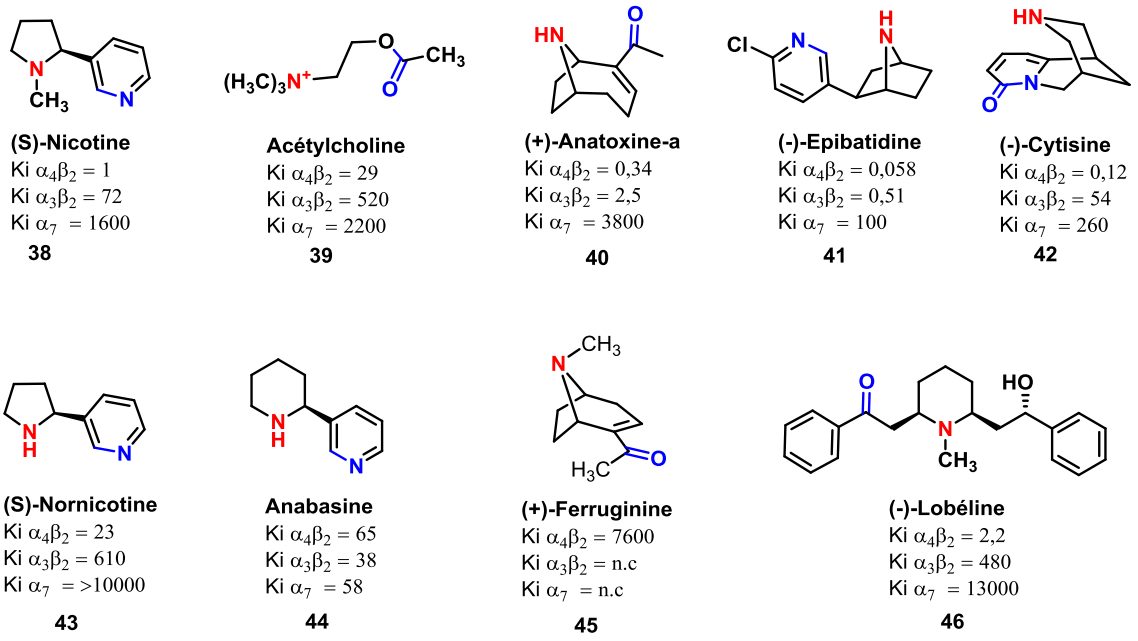


Schéma 8 Alcaloïdes naturels agonistes (ou agonistes partiels) des nAChRs (Ki en nM).

- **Les ligands de synthèse**

Malgré une connaissance, depuis les années 70, du pharmacophore nicotinique, la petite taille des molécules agonistes et l'imprécision des modèles *in silico* qui ne prennent pas en compte la sélectivité sous-typique et l'activité fonctionnelle (allostérie des récepteurs) n'ont pas permis de développer des méthodes fiables de conception rationnelle d'agonistes sélectifs de nAChRs. Très peu de molécules issues de pharmacomodulations successives ont réussi à passer l'épreuve des phases cliniques par manque de sélectivité. Parmi les rares succès rencontrés dans l'histoire des récepteurs nicotiniques, la varénicline **47** (Champix®) est aujourd'hui prescrite en seconde intention dans le cadre des sevrages tabagiques (Schéma **9**).

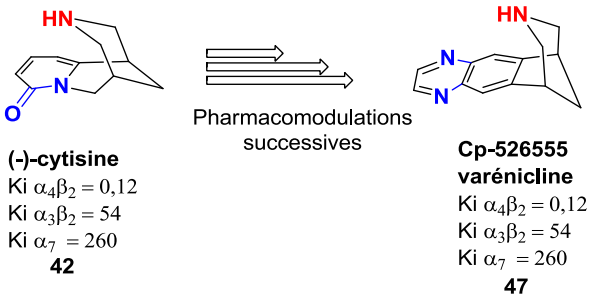


Schéma 9 Origine naturelle de la varénicline.

Néanmoins, ce médicament a fait l'objet d'une surveillance particulière par l'agence européenne du médicament (EMA) suite à de nombreuses suspicions d'effets secondaires

graves (dépression-suicide et problèmes cardiovasculaires). En France, ce médicament n'est plus remboursé suite à une balance bénéfice-risque trop défavorable.

- **Les ligands naturels et de synthèse en développement (Tableau 2).**

Un certain nombre de molécules naturelles ou issues de la synthèse ciblant les récepteurs nicotiniques visent des indications thérapeutiques majeures telles que le sevrage tabagique, les troubles de l'attention, la douleur et les déficits cognitifs (Parkinson, Schizophrénie).

Tableau 2 Ligands à visées thérapeutiques ciblant les nAChRs.

Composés	Cible (% agoniste)	Ki	EC_{50} activation IC_{50} inactivation	Indications
Nicotine	α4β2 (100%)	16 nM	EC50 = 3 µM, IC50= 0,07 nM	sevrage tabagique
	α6/α4β2 (70%)	270 nM	EC_{50} = 1 µM, IC_{50}= 0,5 µM	
Bupropion	antagoniste	—	IC_{50}(α4β2) = 12 µM IC_{50}(α3β4) = 1,8 µM IC_{50}(α1) = 7,9 µM	sevrage tabagique / dépression
Varénicline	α4β2 (22%)	0,4 nM (>86 nM)	EC_{50} = 1,4 µM, IC_{50}= 0,07 nM	sevrage tabagique
	α6/α4β2 (60%)	110 nM	EC_{50} = 0,60 µM, IC_{50}= 20 nM	déficit cognitif
Cystisine	α4β2 (7%)	2 nM (>0,3 µM)	EC_{50} = 2 µM, IC_{50}= 0,05 nM	sevrage tabagique
Pozanicline (ABT-089)	α4β2 (11%) α6β2* (36%)	14-17 nM (>0,5 µM)	EC50 = 2,4 µM EC50 = 110 nM	trouble de l'attention / hyperactivité
Altinicline (SIB-1508Y)	α4β2 (35%)	3 nM	EC50 = 0,3 µM	parkinson
Bradanicline (TC-5619)	α7 (100%)	0,3 nM (α7) (2,1 µM, α4β2)	EC50 = 33 nM	trouble de l'attention / hyperactivité / déficit cognitif
Sofinicline (ABT-894)	α4β2 (100%)	—	EC50 = 0,45µM EC50 (α3β4)= 2,7 µM	trouble de l'attention / hyperactivité / douleurs neuropathiques
Ispronicline (TC-1734, AZD3480)	α4β2 (57%)	11 nM (>5000 α7)	EC50 = 220 nM	trouble de l'attention / hyperactivité / déficit cognitif
CP-601927	α4β2 (16%)	1,2 nM (102 nM, α3β4)	—	antidépresseur en association sevrage tabagique
Encenicline (EVP-6124)	α7 agoniste partiel	4,3 nM	EC50 = 3 µM	déficit cognitif
GTS-21	α7 (23%)	130 nM	EC50 = 6 µM	alzheimer / déficit cognitif / trouble de l'attention
	α4β2 (antagoniste)	250 nM	—	
4-OH-GTS-21 (métabolite de GTS-21)	α7 (antagoniste)	235 nM	—	alzheimer / déficit cognitif / trouble de l'attention
	α4β2 (44%)	70 nM	EC50 = 4 µM	
AZD-1446 (TC-6683)	α4β2 agoniste partiel	—	—	alzheimer / trouble de l'attention / hyperactivité
TC-6987	α7	—	—	inflammation / asthme / diabètes
TC-6499	α4β2 agoniste	27 nM	—	IBS / douleurs neuropathiques
A-85380	α4β2 (100%)	0,05 nM	EC50 = 0,7 µM	imagerie PET/SPECT
Dianicline	α4β2 (8%)	105 nM (>2 µM, nAChRs)	EC50 = 18 µM, IC50= 2 nM - 3 µM	sevrage tabagique
ABT-418	α4β2 (100%)	4,2 nM	EC50 = 6 µM EC50 (α3β4) = 1 µM EC50 (α7) = 155 µM	sevrage tabagique / déficit cognitif / hyperactivité / trouble cognitif
Tébanicline (ABT-594)	α4β2 (130%)	0,055 nM	EC50 = 150 µM	douleurs
ABT-107	α7 (80%)	0,2-0,6 nM (>60 nM, nAChRs)	EC50 = 50-90 nM, IC50 = 10 nM	schizophrénie / trouble de l'attention / hyperactivité
TC-2696	α4β2 (100%)	7 nM (100 µM, α7)	—	douleurs
Rivanicline (Métanicotine, TC-2403)	α4β2 (91%)	26 nM	EC50 = 0,7 µM	rectocolite hémorragique
PHA-543613	α7 (100%)	9 nM	EC50 = 65 nM	schizophrénie
CP-810123	α7 (46%)	16 nM	EC50 = 244 nM	schizophrénie
AZD0328	α7 (58%)	4,7 nM	EC50 = 1,0 µM	déficit cognitif dans la schizophrénie / alzheimer
MEN 3454 (R3487, RO531353)	α7 (65%)	6 nM	EC50 = 400 nM, IC50 = 40 nM	déficit cognitif dans la schizophrénie / alzheimer
SSR-180711	α7 (39%)	17-78 nM	EC50 = 0,9- 4,4 µM	déficit cognitif dans la schizophrénie / alzheimer

(Ligands sur le marché ou en phase clinique dont le développement a été arrêté, Source 2013).

4.2.2. Les hybrides d'agonistes des nAChRs possédant un fragment de l'épibatidine 41

Comme nous l'avons vu précédemment, les « hybrides » en chimie médicinale sont de nouvelles molécules hétérodimériques élaborées par une fusion de deux motifs structuraux déjà connus. L'analyse empirique de Beers et Reich permet de nombreuses combinaisons. La superposition du pharmacophores nicotiniques (atome d'azote quaternarisable à pH physiologique et groupement dipolaire accepteur de liaison hydrogène) permet de concevoir un grand nombre de ligands en croisant les différents fragments. Il s'agit là d'une approche rationnelle qui a déjà porté ses fruits dans le domaine de la conception des ligands des nAChRs.

- **UB-165 : hybride d'anatoxine-a 40 et d'épibatidine 41**

Un bon exemple est celui du ligand UB-165 **48**, développé par Wannacott et Gallagher. Ce ligand hybride résulte de la fusion de l'hétérocycle azoté quaternarisable de l'anatoxine-a **40** et l'hétérocycle chloro-pyridine accepteur de liaison hydrogène de l'épibatidine (Schéma **10**).[55,56]

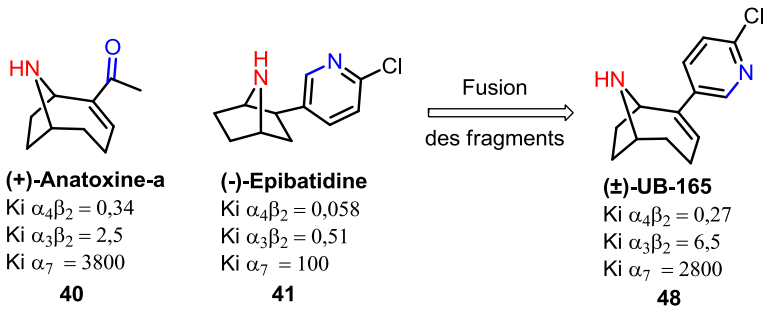


Schéma 10 UB-165, hybride d'épibatidine 41 et d'anatoxine-a 40

La synthèse totale de l'UB-165 **48** s'effectue en 5 étapes à partir de l'azabicyclononanone (-)-**49** avec un rendement global de 13% (Schéma **11**). L'UB-165 **48** est préparé de manière énantiopure grâce à une résolution du mélange racémique d'azabicyclononanone[57] (±)-**49** par l'acide (-)-*O*,*O*-dibenzoyl-tartrique. La déméthylation de (-)-**49** se fait par dégradation de Hofmann après quaternarisation de l'azote par le chloroformate de vinyle en milieu basique.

[55] Wright E, Gallagher T, Sharples C G V, Wonnacott S, Synthesis of UB-165: A novel nicotinic ligand and anatoxin-a/epibatidine hybrid, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2867-70.
[56] Sharples C G V, Karig G, Simpson G L, Spencer J A, Wright E, Millar N S, Wonnacott S, Gallagher T, Synthesis and pharmacological characterization of novel analogues of the nicotinic acetylcholine receptor agonist (±)-UB-165, *J. Med. Chem*, **2002**, *45*, 3235-45.
[57] Wiseman J R, Lee S Y, Synthesis of anatoxin-a, *J. Org. Chem*. **1986**, *51*, 2485-7.

Le vinylcarbamate **50** est alors converti en triflate d'énol **51** par le réactif de Comins.[58] Ce triflate est ensuite engagé dans une réaction de couplage palladocatalysé avec l'organozincique dérivé du 2-chloro-5-lithiopyridine **52** préparé *in situ*. Le produit de couplage **53** est finalement transformé en dérivé *N*-Boc avant d'être quantitativement déprotégé en (-)-UB-165 **48**.

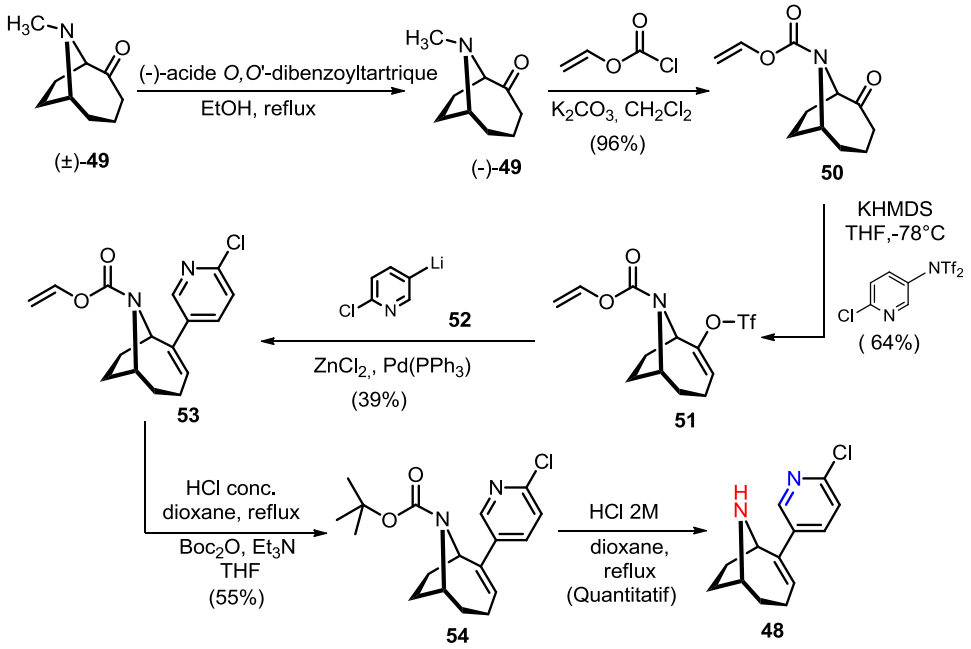


Schéma 11 Synthèse du (-)-UB-165 48.

L'UB-165 **48** est sélectif et affin envers le sous type α4β2 : $K_i(\alpha4\beta2)$ = 0,27 nM, $K_i(\alpha7)$ = 2800 nM. De manière intéressante, l'énantiomère lévogyre (-)-UB-165 **48** possède une activité 20 fois plus puissante sur le sous-type α4β2 que son antipode. Cette dernière caractéristique est importante puisqu'on retrouve cette énantiospécificité dans la liaison de l'anatoxine-a **40** au sous-type α4β2 tandis qu'il n'y a pas d'effet de la chiralité sur l'activité de l'épibatidine **41**. Il semblerait donc que les propriétés pharmaco- et stéréo-dynamiques de l'UB-165 **48** soient liées au bicycle azoté [4.2.1]nonane. De même la taille et l'encombrement de cet hétérocycle seraient également responsables de la sélectivité de sous-type.

[58] Comins D L, Dehghani A, Pyridine-derived triflating reagents: An improved preparation of vinyl triflates from metallo enolates, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6299-302.

- **Hybrides de cytisine 42 et d'épibatidine 41**

Récemment, l'équipe de Jacques Rouden a réalisé la synthèse d'un hybride **55** de cystisine **42** et d'épibatidine **41** par la fusion du fragment azabicyclique de la cytisine et du fragment chloro-pyridinique de l'épibatidine **41** (schéma **12**).[59]

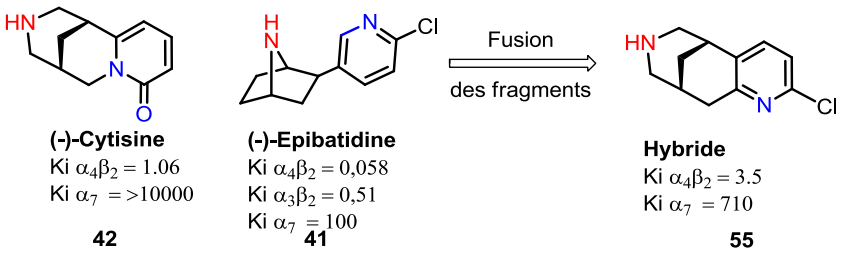


Schéma 12 Hybride 55 de l'épibatidine 41 et de la cytisine 42

Sa synthèse s'effectue en 8 étapes avec un rendement global de 18% et repose sur une réaction originale de cyclisation radicalaire comme étape clé (Schéma **13**).

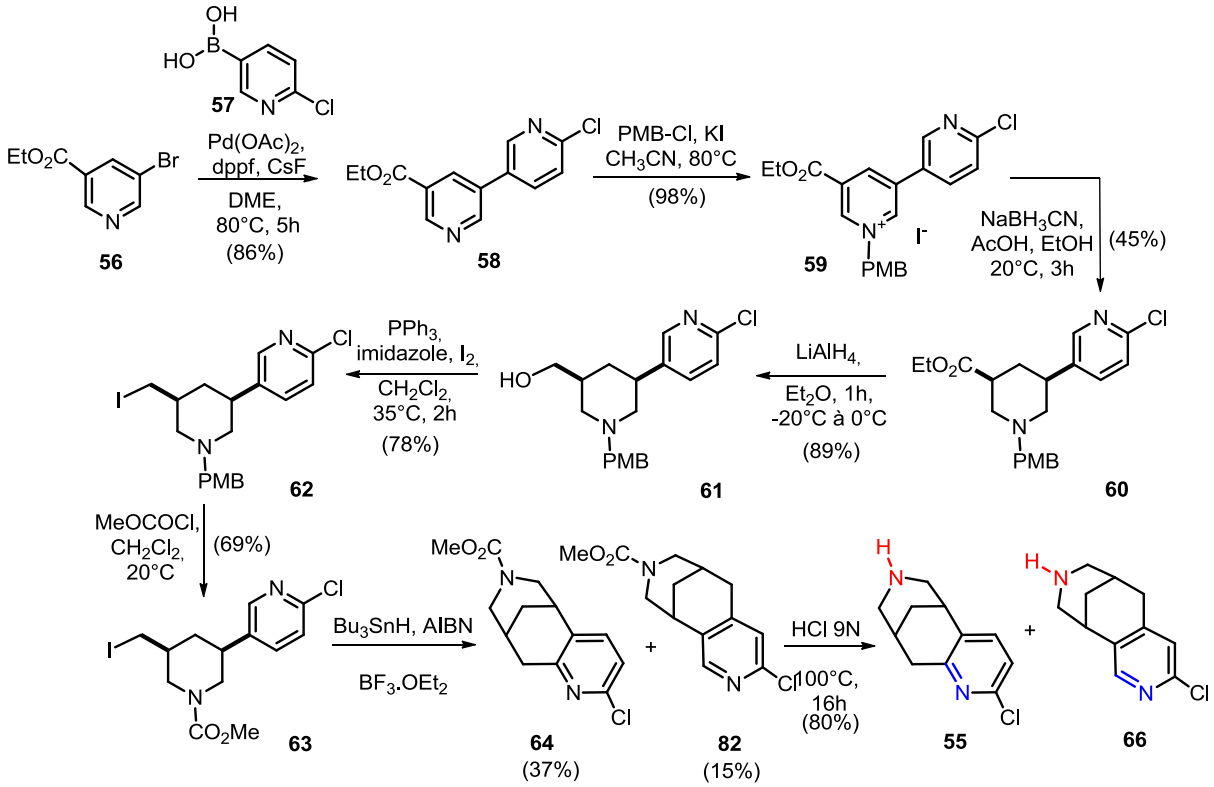


Schéma 13 Synthèse d'hybride de l'épibatidine 41 et de la cytisine 42.

[59] Houllier N, Lasne M-C, Bureau R, Lestage P, Rouden J, Synthesis of a cytisine/epibatidine hybrid: a radical approach, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 9231-41.

La bipyridine **58** est préparée par un couplage de Suzuki entre la 3-bromopyridine **56** et l'acide 2-chloropyrid-5-ylboronique **57**. Cette bipyridine **58** est ensuite quaternarisée par l'iodure de *p*-méthoxybenzyle. L'iodure de pyridinium **59** correspondant subit alors deux réductions successives par le cyanoborohydrure de sodium puis par le LAH. Du fait de la désactivation d'une des pyridines par un atome de chlore, ces réactions s'avèrent chimiospécifiques. Le pipéridinol **61** ainsi obtenu est transformé en dérivé iodo-pipéridine **62** *via* une réaction de type Mistunobu. Ce composé *N*-benzylé est ensuite converti en *N*-carbamate de méthyle **63**. Puis une réaction radicalaire de cyclisation est alors effectuée et conduit aux régioisomères **64** et **65** avec des rendements très modestes. Après hydrolyse de la fonction *N*-carbamate les hybrides régioisomères **55** et **66** sont isolés.

L'évaluation biologique *in vitro* des deux régioisomères révèle une meilleure affinité et une meilleure sélectivité pour le sous-type $\alpha4\beta2$ comparé à $\alpha7$ pour le régioisomère inattendu **66**. Des études de modélisation moléculaire ont confirmé la cohérence de l'orientation des pharmacophores des composés hybrides avec celle de leurs molécules parents, la cytisine **42** et l'épibatidine **41**.

4.2.3. Les hybrides de ligands agonistes des nAChRs possédant un fragment de la lobéline 46

- **Hybride de la lobéline et de la nortropine**

Edink et collaborateurs ont récemment développé des nouveaux ligands des nAChRs *via* une approche par fragments.[60] Par un criblage *in silico* mené sur l'AChBP, des dérivés de la tropine ont été identifiés comme ligands. Parmi ces dérivés, le benzoate de nortropinyle **67** présente une bonne efficacité de ligand (L.E) de 0,46 kcal·mol^{-1} pour l'*Ac*-AChBP. Aussi, ce composé constituera le fragment initial de cette étude. Les auteurs choisissent d'optimiser ce fragment en suivant un procédé dit de « growing ».

Pour ce faire, ils exploitent les données radiocristallographiques issues de co-cristallisations de ligands naturels de nAChRs et de **67** avec l'*Ac*-AChBP. La comparaison entre les différentes structures montre que le fragment **67** engendre un changement conformationnel de la protéine qui n'avait été observé jusqu'alors que lors de la fixation de la lobéline **46** dans

[60] Edink E, Rucktooa P, Retra K, Akdemir A, Nahar T, Zuiderveld O, van Elk R, Janssen E, van Nierop P, van Muijlwijk-Koezen J, Smit A B, Sixma T K, Leurs R, de Esch I J P, Fragment growing induces conformational changes in acetylcholine-binding protein: a structural and thermodynamic analysis, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5363-71.

l'*Ac*-AChBP. Plus précisément, il a été mis en évidence que la fixation de la lobéline **46** engendre un réarrangement conformationnel de la protéine et l'ouverture d'une sous-poche dans laquelle le bras α-hydroxyphénéthyle de la lobéline **46** vient se fixer. En comparant les données cristallographiques, Edink et collaborateurs remarquent un recouvrement quant au mode de liaison des deux ligands, benzoate de nortropinyle **67** et lobéline **46** : le bras benzoate et le bras 1-phényléthanone s'orientent de manière similaire (Figure **23**). En revanche pour le fragment **67**, la sous-poche de la lobéline reste inoccupée.

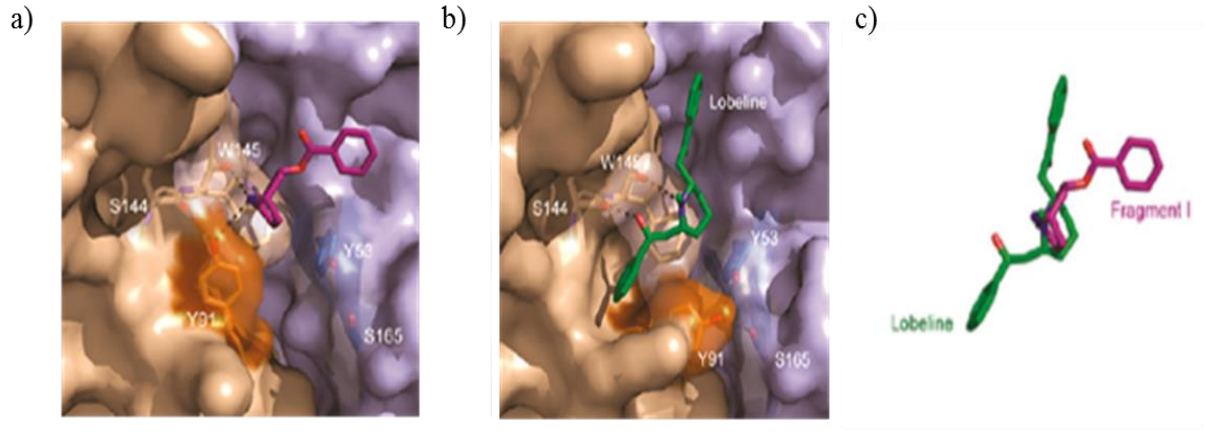


Figure 23 Cliché RX du benzoate de nortropine 67 (a), de la lobéline 46 (b) et superposition des structures dans leurs conformations actives (c)

Une optimisation du fragment **67** a été envisagée par une extension inspirée par la structure de la lobéline **46** en y ajoutant la partie α-hydroxyphénéthyle pour tenter de cibler cette sous-poche. Cette stratégie d'optimisation est décrite comme une approche par croissance mais peut aussi être perçue comme une approche par fusion de lobéline **46** avec le fragment nortropine **67** (Schéma **14**).

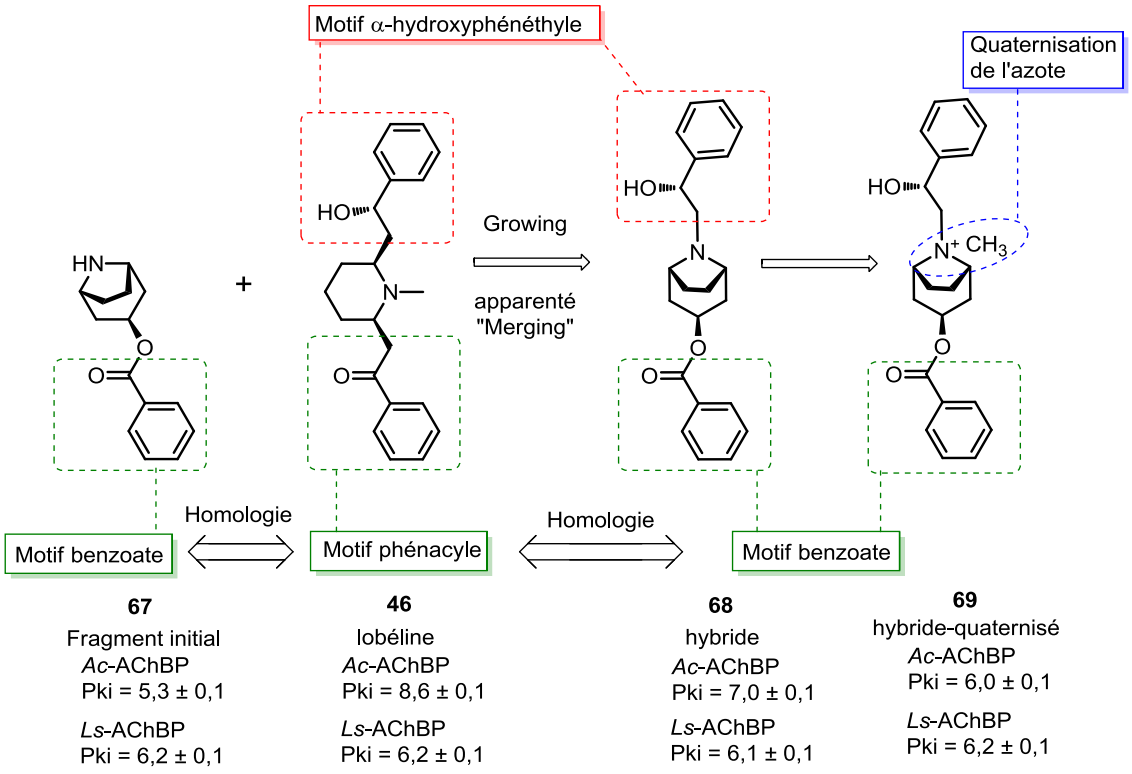


Schéma 14 Optimisation par croissance dirigée du fragment benzoate de nortropinyle 67

Des études de modélisation par docking du fragment **68** optimisé confirmeront un mode de fixation similaire à celui de la lobéline **46** avec l'adressage du motif α-hydroxyphénéthyle vers la sous poche (Figure **24**). Comme dans la lobéline **46**, la fonction hydroxyle ne fait pas de liaison hydrogène dans le site de fixation, la synthèse de l'hybride **74** étendu d'un bras phénéthyle sera également envisagée (Schéma **15**).

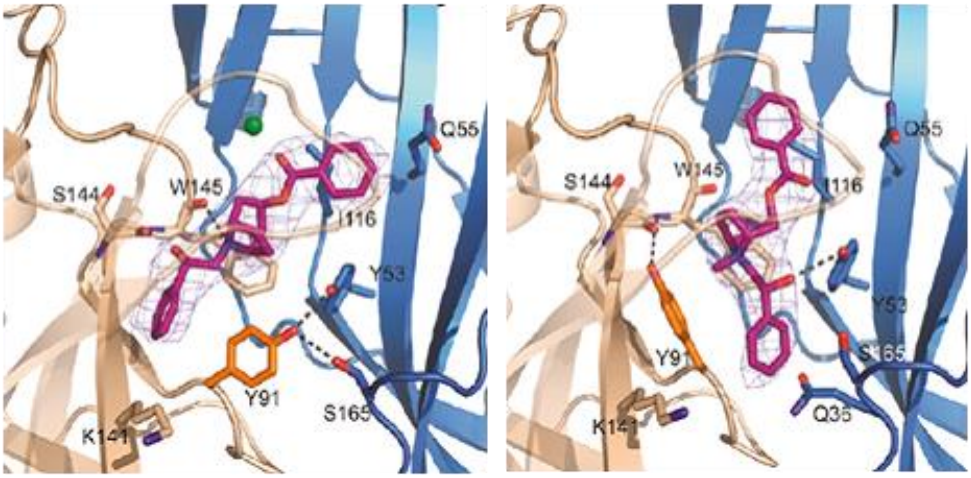


Figure 24 Représentation des complexes de l'*Ac*-AChBP avec les fragments optimisés 68 et 69

La totalité des composés évalués dans cette étude est issue d'une seule et même voie de synthèse (Schéma **15**). Le fragment nortropinyle initial **67** est préparé en trois étapes avec 69% de rendement. La tropine **70** est tout d'abord acylée avec le chlorure de benzoyle. Puis le benzoate **67** obtenu est *N*-déméthylé en deux étapes par action du chloroformate d'α-chloroéthyle suivie de la méthanolyse du carbamate intermédiaire. Le benzoate de nortropinyle **67** constitue un intermédiaire pivot pour l'optimisation par croissance de fragment. L'amination réductrice réalisée en présence du phénylacétaldéhyde **73** conduit au composé **74** dépourvu de fonction oxygénée sur le substituant de l'azote (fragment du lobélane). L'addition nucléophile du benzoate de nortropinyle **67** sur le (*R*)-phényloxirane donne l'hybride **68** comportant sur l'atome d'azote un fragment de la lobéline **46**. Finalement le composé **68** est converti en ammonium quaternaire par un traitement à l'iodure de méthyle conduisant au composé **69** (Schéma **15**).

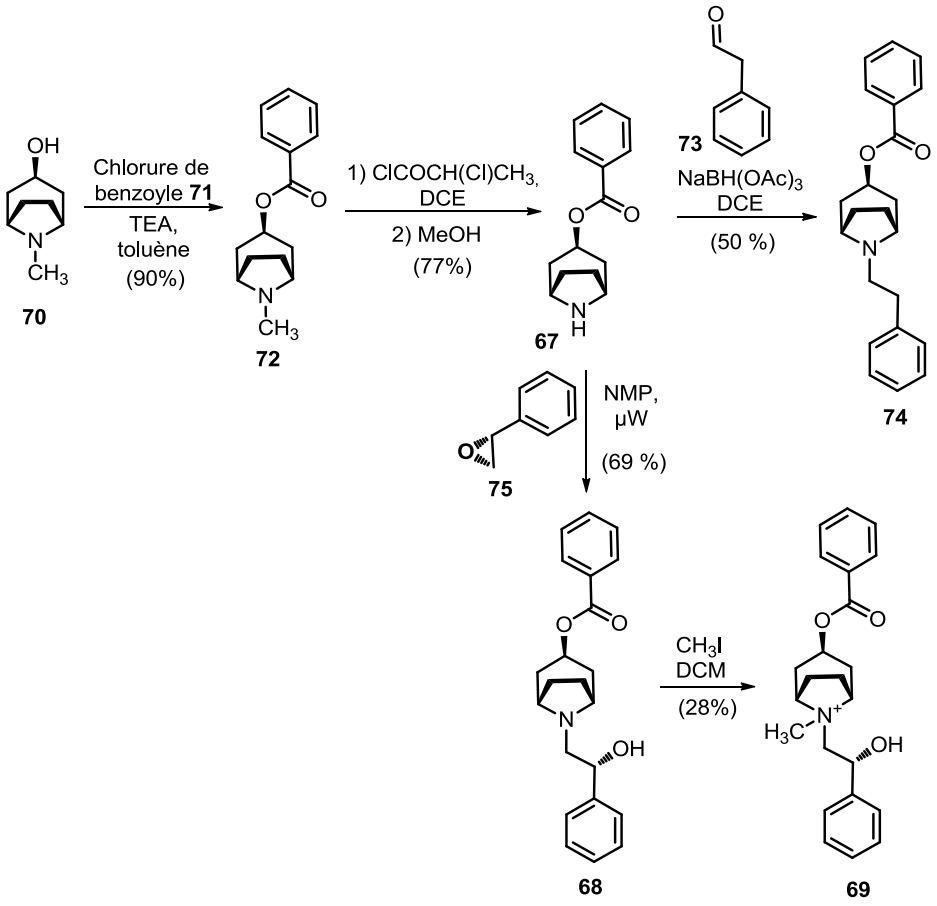


Schéma 15 Synthèse des hybrides de la nortropine et la lobéline 46 ou du lobélane

L'affinité mesurée pour les différents ligands montre que l'optimisation par accroissement de **67** en **68** améliore l'affinité d'un facteur 50 et l'optimisation par accroissement de **67** en **74** améliore l'affinité d'un facteur 150. La quaternisation de **68** dans le but d'améliorer l'affinité *via* une interaction π-cation rend le composé **69**, 10 fois moins affin pour *Ac*-AChBP mais 6 fois plus affin pour *Ls*-AChBP. Ce dernier résultat laisse entrevoir la possibilité d'une optimisation de ligand en vue d'une sélection sous-typique.

- **Hybride de nicotine et de lobéline**

Les éléments du pharmacophore nicotinique se retrouvent et se superposent dans le cas de la lobéline et de la nicotine. Ce constat sera fait par Felpin et Lebreton qui publient en 2010 un premier exemple de synthèse d'hybrides **76** et **77** de ces deux molécules (Schéma **16**).[61]

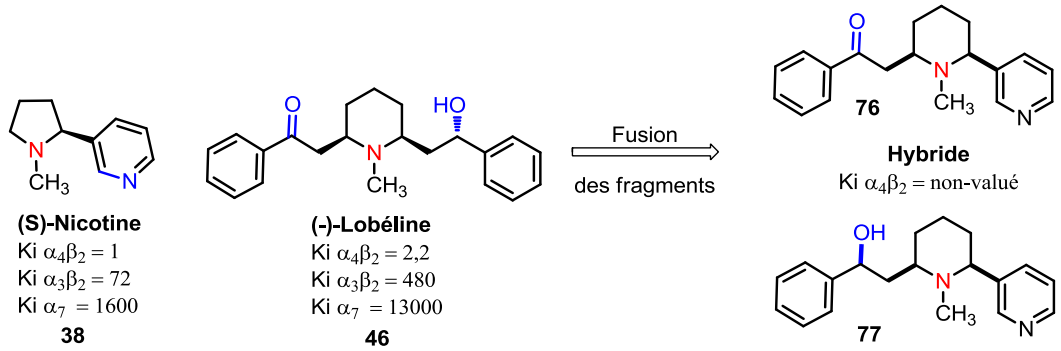


Schéma 16 Fusion des fragments de la lobéline 46 et de la nicotine 38.

La synthèse de ces hybrides sera décrite et discutée en introduction du chapitre suivant (Chapitre II – Schéma **24**).

4.2.4. La (-)-lobéline 46, un ligand d'exception

- **Caractéristique structurale : la stéréolabilité des fonctions β-amino-cétones**

Ce phénomène de mutarotation en solution de la lobéline **46** a été clairement établi par les travaux de Marazano.[62] Le mécanisme d'épimérisation par une réaction de rétro-Michael/aza-Michael autocatalysée a été confirmé par les travaux de Crooks (Schéma **17**).[63]

[61] Ranaivondrambola T, Hatton W, Felpin F-X, Evain M, Mathé-Allainmat M, Lebreton J, Synthesis of a Racemic Nicotine–Lobeline Hybrid, *Synlett* **2010**, *11*, 1631-4.
[62] Compère D, Marazano C, Das B C, Enantioselective Access to Lobelia Alkaloids, *J. Org. Chem*. **1999**, *64*, 4528-32.

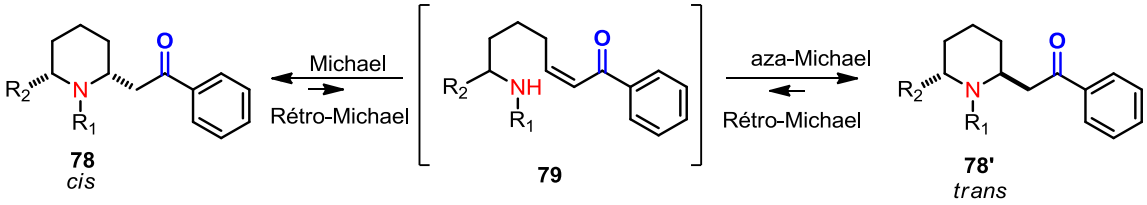


Schéma 17 Mutarotation du motif β-amino-cétone par réaction de rétro-Michael/Michael.

Nos travaux ont récemment permis d'améliorer la compréhension des phénomènes d'épimérisation des alcaloïdes de type *Lobelia*. Nous nous sommes particulièrement intéressés à la synthèse de composés *méso* tels que la lobélanine, alcaloïde naturel, ainsi que différents analogues, en utilisant une stratégie de double aza-Michael cyclisante (Schéma **18**).[64,65,66] L'exemplification de cette méthode diastéreosélective et répondant aux critères de la chimie verte, nous a permis de préparer une série de pipéridines et de pyrrolidines diversement substituées. Si nous avons montré que les substituants portés aux extrémités des bras cétoniques avaient peu de conséquences sur la stabilité configurationnelle du motif β-amino-cétone, cela n'en est pas le cas des substituants portés par l'azote central ou de la taille de l'hétérocycle.[63,64] De même, l'hybridation de l'atome d'azote influe sur la stabilité configurationnelle de l'hétérocycle.[65]

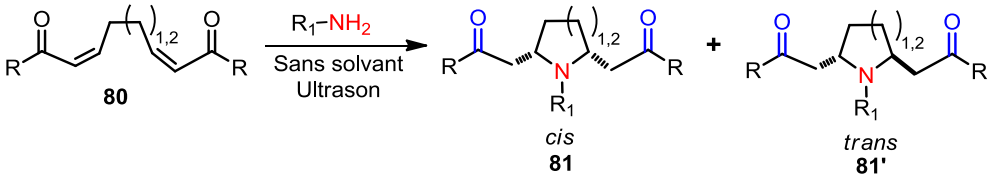


Schéma 18 Double aza-Michael cyclisante conduisant à la lobélanine et ses analogues pyrrolidiniques.

A partir des résultats expérimentaux et à l'appui de calculs de DFT et d'études RMN, nous avons montré que la barrière d'épimérisation des composés pyrrolidiniques était supérieure à

---

[63] Zheng G, Dwoskin L P, Crooks P A, Indirect Trapping of the Retroconjugate Addition Reaction Intermediate Involved in the Epimerization of Lobeline: Application to the Synthesis of (-)-Sedamine, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8514-7.

[64] Amara Z, Bernadat G, Venot P-E, Retailleau P, Troufflard C, Drege E, Le Bideau F, Joseph D, Thermodynamic epimeric equilibration and crystallisation-induced dynamic resolution of lobelanine, norlobelanine and related analogues, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 9797-810.

[65] Amara Z, Drege E, Troufflard C, Retailleau P, Tran Huu-Dau M-E, Joseph D, Switchable Stereocontrolled Divergent Synthesis Induced by aza-Michael Addition of Deactivated Primary Amines under Acid Catalysis, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 15840-8.

[66] Amara Z, Drege E, Troufflard C, Retailleau P, Joseph D, Solvent-free double aza-Michael under ultrasound irradiation: diastereoselective sequential one-pot synthesis of pyrrolidine Lobelia alkaloids analogues, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7148-57.

celle des homologues pipéridiniques. Dans le cas des pyrrolidines issues de la réaction de double aza-Michael cyclisante par addition d'alkylamine primaire (azote tétraédrique), les diastéréoisomères *cis* sont les produits thermodynamiques et sont configurationnellement stables. Concernant les dérivés pipéridiniques, les diastéréoisomères *cis* sont également les produits thermodynamiques mais sont, quant à eux, configurationnellement instables en solution et conduisent à des équilibres thermodynamiques de diastéréoisomères *cis/trans.* Toutefois, nous avons montré qu'il était possible de déplacer ces équilibres en jouant sur le substituant de l'azote par la création d'interactions intramoléculaires stabilisantes - liaisons hydrogène ou stacking π-π - (Figure **25**). De même, il est possible de déplacer totalement les équilibres épimériques vers les pipéridines *cis* qui cristallisent cinétiquement plus rapidement de par leur symétrie et ce, même sous forme d'amine base.

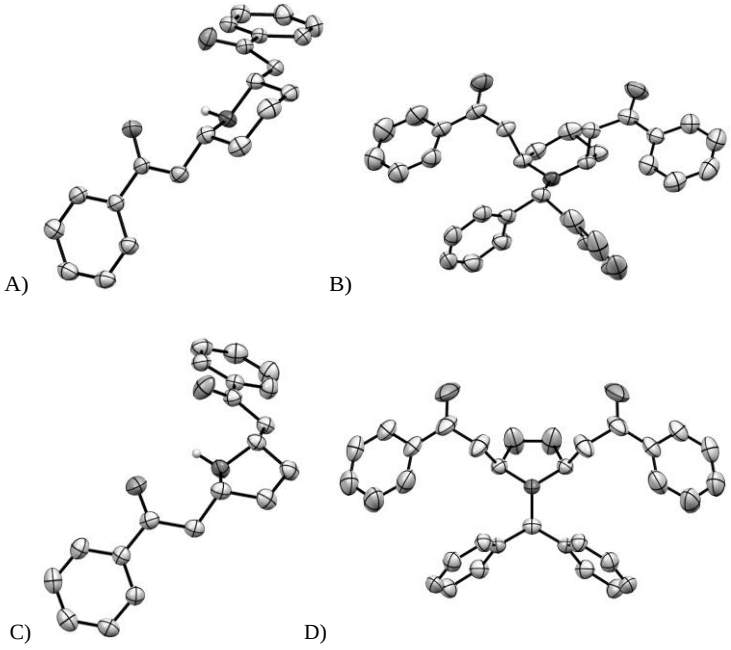


Figure 25 Structures RX de A) la norlobélanine, B) *N*-Dpm norlobélanine, C) la pyrro-norlobélanine, D) *N*-Dpm pyrro-norlobélanine.

Nous avons également montré que l'addition d'anilines (azote hybridé sp^2) conduisait aux pyrrolidines cinétiques *cis* et thermodynamiques *trans.* Du fait que, dans le cas des anilines, la réaction de double aza-Michael cyclisante est sous contrôle cinétique, la nature et la position du substituant sur l'aniline conditionne le rapport diastéréoisomérique. Ainsi, les groupements donneurs, augmentant la nucléophilie de l'azote, favorisent le produit cinétique *cis* alors que les groupements électro-attracteurs favorisent les produits thermodynamiques *trans*.

- **Conformation active : liaison hydrogène intramoléculaire stabilisante**

Une autre caractéristique structurale de la (-)-lobéline **46** est notable : cette dernière possède en position γ de l'amine une fonction alcool qui peut former intramoléculairement une liaison hydrogène stabilisante. Cette dernière induit une conformation privilégiée de la (-)-lobéline **46** de type *trans*-décaline : la pipéridine base fait une liaison hydrogène avec l'atome d'hydrogène de la fonction hydroxyle du bras et le doublet non liant de l'azote (Schéma **19**). On pourrait penser que cet équilibre conformationnel de la lobéline **46** entre sa forme étendue et sa géométrie contrainte pourrait être déplacé sous l'effet de la protonation de l'azote notamment à pH physiologique. En réalité, il n'en est rien. Le chlorhydrate de lobéline adopte également cette conformation repliée de type *trans*-décaline. Cette fois, la fonction donneuse de liaison hydrogène devient l'ammonium tertiaire alors que la fonction hydroxyle du bras latéral devient acceptrice de liaison hydrogène (Schéma **19**).

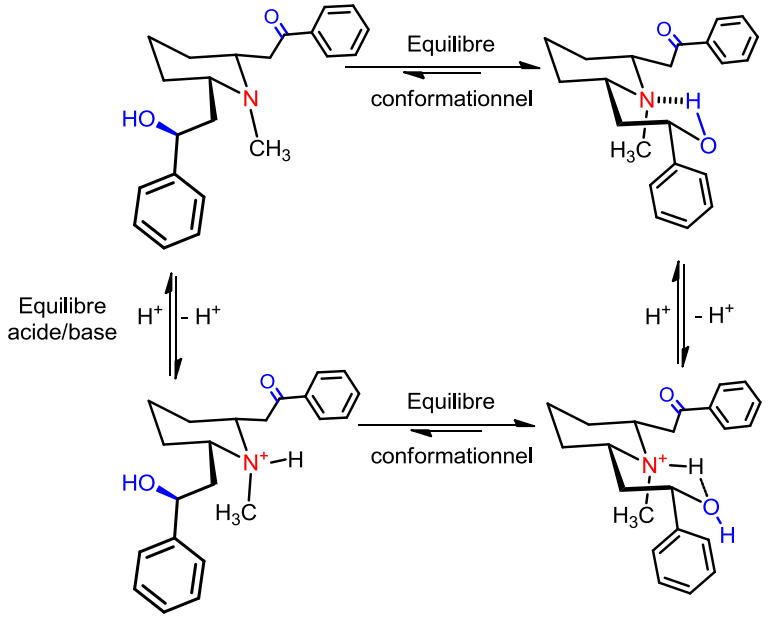


Schéma 19 Équilibre conformationnel de la lobéline 46. [67],[68]

Cette conformation repliée de type *trans*-décaline a été mise en évidence à l'état solide sur le chlorhydrate par l'obtention de cliché RX et en solution sur la lobéline base **46** par des études par infrarouge (Figure **26**).[68]

[67] Barlow R B, Johnson O, Relations between structure and nicotine-like activity: X-ray crystal structure analysis of (-)-cytisine and (-)-lobeline hydrochloride and a comparison with (-)-nicotine and other nicotine-like compounds, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1989**, *98*, 799-808.
[68] Glaser R, Hug P, Drouin M, Michel A, Solution- and solid-state stereochemistry of (-)-lobeline hydrochloride and hydrobromide, a respiratory-stimulant drug, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1992**, 1071-9.

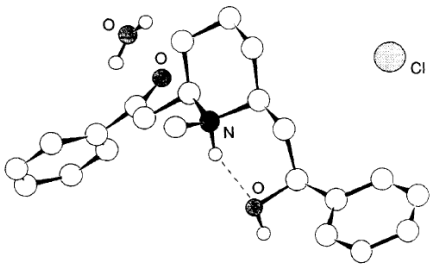


Figure 26 Liaison hydrogène intramoléculaire dans le chlorhydrate de lobéline.

- **Pharmacologie complexe de la (-)-lobéline**

La (-)-lobéline **46** a été décrite d'une part comme agoniste mais aussi comme agoniste partiel par des expériences électrophysiologiques sur les nAChRs de sous-types $\alpha_4\beta_2$ et $\alpha_4\beta_4$ et d'autre part comme antagoniste sur les jonctions neuromusculaires. [69, 70, 71, 72]

Grâce à une collaboration avec l'Institut Pasteur, une étude de docking a été effectuée de la lobéline sur l'AChBP et des modèles par homologie de sous-types de nAChRs. Cette étude de modélisation montre l'importance de la liaison hydrogène intramoléculaire et de la conformation privilégiée adoptée par la lobéline pour son orientation au sein des sites de fixation du ligand et donc pour son activité biologique (Figure **27**).[73]

[69] Cunningham C S, Polston J E, Jany J R, Segert I L, Miller D K, Interaction of lobeline and nicotinic receptor ligands with the discriminative stimulus properties of cocaine and amphetamine, *Drug Alcohol Depend.* **2006**, *84*, 211-22.

[70] Farook J M, Lewis B, Gaddis J G, Littleton J M, Barron S, Lobeline, a nicotinic partial agonist attenuates alcohol consumption and preference in male C57BL/6J mice, *Physiol. Behav.* **2009**, *97*, 503-06.

[71] Zheng G, Dwoskin L P, Deaciuc A G, Norrholm S D, Crooks P A, Defunctionalized Lobeline Analogues: Structure−Activity of Novel Ligands for the Vesicular Monoamine Transporter, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5551-60.

[72] Crunelle C L, Miller M L, Booij J, van den Brink W, The nicotinic acetylcholine receptor partial agonist varenicline and the treatment of drug dependence: A review, *Eur. Neuropsychopharmacol* **2010**, *20*, 69-79.

[73] Colas C, Brotel X, Duclert-Savatier N, Nilges M, Joseph D, Malliavin T E, Lobeline Docking on AChBP and Nicotinic Receptors: Discriminating Importance of the Pocket Geometry and of the Ligand Configuration, *Lett. Drug. Des. Discov.* **2012**, *9*, 54-62.

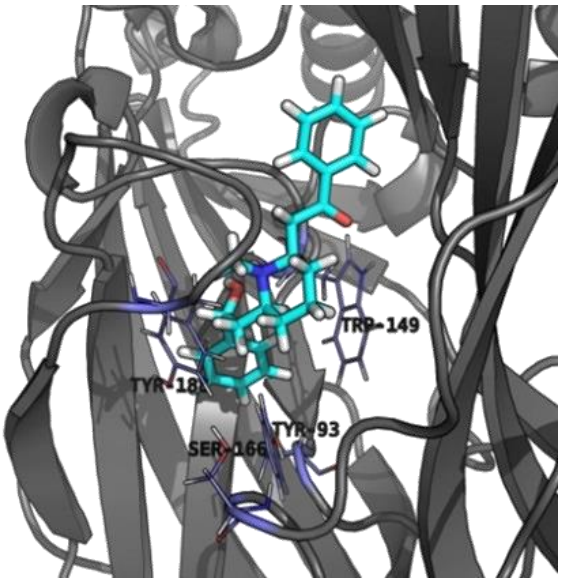


Figure 27 Image de l'arrimage de la (-)-lobéline 46 dans le modèle par homologie de sous-type $\alpha_4\beta_2$.

Une récente étude de modélisation, toujours effectuée en collaboration avec l'Institut Pasteur montre que parmi l'arsenal de molécules affines pour les nAChRs, la lobéline **46** occupe un volume de poche atypique compris entre celui plus large des antagonistes et celui plus étroit des agonistes (Figure **28**).[74]

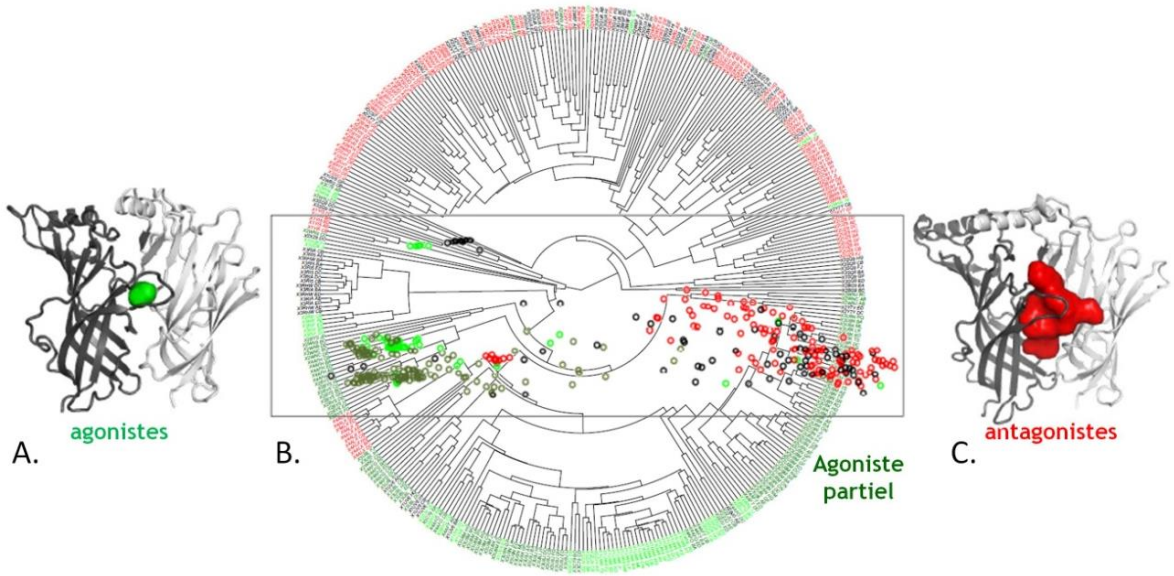


Figure 28 Analyse des cavités orthostériques des structures RX des AChBPs

[74] Taly A, Colas C, Malliavin T E, Blondel A, Nilges M, Corringer P-J, Joseph D, Discrimination of agonists versus antagonists of nicotinic ligands based on docking onto AChBP structures, *J. Mol. Graph. Model.* **2011**, *30*, 100-9.

La lobéline **46** semble occuper une place particulière parmi les différents ligands des nAChRs en déclinant des activités antagonistes, agonistes ou agonistes partiels, en ayant une dimension plus importante que la plupart des agonistes mais compensée par une conformation active plus compacte. De plus, la relation entre l'instabilité configurationnelle de la lobéline **46** et sa pharmacologie n'a jamais été corrélée. Par ailleurs, les alcaloïdes de *Lobelia* et leurs analogues hémisynthétiques ont vu leur activité et leur affinité sur les nAChRs évaluées. De par les données pharmacologiques et cristallographiques à disposition, la (-)-lobéline **46** fait un parfait modèle pour notre étude visant à développer des outils bioinformatiques représentatifs des états allostériques du récepteur afin de prédire les sélectivités sous-typiques et des activités d'un ligand potentiel pour le criblage et la conception rationnelle de ligands des nAChRs.

5 Projet de recherche

5.1. Les acquis du laboratoire sur la double aza-Michael cyclisante: opportunités de synthèse

Lors de l'étude de la réaction de double aza-Michael cyclisante, certaines pyrrolidines se sont révélées relativement instables. En effet, les β-amino-cétones, en plus d'être facilement épimérisables, peuvent aussi se fragmenter par une réaction de rétro-Mannich. Cette fragmentation a, dans notre cas, été observée lors de la préparation de pyrrolidines par double additions conjuguées du phénylglycinol **107** sur différentes dièenediones. En général, les rendements de la doule aza-Michael sont moins bons et les pyrrolidines, *N*-substituées par le groupement phényléthanol, se conservent moins bien : les bruts réactionnels révèlent la présence d'acétophénone **83** et, après purification, l'oxazopyrrolidine **85** est isolée (Schéma **20**). Ceci peut s'expliquer par une assistance intramoléculaire de la fonction hydroxyle favorisant ainsi son clivage par rétro-Mannich et par le fait que l'espèce iminium **84** intermédiairement générée est, quant à elle, directement piégée par addition intramoléculaire de l'oxyanion pour conduire à l'oxazopyrrolidine stabilisée **85.**

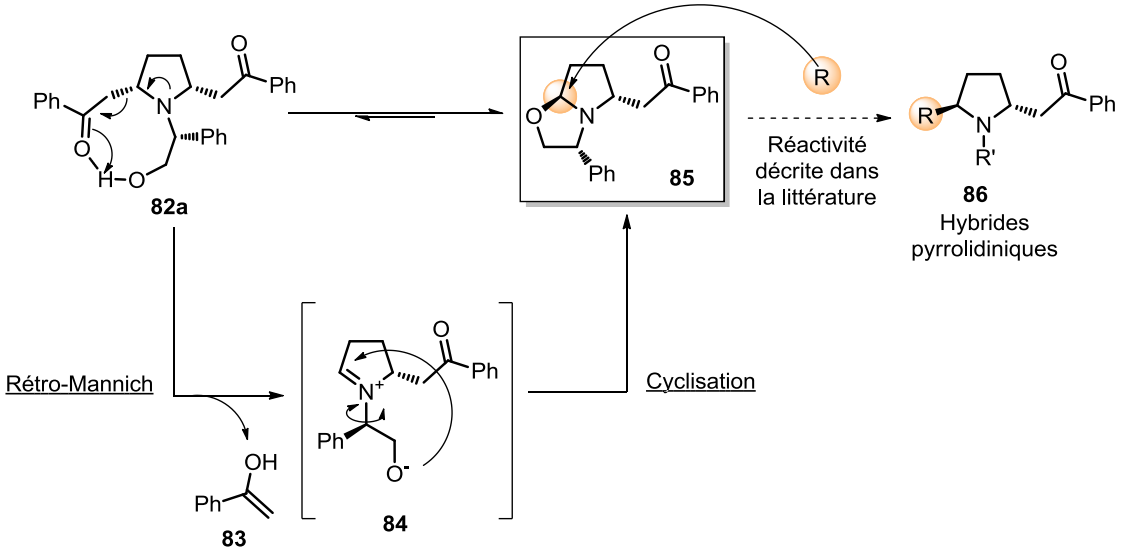


Schéma 20 Fragmentation par rétro-Mannich de la pyrrolidine 82a.

L'obtention de cette oxazolopyrrolidine **85** ainsi que la réactivité connue des oxazolidines en tant qu'électrophiles masqués (Schéma **20**), nous a conduit à envisager l'utilisation de ce bicycle comme un intermédiaire clé dans l'élaboration d'une nouvelle famille d'analogues de (-)-lobéline **46**. En effet, par l'addition de différents fragments nucléophiles (R) issus de

ligands agonistes des nAChRs, une nouvelle famille d'hybrides **86** issue de la fusion de fragments de la nicotine **38** (pyrrolidine) et de la lobéline **46** (bras phénacyle ou phénylethanol) sera préparée (Schéma **20**). Du point de vue du pharmacochimiste, l'utilisation de l'oxazolopyrrolidine **85** comme synthon pivot présente plusieurs avantages ; d'une part la possibilité d'introduire de façon divergente mais orientée une certaine diversité moléculaire et d'autre part, l'accès aux deux familles énantiomères d'hybrides selon la configuration du phénylglycinol **107** employé. L'effet de la chiralité sur l'affinité et l'activité des ligands pourra alors être étudié.

Grâce à cet intermédiaire pivot **85**, on pourra accéder à une famille de ligands présentant une très grande homologie de structure. Cette homologie est fondamentale pour pouvoir cartographier finement les interactions ligands-récepteurs responsables des réarrangements allostériques de la protéine et pour rationaliser l'effet de la fixation du ligand, sur l'allostérie du récepteur et sur la fonction pharmacologique.

5.2. Projet de recherche : synthèse de deux séries chimiques hybrides de lobéline

Par conséquent, dans le cadre de ces travaux de thèse, je me suis intéressé au développement de deux séries chimiques de composés hybrides de la lobéline **46** et de la nicotine **38** (Schéma **21**). Du fait de l'équilibre conformationnel de la lobéline qui peut adopter une conformation étendue ou compacte, nous avons choisi de synthétiser deux séries **87** et **88** respectivement, présentant une forte homologie structurale et décrivant ces deux conformations possibles.

Le choix du fragment pyrrolidine de la nicotine **38** permet de s'affranchir de la stéréolabilité du motif β-amino-cétone quand celui-ci est porté par une pipéridine en accédant à des hybrides pyrrolidiniques d'une plus grande stabilité configurationnelle. [64]

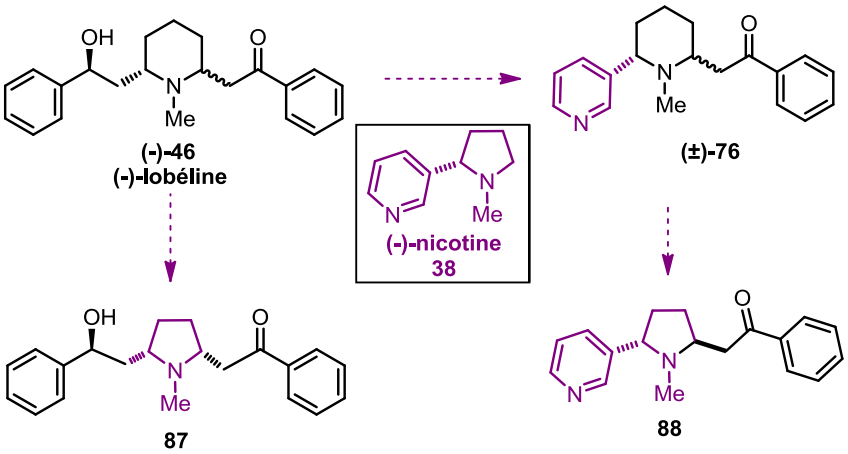


Schéma 21 Hybrides de la lobéline et de la nicotine à concevoir : 87 et 88.

Pour préparer ces deux séries chimiques **86** et **89**, deux stratégies de synthèse seront étudiées en se basant sur les connaissances acquises sur les analogues pyrrolidiniques *méso* **81** et sur la possibilité d'accéder à l'oxazolopyrrolidine **85**. Ces stratégies reposeront sur des réactions de désymétrisation tardive par réduction désymétrisante des composés dicétoniques *méso* **81** ou sur des réactions de désymétrisation précoce par formation de l'oxazolopyrrolidine **85** (Schéma **22**). De fait, ces stratégies nécessiteront l'élongation bi- ou mono-directionnelle d'un synthon commun, le succinaldéhyde **90**.

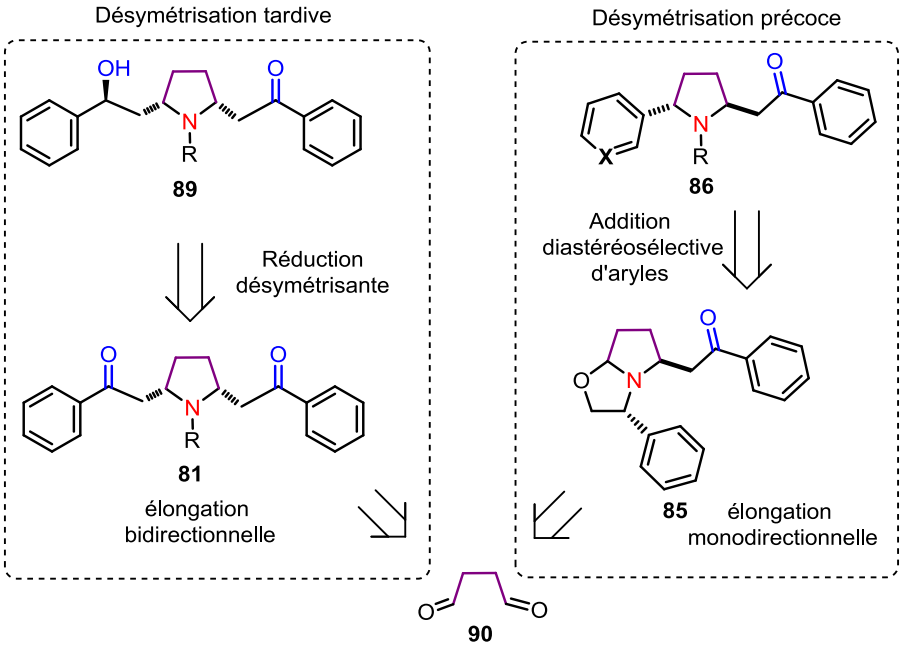


Schéma 22 Stratégies de synthèse envisagées et basées sur une désymétrisation tardive ou précoce de substrats symétriques.

L'obtention de ces deux séries de molécules est un moyen d'effectuer des pharmacomodulations rationnelles autour de la lobéline **46** pour des études de RSA. En effet, les molécules synthétisées seront évaluées par électrophysiologie grâce à une collaboration avec l'institut de neurobiologie Alfred Fessard. Puis, par la rationalisation *in silico* des résultats biologiques, nous essayerons de mettre en évidence les discrimants moléculaires responsables des transitions allostériques de ces récepteurs.

De manière itérative et en combinant les résultats obtenus à la fois sur le récepteur homologue GLIC et ceux obtenus dans cette étude sur les nAChRs, il sera possible de concevoir et d'optimiser des modèles de prédiction *in silico*. Ces modèles serviront à comprendre les discrimants moléculaires induisant les transitions allostériques des récepteurs lors de la

fixation d'un ligand (Figure **29**). Ils seront utilisés *in fine* pour l'optimisation de futures générations de chefs de file répondant à des critères de sélectivité sous-typiques et d'activité fonctionnelle.

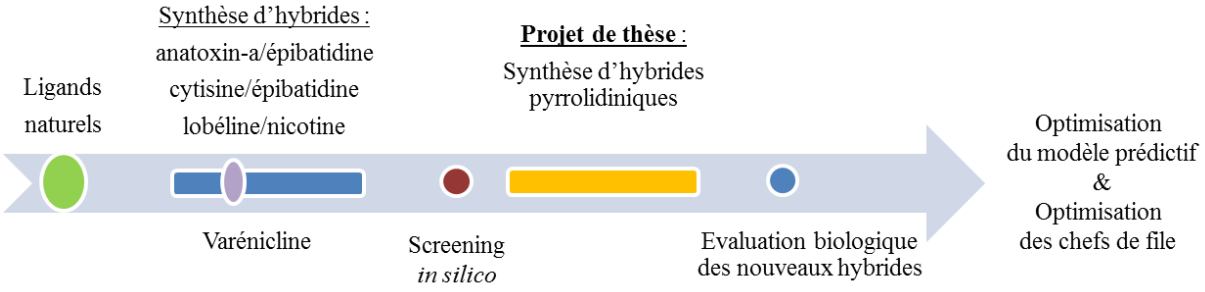


Figure 29 Phase d'optimisation d'outils bioinformatiques pour la conception rationnelle de ligands des nAChRs.

Chapitre II : Les hybrides de lobéline et de nicotine et/ou d'agonistes naturels des nAChRs

1 Introduction

1.1. Synthèse d'hybrides de nicotine et de lobéline

Les premiers hybrides de nicotine **38** et de lobéline **46** ont été décrits par Lebreton et ses collaborateurs en 2010.[61] Ces derniers associent les éléments structuraux de la (-)-lobéline **46** à ceux de la (-)-nicotine **38** : l'un des bras de la lobéline **46** est substitué par le noyau pyridine de la nicotine **38** (Schéma **23**). Ainsi, deux hybrides **77** et **76** possédant l'un des bras hydroxyphénéthyle ou phénacyle de la lobéline **46** ont été obtenus de manière diastéréosélective en 12 et 13 étapes avec un rendement global de 13% et 12% respectivement. On peut toutefois noter que les configurations relatives de la lobéline naturelle ne sont pas totalement respectées (Schéma **23**). De plus, aucune donnée biologique n'étant disponible sur ces structures, on ne peut conclure sur la pertinence ou non de cette stratégie pour la conception de ligand des nAChRs.

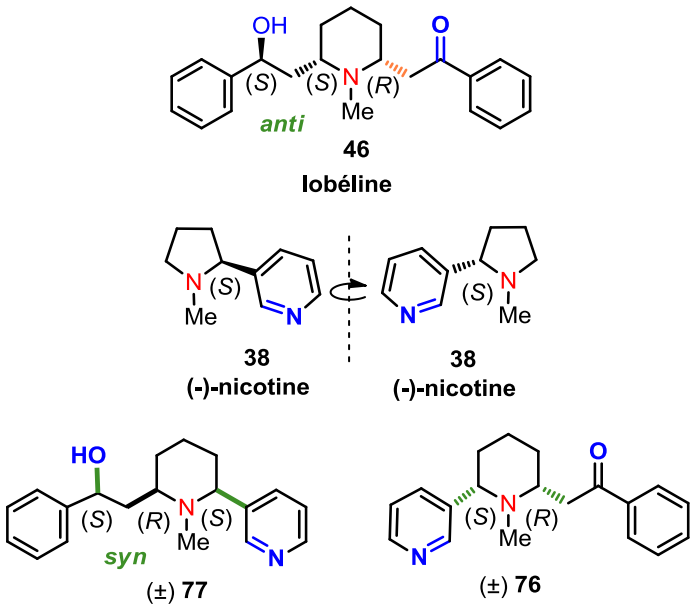


Schéma 23 Hybrides racémiques de Lebreton et ligands naturels associés (lobéline et nicotine)

La synthèse proposée par Lebreton repose sur deux étapes-clés : la première consiste en une réduction diastéréosélective de l'hydroxylcétone silylée **95** issue de l'aldolisation de Mukaiyama entre l'éther d'énol silylé **92** et le benzaldéhyde **93** (Schéma **24**). Cette réduction permet de créer les deux centres stéréogènes du bras hydroxyphénéthyle de la lobéline **46**. La seconde étape-clé procède par une allylation diastéréosélective de l'imine **100,** dérivée de l'addition de l'amine **98** sur le nicotinaldéhyde **99** (Schéma **24**). Cette étape permet d'introduire le troisième centre stéréogène « nicotine » au pied du noyau pyridine.

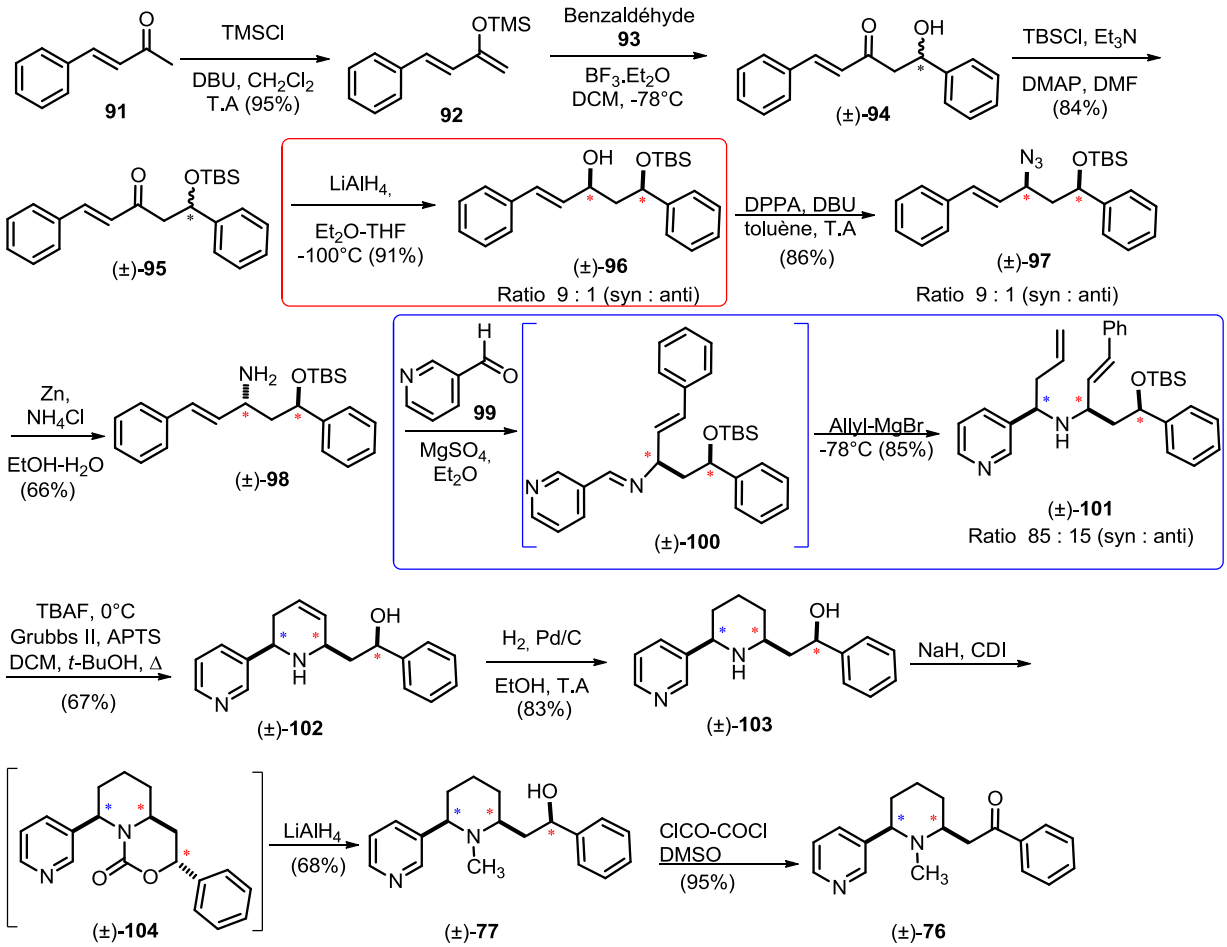


Schéma 24 Synthèse d'hybrides de nicotine et de lobéline

Cette stratégie ne donne pas d'accès aux hybrides de manière énantiosélective, ce qui parait indispensable pour des études de relations structure-activité. De plus, bien que non mentionné dans la publication associée, l'hybride phénacyl-pipéridine **79** est probablement soumis à la même stéréolabilité du motif β-amino-cétone, bien connue sur la lobéline **46** (Chapitre I).[62] Dans le cadre de notre étude, cette synthèse multi-étapes paraît difficilement applicable à l'introduction rapide de diversité moléculaire indispensable au développement d'une bibliothèque d'hybrides dérivés des alcaloïdes de *Lobelia*.

1.2. Stratégie et Rétrosynthèse

Aussi, afin d'accéder plus aisément à une série d'hybrides de lobéline-nicotine ou d'hybrides lobéline-agonistes naturels, configurationnellement stables, nous nous proposons d'élaborer une stratégie de synthèse énantiosélective et économe reposant sur la réactivité des oxazolopyrrolidines chirales. Ces hybrides **86** pourraient ainsi être préparés au départ de l'oxazolopyrrolidine chirale **105** par arylation diastéréosélective (Schéma **25**).

L'oxazolopyrrolidine pivot **105** serait, quant à elle, issue d'une réaction tandem d'hémiaminalisation/aza-Michael entre l'aldéhyde **106** et l'amino-alcool chiral **107**.

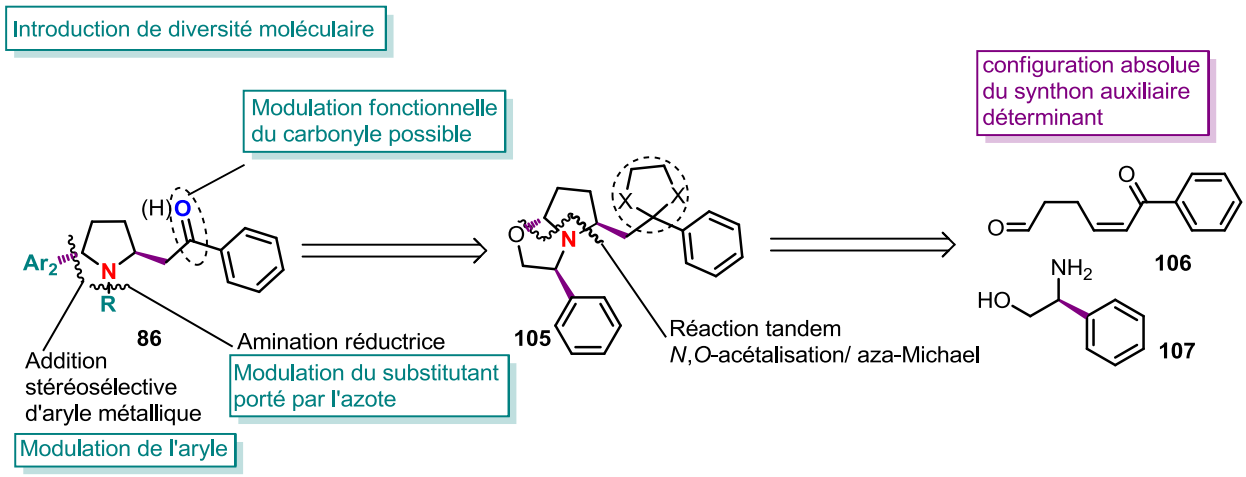


Schéma 25 Stratégie de synthèse d'hybrides dérivés de lobéline

L'aldéhyde **106** pourrait, quant à lui, être obtenu majoritairement par une mono-oléfination de Wittig au départ d'un dialdéhyde **90**. Cette étape utilise une stratégie d'élongation monodirectionnelle du succinaldéhyde **90** préparé selon la méthode développée au laboratoire par ozonolyse du cycloocta-1,5-diène **109** (Schéma **26**).[75]

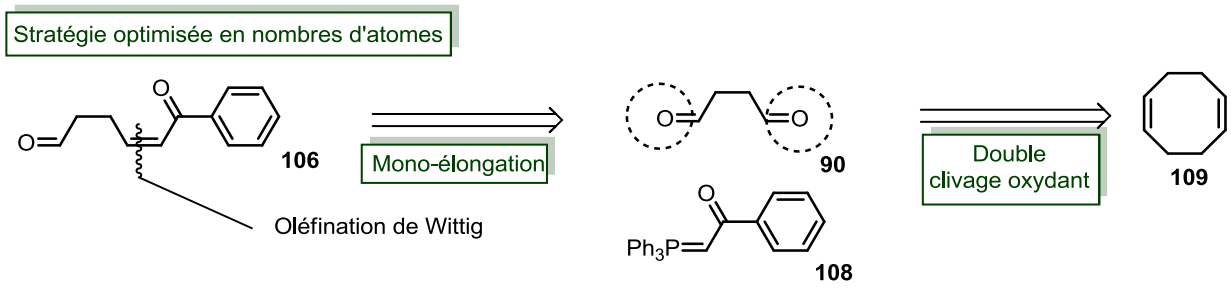


Schéma 26 Stratégie de mono-élongation

En résumé, la stratégie de synthèse proposée reposerait sur les trois étapes-clés suivantes : une élongation monodirectionnelle, la conception énantiosélective de l'intermédiaire pivot oxazolopyrrolidine **105** et sa fonctionnalisation diastéréosélective par additions nucléophiles. Elle donnerait ainsi accès à une nouvelle série d'hétérocycles pyrrolidiniques de stéréochimie *trans* pouvant combiner les motifs de substances naturelles comme la nicotine **38** ou l'épibatidine **41** à ceux de la lobéline **46**. Par cette stratégie, il sera possible de moduler la

[75] Cabral dos Santos L, Bahlaouan Z, El Kassimi K, Troufflard C, Hendra F, Delarue-Cochin S, Zahouily M, Cavé C, Joseph D, Rapid and Efficient Access to Meso-2,5-cis-disubstituted Pyrrolidines by Double Aza-Michael Reactions of Chiral Primary Amines, *Heterocycles* **2007**, *73*, 751-68.

nature des substituants portés par la molécule ainsi que sa stéréochimie qui dépend de la nature chirale du phénylglycinol de départ **107**. L'accès aux différents énantiomères d'hybrides permettra d'étudier l'effet de la stéréochimie sur la pharmacologie des nAChRs.

2 Synthèse des oxazolopyrrolidines chirales

2.1. Voies d'accès aux oxazolopyrrolidines chirales pivot : état de l'art

Cinq grandes stratégies de synthèse asymétrique des oxazolopyrrolidines exploitant le phénylglycinol **107** comme amino-alcool chiral sont décrites dans la littérature (Schéma **27**).

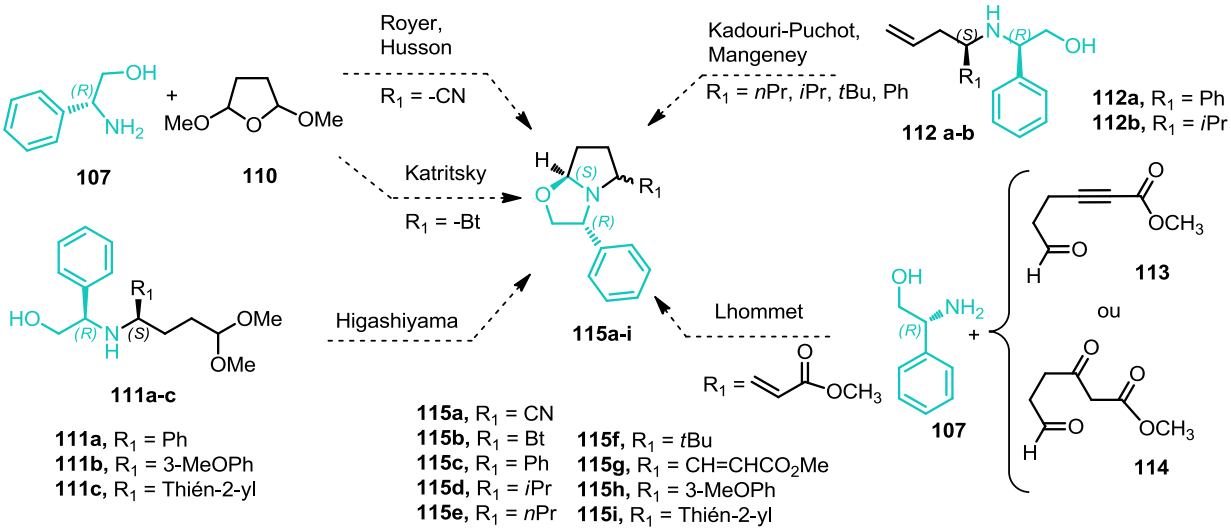


Schéma 27 Voies d'accès décrites par Royer/Husson[76], Katristky[77], Higashiyama[78], Kadouri-Puchot/ Mangeney[79] et Lhommet[80]

2.1.1. La méthode CN(*R*, *S*)

La méthode dite « CN(*R*, *S*) » a été découverte par Royer et Husson en 1983 et consiste en un couplage entre un dialdéhyde et un amino-alcool chiral (Schéma **28**). La réaction se fait dans

[76] Royer J, Husson H-P, Asymmetric synthesis XI: A short synthesis of the chiral pyrrolidine synthon, 2-cyano-5-oxazolopyrrolidine, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 6175-8.
[77] Katritzky A R, Cui X-L, Yang B, Steel P J, A short asymmetric synthesis of 2,5-disubstituted pyrrolidines, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1697-1700.
[78] Higashiyama K, Inoue H, Takahashi H, Diastereoselective addition of chiral imines and 1,3-oxazolidines with Grignard reagents; Asymmetric synthesis of (*R*)-2-aryl- and (*R*,*R*)-2,5-bis(aryl)pyrrolidines, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1083-92.
[79] Alladoum J, Vrancken E, Mangeney P, Roland S, Kadouri-Puchot C, Palladium-Catalyzed Cyclization of Unsaturated β-Amino Alcohols: A New Access to Enantiopure Bicyclic Oxazolidines, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3746-9.
[80] David O, Calvet S, Chau F, Vanucci-Bacqué C, Fargeau-Bellassoued M-C, Lhommet G, Novel Routes to Chiral 2-Alkoxy-5-/6- methoxycarbonylmethylidenepyrrolidines/-piperidines, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2888-91.

un milieu aqueux tamponné à pH=4 et fournit un mélange complexe d'hémiaminals, en équilibre avec les formes imines et énamines, piégées par du KCN pour fournir l'oxazolopyrrolidine **115a** avec un rendement de 52% en mélange diastéréoisomérique (7:3). Ces molécules se comportent comme des équivalents des 1,3-dihydropyrroles capables d'agir comme électrophiles ou comme nucléophiles en fonction des conditions de la réaction (modèle **116a**).

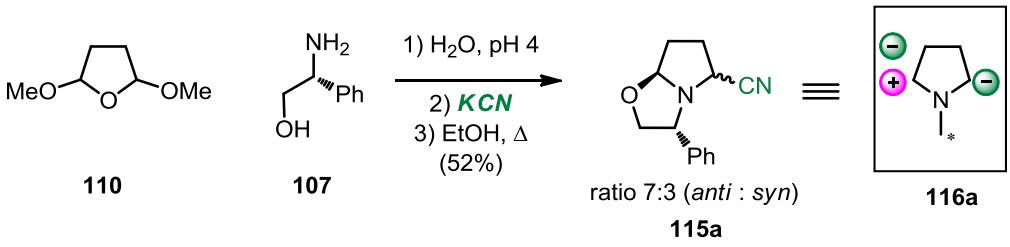


Schéma 28 Synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales 115 par la méthode CN(*R, S*).[76]

2.1.2. La voie du benzotriazole

La méthode CN(*R*,*S*) connait un développement considérable et notamment, avec les recherches du groupe de Katritzky qui en modifient les conditions et décrivent l'intérêt du benzotriazole comme partenaire de réaction, à la place du KCN trop toxique.[81] De plus, la diastéréosélectivité est bien supérieure puisqu'un seul diastéréoisomère est obtenu et ce, avec un meilleur rendement (Schéma **29**).

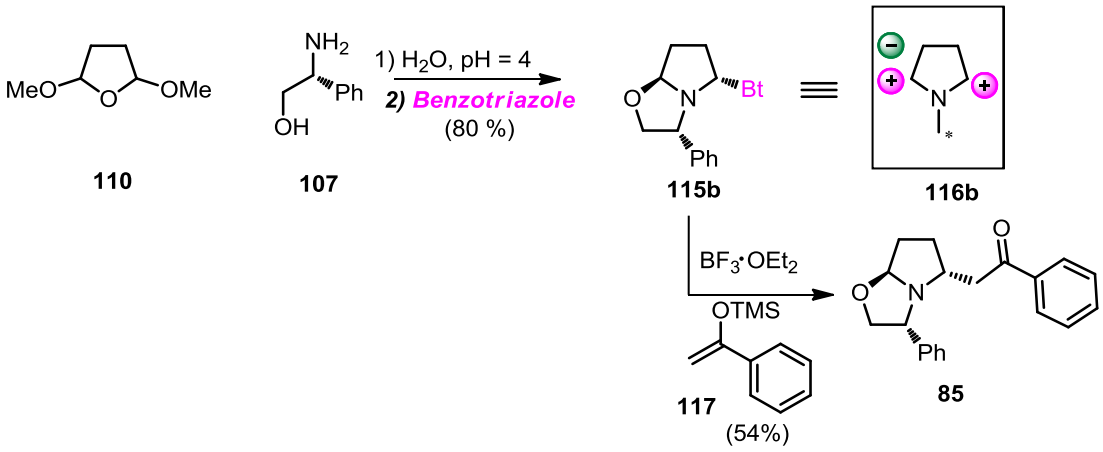


Schéma 29 Synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales par la voie du benzotriazole.[81]

[81] Katritzky A R, Cui X-L, Yang B, Steel P J, Asymmetric Syntheses of 2-Substituted and 2,5-Disubstituted Pyrrolidines from (3*S*,5*R*,7a*R*)-5-(Benzotriazol-1-yl)-3-phenyl[2,1-b]oxazolopyrrolidine, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1979-85.

Contrairement au groupement nitrile, le benzotriazole est un bon nucléofuge, ce qui permet d'élargir les applications à l'addition de nucléophiles mous tels que les organosilanes. Ainsi, il est possible d'accéder diastéréosélectivement à l'intermédiaire oxazolopyrrolidine pivot **85** en substituant le benzotriazole par un éther d'énol silylé **117**, avec un rendement de 54% (Schéma **29**).

2.1.3. Synthèse multi-étape d'oxazolopyrrolidines selon Higashiyama

La méthode de Higashiyama requiert trois étapes successives pour l'obtention de l'intermédiaire oxazolopyrrolidinique chiral **115c** avec un rendement global de 31%.[78] Cette stratégie permet de fixer un aryle au départ de l'aldéhyde **93** (Schéma **30**).[82]

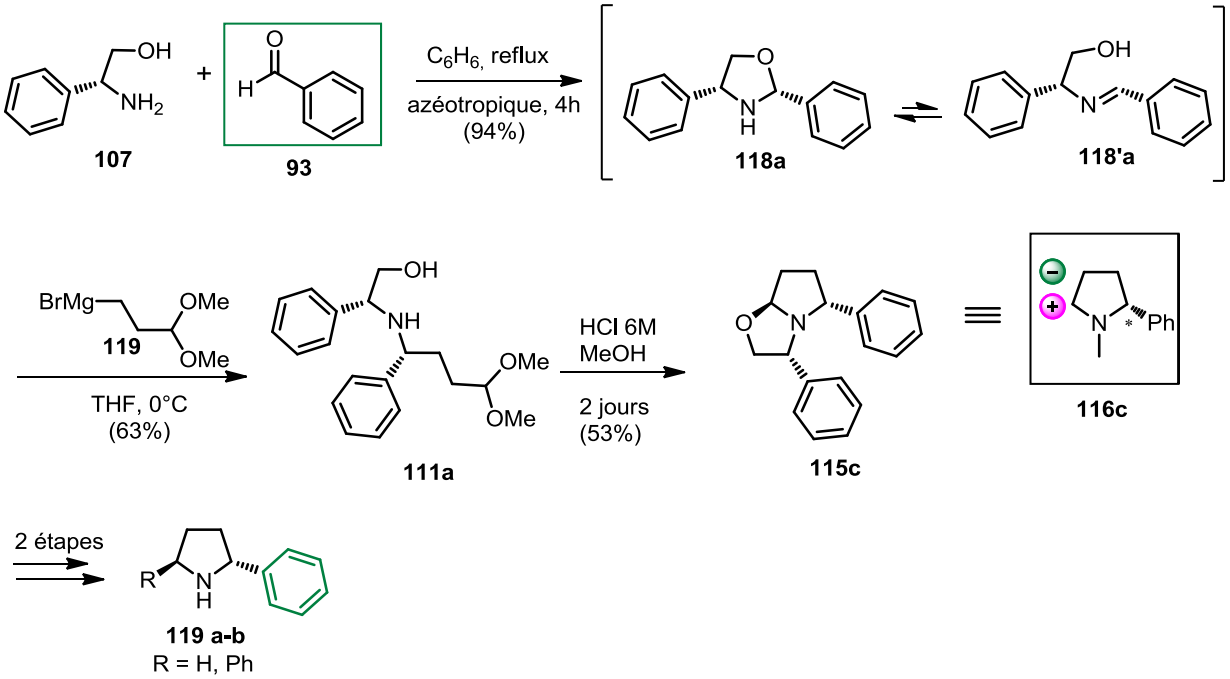


Schéma 30 Synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales par Higashiyama.[82]

Le phénylglycinol **107** est condensé sur le benzaldéhyde **93** pour donner l'oxazolidine **118a** en équilibre avec sa forme ouverte imine **118'a**. L'addition du réactif de Grignard **119** conduit diastéréosélectivement à l'aminoalcool **111a** dont l'hydrolyse du groupement diméthoxyacétal entraîne la cyclisation en oxazolopyrrolidine chirale **115c** *via* une réaction tandem iminium/addition nucléophile cyclisante.

[82] Higashiyama K, Inoue H, Takahashi H, Diastereoselective addition of organometallic reagents to chiral imines and 1,3-oxazolidines, *Tetrahedron. Lett.* **1992**, *33*, 235-8.

2.1.4. Synthèse multi-étapes d'oxazolopyrrolidines selon Kadouri-Puchot et Mangeney

Récemment, les travaux de Mangeney *et al.* exploitent la synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales pour la préparation énantiosélective de 5-alkylprolines (Schéma **31**).[83] Sur l'oxazolidine **118a-d**, l'addition d'un organolithien **120a** conduit diastéréosélectivement à un l'amino-alcool **121a-d** qui cyclise spontanément et quantitativement en milieu acide par hydrolyse de l'éther d'énol en oxazolopyrrolidines chirales **115c-f**.

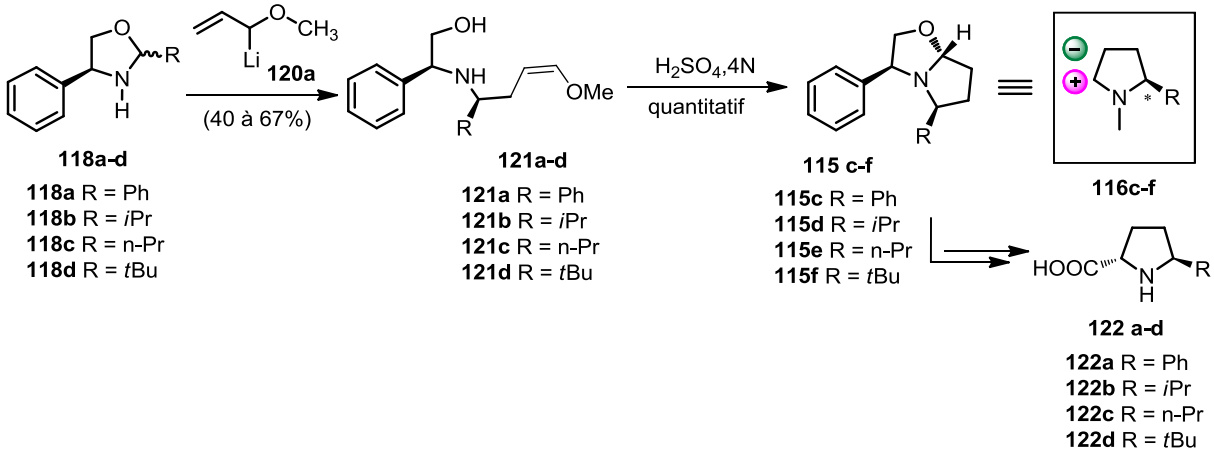


Schéma 31 Synthèse multi-étapes des oxazolopyrrolidines chirales selon Kadouri-Puchot/Mangeney[12]

En 2006, l'équipe de Mangeney montre que la régiosélectivité de l'addition de l'anion méthoxyallyle est dépendante de la nature du contre-ion métallique (Schéma **32**).[84] L'addition de méthoxyallyllithium **120a** conduit très majoritairement à l'amino-alcool **121a-d** par addition-γ. L'addition du bromure de méthoxyallylzinc **120b** conduit, quant à lui, au β-amino-alcool **123a-d**, régioisomère issu de l'addition-α.

[83] Alladoum J, Roland S, Vrancken E, Mangeney P, Kadouri-Puchot C, Short Enantioselective Syntheses of trans-5-Alkylprolines from New Functionalized Amino Alcohols, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9771-4.
[84] Alladoum J, Roland S, Vrancken E, Kadouri-Puchot C, Mangeney P, Regio- and Diastereochemical Aspects of the Additions of Li or Zn Derivatives of Methoxypropene to Oxazolidines Derived from Phenylglycinol, *Synlett* **2006**, 1855-8.

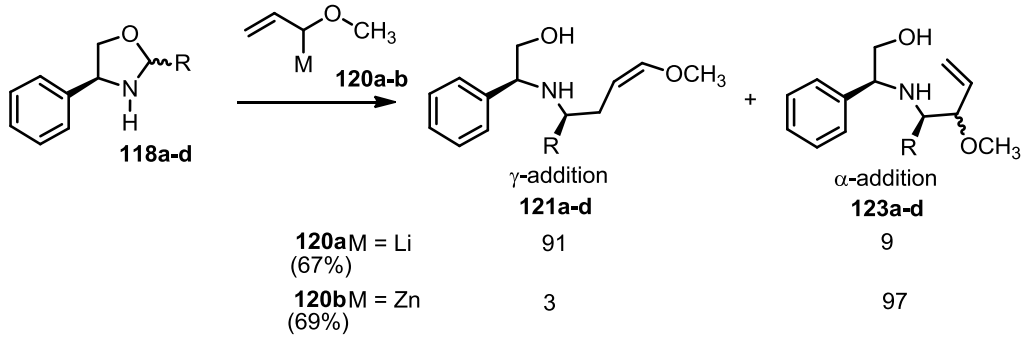


Schéma 32 Régiosélectivité de l'addition de l'anion méthoxyallyle

Au départ de l'alcène terminal **123a-d** (α-addition), la cyclisation en méthoxy-oxazolopyrrolidine **125a-d** est réalisée avec de très bonnes diastéréosélectivités dans les conditions de Wacker ou, plus justement, d'aza-Wacker *via* la formation de l'intermédiaire iminium **124a-d** (Schéma **33**)[79].

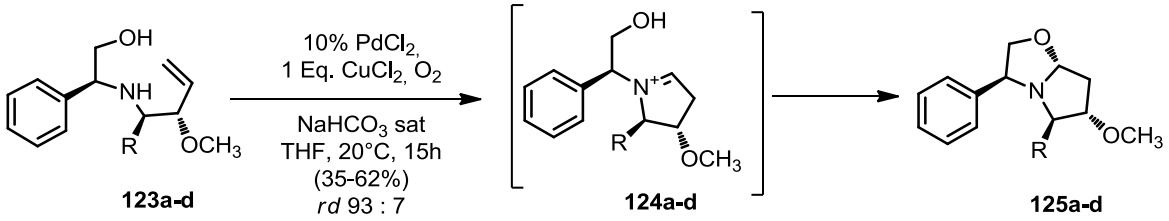


Schéma 33 Synthèse des oxazolopyrrolidines chirales par procédé d'aza-Wacker

Cette stratégie a été étendue à des substrats moins fonctionnalisés tels que les β-amino-alcools **112.** Là encore, l'application des conditions de Wacker ou de Hegedus (Schéma **34**) permet la préparation efficace de 5-alkyl ou 5-aryl-oxazolopyrrolidines chirales **115c-d**.

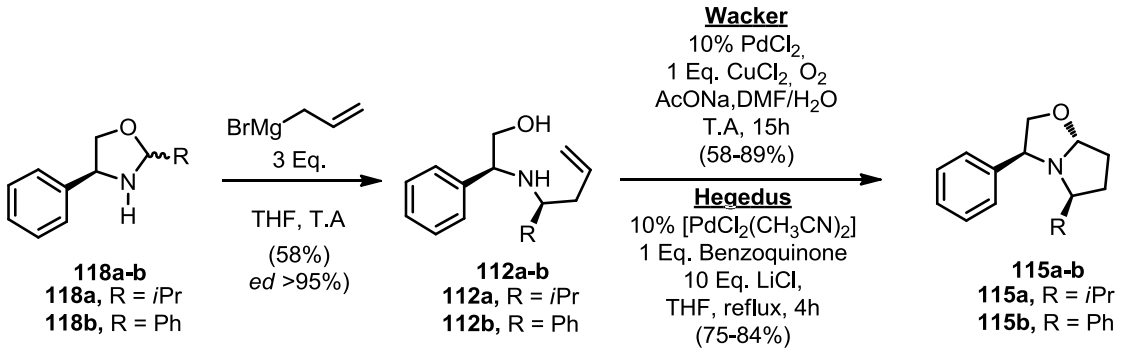


Schéma 34 Synthèse des oxazolopyrrolidines chirales par hydromamination intramoléculaire

En règle générale, la cyclisation de type aza-Wacker, décrite par Mangeney et ses collaborateurs, conduit aux oxazolopyrrolidines avec des temps courts de réaction, des bons

rendements et des diastéréosélectivités excellentes. Cette stratégie requiert, toutefois, la synthèse préalable des amino-alcools homoallyliques de départ.

2.1.5. La synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales par réactions tandem d'hémi-aminalisation/aza-Michael

Lhommet et ses collaborateurs ont développé une méthodologie de synthèse d'oxazolopyrrolidines au départ de substrats hautement fonctionnalisés de type ω-oxo-éthynoate **113** ou ω-oxo-β-cétoester **114** selon un processus en cascade (Schéma **35**). La condensation de la fonction aldéhyde terminale avec le phénylglycinol **107** conduit à la formation transitoire d'une oxazolidine de configuration 2,4-*trans* **126** et **127**. Au départ du dérivé **113**, l'oxazolidine évolue par addition d'aza-Michael intramoléculaire sur le motif β-éthynoate pour fournir l'oxazolopyrrolidine souhaitée **115g,** avec un rendement de 64% (Schéma **35**).[80]

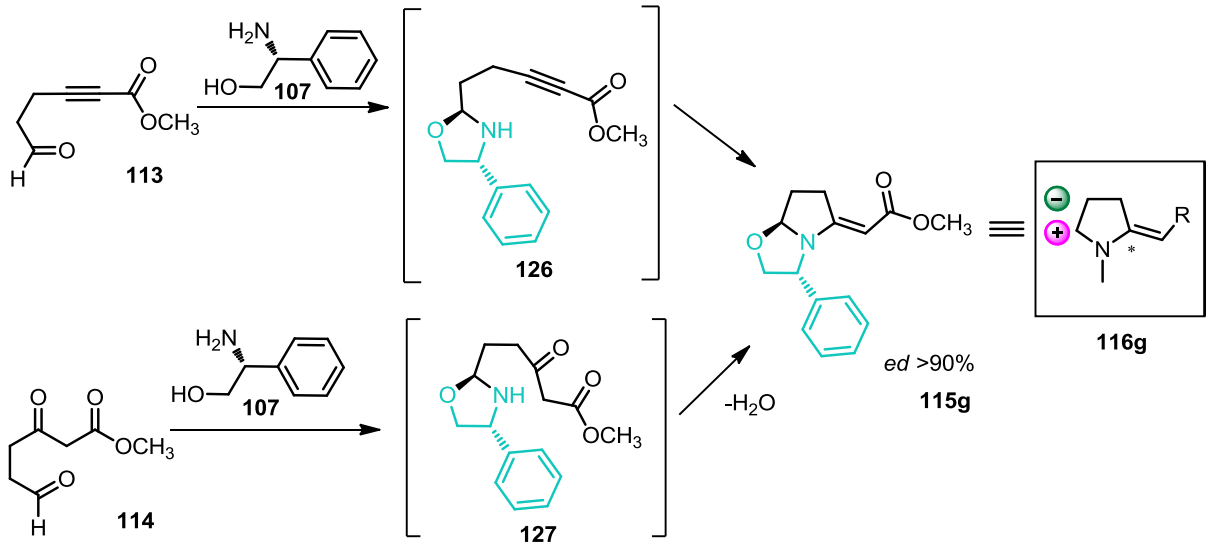


Schéma 35 Synthèse d'oxazolopyrrolidines chirales par réactions en cascade.

Quant au ω-oxo-β-cétoester **114**, il se condense avec le phénylglycinol **107** pour conduire à l'oxazolidine **127** intermédiaire. Cette dernière se cyclise en l'oxazopyrrolidine **115g** souhaitée avec un rendement global de 52%, selon un processus en deux étapes impliquant la formation d'un iminium suivie de sa reconjugaison en énamino-ester. Dans les deux cas, l'excès diastéréoisomérique est supérieur à 90%.

La difficulté de cette synthèse réside dans l'accès aux aldéhydes de départ, ce qui affecte fortement le rendement global de la synthèse (24% et 43% respectivement). En effet, le

substrat ω-oxo-éthynoate **113** est synthétisé en quatre étapes au départ du silylacétylène **129** : l'acétylène est successivement alkylé puis carbométhoxylé; la fonction aldéhyde, siège de la réaction avec le phénylglycinol, est déprotégée en fin de synthèse (Schéma **36**).[85]

Le substrat ω-oxo-β-cétoester **114** est obtenu en 2 étapes au départ de l'acétoacétate de méthyle **130** par alkylation du dianion correspondant par le bromure d'allyle **131**. La fonction alcène terminale est ozonolysée avec un traitement en condition réductrice pour générer la fonction aldéhyde réactive (Schéma **36**).[86] Néanmoins, le manque de stabilité de cet oxo-β-cétoester **114** fait que ce dernier est directement engagé dans la réaction avec le phénylglycinol **107**.

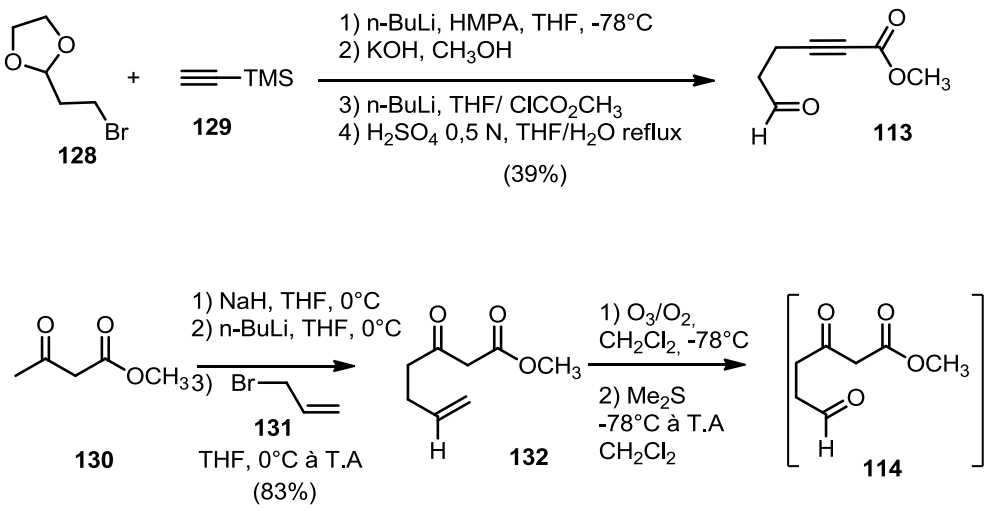


Schéma 36 Synthèse des précurseurs de l'oxazolopyrrolidine chirale 115g

2.2. Stéréochimie des oxazolopyrrolidines chirales

De manière générale lors de la formation d'une oxazolidine, d'excellents excès diastéréomériques sont observés. La réversibilité de la cyclisation soumet la sélectivité au contrôle thermodynamique qui tend à la formation du produit le plus stable (Schéma **37**). Les oxazolopyrrolidines **138** sont des systèmes bicycliques tendus, la stéréochimie est alors

[85] Trost B M, Runge T A, Palladium-catalyzed 1,3-oxygen-to-carbon alkyl shifts. A cyclopentanone synthesis, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7559-72.
[86] Huckin S N, Weiler L, Alkylation of Dianions of β-Keto Esters, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1082-7.

gouvernée par les interactions stériques. La stéréochimie des oxazolopyrrolidines **138** est majoritairement de type 3,7a-*trans*, à l'inverse de la plupart des oxazolidines acycliques **136** ou bicycliques stériquement peu contraintes telles que les oxazolopipéridines **137**.[87]

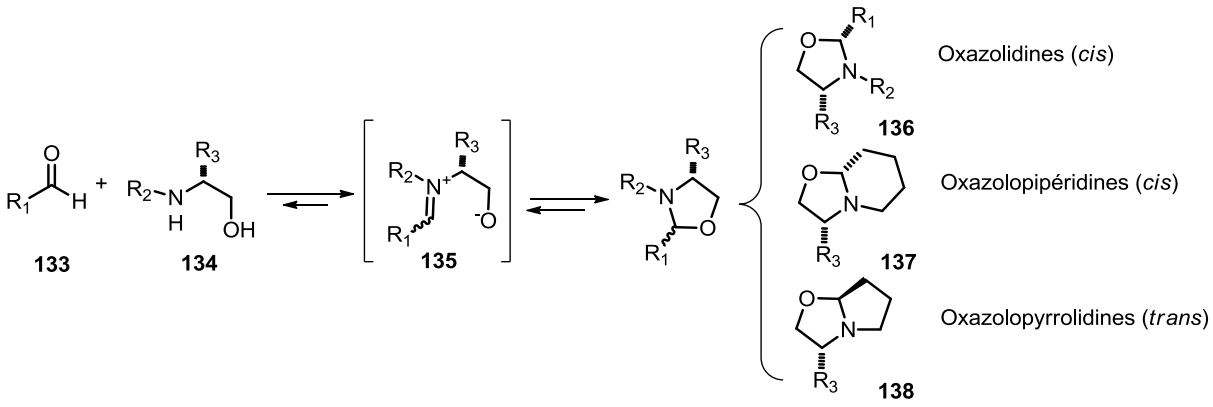


Schéma 37 Stéréochimie des oxazolopyrrolidines

2.3. Résultats personnels

Parmi, les différentes voies de synthèses présentées, les processus en cascade décrits par les équipes de Katritzky et de Lhommet permettent d'obtenir avec de bons rendements et de hautes diastéréosélectivités des oxazolopyrrolidines en un nombre réduit d'étapes. Les réactions tandem aboutissent à des oxazolopyrrolidines de stéréochimie majoritairement 3,7a-*trans*.

Ces réactions tandem font intervenir des substrats présentant plusieurs fonctions électrophiles. Par analogie avec les travaux de Lhommet, un substrat aldéhydique possédant un accepteur de Michael distal de type **106** pourrait permettre d'accéder en une étape à notre intermédiaire pivot **85** selon un processus en cascade (Schéma **38**). La condensation de l'aldéhyde **106** avec le phénylglycinol **107** conduirait à une oxazolidine chirale intermédiaire qui cycliserait spontanément par addition d'aza-Michael intramoléculaire en l'oxazolopyrrolidine souhaitée **85** (Schéma **38**). Là encore, la pertinence de cette stratégie de synthèse reposera sur l'efficacité de la synthèse de l'aldéhyde **106** de départ.

[87] Royer J, Bonin M, Micouin L, Chiral Heterocycles by Iminium Ion Cyclization, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2311−52.

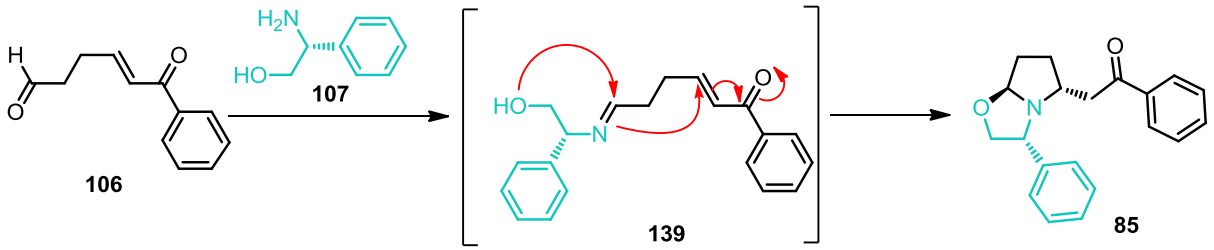


Schéma 38 Voie d'accès proposée à l'oxazolopyrrolidine pivot.

2.3.1. Préparation d'oxazopyrrolidines chirales par désymétrisation précoce

Une voie rapide d'accès à l'accepteur de Michael **106** consisterait en une désymétrisation du succinaldéhyde **90** par une réaction de mono-oléfination. Le succinaldéhyde **90** est aisément accessible selon une stratégie développée au laboratoire par ozonolyse en condition réductrice du cycloocta-1,5-diène **109** (Schéma **39**).[3] Ce savoir-faire a permis, depuis plusieurs années, la synthèse de double accepteur de Michael pour la préparation de différentes séries de pyrrolidines *méso*.[64, 65, 66]

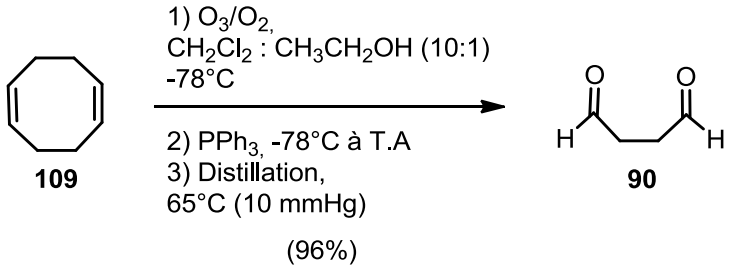


Schéma 39 Synthèse du succinaldéhyde

Cette voie de synthèse présente l'avantage de produire rapidement et en grande quantité du succinaldéhyde **90** par distillation du brut réactionnel. Le succinaldéhyde **90** ainsi isolé (ou fraîchement distillé) est engagé dans la réaction suivante, afin d'éviter sa polymérisation par condensation aldolique. L'ylure de Wittig **108** est disponible dans le commerce et peut également être efficacement préparé au laboratoire dans des conditions classiques par alkylation de la triphénylphosphine par l'acétophénone α-bromé **140**, suivie d'une déprotonation en milieu basique du sel de phosphonium formé *in situ*. Ce procédé est très

simple à mettre en œuvre et possède l'avantage d'être transposable à très grande échelle (0,2-0,3 mol) (Schéma **40**).[88]

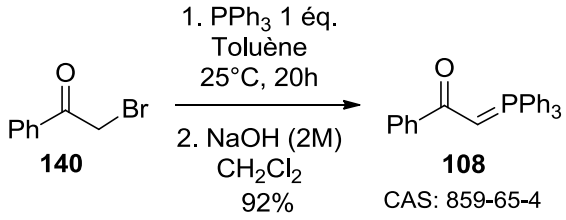
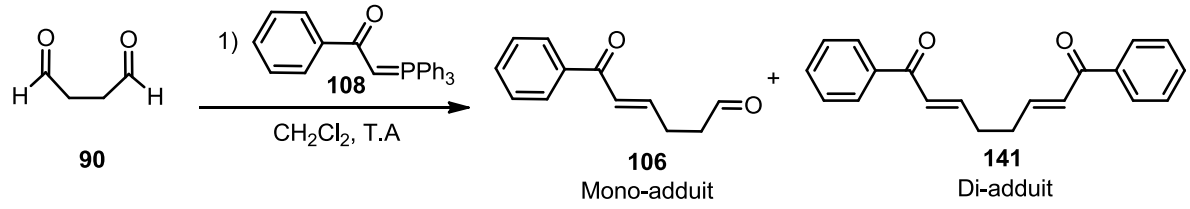


Schéma 40 Synthèse du réactif de Wittig

La désymétrisation précoce du succinaldéhyde **90** par mono-oléfination de Wittig, a déjà été décrite dans la littérature par Murphy et collaborateurs.[89] Néanmoins, cette stratégie ne conduit à l'accepteur de Michael **106** qu'avec des rendements modestes (48%) et en mélange avec le double adduit **141** (Tableau **3**). Aussi, nous nous sommes dans un premier temps attaché à l'optimisation de cette réaction d'oléfination désymétrisante. Nous avons fait varier la concentration de la réaction ainsi que le rapport ylure/succinaldéhyde (Tableau **3)**. Le mono-adduit **106** a été obtenu majoritairement lorsque 4 équivalents de succinaldéhyde **90** sont utilisés et que la réaction se fait dans des conditions diluées de 3.10^{-2} M. Même si la formation du di-adduit **141** a été considérablement réduite, celle-ci n'a pu être évitée. Toutefois, ces dernières conditions sont satisfaisantes car elles permettent de séparer plus aisément le mono-adduit **106** du double adduit **141**.



Entrée	Equivalent de succinaldéhyde 90	Concentration en ylure 108 ($mol.L^{-1}$)	Rendement	Ratio mono : di-adduit
1	0,4	0,40	90 %	0 : 100
2	2	0,09	60 %	66 : 33
3	**4**	**0,03**	**quantitatif**	**85 : 15**

Tableau 3 Désymétrisation du succinaldéhyde 90 par mono-oléfination de Wittig.

[88] Maryanoff B E , Reitz A B, The Wittig olefination reaction and modifications involving phosphoryl-stabilized carbanions. Stereochemistry, mechanism, and selected synthetic aspects, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 863-927.
[89] Black G P, Dinon F, Fratucello S, Murphy P J, Nielsen M, Williams H L, Walshe N D A, An intramolecular Baylis-Hillman reaction catalysed by secondary amines, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8561-4.

Le suivi par RMN de la condensation du (*R*)-phénylglycinol **107** sur l'énone **106** montre une conversion quantitative, après 48h à température ambiante dans le dichlorométhane. L'oxazolopyrrolidine **85** est isolée après purification par chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 70% et un excès diastéréosélectif de 90% (Schéma **41**).

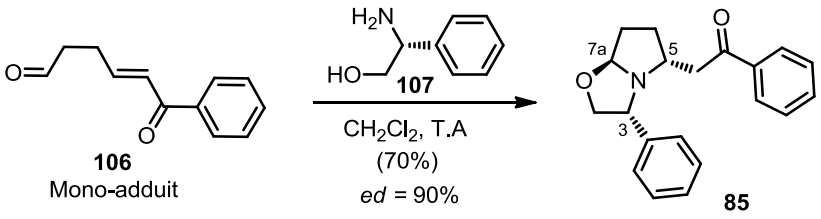


Schéma 41 Synthèse d'oxazolopyrrolidine chirale 85 par condensation du (*R*)-phénylglycinol 107

Par ailleurs, la formation de l'oxazolopyrrolidine **85** avait déjà été fortuitement observée par le Dr Zacharias Amara au cours de la synthèse de la pyrrolidine *méso* **82a** par double addition d'aza-Michael du phénylglycinol sur la dièneedione **141** précédemment décrite. Lors de la purification de cette pyrrolidine **82a** par chromatographie sur gel de silice, le Dr Amara observe une augmentation de la proportion de l'oxazolopyrrolidine **85** concomitante à la formation d'acétophénone **83**. La formation de cette oxazolidinopyrrolidine s'explique par une réaction de rétro-Mannich activée en milieu protique. [90, 91, 92, 93] Cette réaction rétro conduit à la formation d'un iminium intermédiaire **84** « piégé » sous forme d'oxazolidine **85** par addition intramoléculaire de la fonction hydroxyle libre du phénylglycinol **107** (Schéma **42**).

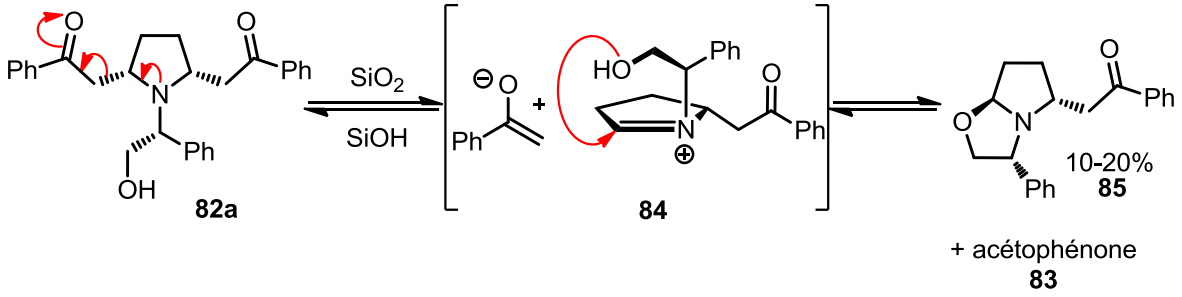
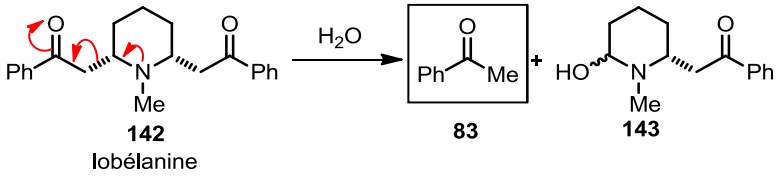


Schéma 42 Formation d'oxazolopyrrolidine chirale 85 par rétro-Mannich

[90] Ragains J R, Winkler J D, Pseudosymmetry in Azabicyclo[2.1.1]hexanes. A Stereoselective Construction of the Bicyclic Core of Peduncularine, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4437-40.
[91] Winkler J D, Fitzgerald M E, Stereoselective Synthesis of 8-Substituted 6-Azabicyclo[3.2.1]octan-3-ones, *Synlett* **2009**, 562-4.
[92] Winkler J D, Muller C L, Scott R D, A new method for the formation of nitrogen-containing ring systems via the intramolecular photocycloaddition of vinylogous amides. A synthesis of mesembrine, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4831-2.
[93] Cramer N, Juretschke J, Laschat S, Baro A, Frey W, Acid-Promoted Retro-Mannich Reaction of N-Protected Tropenones to 2-Substituted Pyrroles, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1397-400.

Par ailleurs, cette instabilité de motif *β*-aminocétone et sa dégradation *via* un processus de rétro-Mannich avait été mis en évidence, dès 1935, par Schöpf et Lehman lors de leurs travaux pionniers sur la lobélanine **142** (Tableau **4**).[94] En effet, ils démontrèrent que, bien que cet alcaloïde naturel soit stable à pH 3, il se décompose à partir d'un pH ≥ 5 proportionnellement à l'alcalinisation du milieu par un processus de rétro-Mannich (Tableau **4**). Ce résultat est confirmé par la caractérisation et la quantification de l'acétophénone **83** dans le milieu réactionnel.



pH	3	5	7	9	11	13
Décomposition % PhCOMe	0	15	18	19	24	43

Tableau 4 Processus de rétro-Mannich.

Cette observation de dégradation de la pyrrolidine **82** en milieu protique par un processus auto-catalysé de *rétro*-Mannich nous a conduits à envisager un procédé monotope de la synthèse de l'oxazolopyrrolidine **85** au départ du succinaldéhyde **90** et sans purification préalable de l'énone **106**. L'ylure **108** est ainsi ajouté en léger excès sur le succinaldéhyde **90** puis l'amino-alcool chiral **107** est additionné après consommation totale du succinaldéhyde (Schéma **43**). Le milieu contient ainsi un mélange de produits de cyclisation (pyrrolidine *méso* **82** et oxazolopyrrolidine **85**) qui est transformé quantitativement en oxazolopyrrolidine **85** après purification par chromatographie sur gel de silice.

[94] Schöpf C, Lehmann G, Die Synthese des Tropinons, Pseudopelletierins, Lobelanins und verwandter Alkaloide unter physiologischen Bedingungen, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1935**, *518*, 1-37

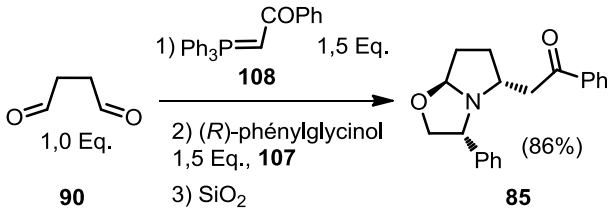


Schéma 43 Synthèse en un pot de l'oxazolopyrrolidine

Cette procédure permet d'augmenter considérablement le rendement global de la réaction en limitant le nombre d'étapes de purification. Cependant, un produit secondaire est isolé au cours de ce procédé monotope, le (*R*)-2-phényl-2-(pyrrol-1-yl)éthanol **144** (Schéma **44**). Ce pyrrole **144** pourrait provenir de la condensation directe de Paal-Knorr [95,96,97] entre le succinaldéhyde **90** présent en excès et le phénylglycinol **107**. Ce produit avait déjà été observé par Katritsky.[81]

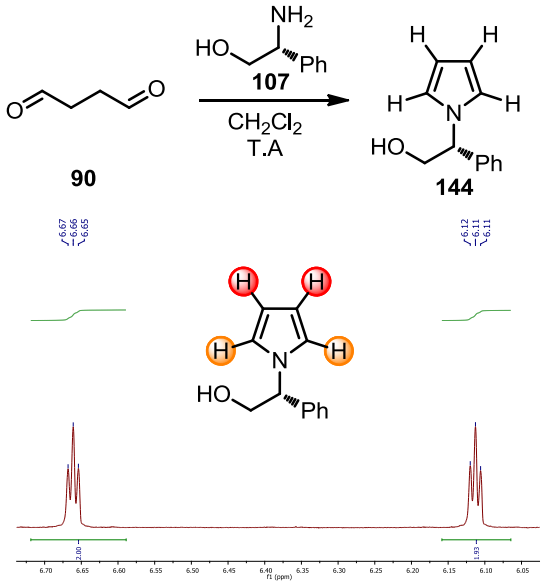
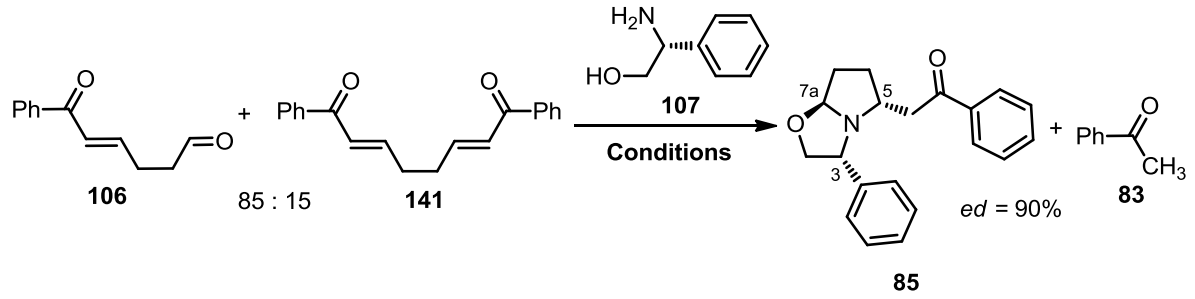


Schéma 44 Origine du produit secondaire, le pyrrole 144.

Cette observation nous a encouragés à développer une méthode de synthèse de l'oxazolopyrrolidine au départ du mélange 85:15 de produits de mono- et di-oléfination de Wittig séparés de l'oxyde de triphénylphosphine par filtration sur silice. Différentes

[95] Amarnath V, Anthony D C, Amarnath K, Valentine W M, Wetterau L A, Graham D G, Intermediates in the Paal-Knorr synthesis of pyrroles, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6924-31.
[96] Knorr L, *Chem. Ber.* **1885**, *18*, 299.
[97] Paal C, *Chem. Ber.* **1884**, *17*, 2756.

conditions ont été explorées pour tenter d'activer la réaction de rétro-Mannich, et augmenter le rendement en oxazolopyrrolidine (Tableau **5**). Pour cela, nous avons joué sur la nature du catalyseur, acide de Brønsted ou de Lewis, et les conditions d'activation (ultrasons, chauffage standard).



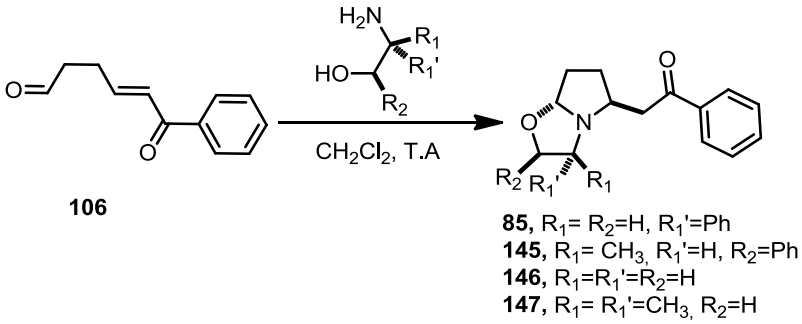
Entrée	Conditions	Température	Temps de réaction	rendement (%)
1	SiO_2, AcOEt	77°C	40h	63
2	**SiO_2, $CHCl_3$**	**60°C**	**24h**	**87**
3	SiO_2, $CHCl_3$, AcOH (0,3 éq)	25°C	24h	20
4	$Sc(OTf)_3$, $CHCl_3$	25°C	24h	16
5	HFIP, AcOH (0,3 éq)	25°C	24h	22
6	Ultrason, SiO_2, AcOEt, AcOH (0,3 éq)	40°C[a]	6h	33
7	**Ultrason, SiO_2, DCM, AcOH (0,6 éq)**	**40°C[a]**	**8h**	**77**

[a] Température du bain du sonicateur en fin de réaction.

Tableau 5 Optimisation des conditions de Rétro-Mannich.

Les meilleures conversions ont été obtenues lors du chauffage prolongé du brut réactionnel en présence de silice dans le chloroforme (Tableau **5** - entrée 2). Lors de cette réaction, la dégradation partielle du chloroforme engendre la formation d'une quantité catalytique d'acide chlorhydrique pouvant expliquer les meilleures conversions observées en comparaison de la réaction menée dans l'acétate d'éthyle. Aussi, des conditions plus douces, couplant la présence d'une quantité catalytique d'acide acétique à une activation par ultrason ont permis d'isoler l'oxazolopyrrolidine **85** avec un rendement de 77% après 8h de réaction (Tableau **5** - entrée 7). Bien que cette stratégie soit en théorie moins économe en atomes, elle permet, toutefois, et de recycler le produit de double oléfination de Wittig **141** et d'alléger considérablement les étapes de purification. Ce procédé avantageux d'un point de vue pratique permet au manipulateur d'obtenir rapidement le produit désiré en grande quantité sans affecter la diastéosélectivité.

La stratégie de synthèse des oxazolopyrrolidines a été étendue avec succès au départ de divers aminoalcools chiraux, la (1*R*,2*S*)-(-)-noréphédrine (Tableau **6** – entrée 2) et achiraux, 1,2-éthanolamine et 2,2-diméthyl-1,2-éthanolamine (Tableau **6** – entrées 3 et 4). Les oxazolopyrrolidines racémiques issues des aminoalcools achiraux ont été préparées dans le but d'étudier et de développer des stratégies plus économes en atomes *via* leur fonctionnalisation par métallocatalyse asymétrique.



Entrée	R_1	R_1'	R_2	Oxazopyrrolidine	Rendement (%)	*ed(%)*
1	H	Ph	H	**(-)-85**	70	>90
2	CH_3	H	Ph	**(-)-145**	94	>95
3	H	H	H	**(±)-146**	Quantitatif	>95
4	CH_3	CH_3	H	**(±)-147**	Quantitatif	>95

Tableau 6 Synthèse d'oxazolopyrrolidines.

La condensation de l'éthanolamine ou du 2,2-diméthyl-1,2-éthanolamine avec l'aldéhyde **106** conduit quantitativement à l'oxazolopyrrolidine **146** (R_1, R_1' = H) ou **147** (R_1, R_1'= Me) respectivement (Tableau **6** – entrées 3 et 4). Si leur préparation s'avère efficace, l'instabilité du composé **146** complique son utilisation dans la suite de la synthèse. Cette instabilité pourrait s'expliquer par un équilibre constant entre les formes fermée et ouverte de l'hémi-aminal cyclique. L'effet Thorpe-Ingold induit par le motif *gem*-diméthyle de l'oxazolidine **147**, permet de favoriser la forme fermée hémi-aminal et d'octroyer une plus grande stabilité de **147** par rapport à son homologue déméthylé **146**.

2.3.2. Détermination de la stéréochimie des oxazopyrrolidines

Les oxazopyrrolidines **85**, **145**, **146** et **147** sont obtenues avec de très bonnes diastéréosélectivités. Celles-ci ont été déterminées par RMN ^{1}H et sont en faveur du diastéréoisomère 3,5-*syn*/5,7a-*anti* (Figure **30**).

La configuration relative et absolue de **85** a été confirmée par RMN à 2 dimensions par des expériences de nOesy. En raison de superpositions de signaux, cette étude a été menée dans deux solvants différents, le $CDCl_3$ et le C_6D_6 (Figure **30**). En effet, les signaux des protons H_7 et $H_{7'}$ se superposent dans le C_6D_6 alors que les signaux des protons $H_{2'}$ et H_5 se chevauchent dans le $CDCl_3$ (Figure **30**). Les spectres réalisés dans le C_6D_6 permettent d'établir la configuration relative *syn* entre le proton H_3 du centre stéréogène du phénylglycinol et le proton H_5 porté par le carbone asymétrique créé lors de l'addition de Michael (Figure **30**-rouge). Les spectres obtenus dans le $CDCl_3$ permettent d'établir les configurations relatives entre les protons du cycle pyrrolidinique notamment la configuration *anti* entre les protons H_5 et H_{7a} (Figure **30** - orange) et ainsi de rationaliser la configuration relative entre les centres C-3, C-5 et C-7a du squelette oxazolopyrrolidine (3,5-*syn*, 3,7a-*anti*). Les configurations relative et absolue du diastéréoisomère majoritaire de l'oxazolopyrrolidine **85** sont conformes à celles décrites dans la littérature à savoir 3*R*, 5*R* et 7a*S*.

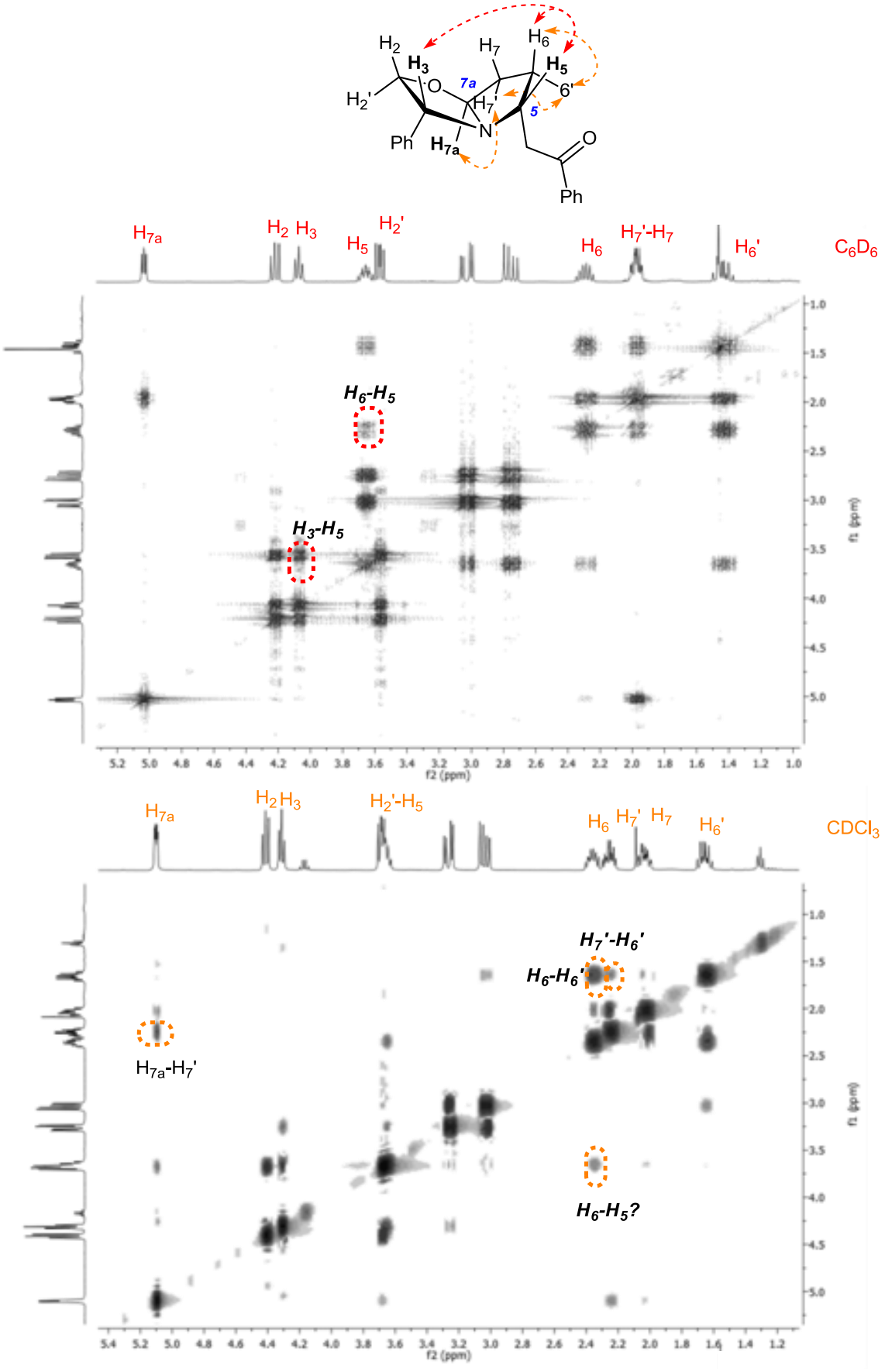


Figure 30 Corrélations nOe de 85 ($CDCl_3$ et C_6D_6, 400MHz)

Lhommet *et al.* ont tenté d'expliquer la bonne diastéréosélectivité obtenue lors de la formation des oxazolopyrrolidines en étudiant le mécanisme de la cascade réactionnelle de cyclisation. Pour ce faire, l'avancement de la réaction a été suivi par RMN ^{1}H et ^{13}C au départ du (*S*)-1-phénylglycinol **107** et de l'ω-oxo-alcynoate de méthyle (Schéma **45**).[80] Ces expériences montrent que les signaux de la fonction aldéhyde disparaissent très rapidement au profit de signaux imine accompagnés de signaux d'oxazolidines diastéréoisomères en proportion *cis*/*trans* de 3:7. Ces dernières résultent de l'addition intramoléculaire réversible de la fonction hydroxyle sur l'imine transitoirement formée dans une première étape. La réaction se poursuit par l'addition conjuguée intramoléculaire de l'oxazolidine sur la triple liaison électrophile pour conduire aux oxazolopyrrolidines attendues avec un *ed* de 90%. Lhommet et ses collaborateurs expliquent que seule une résolution cinétique dynamique au cours de cette dernière étape de cyclisation pourrait expliquer l'enrichissement diastéréomérique observé en faveur du dérivé de configuration 3,7a-*syn*, passant de 7:3 à 95:5.[98] Ainsi, la formation préférentielle du diastéréoisomère majoritaire résulterait de la cyclisation plus rapide de l'oxazolidine *trans* induisant l'épimérisation de l'oxazolidine *cis* en oxazolidine *trans* par rééquilibration thermodynamique (Schéma **45**). Les auteurs justifient la différence de cinétique de cyclisation par une différence d'encombrement stérique, le phényle du centre stéréogène issu du phénylglycinol gênant l'approche du nucléophile azoté lors de la réaction d'aza-Michael au départ de l'oxazolidine *cis*.

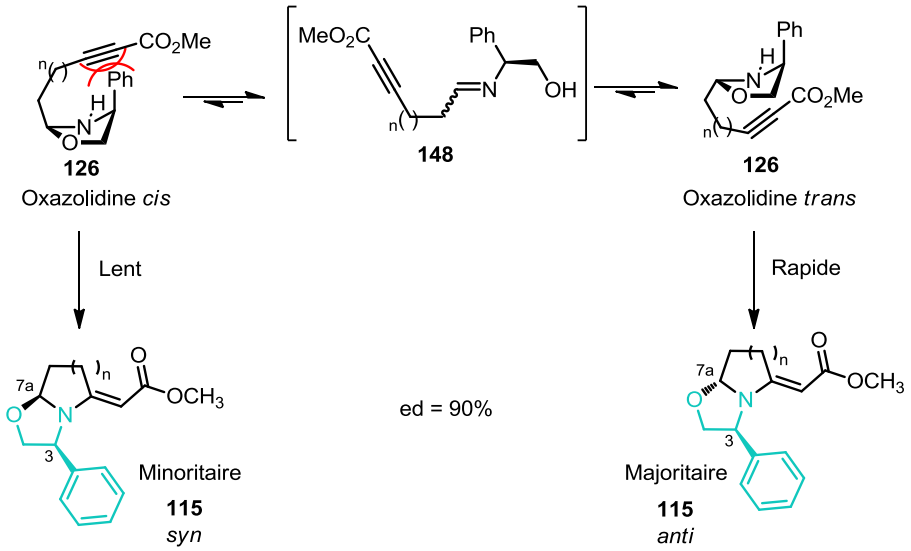


Schéma 45 Mécanisme de formation préférentielle des oxazopyrrolidines 3,7a-*anti*.[80]

[98] Amat M, Cantó M, Llor N, Escolano C, Molins E, Espinosa E, Bosch J, Dynamic Kinetic Resolution of Racemic γ-Aryl-δ-oxoesters. Enantioselective Synthesis of 3-Arylpiperidines, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5343-51.

Le mécanisme proposé par Lhommet *et al.* pourrait également expliquer la diastéréosélectivité observée lors de la formation des oxazolopyrrolidines **85, 145, 146, 147**. Néanmoins, la discrimination faciale de l'oxazolidine par le centre stéréogène issu de l'amino-alcool chiral ne permet pas à elle seule d'expliquer la très haute diastéréosélectivité observée dans le cas de la formation des oxazolopyrrolidines **146** et **147** issues des amino-alcools achiraux. Quel que soit l'amino-alcool employé, le diastéréoisomère majoritaire isolé est toujours de configuration relative 3,7a-*anti* (Schéma **46**). Dans le cas des amino-alcools chiraux, les oxazolopyrrolidines de configuration relative 3,5-*syn*/5,7a-*anti* sont favorisées et constituent le diastéréoisomère thermodynamiquement le plus stable.

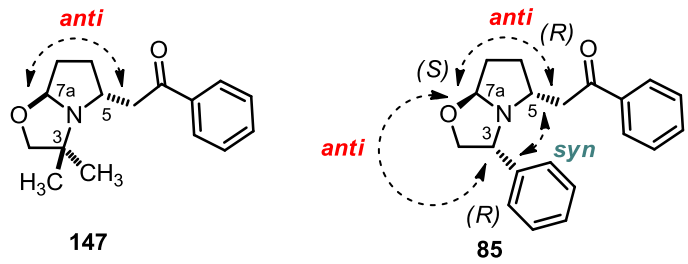


Schéma 46 Configuration relative 5,7a-*anti* et 3,5-*syn*/5,7a-*anti*.

En effet, dans cette configuration, le bras phénacyle de l'oxazolopyrrolidine et le noyau phényle adoptent des positions *pseudo*-équatoriales, minimisant ainsi les interactions stériques 1,2 sur le noyau pyrrolidine et les interactions 1,3 du motif bicyclique (Schéma **47**).

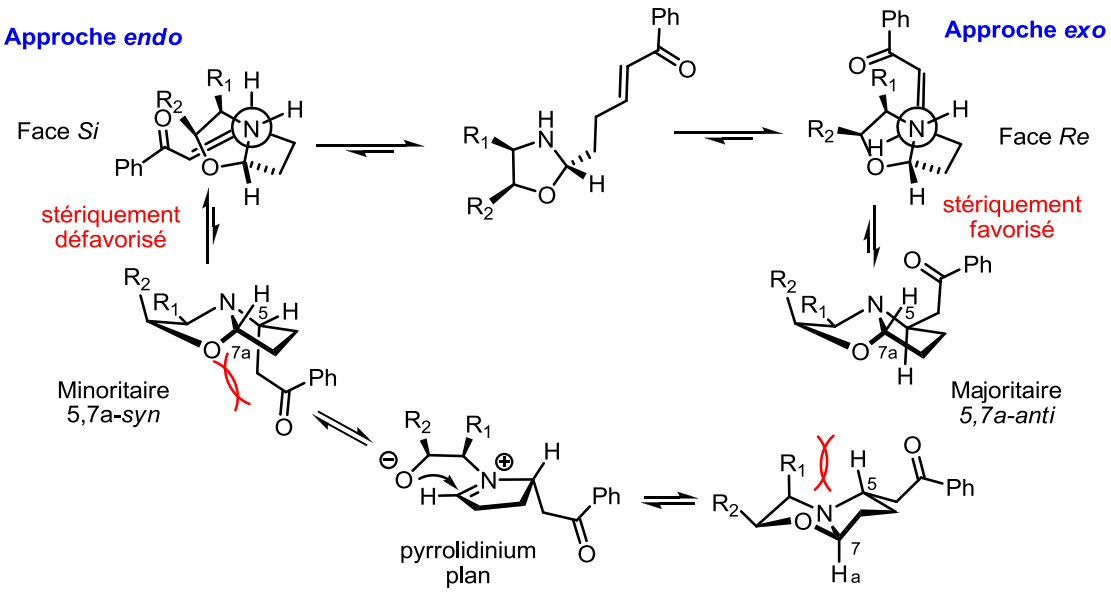


Schéma 47 Résolution dynamique sous contrôle thermodynamique.

Comme nous l'avons précédemment décrit, la formation de l'oxazolidine est un processus réversible. Par analogie avec les travaux de Lhommet, une résolution dynamique sous contrôle thermodynamique du mélange d'oxazopyrrolidines diastéréoisomères pourrait être envisagée. L'ouverture de l'hémi-aminal bicyclique engendrerait la formation d'un pyrrolidinium plan intermédiaire qui se refermerait stéréospécifiquement pour conduire au diastéréoisomère de configuration 3,5-*anti* (Schéma **47**). Si cette hypothèse mécanistique demeure plausible dans le cas des amino-alcools achiraux, elle est toutefois opposable dans le cas des amino-alcools chiraux au regard de la stéréochimie relative observée (Schéma **47**). En effet, cette équilibration thermodynamique du bicycle par ouverture-refermeture du motif oxazolidine ne permet pas d'expliquer les configurations relatives 3,5-*syn*/3,7a-*anti* observées pour le diastéréoisomère majoritaire.

La représentation de Newman de l'étape d'aza-Michael intramoléculaire montre que la configuration 3,5-*syn*/3,7a-*anti* pourrait s'expliquer par l'addition préférentielle de la face la moins encombrée de l'oxazolidine [en opposition à R_1 (Ph ou Me) et/ou R_2 (H ou Ph)] sur une des faces de l'accepteur de Michael de géométrie *E* (Schéma **47**). Du fait de la nature intramoléculaire de cette réaction, l'addition ne peut décrire que deux approches possibles de l'oléfine électrophile, en *endo* ou en *exo* de l'hétérocycle oxazolidine quelle que soit la configuration de l'oxazolidine de départ. Comme représenté sur le schéma **47**, l'approche *exo* de l'oléfine minimise considérablement les interactions stériques et sera donc thermodynamiquement favorisée. Le contrôle thermodynamique permet d'expliquer la formation du diastéréoisomère majoritaire dans le cas des l'oxazopyrrolidines chirales.

3 Synthèse de pyrrolidines 2,5-*trans*-disubstituées par arylation diastéréosélective

Dans ce chapitre, nous ne ferons pas une revue bibliographique exhaustive de la réactivité des oxazolopyrrolidines. Nous nous intéresserons essentiellement à la réactivité des oxazopyrrolidines vis-à-vis de nucléophiles carbonés. Dans la littérature, deux types de nucléophiles carbonés sont décrits, les cétones énolisables et les espèces organométalliques.

3.1. Réactivité des oxazolopyrrolidines vis-à-vis des nucléophiles carbonés : état de l'art

3.1.1. Réactivité ambivalente des oxazolopyrrolidines

Les oxazolopyrrolidines sont des composés en équilibre par mésomérie avec leur forme ouverte zwittérionique. Elles masquent des électrophiles qui présentent une réactivité particulière pouvant être mise à profit notamment dans des processus d'alkylation diastéréosélective. Ces molécules peuvent par ailleurs être considérées comme des nucléophiles *via* leur forme énamine en équilibre avec une forme iminium (Schéma **48**). Ces synthons ont donc une réactivité ambivalente qui dépendra des conditions opératoires.

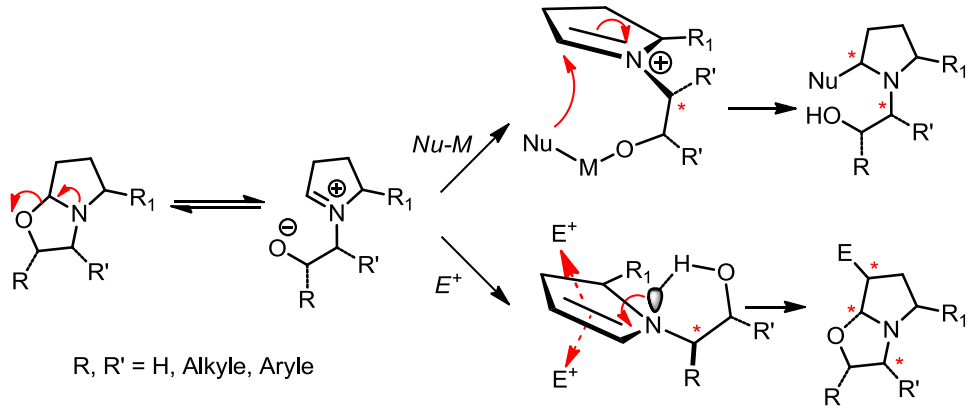


Schéma 48 Réactivité ambivalente des oxazolopyrrolidines.

3.1.2. Addition de cétones énolisables

I. Gillaizeau, au sein de l'équipe de H. P. Husson, a exploité la réactivité des oxazolopyrrolidines comme équivalent de pyrrolidinium chiral pour la synthèse totale de la (+)-ferruginine **45** (Schéma **49**).[99] L'étape-clé repose sur une cyclisation diastéréosélective de type Mannich de l'oxazolopyrrolidine **149** fonctionnalisée en position C-5 par un bras cétonique α,β-insaturé. Cette cyclisation acido-catalysée s'effectue en milieu protique : le méthanol est indispensable à la formation transitoire de l'énol réactif **150** issue de l'addition-1,4 d'une molécule dudit solvant. Cette cyclisation au départ de **149** suit un processus en cascade s'apparentant à une réaction d'aza-Morita-Baylis-Hillman intramoléculaire catalysée par le méthanol. Contrairement à la réaction d'aza-Morita-Baylis-Hillman, une étape supplémentaire est toutefois nécessaire afin de régénérer la double liaison conjuguée par élimination de la fonction méthoxyle, mauvais nucléofuge. Cette réaction permet d'accéder à un motif tropane possédant trois centres stéréogènes contigus stéréocontrolés.

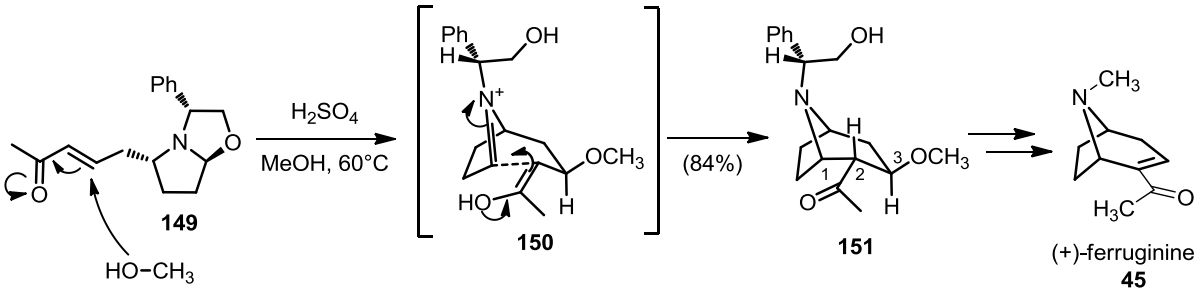


Schéma 49 Addition cyclisante d'énol sur l'oxazolopyrrolidine. [99]

Ces mêmes auteurs ont étendu cette élégante stratégie à la synthèse stéréospécifique d'azabicycloalcanes pontés par cyclisation intramoléculaire d'oxazopyrrolidines électrophiles substituées en position C-5 par des chaines cétoniques de longueurs variables (Schéma **50**).[100]

[99] Gauthier I, Royer J, Husson H-P, A Short and Efficient Total Synthesis of (+)-Ferruginine Using the CN(*R*,*S*) Method, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6704-5.
[100] Gillaizeau-Gauthier I, Royer J, Husson H-P, Toward an Asymmetric General Access to Azabicyclo[n.2.1] alkanes According to the CN(*R*,*S*) Method, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1484-9.

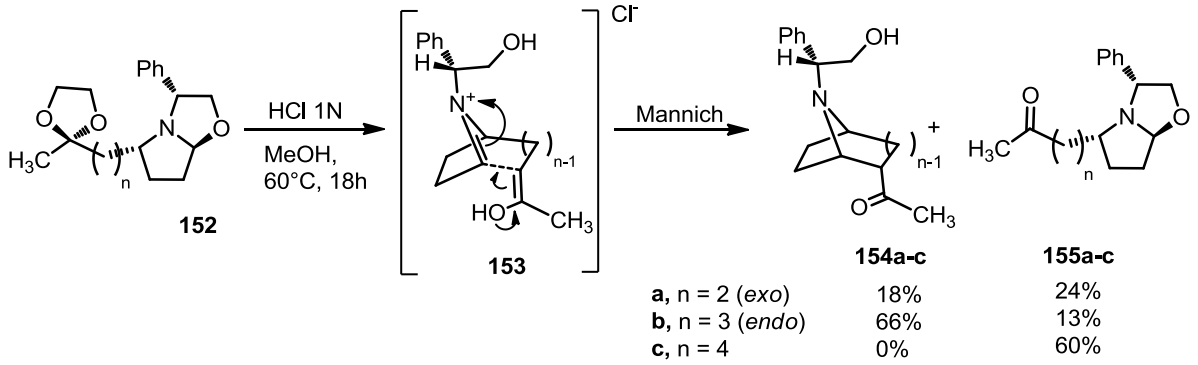


Schéma 50 Cyclisation par un mécanisme de type Mannich entre l'énol et l'iminium.

La réaction acido-catalysée permet, en milieu protique, de favoriser l'énolisation de la fonction cétonique pour former stéréospécifiquement par cyclisation *endo-trig* les bicycles pontés possédant deux nouveaux centres asymétriques. Cette stratégie bien que peu favorable aux cyclisations 5- et 7-*endo-trig*, s'est avérée également efficace pour une synthèse alternative du noyau tropane de la (+)-ferruginine (Shéma **51**).

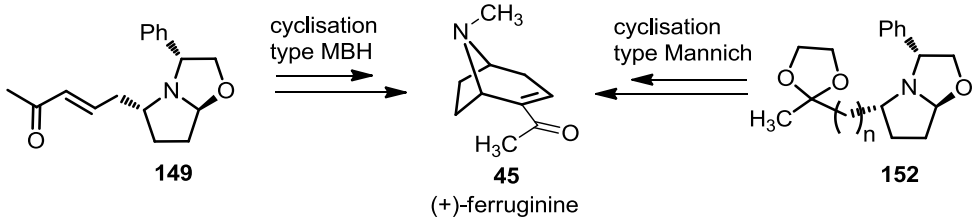


Schéma 51 Synthèse de la (+)-ferruginine 45 au départ d'oxazolopyrrolidines chirales 149 et 152.

Bien que l'addition d'énol sur une oxazolopyrrolidine chirale se soit montrée efficace en version intramoléculaire pour la synthèse diastéréosélective d'azabicycles, ce type d'addition n'a jusqu'à ce jour jamais été exploité en version intermoléculaire.[101]

[101] Hernández A S, Thaler A, Castells J, Rapoport H, Enantiospecific Synthesis of (+)- and (−)-Ferruginine from L-glutamic Acid. Synthesis of Tropanes via Intramolecular Iminium Ion Cyclization, *J. Org. Chem*. **1996**, *61*, 314-23.

3.1.3. Addition de nucléophiles organométalliques

Par opposition aux additions d'énol, les additions de nucléophiles carbonés issus d'organomagnésiens ou d'organolithiens ont été décrites exclusivement en version intermoléculaire.

A nouveau, Husson *et al*. ont étudié la réactivité des oxazopyrrolidines envers les réactifs de Grignard pour la synthèse énantiospécifique d'alcaloïdes naturels pyrrolidiniques, pyrrolizidiniques et indolizidiniques. Ainsi, la synthèse stéréosélective d'un alcaloïde du venin de fourmis de feu du genre *Solenopsis*, la (+)-*trans*-5-éthyl-2-heptyl-pyrrolidine **68**, a pu être réalisée en 6 étapes à partir du (*R*)-phénylglycinol.[102] L'étape clé repose sur l'introduction d'une chaine éthyle en position C-7a sur l'oxazolopyrrolidine **156** par addition de bromure d'éthylmagnésium. La *trans*-2,5-dialkyl pyrrolidine **158** est obtenue avec un bon rapport diastéréomérique *trans/cis* de 72:28. L'hydrogénolyse de l'auxiliaire chiral du diastéréomère majoritaire **158** conduit quantitativement à l'alcaloïde naturel **158** (Schéma **52**).

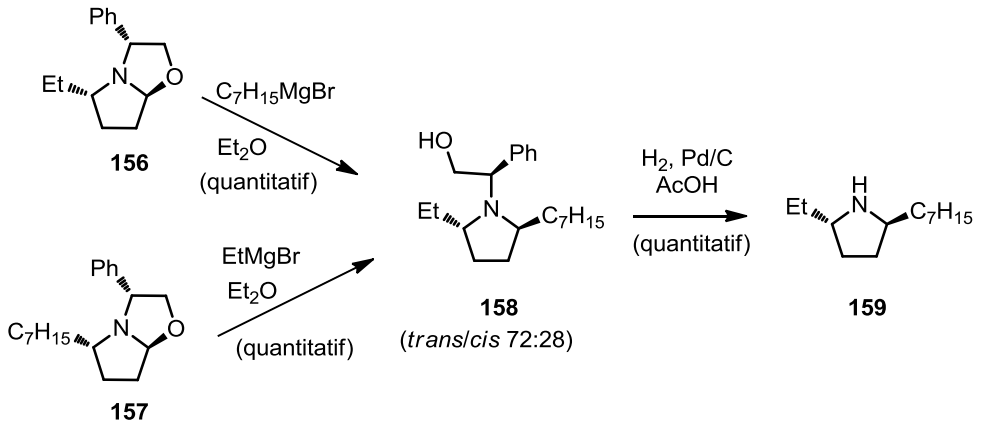


Schéma 52 Synthèse de la (+)-*trans*-5-éthyl-2-heptyl-pyrrolidine 159

En série pyrrolidine, la diastéréosélectivité *trans* observée peut s'expliquer par l'addition de l'organomagnésien sur la face la moins encombrée (face convexe de l'oxazolopyrrolidine) du sel d'iminium formé lors de l'ouverture du cycle oxazolidine. Plus tard, ces mêmes auteurs montreront que le rapport diastéréomérique *trans:cis* ne varie pas en fonction de la nature du solvant (éther, THF, toluène) et de la température de réaction (-78°C ou à reflux).[103] De même, ils démontreront que les excès diastéréomériques demeurent identiques quel que soit l'ordre des alkylations : l'addition de bromure d'heptylmagnésien sur

[102] Huang P Q, Arseniyadis S, Husson H-P, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 547-50.
[103] Arseniyadis S, Huang P Q, Piveteau D, Husson H-P, Asymmetric synthesis: XII: Stereocontrolled electrophilic-nucleophilic α,α'-substitution of the pyrrolidine ring, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 2457-70.

la 5-éthyl-oxazolopyrrolidine **156** ou de bromure d'éthylmagnésien sur la 5-heptyloxazolopyrrolidine **157** donne accès à la pyrrolidine 2,5-*trans* disubstituée **159** avec des rapports diastéréomériques comparables (Schéma **52**).

En 1988, ces mêmes auteurs étendent cette méthodologie à la synthèse totale d'un alcaloïde de venin de fourmi à squelette pyrrolizidine, la (+)-3-heptyl-5-méthylpyrrolizidine **161** (Schéma **53**).[104] A nouveau, l'étape clé réside en l'alkylation diastéréosélective en position C-7a de l'oxazolopyrrolidine **152** par le bromure d'heptylmagnésium : la pyrrolidine 2,5-*trans* disubtituée **160** est obtenue avec un excellent rendement et un bon rapport diastéréoisomérique de 77:23. L'hydrogénation catalytique en milieu acide aqueux permet en une étape de convertir quantitativement la pyrrolidine **160** en l'alcaloïde pyrrolizidinique naturel **161** selon une cascade de réactions impliquant successivement une *N*-hydrogénolyse, une hydrolyse d'acétal et une amination réductrice cyclisante.

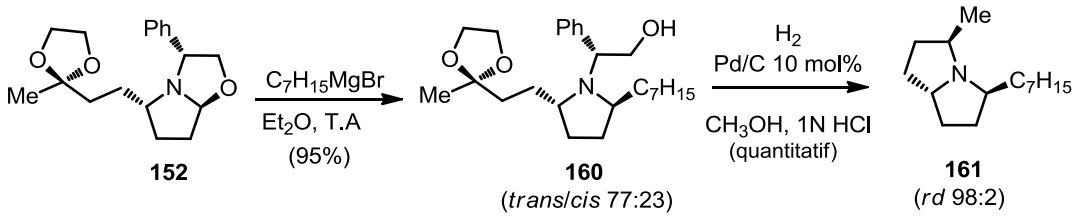
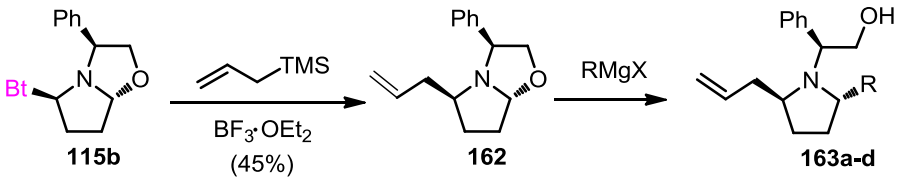


Schéma 53 Synthèse de la (+)-3-heptyl-5-méthylpyrrolizidine 161.

Si, comme les groupes de Husson et de Royer l'ont montré, les 2-cyano-5-oxazolopyrrolidines **115a** constituent de bons synthons pour la synthèse de pyrrolidines 2,5-disubstituées, Katrizky demontra qu'il en est de même pour les 2-benzotriazolyl-5-oxazolopyrrolidines telles que **115b**. [77, 81] En effet, l'addition de réactifs de Grignard au départ de la 5-allyl-oxazolopyrrolidine **162**, préparée à partir de **115b**, donne avec de hautes diastéréosélectivités et d'excellents rendements, les pyrrolidines *trans*-2,5-disubstituées **163a-d** (Tableau **7**). On peut noter que, dans le cas qui nous concerne, l'addition de bromure d'arylmagnésien est extrêmement diastéréosélective (Tableau **7**-entrée 4).

[104] Arseniyadis S, Huang P Q, Husson H-P, Asymmetric synthesis XIV: A short and efficient synthesis of 3,5-disubstituted pyrrolizidine alkaloids via the CN(R,S) method, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1391-4.



Entrée	R	Produit	Rendement	Ratio *trans*/*cis*
1	Me	**163a**	90%	90/10
2	*n*-pentyl	**163b**	90%	80/20
3	$PhCH_2CH_2$	**163c**	90%	85/15
4	Ph	**163d**	85%	> 97/3

Tableau 7 Addition de Grignards sur la 5-allyl-oxazolopyrrolidine 162.

Higashiyama décrit également l'addition de bromures d'arylmagnésium au départ de 5-aryloxazolopyrrolidines dans le but de préparer des 2,5-bis(aryl)pyrrolidines de symétrie C_2 utilisables en synthèse asymétrique comme auxiliaire chiral.[82] L'addition respective de bromure de phénylmagnésium ou de *p*-méthoxyphénylmagnésium sur la 5-phényl- ou 5-*p*-méthoxyphényl-oxazolopyrrolidine **115c** ou conduit diastéréosélectivement à la 2,5-*trans*-diaryl-pyrrolidine optiquement active **164a** ou **165a** (Schéma **54**).

Nous verrons au chapitre suivant les difficultés de régiosélectivité observée lors de l'étape de *N*-hydrogénolyse du motif chiral 2-phényléthanol, due à la présence des groupements aryles en α et α' de l'azote pyrrolidinique. En effet, l'azote central des pyrrolidines **164a** et **165a** se trouve triplement en position benzylique.

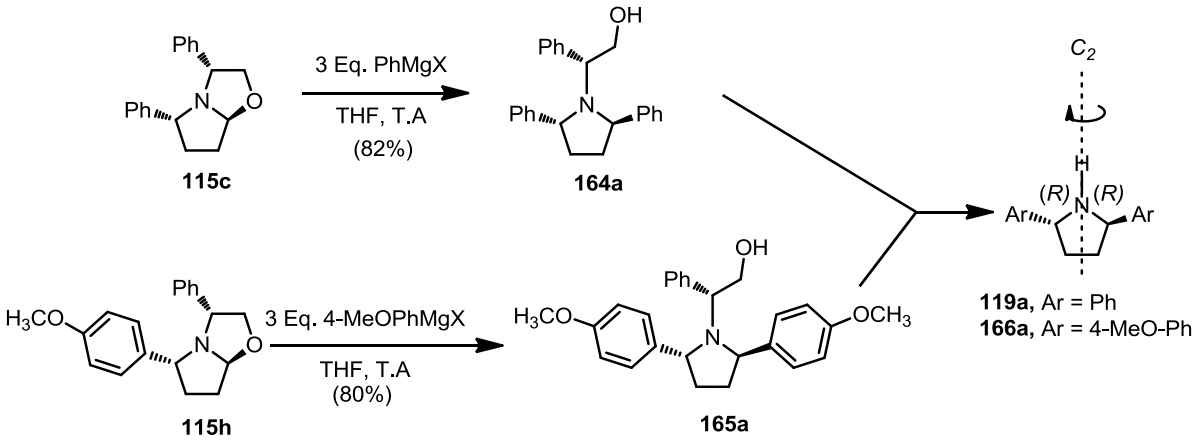


Schéma 54 Addition d'aryle Grignard selon Higashiyama

Pour tenter de rationaliser la diastéréosélectivité observée, Higashiyama propose deux états de transition possibles : le réactif de Grignard approcherait par chélation à l'atome d'oxygène porté par le cycle 1,3-oxazolidine, sur sa face stériquement la moins encombrée (en *anti* du phényle). La formation du sel iminium thermodynamiquement plus stable serait alors favorisée (Schéma **55**-Etat **A** *vs* état **B**). Ainsi, au départ du (*R)*-phénylglycinol **107**, l'addition du nucléophile se ferait sur la face *Si* de l'iminium intermédiaire.

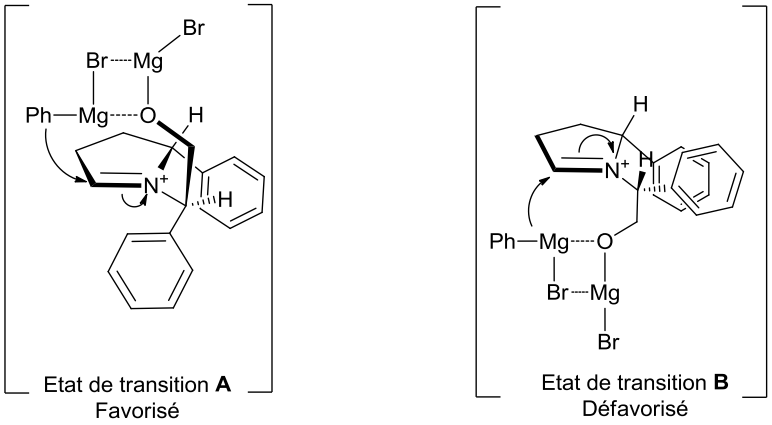
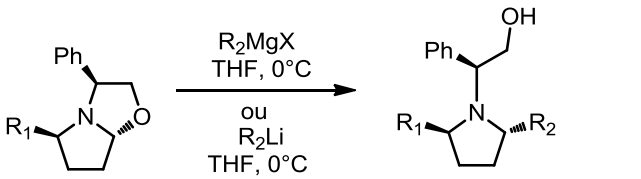


Schéma 55 Etat de transition

Afin de synthétiser des organocatalyseurs originaux de type 5-alkyl prolines et compte tenu des différences de sélectivité observées par Higashiyama et Katritzky en fonction de la nature du Grignard mis en réaction, Kadourri-Puchot et Mangeney décident de réétudier l'addition d'organométalliques sur des oxazolopyrrolidines diversement encombrées **115c** (R_1= Ph), **115d** (R_1= *i*Pr) et **115f** (R_1= *t*Bu). (Schéma **56**)[79]



115c, R_1= Ph,
115d, R_1= *i*Pr
115f, R_1= *t*Bu

163d, R_1= Ph, R_2 = allyl
164a, R_1= Ph, R_2 = Ph
167a, R_1 = *i*Pr, R_2 = allyl
167b, R_1 = *i*Pr, R_2 = *n*Bu
167c, R_1 = *i*Pr, R_2 = Me
167d, R_1 = *t*Bu, R_2 = Me
167e, R_1 = *t*Bu, R_2 = *n*Bu
167f, R_1 = *t*Bu, R_2 = allyl

Schéma 56 Addition de Grignards selon Kadouri, Puchot et Mangeney.

Quelle que soit la nature de l'organométallique et de l'encombrement généré par le substituant de l'oxazolopyrrolidine, une très haute diastéréosélectivité est toujours observée en faveur des adduits *trans*. Toutefois, les additions d'organomagnésiens donnent généralement de meilleurs rendements que les additions d'organolithiens (Tableau **8 –** entrées 4 *vs* 9, 5 *vs* 10, et 7 *vs* 11).

Entrée	R_1	Substrat	R_2M	Produit	Rendement	Ratio *trans*/*cis*
1	**Ph**	**115c**	PhMgCl	**164a**	89%	90/10
2	**Ph**	**115c**	allylMgBr	**163d**	75%	90/10
3	***i*Pr**	**115d**	allylMgBr	**167a**	Quantitatif	>95/5
4	***i*Pr**	**115d**	*n*BuMgCl	**167b**	Quantitatif	>95/5
5	***i*Pr**	**115d**	MeMgBr	**167c**	75%	>95/5
6	***t*Bu**	**115f**	MeMgBr	**167d**	68%	>95/5
7	***t*Bu**	**115f**	*n*BuMgCl	**167e**	Quantitatif	90/10
8	***t*Bu**	**115f**	allylMgBr	**167f**	Quantitatif	>95/5
9	***i*Pr**	**115d**	*n*-BuLi	**167b**	72%	>95/5
10	***i*Pr**	**115d**	MeLi	**167c**	67%	>95/5
11	***t*Bu**	**115d**	*n*BuLi	**167e**	48%	90/10

Tableau 8 Addition diastéréosélective d'organomagnésiens et d'organolithiens.

Notons que dans le cas de l'addition du bromure d'allylmagnésien sur la 5-phenyloxazolopyrrolidine **115c** (Tableau **8 –** entrée 2), le rendement et la diastéréosélectivité sont plus faibles, comparés à l'addition inverse de bromure de phénylmagnésien sur la 5-allyloxazolopyrrolidine **162** (Tableau **7 –** entrée 4). Ainsi, pour l'obtention d'un même produit, les rendements et les excès diastéréoisomériques peuvent varier suivant la stratégie de fonctionnalisation.

3.2. Résultats personnels

Parmi les différentes additions de nucléophiles sur les oxazolopyrrolidines décrites précédemment, l'utilisation d'organomagnésiens permet d'obtenir des adduits avec de très bons rendements. L'atome de magnésium, en se chélatant à l'oxygène du cycle oxazolopyrrolidine, joue le rôle d'un acide de Lewis entrainant l'ouverture du cycle et la formation de l'iminium intermédiaire. L'addition du nucléophile carboné selon un mécanisme de chélation/addition nucléophile contribue à la rétention configurationnelle de l'oxazopyrrolidine et aux excellentes diastéréosélectivités observées.

La fonctionnalisation diastéréosélective du motif oxazolopyrrolidine par différents hétérocycles constitue également une des étapes clés de la synthèse des hybrides de (-)-lobéline cible. D'après la littérature, la réaction d'arylation nécessite l'utilisation d'un nucléophile dur capable de s'additionner sur la fonction iminium générée *in situ*.[105] Afin d'éviter une addition compétitive sur le bras phénacyle de l'oxazolopyrrolidine, deux voies de protection de la fonction carbonyle ont été choisies, la protection sous forme de cétal ou de thiocétal.

3.2.1. Protection de la fonction carbonyle du bras phénacyle

La transformation du groupement carbonylé en acétal **168** a été réalisée dans les conditions aprotiques de Noyori.[106] La protection en thiocétal **169**, quant à elle, a été effectuée en présence d'éthanedithiol et de BF_3•Et_2O en très large excès[107] (Schéma **57**) (Tableau **9** - entrée **1** et **3**). Respectivement, les oxazopyrrolidines **168** et **169** ont été obtenues avec des rendements de 89% et 80%.

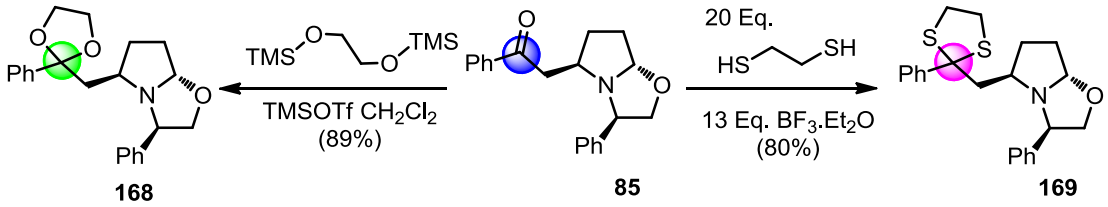
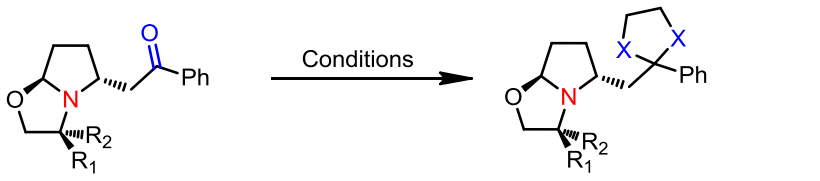


Schéma 57 Protections de la fonction carbonyle

[105] Genisson Y, Marazano C, Das B C, A stereocontrolled alkylation of chiral pyridinium salts with Grignard reagents: synthesis of (+)-normetazocine and (+)-nordextrorphan, *J. Org. Chem*. **1993**, *58*, 2052-7.
[106] Tsunoda T, Suzuki M, Noyori R, A facile procedure for acetalization under aprotic conditions, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1357-8.
[107] Yan L-H, Dagorn F, Gravel E, Séon-Méniel B, Poupon E, Synthesis and reactivity of pelletierine-derived building blocks and pelletierine analogs, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 6276-83.

Toutefois, bien que la réaction de Noyori soit efficace, nous n'avons pas réussi à maintenir ces résultats à l'échelle du gramme. C'est pourquoi, à plus large échelle, nous avons appliqué des conditions plus standard d'acétalisation par condensation d'éthylène glycol en présence une quantité catalytique d'APTS sous reflux azéotropique (Tableau **9** - entrées **2** et **4**). Ces conditions de protection ont été appliquées aux substrats **(+)-85** et **(±)-147** et ont permis d'isoler les oxazolopyrrolidines **(+)-168** et **(±)-170** avec de rendements corrects de 77% à quantitatifs même à large échelle (Tableau **9** - entrées **4** et **5**).



(-)-85 R_1= H, R_2= Ph
(+)-85 R_1= Ph, R_2= H
(±)-147 R_1= CH_3, R_2= CH_3

(-)-168 R_1= H, R_2= Ph, X= O
(-)-169 R_1= H, R_2= Ph, X= S
(+)-168 R_1= Ph, R_2= H, X= O
(±)-170 R_1= CH_3, R_2= CH_3, X= O

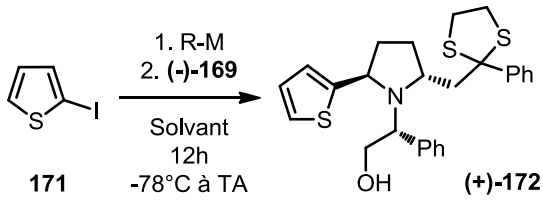
Entrée	Substrat	échelle	Conditions	Produit	Rdt
1	**(-)-85**	0,32 mmol	2 Eq. 1,2-bis(triméthylsiloxy)éthane, 0,2 Eq. TMSOTf, CH_2Cl_2 à -78°C	**(-)-168**	89% (0,09 g)
2	**(-)-85**	1,5 mmol	1.8 Eq. APTS, 20 Eq. éthylène glycol, Reflux azéotropique cyclohexane/eau	**(-)-168**	71% (0,37 g)
3	**(-)-85**	1,38 mmol	13 Eq.BF_3•Et_2O, 20 Eq. éthanedithiol, -10°C à T.A	**(-)-169**	80% (0,42 g)
4	**(+)-85**	9,76 mmol	1.8 Eq. APTS, 20 Eq. éthylène glycol Reflux azéotropique cyclohexane/eau	**(+)-168**	77% (2,63 g)
5	**(±)-147**	3,3 mmol	1.8 Eq. APTS, 20 Eq. éthylène glycol Reflux azéotropique cyclohexane/eau	**(±)-170**	Quant. (0,99 g)

Tableau 9 Protection des oxazolopyrrolidines.

3.2.2. Additions d'arylgrignards sur des oxazolopyrrolidines chirales

Les oxazolopyrrolidines pivots protégées à disposition, nous avons procédé à l'étude de leur fonctionnalisation par addition d'organométalliques. Nous nous sommes intéressés plus précisément à l'addition d'arylgrignards. Les premiers essais se sont portés sur l'addition de 2-thiényle car bien qu'isostère du noyau pyridine de la nicotine **38**, ce dernier est facilement

caractérisable par RMN ^{1}H. Le 2-thiénylmétal a été préparé par échange halogène/métal pour le dérivé lithié et par insertion oxydante pour le magnésien. La meilleure réactivité du bromure de 2-thiénylmagnésien sur notre oxazolopyrrolidine **(-)-169** comparée à son homologue lithié corrobore les résultats observés par Kadouri-Puchot et Mangeney (Tableau **10**).



Entrée	R	M	Solvant	Rdt	*Ratio trans/cis*
1	*n*Bu	Li	1,6 M, Et_2O	36%	66/33
2	-	Mg	1 M, THF	71%	85/15

Tableau 10 Additions de 2-thiénylmagnésien et de 2-thiényllithien.

Les excès diastéréomériques, quant à eux, sont mesurés par RMN ^{1}H sur le brut réactionnel. Les configurations relatives des pyrrolidines 2,5-disubstituées obtenues ont pu être établies par les corrélations nOesy entre les protons H-2 et H-5 du cycle pyrrolidinique (Figure **31**).

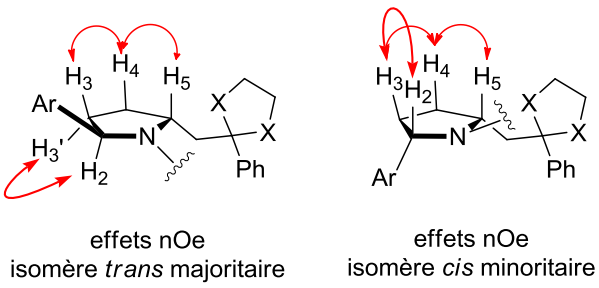
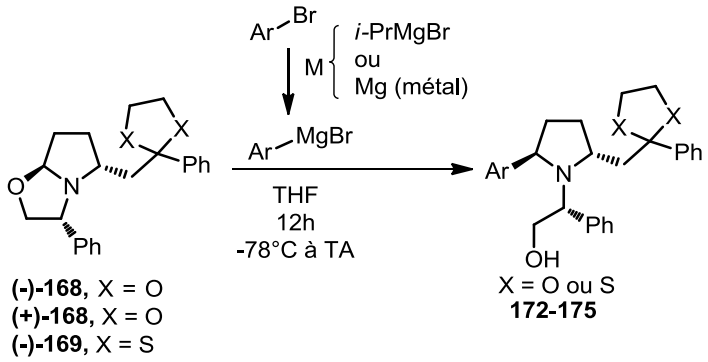


Figure 31 Corrélations nOe observées pour les pyrrolidines 2,5-*trans* et 2,5-*cis* disubstituées

La diastéréoséléctivité est, comme attendue, majoritairement en faveur de la pyrrolidine 2 ,5-*trans* disubstituée. Là encore, la diastéréosélectivité est meilleure lors de l'addition de l'organomagnésien en comparaison à celle obtenue lors de l'addition du dérivé lithié. Ceci peut s'expliquer par l'implication d'un état de transition chélaté dans le cas de l'organomagnésien contrairement à l'organolithien, comme proposé par Higashiyama.

Nous avons étendu cette étude à l'addition de bromure phénylmagnésium au départ d'une solution titrée commerciale ou au départ d'une solution fraichement préparée (Tableau **11** - entrées **4** et **5**). Au départ d'une solution titrée, les pyrrolidines 2,5-*trans* disubstituées

correspondantes sont obtenues avec de très bons rendements et d'excellents excès diastéréoisomériques. Lorsque l'organomagnésien est préalablement préparé par insertion oxydante de magnésium sur le bromobenzène, nous observons une chute importante des excès diastéréomériques (Tableau **11** - entrées **1** et **3**). L'origine de cette baisse significative de sélectivité est probablement due à la présence de sels de magnésium ($MgBr_2$) qui jouent leur rôle d'acide de Lewis. Ces derniers entrent alors en compétition avec l'organomagnésien pour se chélater à l'atome d'oxygène de l'oxazolopyrrolidine et favoriser son ouverture en iminium plan intermédiaire. [108] Sans assistance et orientation de l'organomagnésien par cet atome d'oxygène, la diastéréosélection de l'addition du nucléophile est alors diminuée.



Entrée	Substrat	Type d'aryles	Source de Métal (M)	Produit	rdt	*e.d.*
1	**(-)-169**	thién-2-yl	Mg	**(+)-172**	71%	70%
2	**(-)-169**	pyridin-3-yl	*i*PrMgBr (2,9M, 2-méthylTHF)	**(+)-173**	68%	>95 %
3	**(-)-169**	phényl	Mg	**(+)-174**	67%	56%
4	**(-)-168**	phényl	PhMgBr (1M, THF)	**(+)-175**	85%	>95 %
5	**(+)-168**	phényl	PhMgBr (1M, THF)	**(-)-175**	90%	>95 %

Tableau 11 Additions d'ArMgX sur les substrats (-)-168, (+)-168 et (-)-169.

Du fait de l'érosion de diastéréosélectivité observée lors des additions d'organomagnésiens fraichement préparées, nous avons poursuivi notre étude sur les oxazolopyrrolidines **(+)-168**, **(-)-168** et **169** à partir des solutions commerciales d'organomagnésiens lorsqu'elles étaient disponibles.

[108] Kürti L, Czakò B, *Strategic applications of named reactions in organic synthesis. Background and detailed mechanisms*, **2005**, 188.

Quant à l'introduction d'hétérocycle azoté, la préparation de réactifs de Grignard à partir d'hétérocycles aromatiques halogénés est connue pour être difficile par les méthodes directes d'insertion de magnésium. Elles seront d'autant plus difficiles que l'hétérocycle comportera des atomes d'azotes basiques.[109] Dans ce cas, l'échange halogène-magnésium sera préféré. Celui-ci s'opère par traitement de l'hétérocycle halogéné par un alkylgrignard, en général EtMgBr, *i*PrMgBr ou $i Pr_2Mg$.[110] Aussi, l'utilisation d'une solution commerciale d'*i*PrMgBr a permis de réaliser efficacement la réaction de déhalométallation de la 3-bromopyridine. Le bromure de pyridin-3-ylmagnésium généré *in situ* est additionné sur l'oxazolopyrrolidine protégée **169** et conduit diastéréosélectivement à la pyrrolidine 2,5-*trans* disubstituée **173** (Tableau **11** - entrée **2**).Cette stratégie montre qu'une diversité moléculaire peut être aisément et diastéréosélectivement introduite au départ de la plateforme oxazolopyrrolidine chirale (Tableau **12**).

Entrée	Substrat	Type d'aryles	Rendement	e.d *trans :cis*	$[\alpha]_D$	Produits
1	**(+)-168**	phényl	90%	>95%	-110	**(-)-175**
2	**(-)-168**	phényl	85%	>95%	+101	**(+)-175**
3	**(-)-169**	3-méthylphényl	51%	>95%	+71	**(+)-176**
4	**(-)-169**	3-méthoxyphényl	70%	>95%	+131	**(+)-177**
5	**(-)-169**	pyridin-2-yl	75%	>95%	+187	**(+)-178**
5	**(-)-169**	pyridin-3-yl	68%	>95%	+149	**(+)-173**
6	**(-)-168**	pyridin-3-yl	76%	>95%	+46	**(+)-179**
7	**(-)-168**	2-chloropyridin-5-yl	51%	>95%	+73	**(+)-180**
8	**(+)-168**	2-chloropyridin-5-yl	74%	>95%	-78	**(-)-180**

Tableau 12 Introduction de diversité moléculaire par addition aryles magnésiens sur les intermédiaires pivots (-)-168, (+)-168 et (-)-169.

Dans tous les cas, à partir de solution commerciale ou à partir de bromure de pyridinylmagésium préparé *in situ*, les résultats sont bons en termes de rendement et de diastéréosélectivité. Par ces différents essais, nous avons confirmé la rétention de configuration lors de l'addition d'organomagnésiens sur les oxazolopyrrolidines protégées **(+)-168**, **(-)-168** et **169**. Les pyrrolidines de configuration 2,5-*trans* sont majoritairement obtenues et ce, indépendamment des aryles magnésiens engagés.

[109] Trécourt F, Breton G, Bonnet V, Mongin F, Marsais F, Quéguiner G, Pyridylmagnesium chlorides from bromo and dibromopyridines by bromine-magnesium exchange: A convenient access to functionalized pyridines, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4339-42.
[110] Chinchilla R, Nájera C, Yus M, Metalated Heterocycles and Their Applications in Synthetic Organic Chemistry, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2667-722.

4 Synthèse des pyrrolidines 2,5-*trans*-disubstituées *N*-méthylées

4.1. Stratégies de clivage du motif chiral *N*-2-hydroxy-1-phénéthyle: état de l'art

Nous ne ferons pas une revue exhaustive de toutes les stratégies de clivage du groupement 2-hydroxy-1-phénéthyle issu du phénylglycinol **107**. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux méthodes où ce motif hydroxybenzylique est clivé d'un atome d'azote d'un noyau hétérocyclique tel qu'une pyrrolidine, une pyrrolidinone ou une pipéridine ou encore d'un atome d'azote d'amines acycliques présentant une forte analogie structurale avec nos substrats, à savoir, la présence en α de l'amine d'un noyau hétéroaromatique ou du bras 2-hydroxy-2-phénéthyle similaire à celui de la lobéline **46** (Schéma **36**). Dans ce contexte, cinq grandes stratégies de *N*-déprotection sont décrites dans la littérature et sont résumées dans le schéma **58**.

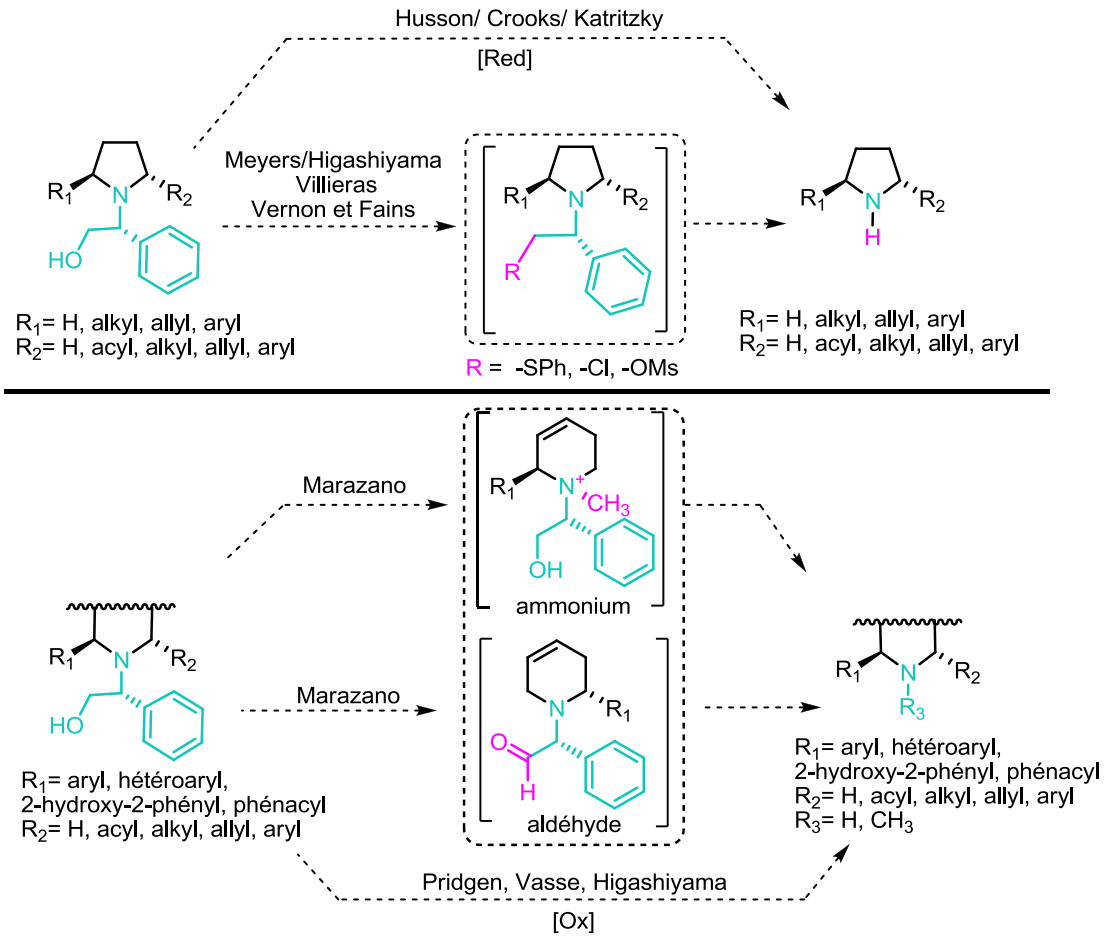


Schéma 58 Différentes stratégies de clivage du motif chiral *N*-2-hydroxy-1-phénéthyle

4.1.1. Clivage par hydrogénolyse

Le motif 2-hydroxy-1-phénéthyle est équivalent au groupement protecteur benzylique. Il se distingue de ce dernier par une ramification du méthylène benzylique par un bras hydroxyméthyle. Aussi, l'utilisation de conditions de *N*-débenzylation par hydrogénolyse s'avère efficace et a été appliquée avec succès à de nombreux dérivés du phénylglycinol **107**.[111],[112,113] Ainsi, en lien avec le chapitre précédent, les synthèses des 2,5-*trans*-dialkyl-pyrrolidines par les groupes de Husson,[76] Crooks[114] et Katritzky[77] ont été achevées par une étape d'hydrogénation catalytique du motif 2-hydroxy-1-phénéthyle afin de libérer la fonction amine secondaire (Schéma **59**). Cette hydrogénolyse est généralement réalisée par catalyse en phase hétérogène en présence de palladium sur charbon ou du réactif de Pearlman dans milieu protique ou faiblement acide. Différentes sources d'hydrogène ont été utilisées comme l'hydrogène gaz mais encore le formiate d'ammonium. Les rendements sont généralement bons à très bons et aucune épimérisation n'a été observée au départ des 2,5-*trans*-dialkyl pyrrolidines asymétriques.

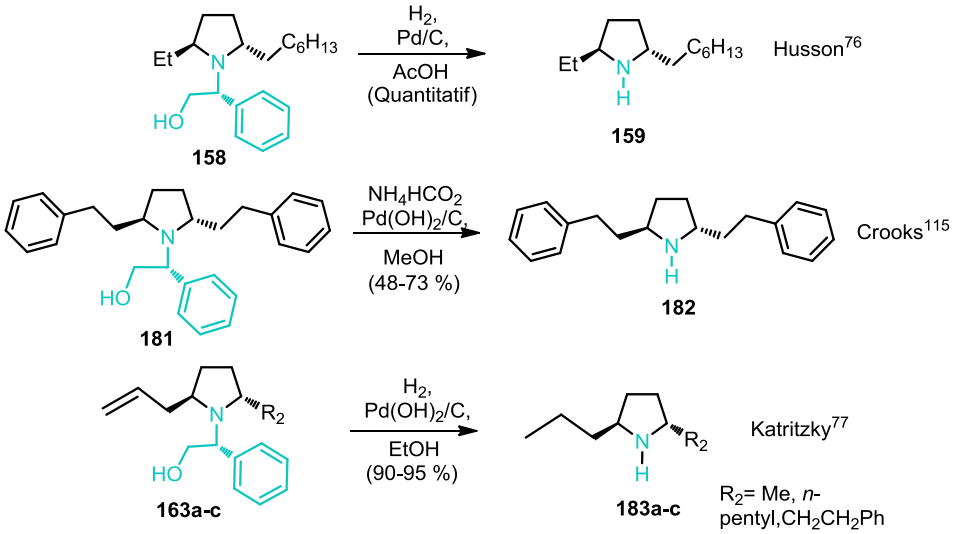


Schéma 59 Conditions de débenzylation appliquées aux adduits 2,5-dialkyl pyrrolidiniques.

[111] Blanchet J, Bonin M, Micouin L, Husson H-P, Asymmetric synthesis of α-substituted propynyl amines. Application to the preparation of a polysubstituted dihydroisoindoline framework, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3171-3.
[112] Yamauchi T, Hagiwara S, Higashiyama K, Concise Total Synthesis of (−)-Deoxocuscohygrine and (−)-Dihydrocuscohygrine, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9784-7.
[113] Postikova S, Sabbah M, Wightman D, Nguyen I T, Sanselme M, Besson T, Brière J-F, Oudeyer S, Levacher V, Developments in Meyers' Lactamization Methodology: En Route to Bi(hetero)aryl Structures with Defined Axial Chirality, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8191-7.
[114] Vartak A P, Nickell J R, Chagkutip J, Dwoskin L P, Crooks P A, Pyrrolidine Analogues of Lobelane: Relationship of Affinity for the Dihydrotetrabenazine Binding Site with Function of the Vesicular Monoamine Transporter 2 (VMAT2), *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7878-82.

Katritzky a, cependant, mis en évidence le manque de chimio- et régiosélectivité de cette méthode. En effet, dans ces conditions d'hydrogénation, les oléfines sont également réduites transformant des dérivés allyliques des prolines **163a-c** en 2-propylpyrrolidines **183a-c** correspondantes (Schéma **59**).[77] De même, la substitution d'une pyrrolidine par un groupement aryle en position C-2 ou en C-5 engendre l'apparition d'une fonction benzylique supplémentaire qui devient également sensible à l'hydrogénolyse. La tentative de *N*-débenzylation par hydrogénation catalytique de la 2-phénylpyrrolidine **163d** conduit à l'hydrogénolyse sans distinction des liaisons C-N endo- et exocyclique, libérant ainsi l'amine primaire **184** (Schéma **60**).[77]

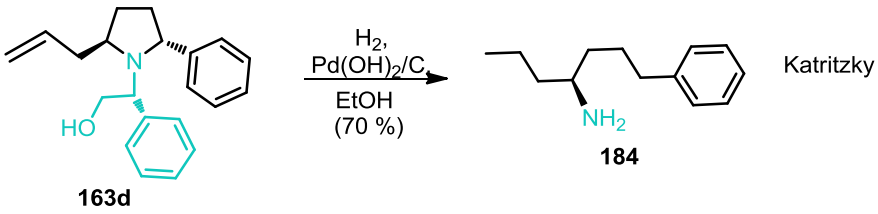


Schéma 60 Hydrogénation catalytique de la 2-allyl-5-phénylpyrrolidine (163d)[77]

4.1.2. Clivage indirect par substitution/élimination

Confrontés au problème de sélectivité de clivage par hydrogénolyse du motif *N*-2-hydroxy-1-phénéthyle porté par des 2-phénylpyrrolidines, Meyers et Burgess[115, 116] ont développé une méthode alternative consistant à substituer la fonction hydroxyle par un groupement partant puis à l'éliminer (Schéma **61**). Ainsi, le traitement de la *N*-(2-hydroxy-1-phénéthyl)-2-phénylpyrrolidine **164b** par le diphényldisulfure en présence de triéthylphosphite permet de transformer l'alcool primaire en phénylsulfényle **185** correspondant (Schéma **61**). Selon l'auteur, l'action de 4,4'-di-*tert*-butyldiphényllithium (LiDBB) engendrerait sa lithiation par échange et une élimination spontanée de styrène (**187**) libérant ainsi la 2-phénylpyrrolidine **119b**. Meyers et Burgess ont également montré que cette stratégie est applicable à d'autres dérivés pyrrolidiniques substitués en position 2 par des groupements réductibles (allyle).

[115] Burgess L E, Meyers A I, A Simple Asymmetric Synthesis of 2-Substituted Pyrrolidines and 5-Substituted Pyrrolidinones, *J. Org. Chem.* **1992**,*57*, 1656-62.
[116] Rawson D J, Meyers A I, Asymmetric tandem additions to chiral naphthyloxazolines. A new and potent chiral auxiliary resulting in a major improvement in convenience and efficiency, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2292-4.

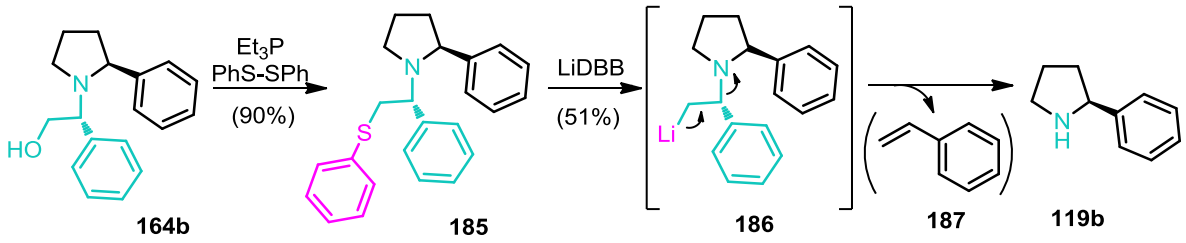
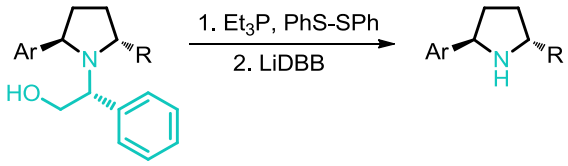


Schéma 61 Méthode de clivage par lithiation/fragmentation.

Ces travaux de Meyers et Burgess ont été repris récemment par Higashiyama[78] dans le but de préparer de nouvelles pyrrolidines chirales de type 2,5-*trans*-diarylpyrrolidines ou 2-arylpyrrolidines (Schéma **62**). Appliquée aux *N*-(2-hydroxy-1-phénéthyl)-phénylpyrrolidines, la méthode de Meyers et Burgess permet à Higashiyama de libérer les pyrrolidines N*H* avec des rendements moyens à bons. On note, néanmoins, une chute drastique des rendements de clivage de la "copule" au départ de 2-thién-2-ylpyrrolidine **188**. Ceci peut sans doute s'expliquer par une réaction de métallation compétitive de l'hétérocycle soufré.



164a, Ar = R = Ph
165a, Ar = R = 4-MeO-Ph
164b, R = H, Ar = Ph,
165b, R = H, Ar = 4-MeO-Ph
188, R = H, Ar = Thién-2-yl

119a, Ar = R = Ph (60%)
166a, Ar = R = 4-MeO-Ph (42%)
119b, R = H, Ar = Ph (62%)
166b, R = H, Ar = 4-MeO-Ph (30%)
189, R = H, Ar = Thién-2-yl (13%)

Schéma 62 Déprotection par sulfénylation/lithiation/fragmentation

Villieras et collaborateurs proposent une méthode alternative de clivage du motif 2-hydroxy-1-phénéthyle au depart de pyrrolidinone. Cette stratégie est encore basée sur une substitution de l'alcool primaire par un groupement nucléofuge suivie de son élimination engendrant une *N*-déalkylation (Schéma **63**).[117] Ainsi le traitement de la pyrrolidinone **190** par le chlorure de thionyle transforme l'alcool primaire en chlorure correspondant **191**. La déshydrochloration catalysée par la silice conduit à l'énamide **192** qui est hydrolysé en milieu acide sulfurique pour conduire au lactame **193** avec un excellent rendement global de 75% (Schéma **63**).

[117] Nyzam V, Belaud C, Zammattio F, Villieras J, Stereocontrolled synthesis of chiral secondary (α-methylene-β-substituted)-γ-lactams by addition of β-functional crotylzinc reagents to chiral imines, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 1835-43.

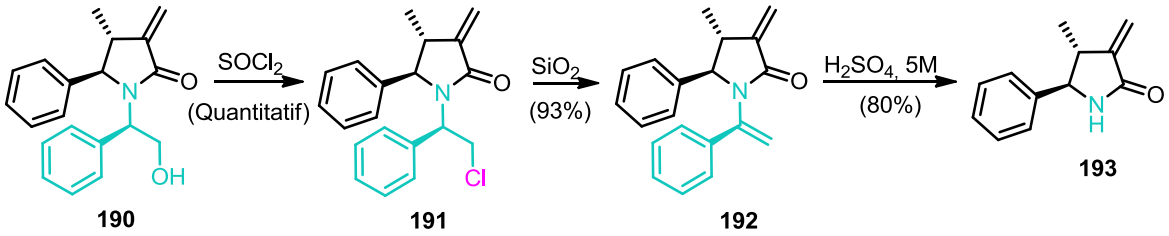


Schéma 63 Déprotection par chloration/β-élimination/hydrolyse

Vernon et Fains proposent une stratégie très similaire au départ de 2-(2-hydroxy-1phényléthyl)-isoindolinone **194a** (R=H, Schéma **64**).[118] La différence réside dans la séquence réactionnelle permettant d'accéder à l'énamide **196a** : l'alcool primaire est dans un premier temps mésylé puis transformé en énamide **196a** par action de l'éthylate de sodium. L'énamide **196a** est ensuite hydrolysé en milieu acide chlohydrique pour conduire à l'*iso*-indolinone **197a** *N*-déalkylée et à l'acétophénone **83**. Cette méthode est efficace puisqu'elle permet d'accéder à l'*iso*-indolinone **197a** (R = H) avec des rendements de l'ordre de 80%. Elle a également été appliquée à une *iso*-indolinone possédant un centre chiral en position C-3 substitué par un groupement méthyle **194b**, phényle **194c** ou allyle **194d** (Schéma **64**).[119], [120] Là encore, la *N*-déalkylation se fait avec des rendements globaux excellents et aucune racémisation du centre asymétrique en C-3 n'a été observée.

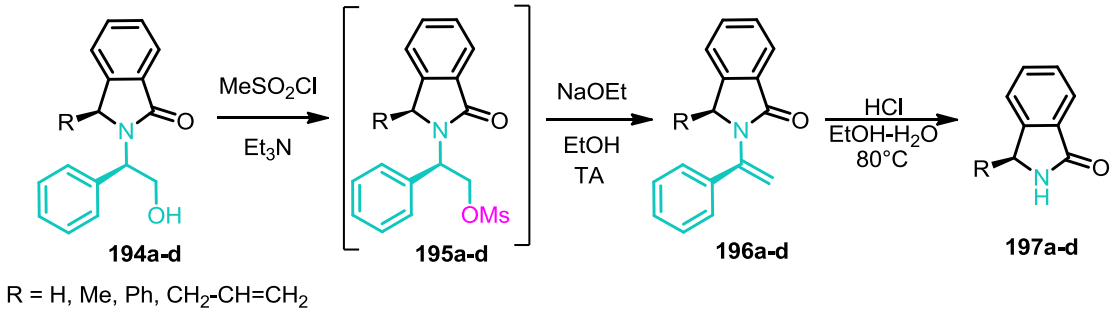


Schéma 64 Déprotection par mésylation/β-élimination/hydrolyse.

Couty *et al.* démontrent que cette élégante stratégie s'avère difficilement transposable à des hétérocycles basiques tels que la pipéridine **198** (Schéma **65**), l'étape de déshydrohalogénation constituant sur ce type de substrat l'étape limitante. Aussi, les auteurs proposent une séquence

[118] Fains O, Vernon J M, Chemoselective debenzylation involving removal of a 2-hydroxy-1-phenylethyl group from nitrogen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8265-6
[119] Allin S M, Northfield C J, Page M I, Slawin A M Z, A new approach to the synthesis of non-racemic isoindolin-1-one derivatives, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 141-2.
[120] Allin S M, Northfield C J, Page M I, Slawin A M Z, Approaches to the synthesis of non-racemic 3-substituted isoindolinone derivatives, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **2000**, 1715-21.

réactionnelle consistant à traiter le dérivé chloré **199** non plus par une base ou de la silice mais par un excès de cyanure de potassium générant ainsi le β-amino-nitrile intermédiaire **200**. Ce dernier évolue spontanément par β-élimination en l'amine secondaire **201** souhaitée (Schéma **65**).[121]

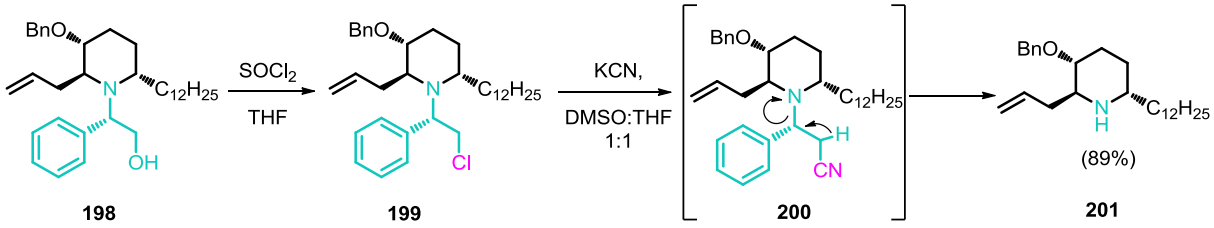


Schéma 65 Déprotection par chloration/cyanation/fragmentation.

4.1.3. Clivage par formation d'ammonium quaternaire/élimination de Hofmann

Lors de ses travaux concernant la synthèse biomimétique de la (-)-lobéline **46**, Marazano décrit une méthode de clivage du motif 2-hydroxy-1-phénéthyle en deux étapes au départ du dérivé tétrahydropyridine **202** (Schéma **66**).[62] Cette méthode procède par la formation d'un intermédiaire ammonium quaternaire **203** par action du tétrafluoroborate de diphénylméthylsulfonium. Le *N*-méthyl ammonium est obtenu avec 70% de rendement et ce pour les deux diols **203**-*anti* et **203**-*syn*. L'élimination de Hofmann de l'ammonium par traitement au *tert*-butylate de potassium conduit à la tétrahydropyridine *N*-méthylée souhaitée (Schéma **66**). Toutefois, l'efficacité de cette dernière étape dépend du diastéréoisomère utilisé. Bien que la pipéridine *anti* **204** soit obtenue avec d'excellents rendements, l'élimination au départ du diastéréoisomère *syn* **203** ne se fait qu'avec un rendement de 31%, l'ouverture du cycle pipéridinique se faisant plus rapidement que le clivage exocyclique.

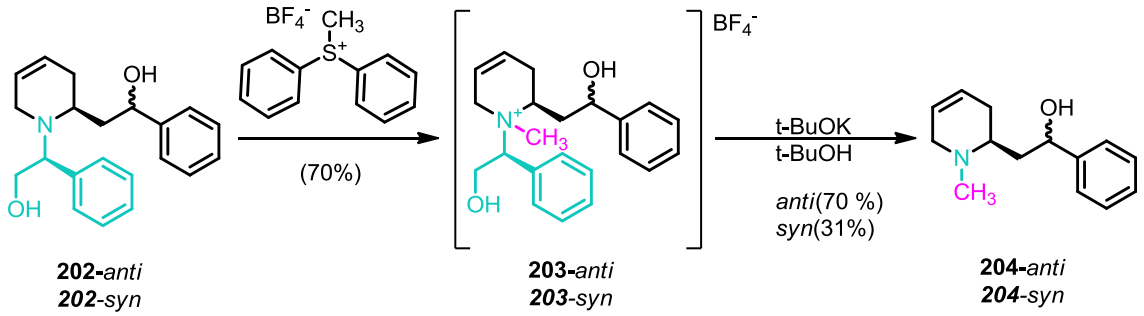


Schéma 66 Clivage par formation d'ammonium quaternaire/élimination de Hofmann

[121] Agami C, Couty F, Evano G, Selective *N*-dealkylation of tertiary amines derived from phenylglycinol or ephedrine family, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3709-12.

4.1.4. Clivage par oxydation/hydrolyse d' "osazone"

Marazano a également proposé une autre méthode de clivage du motif 2-hydroxy-1-phénéthyle reposant sur une séquence oxydante (Schéma **67**).[122] L'alcool primaire de la « copule » **205a-d** est oxydé en aldéhyde **206a-d** dans les conditions de Swern.[123] L'aldéhyde **206a-d** est ensuite traité par un excès de 2,4-dinitro-phénylhydrazine (2,4-DNPH) en condition acide pour former probablement une "osazone" intermédiaire **207a-d** qui s'hydrolyse *in situ* pour libérer la pipéridine **208a-d** souhaitée (Schéma **67**). Le rendement non optimisé est de l'ordre 50% sur deux étapes.

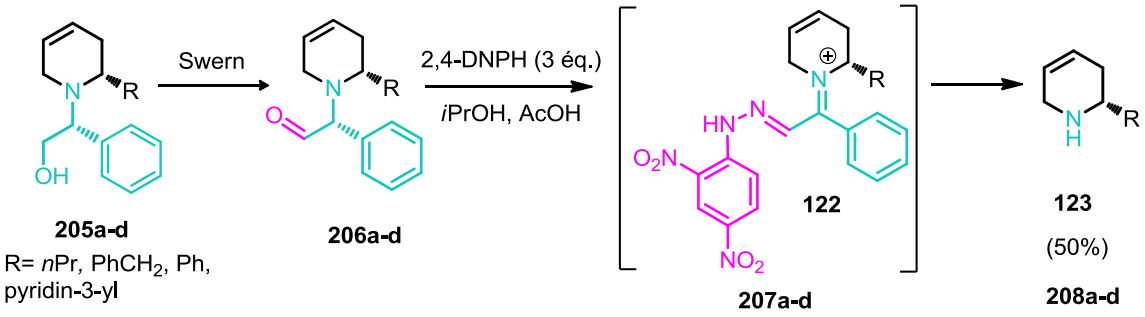


Schéma 67 Clivage par une séquence oxydation/formation d' « osazone »

4.1.5. Clivages oxydants appliqués à des amines acycliques dérivées du phénylglycinol 107

Les amino-alcools chiraux ont été largement exploités comme auxiliaires chiraux en synthèse asymétrique, notamment pour la préparation d'amines primaires énantiopures.[124] Dans le cas de la synthèse de benzylamines chirales, le clivage de la « copule» se fait généralement en conditions oxydantes. Pridgen, Vasse et Higashiyama ont montré que, parmi les différents oxydants possibles, le tétraacétate de plomb était particulièrement efficace pour cliver l'auxiliaire dans les conditions non racémisantes (Schéma **68**). [125], [126], [127], [128]

---

[122] Mehmandoust M, Marazano C, Das B C, A stereoselective route to enantiomeric 2-alkyl-1,2,3,6-tetrahydropyridines, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1185-7.
[123] Mancuso A J, Huang S-L, Swern D, Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl sulfoxide "activated" by oxalyl chloride, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480-2.
[124] Enders D, Reinhold U, Asymmetric synthesis of amines by nucleophilic 1,2-addition of organometallic reagents to the CN-double bond, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1895-1946.
[125] Pridgen L N, Mokhallalati M K, Wu M J, 1,2- vs. 1,4-addition of nucleophilic organometallics to nonracemic 2-(1-naphthyl)- and 2-cinnamyl-1,3-oxazolidines, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1237–41.
[126] Mokhallalati M K, Pridgen L N, Lead tetraacetate cleavage of chiral phenylglycinol derived secondary amines without racemization, *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 2055-64.
[127] Delaye P-O, Ahari M H, Vasse J-L, Szymoniak J, A straightforward access to pyrrolidine-based ligands for asymmetric synthesis, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2505-11.

Le mécanisme de ce clivage a été démontré par Pridgen qui a isolé et caractérisé l'intermédiaire imine **211** mais surtout l'oxazolidine **212** qui résulte du piégeage, par l'amino-alcool de départ **209,** du formaldéhyde produit au cours du clivage oxydant (Schéma **68**). La production de cette oxazolidine secondaire **212** a pu être évitée en effectuant la réaction à froid dans méthanol en piégeant le formaldéhyde sous forme d'acétal.

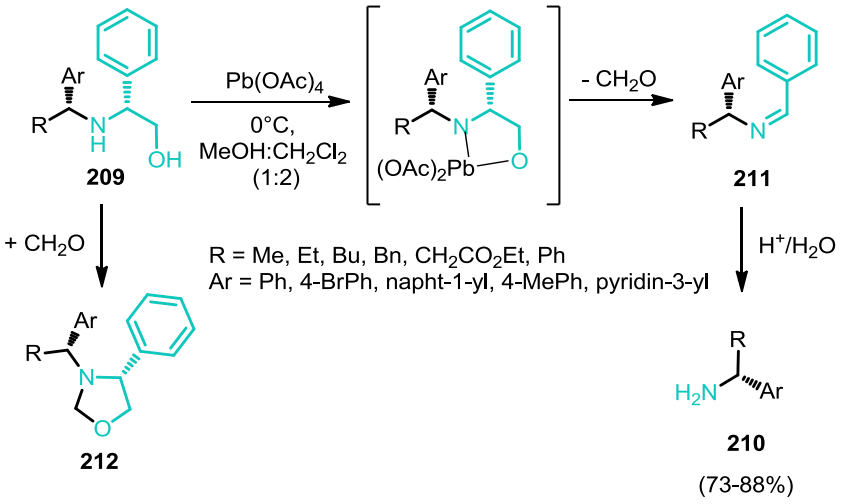


Schéma 68 Clivage par oxydation par le $Pb(OAc)_4$.

Plus récemment, Vasse *et al.* ont exploité les conditions établies par Pridgen pour la synthèse asymétriques de pyrrolidines au départ d'amines homoallyliques chirales (Schéma **69**).[125c] Vasse s'est trouvé confronté au problème de clivage du motif 2-hydroxy-1-phénéthyle au départ de substrats sensibles aux conditions classiques d'hydrogénation tels que **213.** L'utilisation du tétraacétate de plomb en présence de méthanol à basse température a permis d'isoler l'amine primaire **214** avec un rendement de 90% sans épimérisation (Schéma **69**).

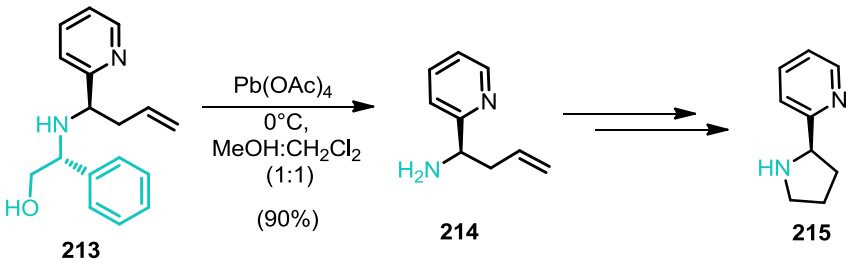


Schéma 69 Application du clivage oxydant par Vasse

[128] Higashiyama K, Inoue H, Yamauchi T, Takahashi H, Asymmetric synthesis of (1*R*,1'*R*)- and (1*S*,1'*S*)-bis(1-arylethyl)amines by way of a diastereoselective addition to chiral imines and oxaxolidines with organometallic reagents, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, 111-5.

Le recours au tétraacétate de plomb a également été décrit par Higashiyama dans le cadre de la synthèse asymétrique de bis(1-aryléthyl)amines (Schéma **70**).[125c] Dans le cas des amines tertiaires **216a-b**, des conditions non protiques ont été employées et ont permis l'accès aux amines secondaires chirales **217a-b** avec d'excellents rendements (Schéma **70**).

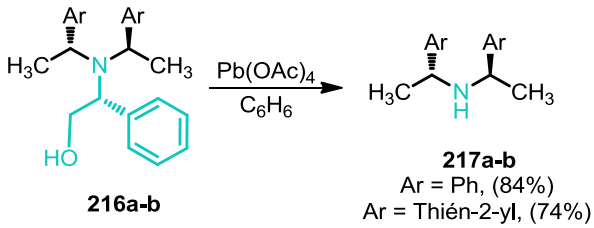


Schéma 70 Application du clivage oxydant par Higashiyama

4.2. *N*-Déprotection : résultats personnels

Au vu des travaux menés sur des structures possédant plusieurs positions benzyliques, l'équipe de Katritzky a montré les limites des stratégies de clivage par hydrogénolyse. Nous nous proposons d'évaluer la chimio- et la régio-sélectivité de ce type de clivage au départ de nos structures hybrides hétéroaromatiques. Par ailleurs, d'après les résultats obtenus par Higashiyama sur des architectures moléculaires voisines des nôtres, la méthode de Meyers de lithiation semble peu prometteuse. Aussi, nous avons choisi de privilégier des stratégies alternatives de substitution/élimination ou de clivages oxydant.

Nos premiers essais de clivage ont été réalisés en série dithiane en raison de la plus grande stabilité de l'acétal soufré par rapport à son homologue oxygéné et de la possibilité de développer des méthodes de clivages simultanés de l'acétal et de la « copule » soit par réduction soit par des séquences alkylation/hydrolyse basique.

4.2.1. Essais de clivage par hydrogénolyse : résultats préliminaires

Les *N*-débenzylations par hydrogénolyse ont été évaluées dans un premier temps sur notre dérivé 2-pyridin-3yl-pyrrolidine **173** (Schéma **71**). Comme on pouvait s'y attendre, aucune conversion n'a été observée avec les catalyseurs au palladium (Pd/C et $Pd(OH)_2/C$). Il est, en effet, connu que les dérivés soufrés sont des « poisons » des catalyseurs métalliques tel le palladium. Néanmoins, Higashiyama a récemment décrit une stratégie de clivage par

hydrogénolyse utilisant le Nickel de Raney comme agent réducteur.[129] Dans l'idée, de faire une double réduction de la fonction thiocétal et de la « copule », il nous a semblé intéressant d'exploiter le Nickel de Raney dans les conditions décrites par Higashiyama. Malheureusement, ces essais réalisés sur le composé **173** n'ont pas été concluants et un mélange complexe de produits inséparables et non caractérisables a été obtenu (Schéma **71**).

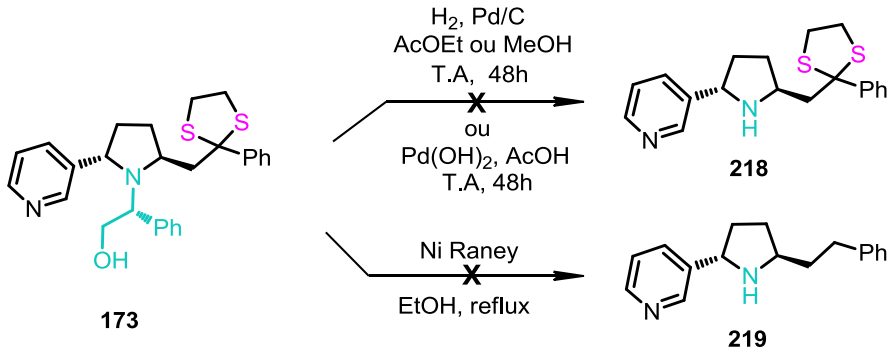


Schéma 71 Essais de clivage par hydrogénolyse en série dithiane.

Afin de limiter de potentielles réactions secondaires intramoléculaires impliquant avec la fonction alcool primaire de la « copule », nous avons protégé cette dernière par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS) (Schéma **72**). L'éther **220** a été obtenu avec un excellent rendement de 91 % dans des conditions classiques de silylation.[130,131] Les essais de réduction ont donné une fois de plus des mélanges inexploitables de composés.

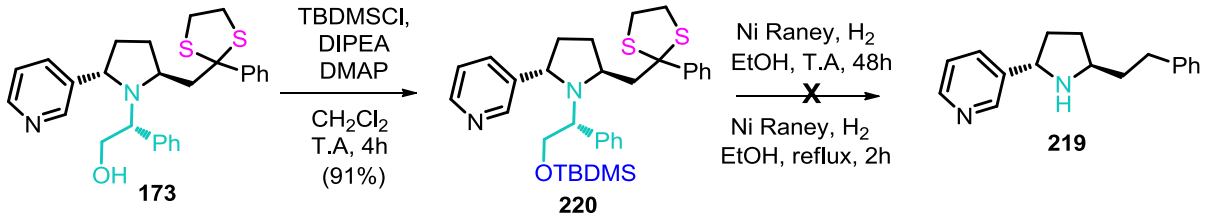


Schéma 72 Essais de clivage par hydrogénolyse au Ni de Raney en série dithiane.

La sensibilité de la pyridine à l'hydrogénation et la présence de plusieurs positions benzyliques sont sans doute à l'origine des mélanges complexes obtenus. C'est pourquoi nous n'avons pas étudié davantage cette voie et nous nous sommes tournés vers les stratégies

[129] Yamauchi T, Higawara S, Higashiyama K, Concise Total Synthesis of (-)-Deoxocuscohygrine and (-)-Dihydrocuscohygrine, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9784-7.
[130] Wuts P G M, Greene T W, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc. **1999**, 127-41.
[131] Smith A B, Kanoh N, Ishiyama H, Minakawa N, Rainier J D, Hartz R A, Cho Y S, Cui H, Moser W H, Tremorgenic Indole Alkaloids. The Total Synthesis of (−)-Penitrem D, *J. Am. Chem. Soc*. **2003**, *125*, 8228-37.

indirectes impliquant des séquences substitution/élimination ou d'oxydation/hydrolyse précédemment décrites.

4.2.2. Essais de clivage par substitution/élimination : résultats préliminaires

La séquence de substitution/élimination développée par Vernon et Fains[118] a été transposée dans un premier temps à notre substrat thiényle **172** (Schéma **73**). Le mésylate **221** est préparé *in situ* par action du chlorure de mésyle en présence de base de Hünig. Son traitement par une solution fraîchement préparée d'éthylate de sodium dans l'éthanol à température ambiante ne nous a pas permis de générer l'énamine hydrolysable **222**. Seul le produit **223** issu de la substitution nucléophile du mésyle par l'éthanolate a été obtenu avec 67% de rendement. Même si cette stratégie ne conduit pas à la pyrrolidine N*H* souhaitée **224**, elle prouve la formation du mésylate intermédiaire au cours de la première étape. Aussi, afin de favoriser la réaction d'élimination, d'autres conditions ont été explorées et le 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) a été utilisé à la place de l'éthylate de sodium. Cette base présente l'intérêt d'être non nucléophile et évite donc un risque de substitution nucléophile. Malheureusement, aucune conversion n'a été observée. De la même manière, la transposition des conditions établies par l'équipe de Couty[121] (KCN, DMSO/THF) au départ du mésylate **221** préparé *in situ* n'a pas conduit au composé **224**. Seuls des mélanges inexploitables de composés ont été obtenus.

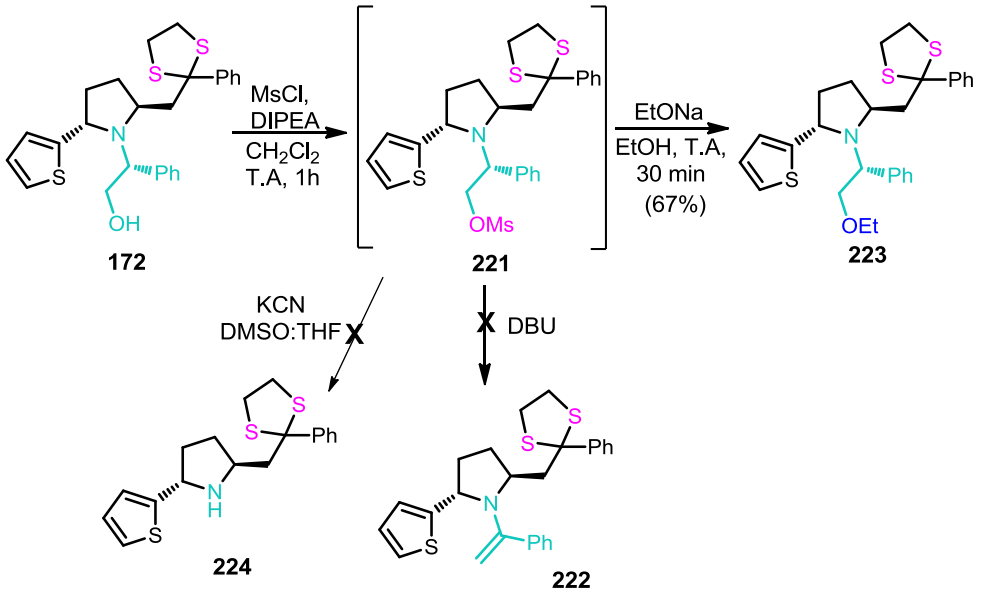


Schéma 73 Essais de clivage de « copules » en série thiocétal

4.2.3. Essais de clivage par élimination de Hofmann : résultats préliminaires

En dernier recours, la stratégie développée par Marazano[62] impliquant l'élimination de Hofmann a été évaluée en série dithiane. L'objectif recherché était d'effectuer en une seule séquence réactionnelle le clivage de la « copule », la *N*-méthylation et la déprotection de la fonction carbonyle.

Afin d'éviter toute réaction de rétro-Mannich associée à la libération de la fonction carbonylée, la fonction hydroxyle de la « copule » a été silylée comme précédemment. La quaternarisation de l'azote pyrrolidinique et la formation du méthylsulfonium ont été réalisées par addition d'un large excès d'iodure de méthyle. Après disparition du substrat de départ **220**, contrôlée par CCM, le mélange réactionnel est traité par le *tert*-butylate de potassium. A nouveau, cette réaction a conduit à un mélange complexe de produits de dégradation (Schéma **74**).

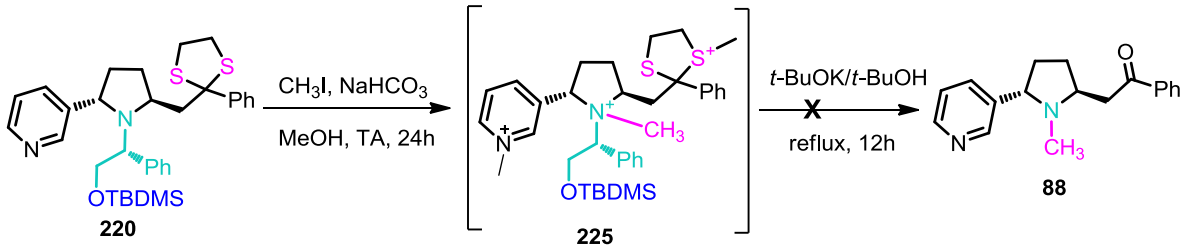


Schéma 74 Essais de déprotection globale par la méthode de quaternarisation/élimination.

Le clivage de « l'auxiliaire chiral » est plus complexe qu'il n'y parait. En effet, nos substrats sont polyfonctionnalisés, ce qui restreint les possibilités de méthodes de clivages. Nos molécules possèdent deux positions benzyliques ou équivalentes et la fonction hydroxyle de la « copule » peut favoriser une réaction de rétro-Mannich suite à la déprotection de la fonction cétone. A ces différents paramètres s'ajoute l'éventuelle instabilité de l'hétérocycle (Schéma 7**5**). Le groupement dithiane provoque l'empoissement de catalyseurs métalliques et est sensible aux électrophiles ainsi qu'aux conditions oxydantes. Aussi, les essais de clivage en conditions oxydantes ont été poursuivis en série dioxolane, au départ d'un substrat ne possédant pas, dans un premier temps, de noyau hétéroaromatique.

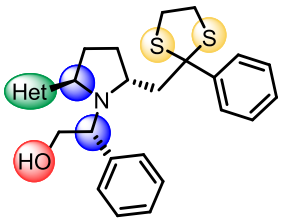


Schéma 75 Sites réactifs en série dithiane

4.2.4. Essais de clivage oxydant : études des conditions

Nous avons dans un premier temps appliqué à notre dioxolane **175** les conditions décrites par Higashiyama[82] sur les amines tertiaires (Schéma **76**). L'amino-alcool est traité par le tétraacétate de plomb dans le benzène à température ambiante. Les résultats sont très encourageants car l'analyse du brut réactionnel par CCM et RMN ^{1}H montre une conversion totale du substrat et la formation de deux produits séparables. La purification par chromatographie sur colonne sur gel de silice permet d'isoler le produit de clivage **226**. Ce dernier est malheureusement obtenu avec un rendement modeste de 34% et s'avère être le produit minoritaire de la réaction. Quant au produit majoritaire **227**, isolé avec 44% de rendement, son élucidation structurale s'est avérée particulièrement difficile et fastidieuse. **227** est une pyrroline acétylée en position 3. Celle-ci est issue du clivage de la « copule » puis de l'oxydation de la pyrrolidine et enfin de l'acétylation en α de la fonction imine (Schéma **76**).

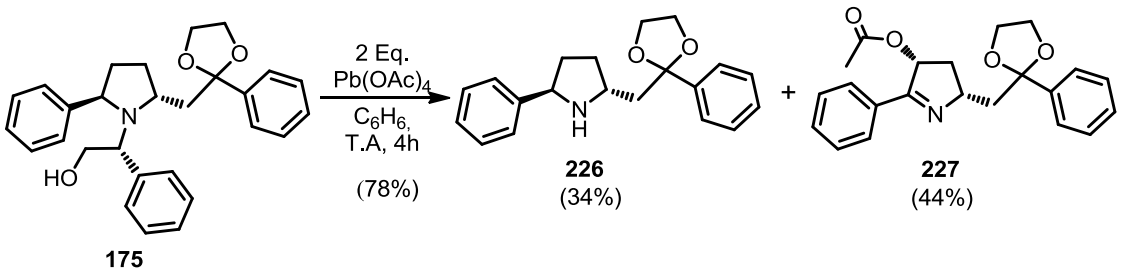


Schéma 76 Clivage par $Pb(OAc)_4$ en série dioxolane

La réaction a été reproduite en solvant deutéré et suivie par RMN ^{1}H et CCM. On constate alors la formation majoritaire et rapide du produit d'acétylation **227**. Selon Pridgen,[125] le clivage de la « copule » issue du phénylglycinol **107** nécessiterait un seul équivalent de tétraacétate de plomb or dans les conditions de Higashiyama, deux équivalents sont utilisés. Aussi, avons-nous fait varier la quantité de tétraacétate de plomb. Lorsqu'un large excès (3,15

éq.) de tétraacétate de plomb est utilisé, la réaction est rapide et conduit exclusivement au composé d'oxydation **227** diastéréomèriquement pur avec un excellent rendement de 85% (Schéma **77**).

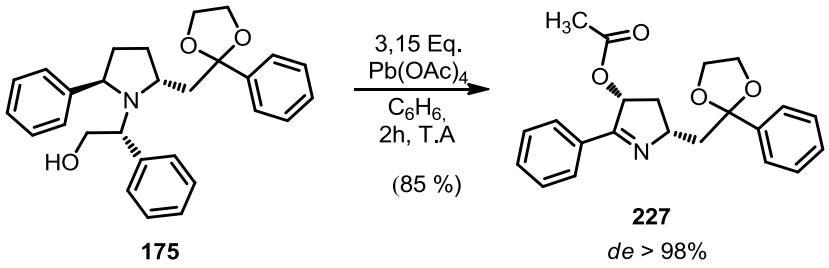


Schéma 77 Synthèse de la pyrroline 227 par oxydation au $Pb(OAc)_4$.

Sur la base des résultats obtenus, nous avons tenté de rationaliser la formation de la pyrroline **227** en proposant un mécanisme (Schéma **78**). Le premier équivalent de tétraacétate de plomb conduirait, comme décrit par Pridgen, à la formation de l'acétate d'iminium **228** par oxydation du motif aminoalcool engendrant la perte de formaldéhyde. Cet iminium réagirait avec un second équivalent de $Pb(OAc)_4$ pour former le complexe de plomb **231** après clivage du substituant benzylique, éliminé sous forme de benzylidènediacétate. Ce dernier se évoluerait ensuite par β-élimination en l'imine **232** qui réagirait rapidement avec le troisième équivalent de $Pb(OAc)_4$ pour former l'énamine **234** chélaté au plomb. Ce dernier complexe se réarrangerait par transfert intramoléculaire d'acétate conduisant au produit d'acétylation **227**. Cette proposition de mécanisme expliquerait les proportions des produits obtenus lors de la réaction d'oxydation. En présence de 3 équivalents de $Pb(OAc)_4$, la pyrroline acétylée **227** est obtenue exclusivement. En présence de 2 équivalents de $Pb(OAc)_4$, un équivalent est consommé pour l'oxydation de la copule et former **228**, le second équivalent transforme 0.5 équivalent de l'iminium **228** en pyrroline acétylée **227**. De même, le fait qu'un seul diastéréoisomère soit formé est en faveur d'un transfert intramoléculaire d'acétyle.

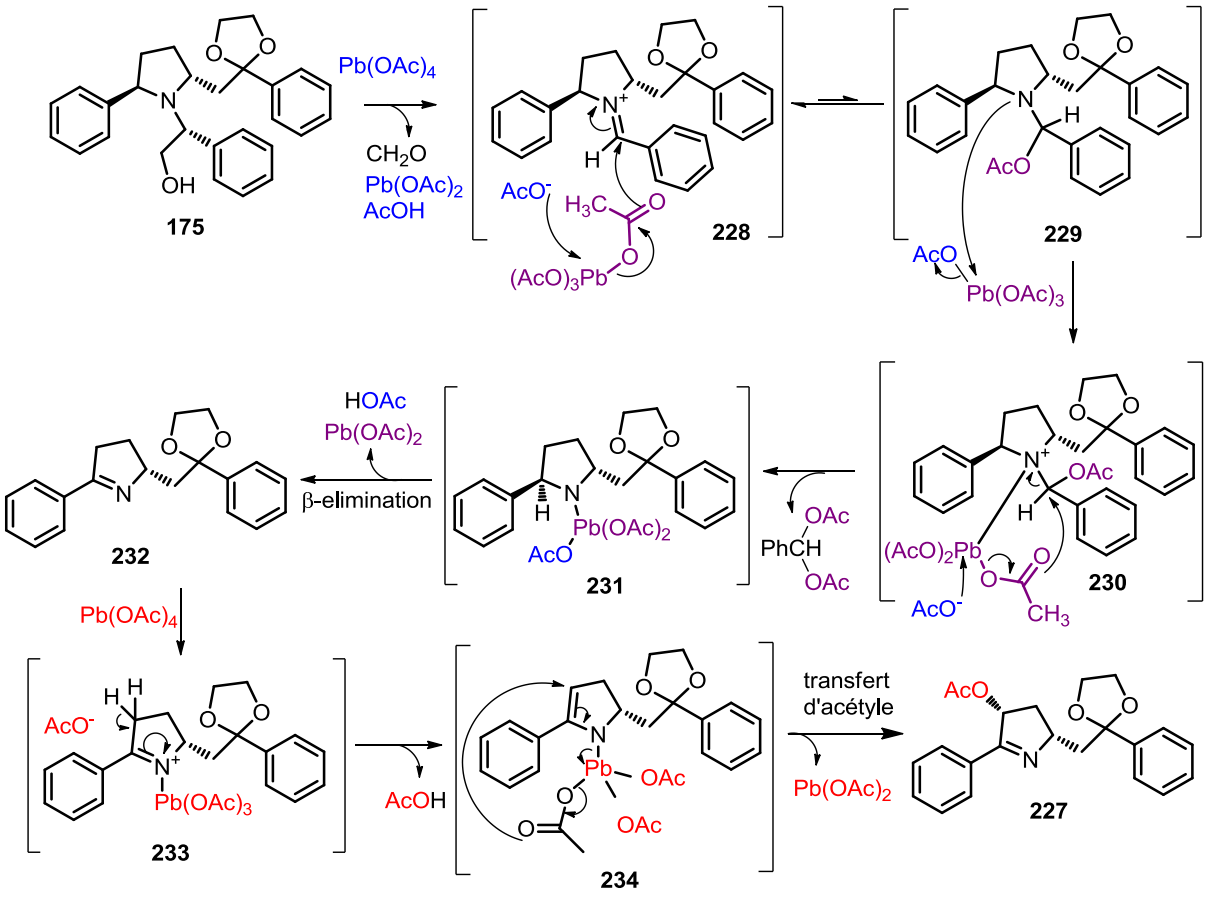


Schéma 78 Mécanisme proposé pour la formation du composé 227

En effet, le tétraacétate de plomb est déjà connu pour sa capacité à induire la formation de produits d'α-acétylation au départ éthers d'énol silylés (Schéma **79**).[132,133] Aussi, notre proposition de mécanisme en série azotée s'avère plausible par une analogie entre l'éther d'énol **151** et l'énamine **149** potentiellement formée (Schéma **79**).

[132] Rubottom G M, Grube J M, Kincaid K, Lead Tetraacetate Oxidation of Trimethylsilyl Enol Ethers: Synthesis of Aryl Substituted Phenacyl Acetates, *Synth. Commun*., **1976**, *6*, 59-62.
[133] Rubottom G M, Juve H D, Oxidation of enol silyl ethers: preparation of aeginetolide, dihydroactinidiolide, and actinidiolide, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 422-5.

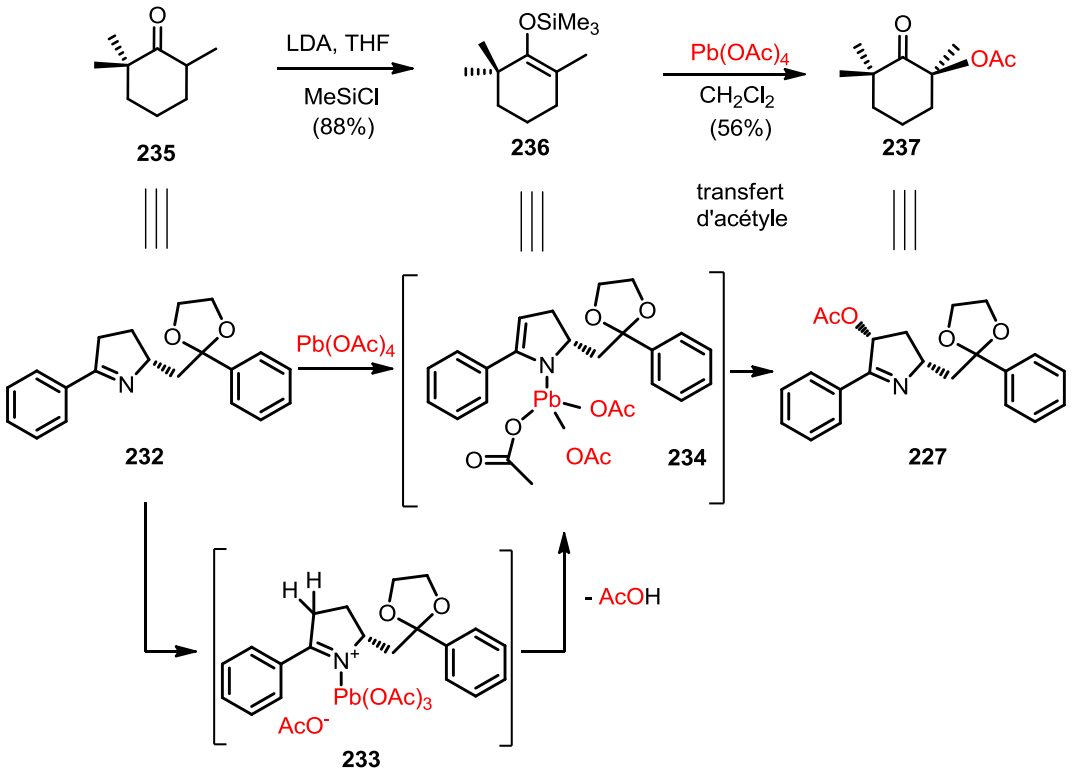


Schéma 79 Analogie entre l'acétylation d'éthers d'énol silylés et de pyrroline

Par conséquent, l'utilisation d'une quantité stœchiométrique de tétraacétate de plomb dans des conditions réactionnelles protiques devrait limiter la formation de la pyrroline acétylée **227** et ne privilégier que la formation la pyrrolidine « débenzylée » **226**. Aussi, avons nous appliqué les conditions expérimentales de Pridgen : notre dioxolane **175** a été traité à 0°C par un léger excès de tétraacétate de plomb (1,3 éq.) dans un mélange 1:1 méthanol-dichlorométhane (Schéma **80**). Dans ces conditions, la 1*H*-pyrrolidine **226** a été isolée avec un excellent rendement de 96% sous la forme d'un seul distéréoisomère 2,5-*anti*.

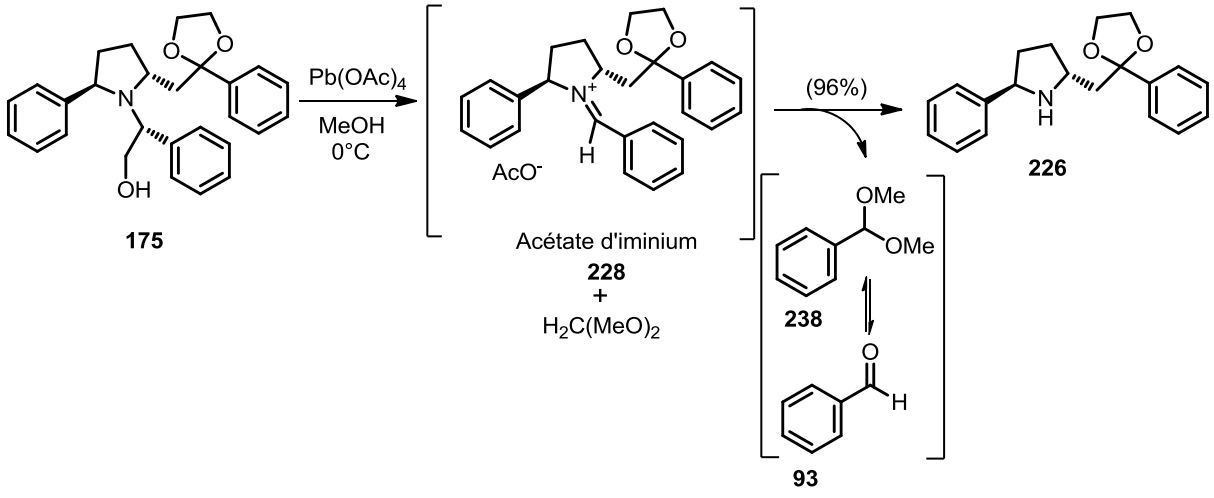


Schéma 80 Déprotection en utilisant les conditions de Pridgen

De même, ces deux conditions de clivage, différant par la quantité de tétraacétate de plomb employée et la nature protique du milieu réactionnel, ont été transposées avec succès à la pyrrolidine **180** substituée par la 2-chloropyridine (Schéma **81**). En effet, la pyrroline acétylée **239** et la pyrrolidine NH **240** ont été obtenues avec de bons rendements sous la forme d'un seul diastéréoisomère dont la configuration relative a été confirmée par nOesy.

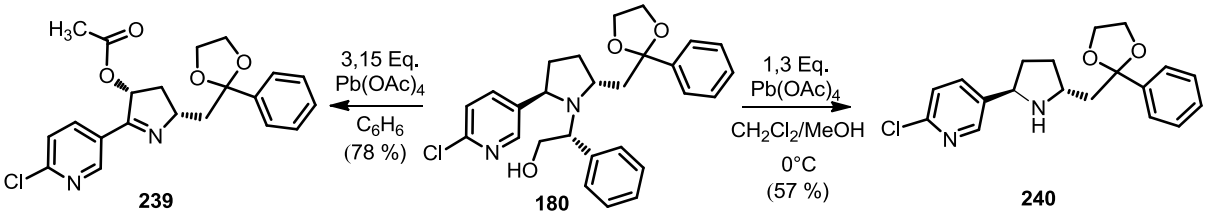


Schéma 81 Clivage oxydant de la pyrrolidine 180 par le $Pb(OAc)_4$

L'introduction de diversité moléculaire au niveau de l'aryle semble être compatible avec les deux conditions de clivage oxydant par le $Pb(OAc)_4$, donnant ainsi accès à deux familles de molécules différant par la nature de leur plateforme hétérocyclique, pyrrolidine ou 3-acétyl-pyrroline. Ces dernières structures présentent un potentiel pharmacologique intéressant compte tenu des fragments qui les composent. En effet, une similarité avec l'acétylcholine peut être remarquée (Schéma **82**). Ils constituent ainsi une nouvelle famille d'analogues contraints de l'acétylcholine **39**. Nous verrons dans la suite du manuscrit comment ces structures originales peuvent conduire à des composés que l'on pourrait décrire comme des « chimères moléculaires » car elles résultent de la fusion de plusieurs produits naturels actifs sur les récepteurs nicotiniques.

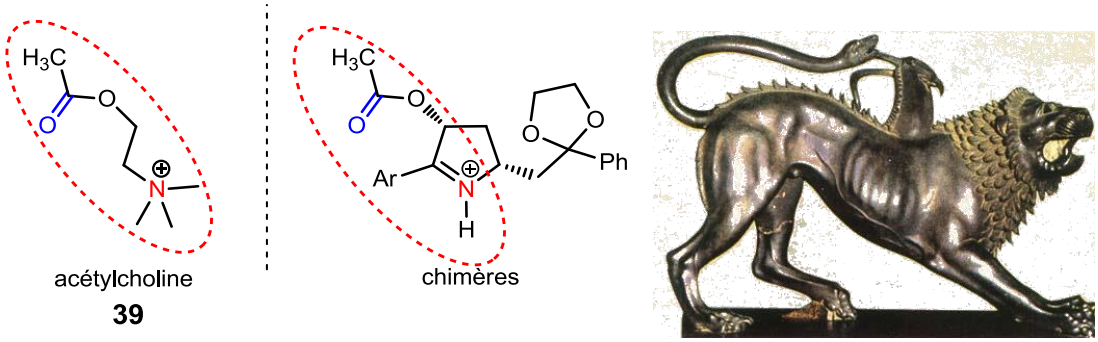


Schéma 82 Analogie structurale des 3-acétyl-pyrroline avec l'acétylcholine

4.3. Les grandes stratégies de *N*-méthylation

Les réactions de *N*-méthylation ont été largement étudiées en synthèse organique et de nombreuses méthodes sont décrites dans la littérature. Aussi, nous nous contenterons d'illustrer trois grandes classes de *N*-méthylation d'hétérocycles saturés à 5 ou 6 chainons, à savoir, l'alkylation directe, la réduction de carbamate et l'amination réductrice.

4.3.1. Méthylation par alkylation directe

Les agents électrophiles de méthylation permettent d'alkyler différents hétéroatomes N, O ou S. Nous avons précédemment présentés deux de ces agents de méthylation fréquemment employés dans la quaternarisation d'amine tertiaire : l'iodométhane et le tétrafluoroborate de diphénylméthylsulfonium (Schéma **83**).[62]

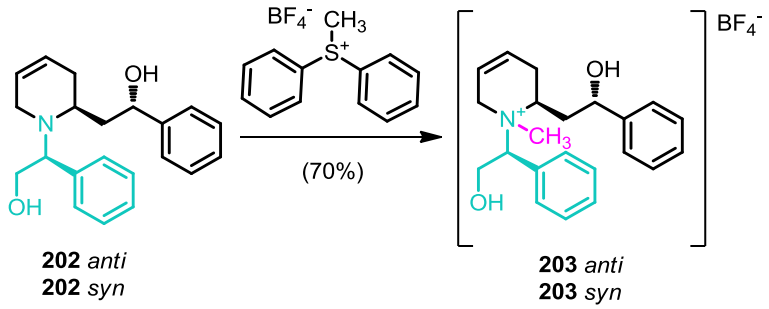


Schéma 83 *N*-Méthylation par le *S*-méthyl-diphénylsulfonium.

Dans notre cas, une méthylation directe pourrait conduire à des mélanges d'amines tertiaires et quaternaires *N*-méthylées.

4.3.2. Méthylation par réduction de carbamates

Au cours de la synthèse totale de la (+)-sédamine **244** et de la (+)-allosédamine **242**, A. Couture et ses collaborateurs ont décrit la préparation des *N*-méthylpipéridines **242** et **244** par une réduction du groupement protecteur Boc par $LiAlH_4$ et ce, avec de bons rendements (Schéma **84**).[134]

[134] Lebrun S, Couture A, Deniau E, Grandclaudon P, Stereoselective asymmetric synthesis of (+)-sedamine and (+)-allosedamine, *Chirality*, **2010**, *22*, 212-6.

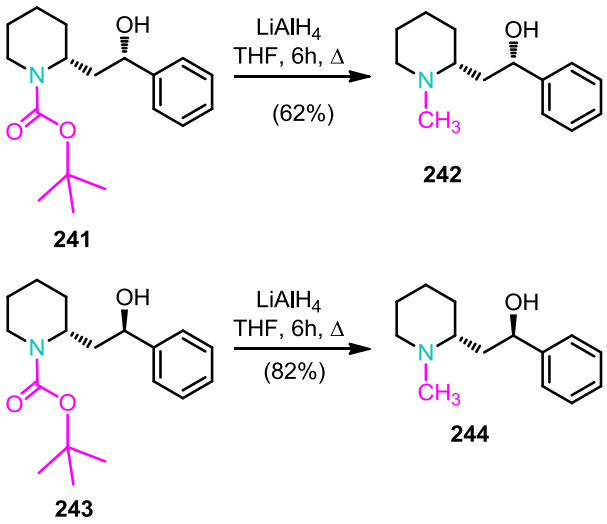


Schéma 84 *N*-Méthylation par réduction de carbamate de *tert*-butyle

De manière similaire, l'équipe de Lebreton[61] achève la synthèse des hybrides de lobéline **46** et de nicotine **38** par une étape de *N*-méthylation. Cette dernière procède par la réduction du carbamate bicyclique **(±)-104** formé transitoirement en traitant la pipéridine **(±)-103** par le carbonyldiimidazole (CDI) (Schéma **85**). La pipéridine *N*-méthylée **(±)-77** est isolée avec un rendement de 68% sur deux étapes.

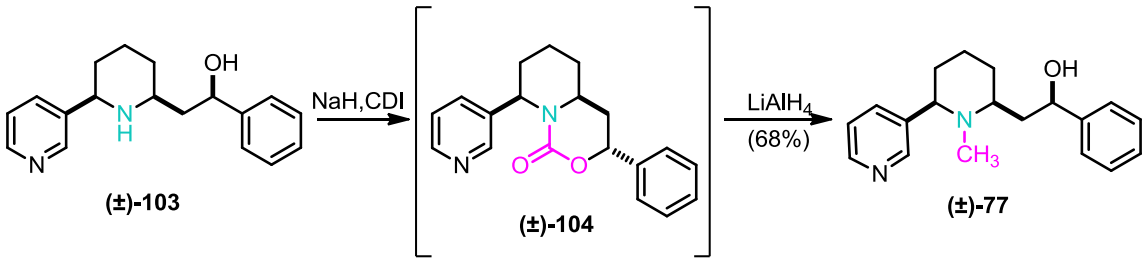


Schéma 85 *N*-Méthylation par réduction de carbamate cyclique.

4.3.3. Méthylation par amination réductrice

Les aminations réductrices mettent en jeu une amine et un dérivé carbonylé, ici le formaldéhyde, en présence d'un agent réducteur.[135,136] Historiquement, Eschweiler et Clarke ont réalisé les premières réactions de *N*-méthylation par amination réductrice en condensant

[135] Veeraraghavan Ramachandran P, Gagare P D, Sakavuyi K, Clark P, Reductive amination using ammonia borane, *Tertahedron Lett.* **2010**, *51*, 3167-9.
[136] Harding J R, Jones J R, Lu S-Y, Wood R, Development of a microwave-enhanced isotopic labelling procedure based on the Eschweiler–Clarke methylation reaction, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9487-9488.

une amine secondaire au formaldéhyde à chaud dans l'acide formique (Schéma **86**).[137,138] L'iminium intermédiairement formé est alors réduit par décomposition thermique de l'acide formique (Schéma **86**).

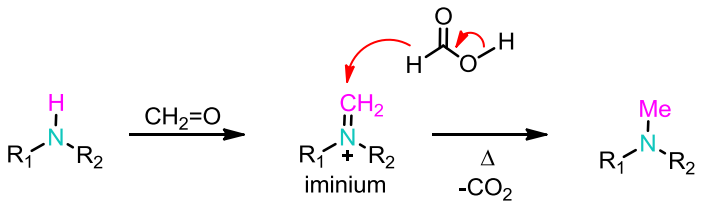


Schéma 86 Réaction d'Eschweiler-Clarke.

Depuis les travaux pionniers d'Eschweiler et Clarke, d'autres agents de réduction de l'intermédiaire iminium ont été utilisés pour répondre à des contraintes de chimiosélectivité, de stabilité ou de stratégie de synthèse. La réduction par catalyse hétérogène est ainsi fréquemment employée et a montré son efficacité sur une grande diversité de substrats. Chen et collaborateurs ont montré que l'amination réductrice par hydrogénation catalytique était particulièrement efficace et compatible avec des substrats pyrrolidiniques hautement fonctionnalisés possédant un substituant benzylique et ce, même en présence du catalyseur de Pearlman (Schéma **65**).[139] On peut également citer, comme exemple, les travaux de Jacques Lebreton sur la synthèse totale d'alcaloïdes issus du tabac du genre *Nicotina tabacum*.[140]

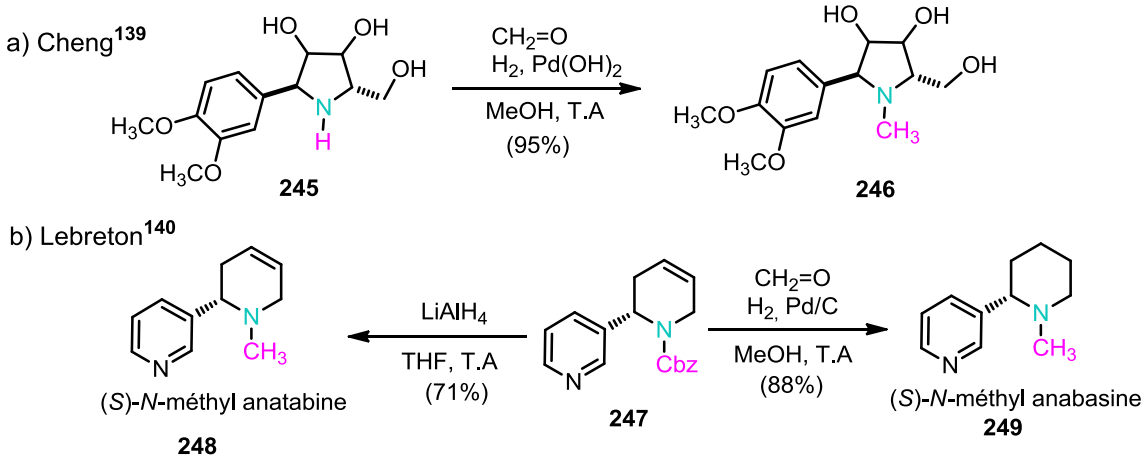
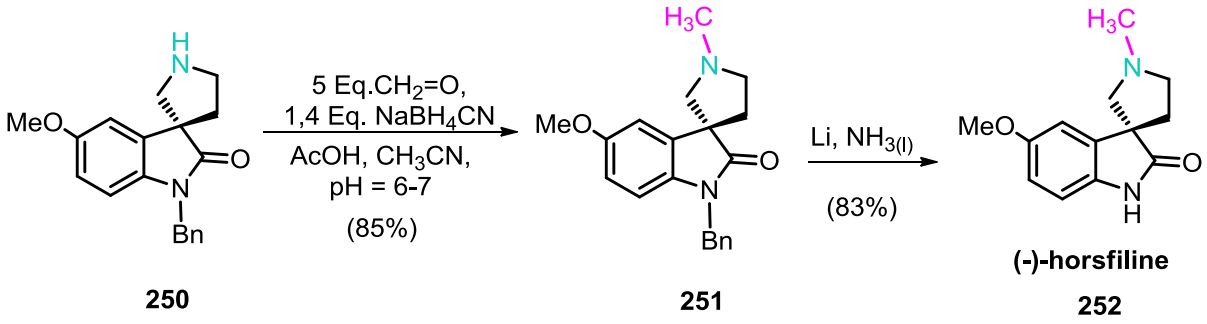


Schéma 87 *N*-Méthylation par amination réductrice par hydrogénation catalytique

[137] Eschweiler W, *Chem. Ber*. **1905**, *38*, 880.
[138] Clarke H T, Gillespie H B, Weisshaus Z, *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, *55*, 4571-87.
[139] Tsou E-L, Chen S-Y, Yang M-H, Wang S-C, Cheng T-R R, Cheng W-C, Synthesis and biological evaluation of a 2-aryl polyhydroxylated pyrrolidine alkaloid-based library, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *18*, 10198-204.
[140] Felpin F-X, Girard S, Vo-Thanh G, Robins R J, Villiéras J, Lebreton J, Efficient enantiomeric synthesis of pyrrolidine and piperidine alkaloids from tobacco, *J. Org. Chem*. **2001**, *66*, 6305-12.

La *N*-méthylanatabine **248** et la *N*-méthylanabasine **249** ont été préparées au départ d'un précurseur commun, la tétrahydro[2,3']bipyridine **247** *N*-protégée par un groupement benzylcarbamate (Schéma **87**). La réduction du carbamate par le LAH permet de conserver l'insaturation de l'anatabine, alors que l'amination réductrice sous atmosphère d'hydrogène en présence de palladium sur charbon permet en une étape et avec un excellent rendement d'induire de la *N*-déprotection puis de façon concomitante la *N*-méthylation et la réduction de l'insaturation endocyclique. Les hydrures métalliques sont également largement employés dans les réactions d'amination réductrice. Ainsi, lors de la synthèse totale de la (-)-horsfiline **252**, K. Fuji *et al*. montrent que les conditions acides d'Eschweiler-Clarke (HCO_2H, CH_2=O, reflux) appliquées à l'oxindole **250** induisent une racémisation de spiropyrrolidine **251** (Schéma **88**).[141] L'application de conditions plus douces d'amination réductrice utilisant le cyanoborohydrure de sodium à pH neutre permet d'accéder à la *R*-(-)-horsfiline avec un excellent rendement et rétention de configuration (Schéma **88**).



250 **251** **(-)-horsfiline** **252**

Schéma 88 *N*-Méthylation par amination réductrice par les hydrures métalliques

4.4. *N*-Méthylation de pyrrolidines 2,5-*trans*-disubstituées: résultats personnels

Afin de maintenir une stratégie de synthèse de nos séries d'hybrides qui soit divergente mais la plus économe possible, la voie de réduction des carbamates n'a pas été retenue parmi les méthodes de N-méthylation. De même, comme nous envisageons de faire varier la nature de l'hétérocycle aromatique de la pyrrolidine et afin d'éviter l'éventuelle quaternarisation des fonctions azotées, l'utilisation d'agents électrophiles de méthylation n'a pas été envisagée. Aussi, avons nous opté pour la *N*-méthylation des pyrrolidines par amination réductrice. L'hydrogénation catalytique ayant par ailleurs prouvé son inefficacité par son manque de

[141] Lakshmaiah G, Kawabata T, Shang M, Fuji K, Total synthesis of (-)-horsfiline via asymmetric nitroolefination, *J. Org. Chem*. **1999**, *64*, 1699-704.

sélectivité sur nos composés lors des essais de clivage de la « copule », nous avons opté pour l'utilisation d'hydrures métalliques comme agent réducteur. Parmi les borohydrures, le cyanoborohydrure de sodium est connu pour être sélectif et pour réduire aisément les iminiums.[142,143]

Les premiers essais de *N*-méthylation en présence de cyanoborohydrure de sodium ont été réalisés sur notre pyrrolidine modèle **226** dans des conditions classiques (Schéma **89**). Le traitement de **226** par un large excès de formaldéhyde en présence de cyanoborohydrure de sodium conduit à la pyrrolidine 2,5-*trans*-disubstituée *N*-méthylée **254** avec un excellent rendement de 76%. Aucune épimérisation du substrat n'a été observée.

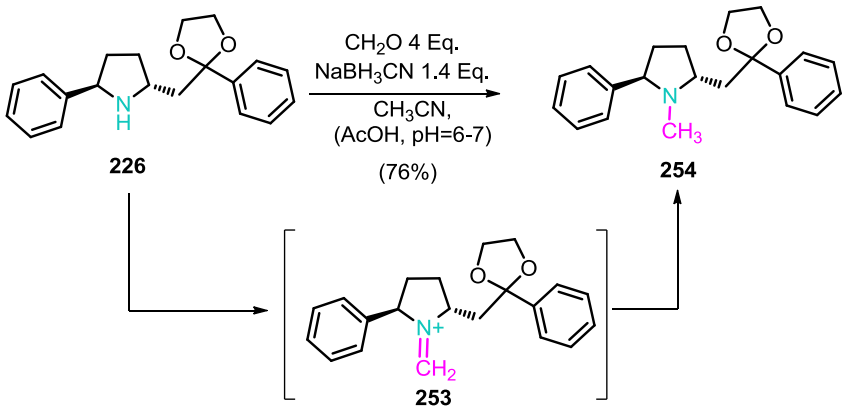


Schéma 89 *N*-Méthylation par amination réductrice de la pyrrolidine 226.

Ces conditions classiques de *N*-méthylation ont ensuite été étendues à l'hybride pyridinique **240** (Schéma **90**). La *N*-méthyl-pyrrolidine **255** a été obtenue avec un excellent rendement d'environ 85%. Là encore, la configuration 2,5-*trans* de la pyrrolidine est conservée et aucun produit d'épimérisation n'a été observé.

La méthylation de nos pyrrolidines par amination réductrice en présence de cyanoborohydrure de sodium s'étant révélée efficace, nous n'avons pas jugé nécessaire d'étudier d'autres conditions de *N*-méthylation et avons poursuivi notre stratégie par la déprotection de la fonction carbonyle.

[142] Lane C F, Sodium Cyanoborohydride - A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups, *Synthesis* **1975**, 135-46.
[143] Dardonville C, Brun R, Bisguanidine, Bis-(2-aminoimidazoline), and Polyamine Derivatives as Potent and Selective Chemotherapeutic Agents against Trypanosoma brucei rhodesiense. Synthesis and *in Vitro* Evaluation, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2296-307.

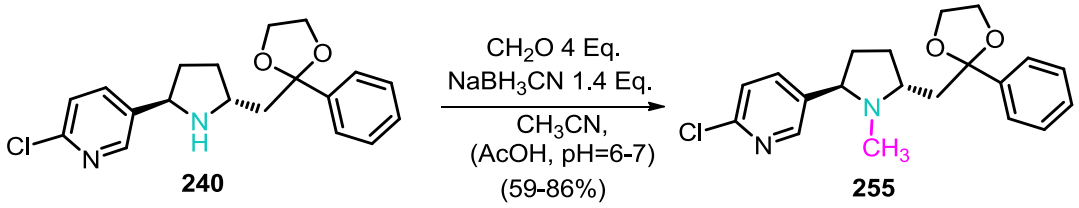


Schéma 90 *N*-méthylation par amination réductrice de la pyrrolidine 240

4.5. Déprotection de la fonction cétone : rappels bibliographiques

Comme précédemment pour l'étape de *N*-méthylation, la bibliographie concernant les méthodes de déprotection de fonction carbonyle protégée sous forme de cétal est très riche. Aujourd'hui encore, le clivage de cétal fait l'objet d'études méthodologiques. Là encore nous ne ferons pas une revue exhaustive de la littérature et nous nous limiterons à la déprotection de cétones protégées sous forme de cétal cyclique. En règle générale, les acétals sont des groupements protecteurs relativement sensibles. Toutefois, les acétals et les cétals cycliques sont connus pour être plus robustes que leurs homologues acycliques (Schéma **91**).[144]

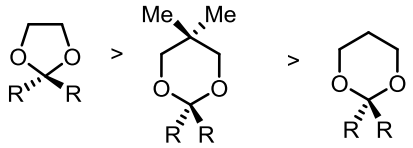


Schéma 91 Stabilité relative des cétals cycliques

Dans ce rappel bibliographique, nous ne ferons qu'illustrer les trois grandes stratégies de clivage de cétals cycliques, à savoir, les hydrolyses en présence d'acides de Brønsted ou de Lewis et les réactions de transcétalisation.

4.5.1. Hydrolyse en présence d'acide de Brønsted

On peut de nouveau citer les travaux de Marazano sur la synthèse énantiosélective de la (-)-lobéline **46** (Schéma **92**).[62] La synthèse totale s'achève par la déprotection du dioxolane **256** dans des conditions acides et à reflux. Néanmoins, par cette méthode, Marazano ne peut s'affranchir de l'épimérisation du motif β-aminocétone libéré par un mécanisme de rétro-

[144] Wuts P G M, Greene T W, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., **2006**, p. 431-532.

Michael. La lobéline **46** est obtenue sous la forme d'un mélange équimolaire de deux diastéréoisomères *cis*/*trans*.

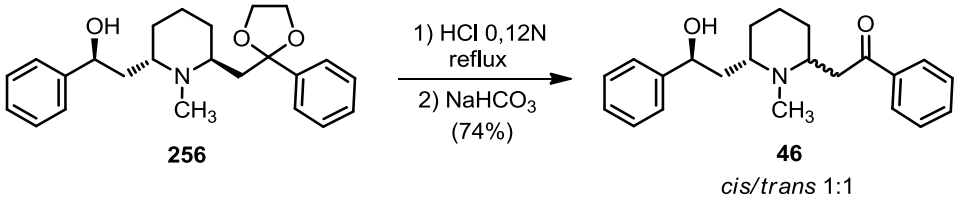


Schéma 92 Hydrolyse acide du dioxolane de la lobéline

4.5.2. Hydrolyse en présence d'acide de Lewis

Les acides de Lewis peuvent également permettre de cliver sélectivement des acétals.[145] Dans de ce contexte, István Markó *et al.* ont développé une méthode catalytique de déprotection chimiosélective d'acétals (Schéma **93**).[146] Cette méthode se fait dans des conditions douces en utilisant une quantité catalytique de cérium ammonium nitrate (CAN) et tolère une grande diversité de groupements fonctionnels. Les études mécanistiques sont en faveur de la participation de sels de Ce^{IV} en tant qu'acide de Lewis oxophile et non en tant qu'espèce oxydante. Parmi les substrats étudiés, nous avons choisi d'illustrer cette méthode par le cétal **257**. Ce dernier est déprotégé avec un excellent rendement de 96% en dérivé carbonylé **258**. Ces conditions sont de plus, non épimérisantes. Notons, tout de même, qu'à notre connaissance, il n'existe pas de méthode de déprotection catalysée par des acides de Lewis sur des substrats possédant un azote basique comme dans le cas de nos structures hétérocycliques.

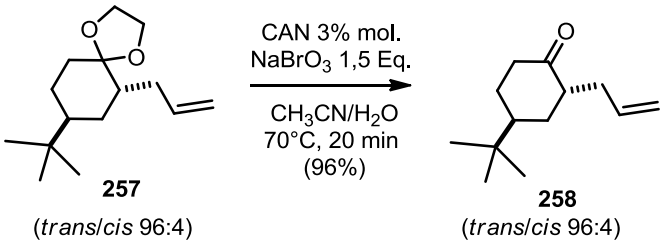


Schéma 93 Clivage d'acétal par le cérium ammonium nitrate.

[145] Ribes C, Falomir E, Murga J, Selective cleavage of acetals with $ZnBr_2$ in dichloromethane, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 1239-44.
[146] Ates A, Gautier A, Leroy B, Plancher J-M, Quesnel Y, Vanherck J-C, Markó I E, Mild and chemoselective catalytic deprotection of ketals and acetals using cerium(IV) ammonium nitrate, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8989-99.

4.5.3. Déprotection par transacétalisation

La formation et l'hydrolyse de l'acétal sont des réactions en équilibre. Par l'ajout d'une autre cétone en très large excès, il est possible de déprotéger un carbonyle par une réaction de transacétalisation (Schéma **94**). Généralement, les réactions se font dans l'acétone qui sert à la fois de solvant et de réactif. Elles requièrent, de plus, la présence d'un catalyseur qui peut être à nouveau un acide de Lewis.[147] Ainsi, Hu et collaborateurs ont décrit une méthode chimiosélective de déprotection de cétals et d'acétals cycliques ou acycliques par transcétalisation catalysée par l'iode moléculaire dans l'acétone.[148] Dans ces conditions, l'acétal **259** est déprotégé par transfert d'éthylène glycol sur l'acétone présente en large excès. La bicyclononanone **260** est alors obtenue avec d'excellents rendements. La réaction est accélérée par chauffage : 45 minutes à température ambiante contre 5 minutes à reflux de l'acétone. Les micro-ondes peuvent également être utilisées comme mode d'activation des réactions de transacétalisations.[149]

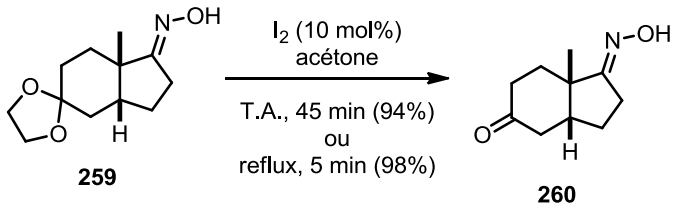


Schéma 94 Déprotection par transacétalisation

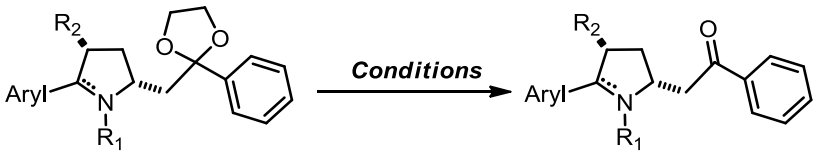
4.6. Déprotection de la fonction carbonyle : résultats personnels

Afin d'obtenir une méthode de déprotection compatible avec l'ensemble de nos substrats (pyrrolidines -hybrides et pyrrolines -chimères), différentes conditions de déprotection de cétals ont été étudiées. Les premiers essais ont été réalisés dans des conditions classiques de déprotection en milieu acide aqueux (Tableau **13** - entrée **1**).

Dans un mélange THF/ HCl 0,6 N, la conversion du cétal de la pyrrolidine (+)-**254** n'est que de 50% et la cétone correspondante est isolée avec un rendement très modeste de 23%. Du fait du temps prolongé de cette réaction (3 jours), on observe de manière concomitante à la déprotection de la cétone, la dégradation du produit de départ (Tableau **13** - entrée **1**).

[147] Gregg B T, Golden K C, Quinn J F, Indium(III)trifluoromethanesulfonate as an efficient catalyst for the deprotection of acetals and ketals, *J. Chem. Org.* **2007**, *72*, 5890-3.
[148] Sun J, Dong Y, Cao L, Wang X, Wang S, Hu Y, Highly Efficient Chemoselective Deprotection of O,O-Acetals and O,O-Ketals Catalyzed by Molecular Iodine in Acetone, *J. Org. Chem*. **2004**, *69*, 8932-34.
[149] He Y, Johansson M, Sterner O, Mild microwave-assisted hydrolysis of acetals under solvent-free conditions, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 4153-8.

Aussi, avons nous fait varier les conditions de réactions en jouant sur la dilution et sur la température de réaction. Les meilleurs résultats ont été obtenus à reflux dans une solution THF/HCl 0,012 N : la (2*R*,5*R*)-2-phényl-5-phénacylpyrrolidine **176** a été isolée avec un rendement plus élevé de 54% (Tableau **13 –** entrée **2**). Néanmoins, cette méthode n'a pas été transposable à nos structures chimériques pyrrolines. Ces dernières se sont révélées instables dans ces conditions, sans doute par hydrolyse de la fonction imine. Afin d'éviter les phénomènes de dégradation, nous avons tenté d'écourter le temps réactionnel et de travailler à température ambiante en modifiant la nature de l'acide. Nous avons appliqué, à nos pyrrolines **254** et **255**, les conditions d'hydrolyse développées par Huang et Yang qui utilise une solution THF/TFA 0,5 N (Tableau **13** - entrée **3**).[150] Aisni, les cétones correspondantes **261**, **262**, **263** et **264** ont été isolées avec d'excellents rendements (Tableau **13** - entrées **3** à **9**).



Entrée	Substrat	R_1	R_2	Aryl	Conditions	Conv.	Rdt (*dr*)	Produit
1	**(+)-254**	Me	H	Phényl	THF/HCl 0,6N à T.A, 3j	50%	23%	**(+)-2*R*-261**
2	**(+)-254**	Me	H	Phényl	THF/HCl 0,012N à reflux, 0,5h	100%	54%	**(+)-2*R*-261**
3	**(+)-254**	Me	H	Phényl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	74%	**(+)-2*R*-261**
4	**(-)-227**	-	OAc	Phényl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	69% (1:1)	**5*R*-262**
5	**(+)-227**	-	OAc	Phényl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	86% (1:1)	**5*S*-262**
6	**(-)-239**	-	OAc	2-Cl-pyridin-5-yl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	82% (1:1)	**5*R*-263**
7	**(+)-239**	-	OAc	2-Cl-pyridin-5-yl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	92% (1:1)	**5*S*-263**
8	**(-)-255**	Me	H	2-Cl-pyridin-5-yl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	88%	**(-)-2*S*-264**
9	**(-)-254**	Me	H	Phényl	TFA aq.50% Acetone, 75°C, 2h	100%	76%	**(-)-2*S*-261**

Tableau 13 Étude des conditions de déprotection des cétals.

[150] Yang R-F, Huang P-Q, Studies towards an enantioselective total synthesis of sarain A: a concise asymmetric construction of the diazatricyclic core, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 10319-10322.

Contrairement à ce que Marazano a observé dans le cas de la lobéline **46**, l'hydrolyse du dioxolane au départ des pyrrolidines **254** et **255** n'engendre pas d'épimérisation. Les pyrrolidines de configuration 2,5-*trans* **261** et **264** ont été isolées et caractérisées. Ces résultats confirment encore une fois la plus grande stabilité configurationnelle des cycles à 5 chaînons contrairement à leurs homologues à 6 chaînons.[64] Concernant les structures pyrrolines, les cétones **262** et **263** sont obtenues sous la forme d'un mélange équimolaire de deux diastéréoisomères. Cette épimérisation est vraisemblablement due à un équilibre imine-énamine dans les conditions réactionnelles et donc à une épimérisation du centre C-3 acétylé. La détermination structurale des deux diastréoisomères a pu être réalisée grâce à la RMN à deux dimensions. Néanmoins, les corrélations nOesy n'ont pas permis de déterminer sans ambiguïté la configuration relative de chaque diastéréoisomère : aucune corrélation n'est observée entre les protons H-3 et H-5 quel que soit le diastéréoisomère considéré. Néanmoins, on note, sur le spectre de RMN ^{1}H, des valeurs de constantes de couplage et des formes de signaux (dd *vs* ddd) différents correspondants au proton H-3 de chacun des diastéréoisomères. (Figure 32) L'origine de la multiplicité particulière du ddd s'explique par une constante en W caractéristique du composé 3-5 *cis*.[151]

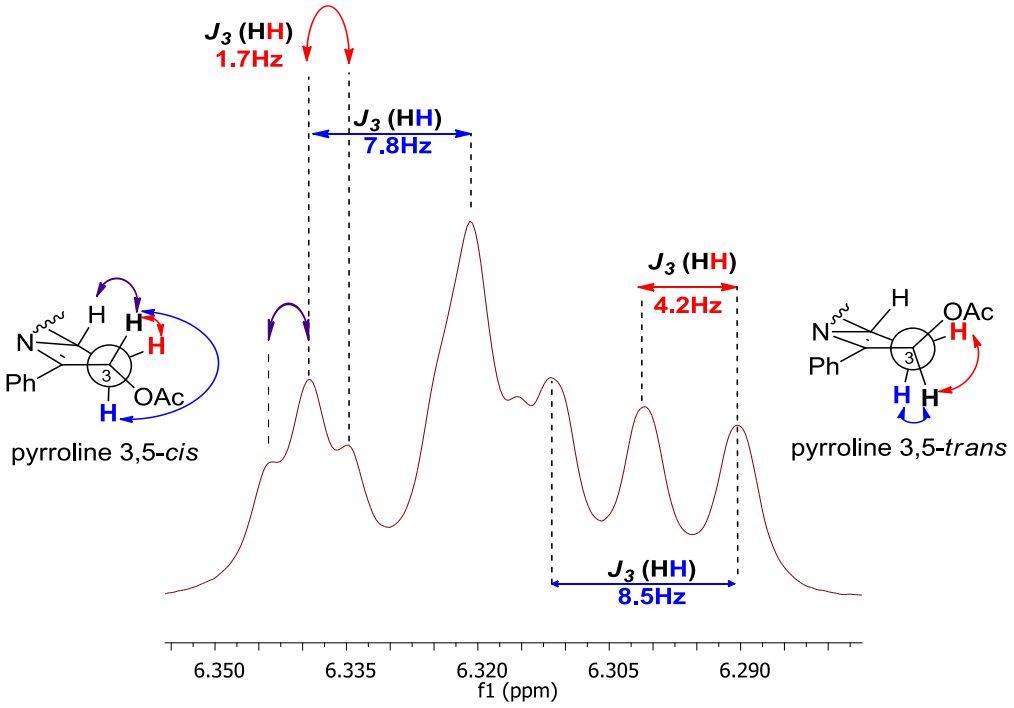


Figure 32 Agrandissement des signaux des protons H-3 des pyrroline 3,5-*cis* et 3,5-*trans*.

[151] Black D S, Edwards G L, Evans R H, Keller P A, Laaman S M, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1889-97.

5 Conclusions

5.1. Synthèse d'hybrides de nicotine 38 et lobéline 46

Par ce travail, nous avons mis au point une stratégie de synthèse en 7 étapes d'analogues compacts de lobéline, hybrides de lobéline, de nicotine et d'épibatidine (Schéma **96**). Les hybrides ont été préparés avec des rendements globaux variant entre 10 et 21%. Ces derniers sont obtenus avec des puretés supérieures à 90%. Les activités et affinités de ces molécules sont actuellement en cours évaluation par électrophysiologie (Dr Romulo Aroaz, Laboratoire de Neurobiologie et Développement, UPR-3294, Institut des Neurosciences Paris-Saclay).

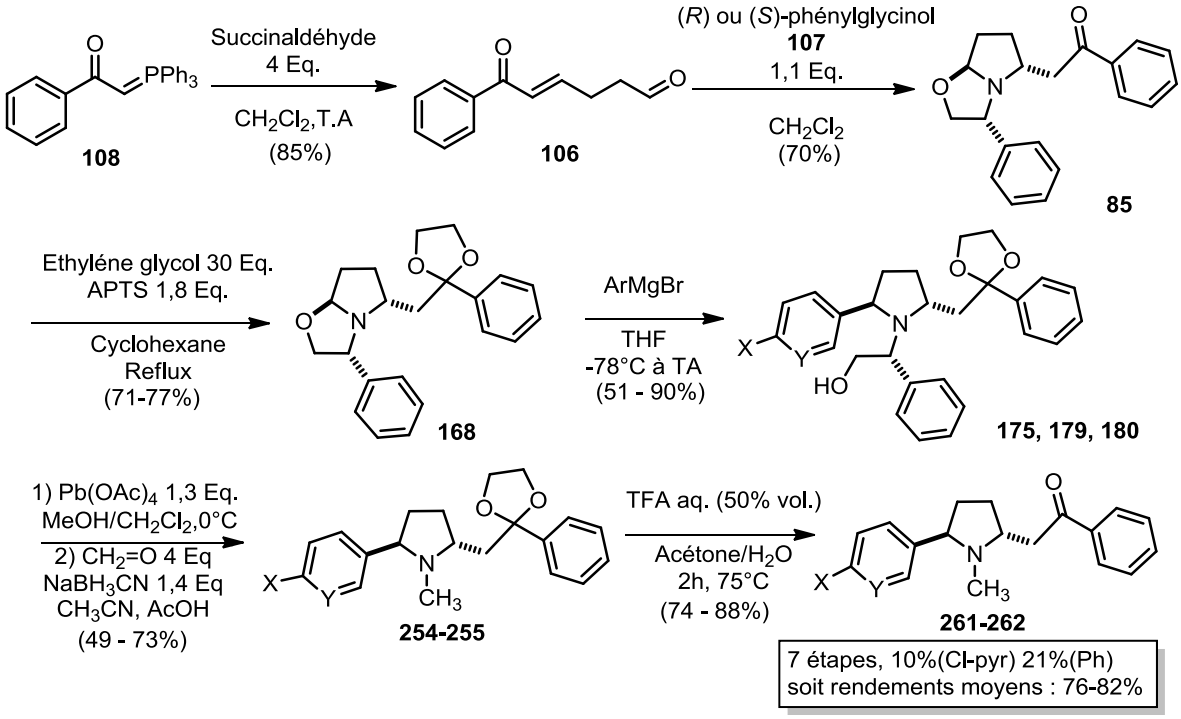


Schéma 95 Synthèse totale d'hybride de lobéline.

Par ailleurs, cette stratégie de synthèse offre plusieurs points d'entrée pour introduire une diversité moléculaire et structurale : on pourra modifier la longueur du dialdéhyde (n), la nature du réactif de Wittig (R_2) ou de l'arylmagnésien (Het) ou la nature du substituant porté par l'azote central (R_1) (Schéma **97**). On pourra également jouer sur le degré de saturation de la fonction oxygénée (cétone ou alcool). De plus, en fonction de l'énantiomère phénylglycinol employé, nous pourrons avoir accès aux deux énantiomères.

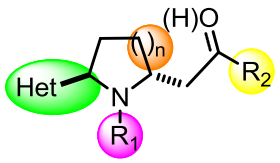


Schéma 96 Diversité moléculaire possible en série hybride.

5.2. Synthèse de chimères de lobéline et d'agonistes nicotiniques

De manière inattendue, l'étude des conditions de clivage de la "copule" a donné accès à une nouvelle famille de molécules que nous avons choisi de nommer molécules chimères car ces structures possèdent des pharmocophores nicotiniques présents dans la lobéline **46**, l'épibatidine **41**, la myosmine **265** et l'acétylcholine **39** (Schéma **98**).

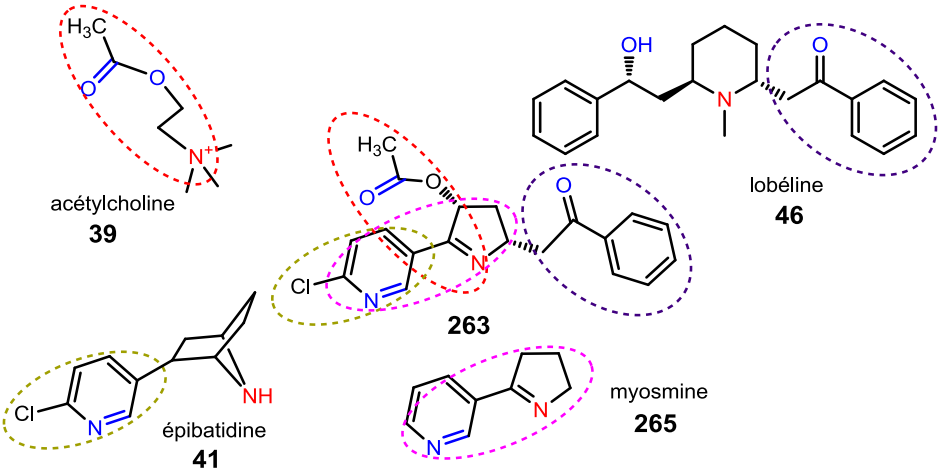


Schéma 97 Pharmacophores nicotiniques portés par la chimère acétylcholine-épibatidine-lobéline-myosmine.

Les molécules chimères ont été synthétisées stéréosélectivement en 6 étapes avec des rendements globaux variant entre 14% et 30% (Schéma **99**). Comme pour les hybrides, cette stratégie de synthèse est adéquate pour accéder rapidement aux deux séries optiques et introduire une diversité chimique pour une étude de relations structure-activité. L'évaluation pharmacologique de ces composés par électrophysiologie est actuellement en cours (Dr Romulo Aroaz, Laboratoire de Neurobiologie et Développement, UPR-3294, Institut des Neurosciences Paris-Saclay).

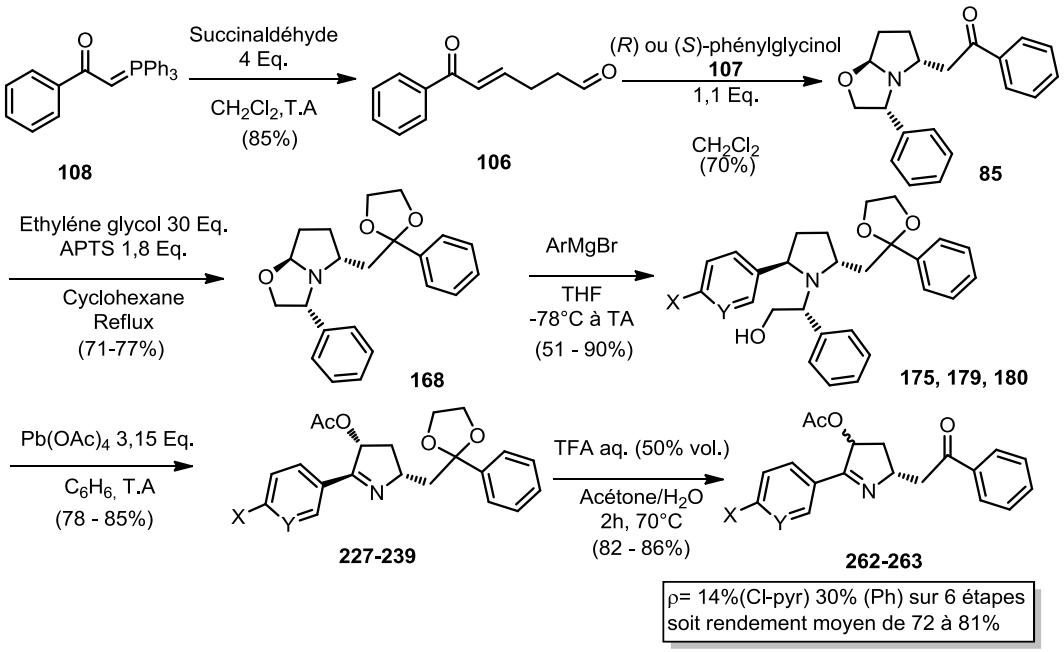


Schéma 98 Synthèse totale de chimère acétylcholine(39)-épibatidine(41)-lobéline(46)-myosmine(265).

Chapitre III : Etudes de réductions désymétrisantes : Accès aux analogues pyrrolidiniques de la (-)-lobéline.

1 Approches convergentes de la (-)-lobéline par désymétrisation : aspects bibliographiques

L'utilité et l'efficacité des stratégies de synthèse avec élongation bidirectionnelle couplée à une technique de désymétrisation des composés *méso* au moyen d'un réactif chiral ont largement été démontrées dans de nombreux exemples de la littérature. La désymétrisation introduit une diastéréosélection et permet ainsi d'obtenir des produits complexes optiquement purs suivant des schémas de synthèse hautement convergents.[152,153,154] A en juger par la structure de la (-)-lobéline **46** et celles de ses homologues naturels : la lobélanidine **266** et la lobélanine **267**, il apparaît évident que l'un des moyens d'accès les plus directs à ces composés utiliserait les propriétés pseudo-symétriques de la molécule et tirerait profit d'une stratégie de désymétrisation (Schéma **100**). Cette stratégie a été récemment décrite dans plusieurs synthèses totales au travers de la désymétrisation par mono-oxydation de la lobélanidine **266** (Schéma **100,** voie **1**). La voie de mono-réduction énantiosélective de la lobélanine **267** (Schéma **100,** voie **2**) n'a fait l'objet que d'une seule publication brevetée par les laboratoires Boerhinger-Ingelheim.

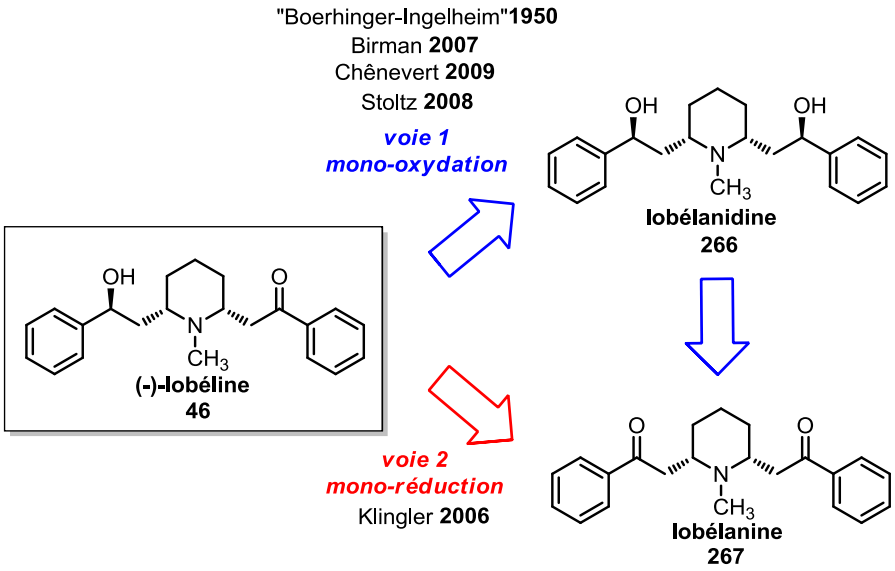


Schéma 99 Stratégie de synthèse de la (-)-lobéline 46 par désymétrisation.

[152] Willis M C, Enantioselective desymmetrisation, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*. **1999**, 1765-1784.
[153] Ward R S, Non-enzymatic asymmetric transformations involving symmetrical bifunctional compounds, *Chem. Soc. Rev.* **1990**, *19*, 1-19.
[154] Snell R H, Durbin M J, Woodward R L, Willis M C, Catalytic Enantioselective desymmetrisation as a tool for the synthesis of Hodgkinsine and Hodgkinsine B, *Chemistry – A European Journal*, **2012**, *18*, 16754-64.

1.1. Approches par mono-oxydation

1.1.1. 1ère Approche industrielle

Le premier procédé industriel de synthèse de la (-)-lobéline **46**, développé dans les années 50 par les laboratoires Boerhinger Ingelheim,[155] s'inspire des travaux Schöpf et Lehmann qui ont décrits en 1935, la première synthèse biomimétique de la lobélanine **267** (Schéma **101**).[94]

La première étape de cette synthèse consiste en la condensation biomimétique de Schöpf et Lehmann (également dite de type *Robinson-Schöpf*) qui permet d'obtenir directement la lobélanine **267** dans des « conditions physiologiques » : dans un tampon citrate à pH 4, à température ambiante et avec un rendement élevé de l'ordre de 80%.

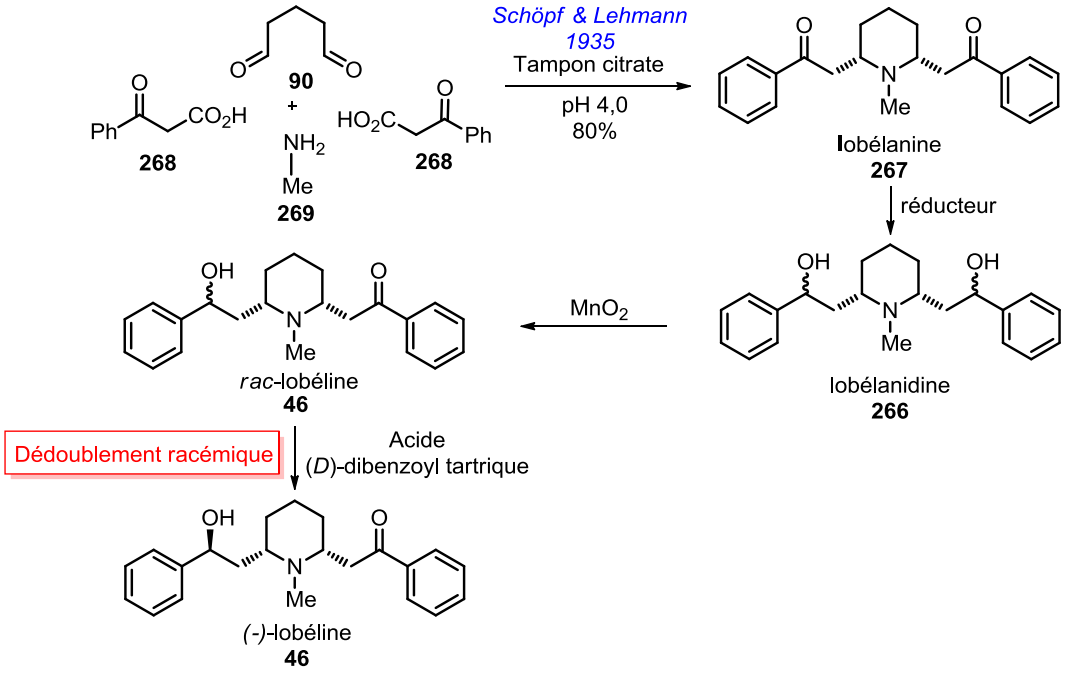


Schéma 100 Procédé industriel de synthèse des laboratoires Boerhinger Ingelheim.

A l'échelle industrielle, la lobélanine **267** ne peut être directement réduite pour donner sélectivement la (-)-lobéline. Aussi la lobélanine **267** a été dans un premier temps totalement réduite en lobélanidine **266** puis une oxydation sélective par de l'oxyde de manganèse activé a permis d'obtenir la (-)-lobéline **46** après dédoublement racémique par formation des sels de diastéréomères avec l'acide *D*-dibenzoyltartrique. Les conditions exactes de ce procédé ainsi que les rendements ne sont pas détaillées dans la littérature.

[155] Marion L, *The Alkaloids: Chemistry and Physiology, Vol. Volume 1*, Academic Press, (Eds.: R H F Manske, Holmes H L) **1950**, V, 165-269.

1.1.2. Approche de Birman

En 2007, Birman et ses collaborateurs décrivent une synthèse convergente de (-)-lobéline **46** exploitant également une stratégie de désymétrisation au départ de la lobélanidine **266** (Schéma **102**).[156] Celle-ci est préparée par réduction diastéréosélective du chlorhydrate de lobélanine **267'**, lui-même obtenu suivant la méthode biomimétique de Schöpf avec un rendement moyen de 45%. L'étape de désymétrisation consiste en une mono-acylation énantiosélective catalysée par un dérivé chiral du tétramisole ((*S*)-BTM) **270** jouant le rôle d'agent d'acylation chiral.

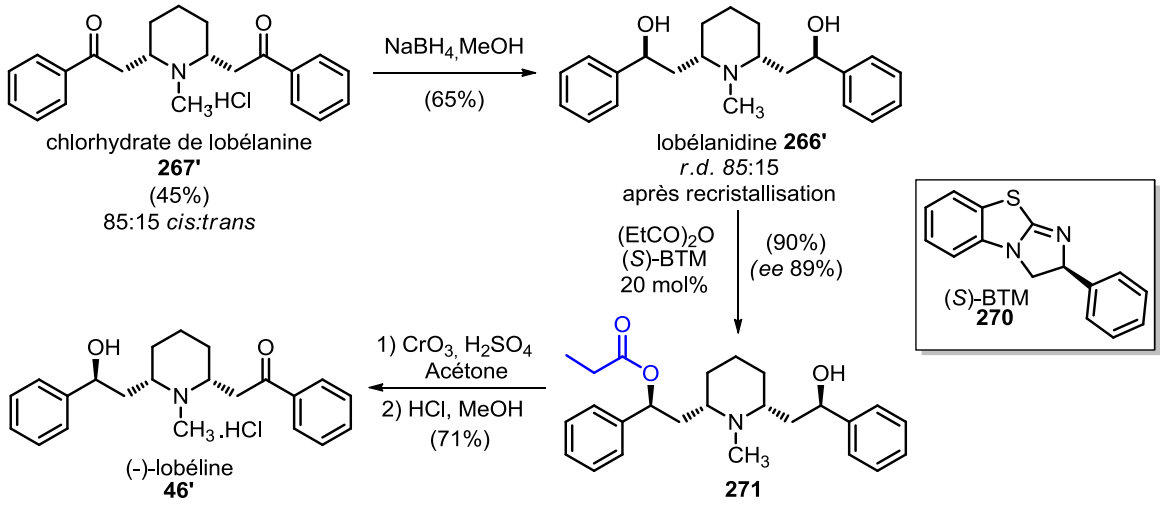


Schéma 101 Approche de Birman

L'anhydride propionique acyle en premier lieu le (*S*)-BTM **270**. Le catalyseur se stabilise alors parallèlement aux groupements phényles du diol par interaction π-cation et/ou π-stacking (Figure **33**).[157]

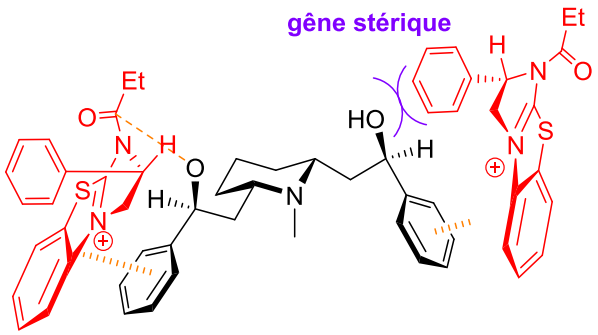


Figure 33 Désymétrisation par mono-acylation énantiosélective catalysée au (*S*)-BTM 270.

[156] Birman V B, Jiang H, Li X, Enantioselective synthesis of lobeline via nonenzymatic desymmetrization, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3237-40.
[157] Birman V B, Jiang H, Kinetic resolution of alcohols using a 1,2-dihydroimidazo[1,2-a]quinoline enantioselective acylation catalyst, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3445-7.

Le composé **271** protégé énantiosélectivement est ensuite oxydé pour conduire au dérivé carbonylé qui est hydrolysé *in situ* fournissant le chlorhydrate de la (-)-lobéline énantiomériquement pur **46**.

1.1.3. Approche de Stoltz

Le groupe de Stoltz développe en 2008 une nouvelle synthèse totale de la (-)-lobéline **46**. [158] Au départ de la *N*-Boc-2-formylpipéridine **272** préparée en 2 étapes avec un rendement global de 84% à partir de la 2-pipéridineméthanol selon les conditions décrites initialement par Molander.[159]

L'élongation de la chaîne latérale par une réaction de type Horner-Wadsworth-Emmons permet d'installer, après réduction diastéréosélective au DIBAL-H, le premier centre hydroxyle. La seconde chaîne latérale de l'hétérocycle **274** est introduite selon la même séquence réactionnelle après formylation cinétique en α de l'azote. Les auteurs décrivent ainsi une nouvelle voie de synthèse séquentielle de la lobélanidine **266** (Schéma **103**).

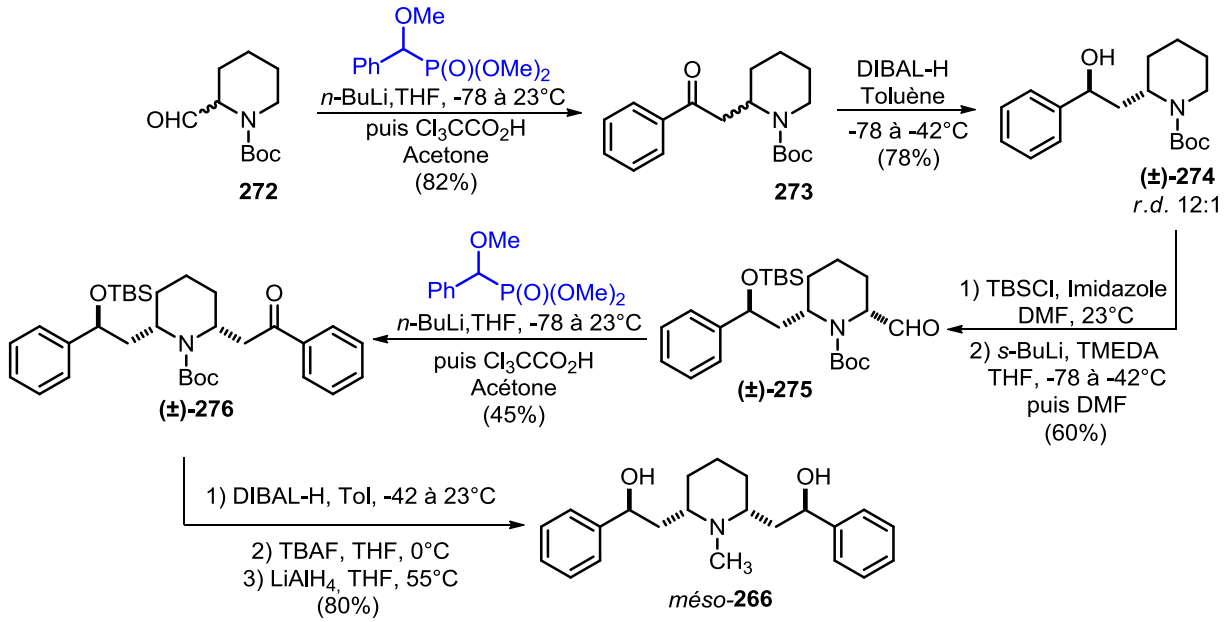


Schéma 102 Approche de Stoltz.

[158] Krishnan S, Bagdanoff J T, Ebner D C, Ramtohul Y K, Tambar U K, Stoltz B M, Pd-catalyzed enantioselective aerobic oxidation of secondary alcohols: Applications to the total synthesis of alkaloids, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13745-13754.

[159] Molander G A, Romero J A C, Investigations concerning the organolanthanide and group 3 metallocene-catalyzed cyclization–functionalization of nitrogen-containing dienes, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2631-23.

Le diol *méso* **266** subit alors une réaction d'oxydation aérobie désymétrisante préalablement mise au point par le même groupe (Schéma **104**).[160]

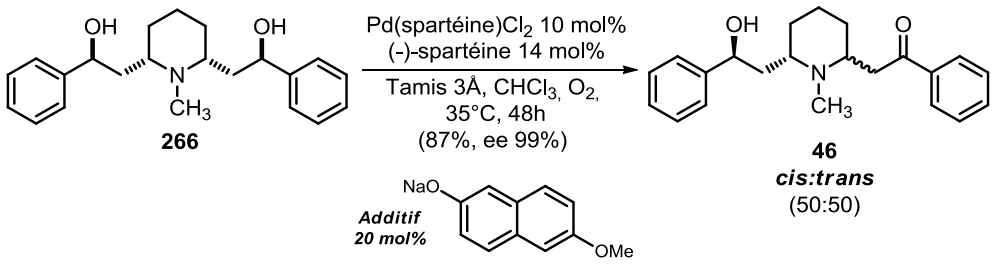


Schéma 103 Oxydation énantiosélective aérobie désymétrisante

Cette méthode s'assimile à une résolution cinétique catalysée par un complexe chiral de palladium ligandé par la (-)-spartéine. L'une des fonctions hydroxyle de la lobélanidine **266** vient substituer un atome de chlore du système catalytique [Pd(spartéine)Cl_2] et forme un oxonium intermédiaire déprotonné par une base (la (-)-spartéine) présente dans le milieu. Ce processus implique alors la formation d'un [Pd-alkoxyde] capable d'évoluer à son tour par β-élimination d'un ion hydrure. Le catalyseur est finalement régénéré par l'oxygène moléculaire (Figure **34**). La réaction est accélérée en présence d'un additif : le 6-méthoxy-2-naphtolate de sodium réduisant à 48h le temps réactionnel.

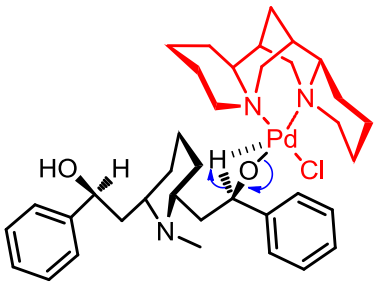


Figure 34 Évolution du complexe de [Pd-alkoxyde] par β-élimination.

La (-)-lobéline **46** est ainsi obtenue sous ses formes d'épimères *cis* et *trans* avec un bon rendement (87%) et un excès énantiomérique excellent (99%). Ce dernier est mesuré par dérivatisation de la (-)-lobéline **46** suivant le procédé développé par Crooks et collaborateurs : en piégeant en milieu basique l'intermédiaire de *rétro*-Michael sous forme de carbamate **277**, le centre épimérisable est supprimé et le produit obtenu devient stable et analysable par HPLC chirale (Schéma **105**).[63]

[160] Bagdanoff J T, Stoltz B M, Palladium-Catalyzed Oxidative Kinetic Resolution with Ambient Air as the Stoichiometric Oxidation Gas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 353-7.

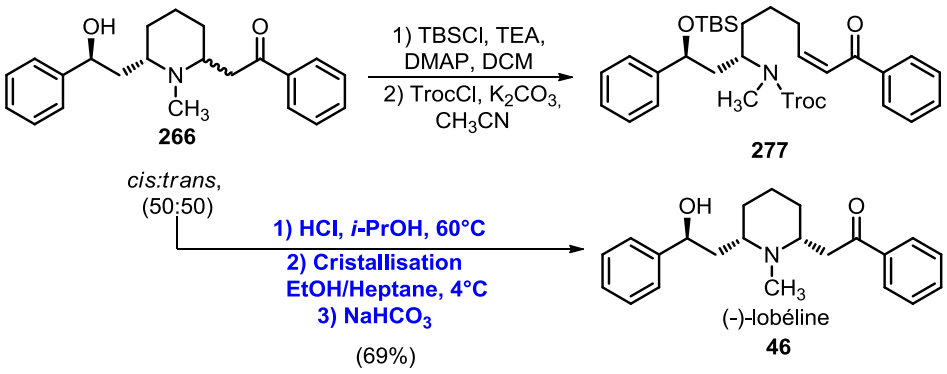


Schéma 104 Procédé de piégeage de l'intermédiaire de *rétro*-Michael.

Enfin, les auteurs réussissent à mettre au point une méthode destinée à enrichir le mélange d'épimères envers la forme *cis*-disubstituée par résolution dynamique induite par la cristallisation (Schéma **105**). Après 8h de chauffage à 60°C dans l'*i*PrOH et en présence d'HCl concentré (~ 5 éq.), le chlorhydrate de (-)-*cis*-lobéline **46** cristallise dans un mélange d'éthanol et d'heptane à 4°C. Les cristaux de chlorhydrate sont alors traités par une base et la (-)-*cis*-lobéline base **46** est obtenue avec 69% de rendement.

1.1.4. Approche de Chênevert

En 2009, paraît la dernière méthode de synthèse de la (-)-lobéline **46** par mono-oxydation. [161] Celle-ci se fait par biotransformation enzymatique au départ à nouveau de la lobélanidine **266** préparée comme précedemment décrit par Birman. L'utilisation des enzymes comme outil de désymétrisation de diols *méso* ou *pro*chiraux constitue une approche devenue classique dans l'obtention de composés énantiopurs.[162] Cette méthode possède néanmoins des limites inhérentes aux groupes fonctionnels du substrat reconnus par les enzymes. Chênevert et Morin découvrent que divers types de lipases sont capables d'acyler énantiosélectivement l'une des deux fonctions hydroxyles de la lobélanidine **266**. Lorsqu'ils utilisent la lipase B de *Candida antarctica* en présence d'acétate de vinyle et à température ambiante, le rendement et l'excès énantiomérique sont excellents. Le temps réactionnel est long et la conversion totale du substrat n'est atteinte qu'au bout de 13 jours. Un chauffage à 50°C a permis d'augmenter la cinétique de la réaction et passe de 13 jours à 18h. Le produit de mono-acylation **278** énantiopur est ensuite oxydé pour fournir l'ester **279** qui est directement hydrolysé dans le méthanol en (-)-lobéline **46** (Schéma **106**).

[161] Chênevert R, Morin P, Synthesis of (−)-lobeline via enzymatic desymmetrization of lobelanidine, *Biorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1837-1839.
[162] García-Urdiales E, Alfonso I, Gotor V, Enantioselective enzymatic desymmetrizations in organic synthesis, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 313-354. Et mise à jour 1 , García-Urdiales E., Alfonso I., Gotor V, Enantioselective enzymatic desymmetrizations in organic synthesis, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 110-180.

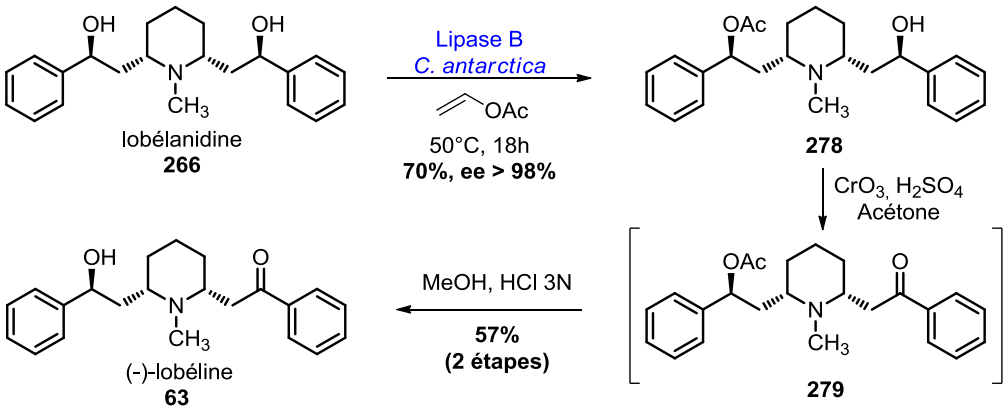


Schéma 105 Approche de Chênevert.

1.2. Approches par mono-réduction : approche de Klingler (Boehringer Ingelheim)

En 2006, un brevet déposé par Sobotta et Klingler décrit un nouveau procédé de réduction asymétrique utilisé dans la synthèse à grande échelle de la (-)-lobéline **46** (Schéma **107**).[163] Cette équipe des laboratoires Boehringer-Ingelheim utilisent notamment dans la préparation de l'adrénaline, l'hydrogénation de Noyori, catalysée par des complexes de rhodium chiraux dans la réduction asymétrique d'aminocétones.[164]

Ils décrivent ainsi un système catalytique capable de réduire diastéréo- et énantio-sélectivement l'une des deux cétones du chlorhydrate de lobélanine **267** et mettent au point l'une des synthèses les plus efficaces découvertes à ce jour.

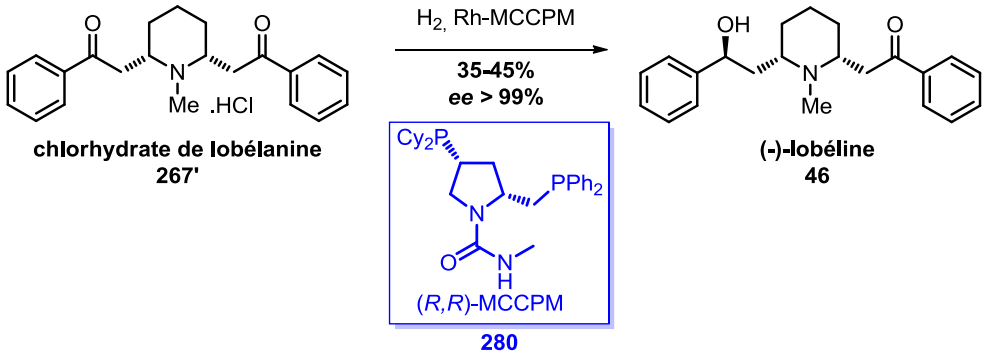


Schéma 106 Réduction catalysée du chlohydrate de lobélanine.

[163] Klingler F D, Sobotta R, *U.S. Patent 2006014791*, Boehringer Ingelheim **2006**.

[164] Klingler F D, Asymmetric Hydrogenation of Prochiral Amino Ketones to Amino Alcohols for Pharmaceutical Use, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1367-76.

La (*R,R*)-MCCPM **280** est une diphosphinopyrrolidine chirale initialement développée par Achiwa[165] qui sert ici de ligand du rhodium pour permettre au système réducteur d'imposer une sélection énantiotopique de l'une des cétones du substrat (Schéma **108**). La (-)-lobéline cristalline est ainsi obtenue de façon énantiopure (*ee* > 99%) avec un rendement allant de 35 à 45%.

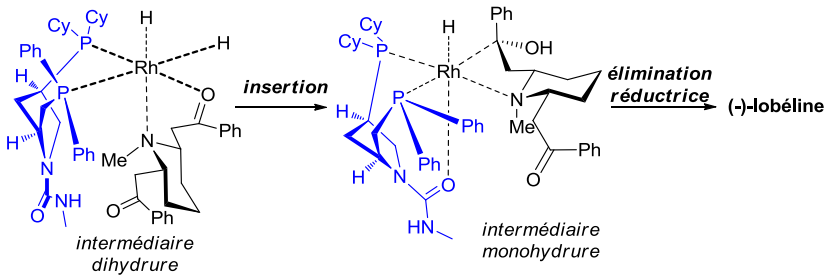


Schéma 107 Catalyse de la réduction par les complexes de rhodium chiraux.

Malgré l'ingéniosité et l'efficacité des quelques synthèses de la (-)-lobéline **46** par désymétrisation (Tableau **14**), les différentes voies de synthèse totale jusqu'alors décrites n'ont pas été mises à profit dans le développement de nouveaux ligands des nAChRs.

Tableau 14 Différentes voies de synthèse totale de la (-)-lobéline 46.

Auteurs	Année	Nombre d'étapes	Rendement global
Klingler	**2006**	4	16-20%
Birman	**2007**	6	19%
Stoltz	**2008**	14	7%
Chênevert	**2009**	15	12%

D'autre part l'élaboration de stratégies de mono-réduction efficaces de diphénacyl-pipéridines ou pyrrolidines reste encore à ce jour un énorme challenge. Ainsi nous proposons de relever ce défi au départ d'analogues de lobéline pyrrolidiniques préalablement synthétisés pouvant être achiraux (composés méso) ou chiraux par le groupement porté par l'azote de l'hétérocycle formé afin d'étudier l'influence stérique ou électrostatique de la copule chirale portée par l'azote de la pyrrolidine dans les réductions désymétrisantes (Schéma **109**).

[165] Achiwa K, Asymmetric hydrogenation with new chiral functionalized bisphosphine-rhodium complexes, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 8265-66.

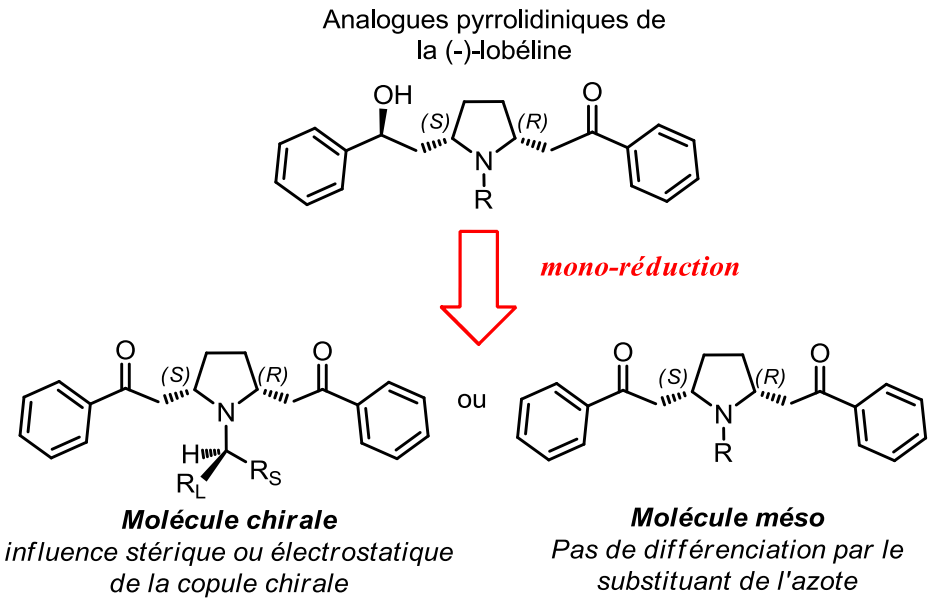


Schéma 108 Stratégies de mono-réduction.

2 Synthèse stéréosélective de pyrrolidines chirales et achirales sous ultrasons

2.1. Acquis du laboratoire

Les travaux antérieurs effectués au laboratoire ont permis la mise au point de la synthèse de pyrrolidines 2,5-*cis*-disubstituées utilisant la réaction de double aza-Michael (DAM) comme étape clef de la stratégie bidirectionnelle utilisée. [66, 75]

La brique moléculaire de départ est de nouveau le succinaldéhyde **90**, préparé comme précédemment (cf Chapitre I) à grande échelle par ozonolyse du cycloocta-1,5-diène **109**. La stratégie implique cette fois-ci une double oléfination de Wittig permettant de construire les systèmes accepteurs de Michael **141** et **281**. Ainsi, en fonction de l'ylure utilisé dans la réaction, différentes dièneediones peuvent être obtenues. La double addition conjuguée d'alkyles amines primaires sur ces systèmes a été largement étudiée au laboratoire. Il a été montré que dans un milieu aprotique, cette réaction de DAM évolue exclusivement vers la formation de la pyrrolidines **81** avec une totale diastéréosélectivité, en faveur de l'isomère 2,5-*cis*-disubstitué. Il a par ailleurs été observé que la cinétique de la DAM est considérablement augmentée en utilisant un minimum de solvant pour dissoudre l'accepteur solide. Ces conditions ont pu être optimisées de sorte que la réaction soit conduite sans solvant au moyen d'ultrasons. Le milieu hétérogène contenant les dièneediones **141** ou **281**

ainsi qu'un léger excès d'amine (1,1 Éq.) est agité au moyen d'ultrasons pour former après approximativement 30 minutes de temps réactionnel la pyrrolidine **81** désirée de manière quasi quantitative (Schéma **110**).[66]

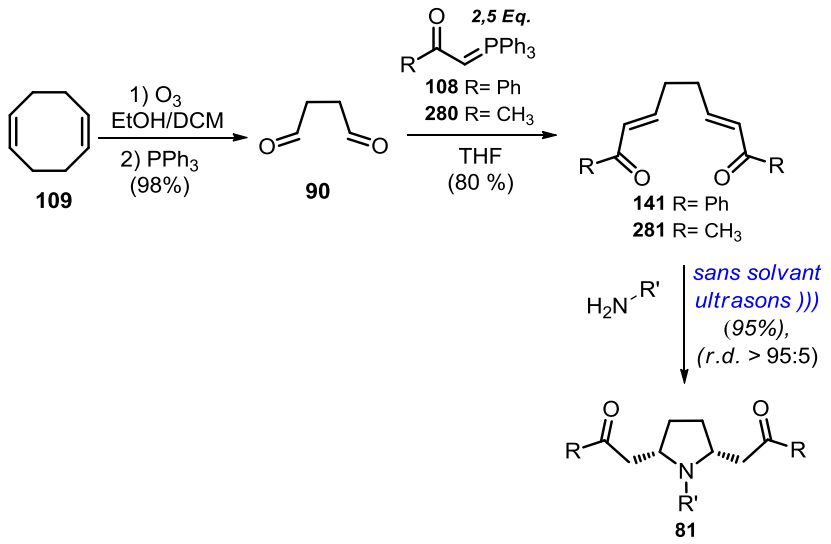


Schéma 109 Synthèse de pyrrolidines 2,5-*cis*-disubstituées.

Par ailleurs, la séquence réactionnelle peut également être réalisée dans un même pot depuis le dialdéhyde **90**. Les avancements de la double oléfination et de la réaction de DAM sont suivis par RMN ^{31}P et ^{1}H. L'oxyde de triphénylphosphine est éliminé à la fin du procédé par simple filtration sur alumine (cyclo, AcOEt, 80 :20). Les procédures de traitement et de purification sont ainsi considérablement diminuées et simplifiées (Schéma **111**).

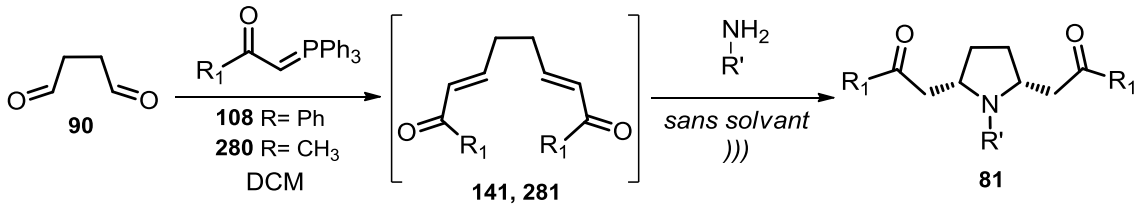


Schéma 110 Séquence réactionnelle monotope.

Ce procédé a pu être appliqué à l'addition d'un éventail d'amines primaires chirales ou achirales commerciales ou non au départ du substrat **141**.

2.1. Synthèse stéréoselective de pyrrolidines chirales

Nous avons appliqué cette séquence réactionnelle à la synthèse d'une série de pyrrolidines chirales qui vont nous servir de substrat de départ dans notre étude de réductions désymétrisantes.

Le champ d'application de cette méthode est extrêmement large puisqu'il est possible d'additionner des amines encombrées commerciales comme la (*R*) ou la (*S*)-(+)-phényléthylamine **282** mais également la (*R*)-1-naphtyléthylamine **283** qui réagit spontanément sur le système diénique. Des exemples ont aussi montré que des amino-alcools tels que le (*R*) ou (S)-phénylglycinol **107** ou la (1*R*,2*S*)-(-)-*nor*-éphédrine **284** s'additionnent de manière chimiosélective. Dans chacun des cas la transformation de DAM est quantitative et totale en moins de 1 heure (Schéma **112**).

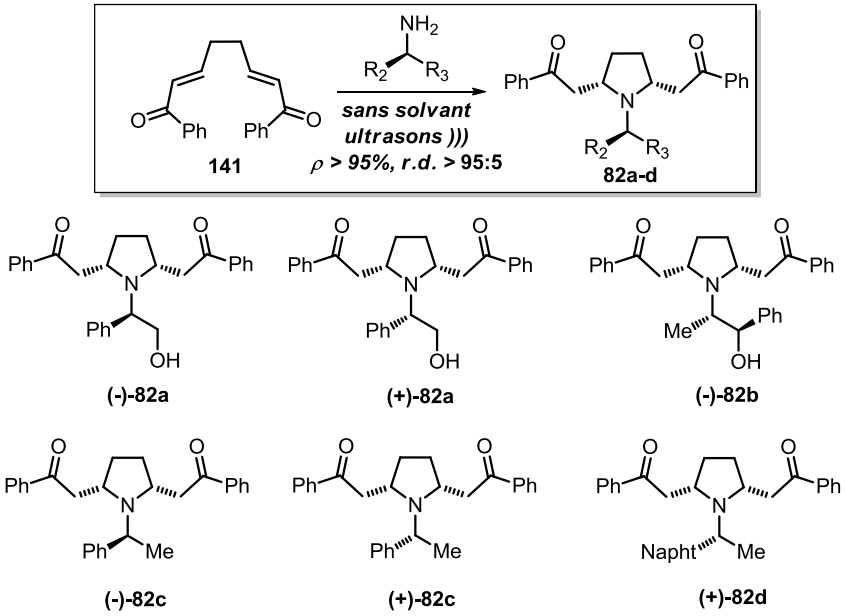


Schéma 111 Synthèse en un pot de pyrrolidines chirales (*r.d* > 95:5).

Les structures de chaque pyrrolidines ont été entièrement caractérisées par RMN 2D et leur configuration 2,5-*cis* a été confirmée par des corrélations nOe entre les 2 protons adjacents à l'atome d'azote. L'absence de libre rotation de la « copule chirale » liée à l'azote sont fait que les protons sont tous diastéréotopiques. L'utilisation de ces amines permet ainsi d'accéder à des systèmes pseudosymétriques et la détermination de la configuration absolue des centres est réalisée par l'analyse des corrélations nOe entre les protons adjacents à l'atome d'azote (Figure **35)**.

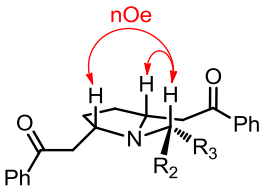
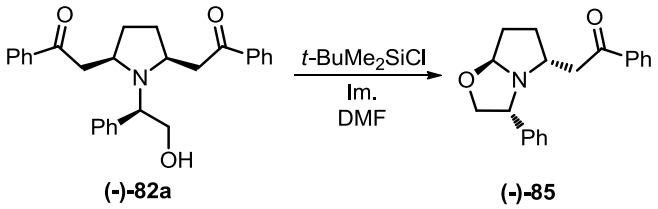


Figure 35 Corrélations nOe entre les protons adjacents à l'atome d'azote

Comme décrit précédemment la plupart de ces composés sont instables sur silice en présence de solvant protique et doivent être purifiés sur alumine neutre.

Afin d'éviter le problème d'instabilité des composés formés possédant une fonction hydroxyle réactive, nous avons dans un premier temps tenté de protéger directement le composé **82a**. La protection de l'alcool en éther de *tert*-butyldiméthylsilyle nous a paru être la meilleure solution du fait de la stabilité de ce groupement dans un large spectre de conditions et sa simplicité d'obtention. Malheureusement le traitement de l'alcool **82a** par le chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle en présence d'imidazole ne fournit pas le produit attendu mais le produit de *rétro*-Mannich **85** précédemment observé (Schéma **113**).



(-)-82a **(-)-85**

Schéma 112 obtention inattendue du produit de *rétro*-Mannich.

Un résultat plus satisfaisant a été obtenu en protégeant au préalable l'alcool de l'amine de départ utilisée dans la DAM. Ainsi, la protection du (*R*) ou (S)-phénylglycinol **107** et de la (1*R*,2*S*)-(-)-*nor*-éphédrine **284** par un groupement t*ert*-butyldiméthylsilyle a été réalisée dans le CH_2Cl_2 de 0°C à température ambiante. Dans le cas du phénylglycinol **107**, l'amine protégée correspondante **285** est obtenue avec un rendement quantitatif. L'alcool de la (1*R*,2*S*)-(-)-*nor*-éphédrine étant plus encombré, il a fallu forcer les conditions expérimentales en chauffant au reflux du THF pendant 1 nuit, nous permettant d'obtenir le composé **286** avec un rendement de 90%.

L'addition conjuguée de ces deux amines **285** et **286** sur la diénone **141** a été réalisée dans un premier temps dans des solvants aprotiques fraîchement distillés et sous atmosphère d'argon tel que le dichlorométhane ou le toluène à température ambiante. Les essais donnent d'excellents résultats dans chacun des cas puisque les produits de DAM sont obtenus avec un rendement supérieur à 90% après filtration sur alumine. Un suivi réactionnel montre une conversion totale du substrat en pyrrolidine correspondante en 24h. L'optimisation des conditions réactionnelles pour l'amine **285** a montré que la pyrrolidine **82e** pouvait être obtenue en 3 heures seulement au moyen d'ultrasons (Schéma **114**).

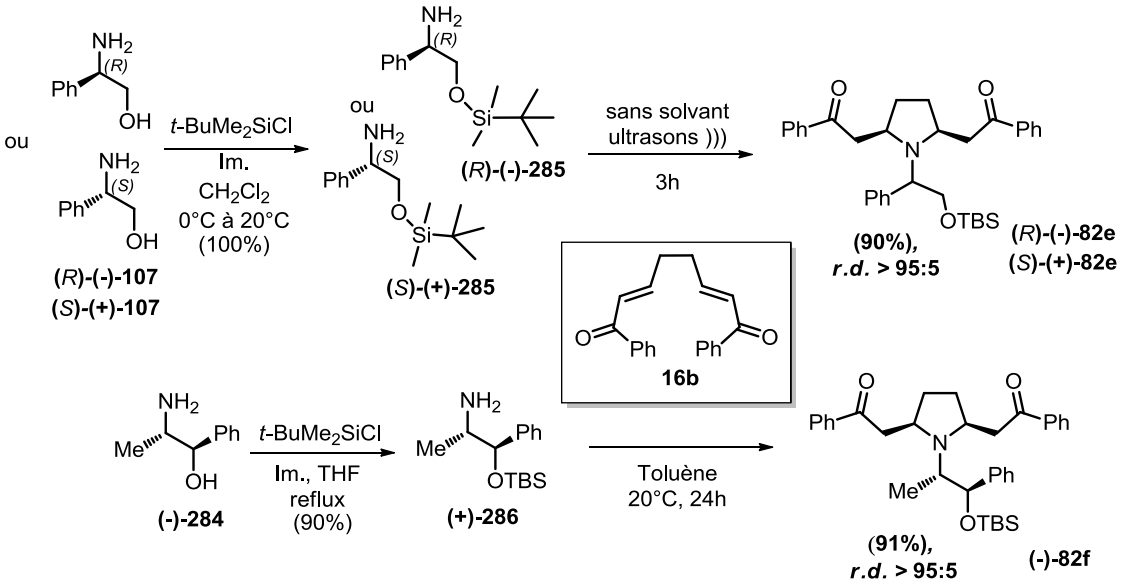


Schéma 113 Obtention des amines chirales protégées 82e et 82f.

2.2. Synthèse stéréoselective de pyrrolidines *méso* sous ultra-sons

Lors de l'utilisation d'amines primaires achirales, on obtient des systèmes *méso*, la confirmation de la relation *cis* devient alors difficile à prouver. En effet, dans le cas de l'addition de la benzylamine **287**, la 2-méthoxy-benzylamine **288** et de l'allylamine **289**, les pyrrolidines obtenues sont des huiles et il n'a pas été possible de les cristalliser sous leur forme base (Schéma **115**).

Seule l'analyse des couplages des protons benzyliques ou allyliques (protons H_1 et $H_{1'}$, Schéma **115**) représente un moyen de confirmation de la structure. En effet, dans un système *méso*, ces protons sont énantiotopiques et donc strictement équivalents contrairement à un système de symétrie C_2 dans lequel ces protons seraient diastéréotopiques et donc différents. L'analyse RMN ^{1}H permet donc de connaître la stéréochimie de l'isomère majoritaire. (Schéma **115**)

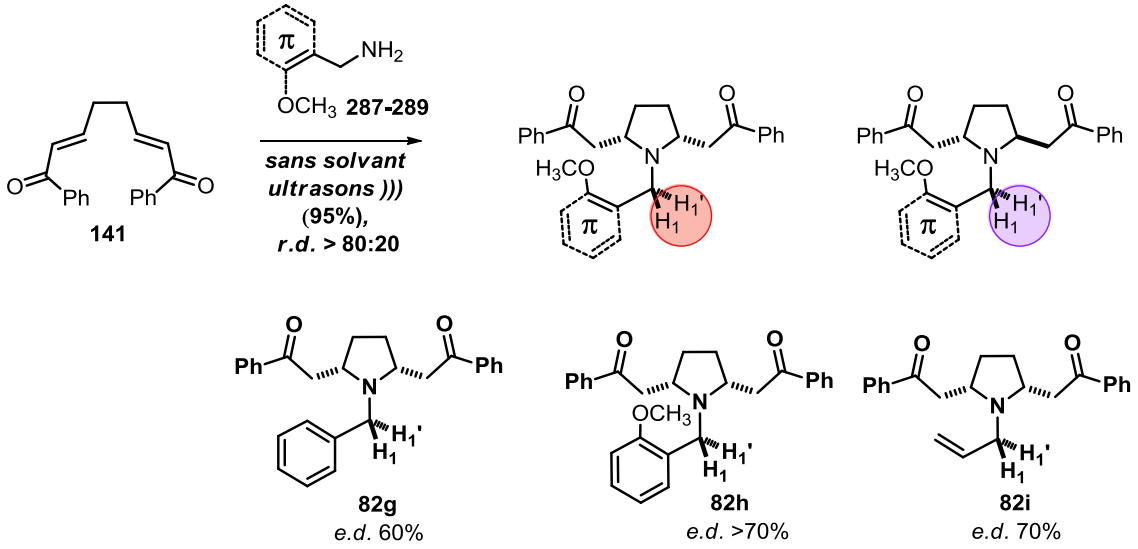


Schéma 114 Obtention des pyrrolidines 82g, 82h et 82i.

Dans le cas de l'addition de la benzylamine **287**, la pyrrolidine **82g** est obtenue avec un rendement quantitatif et un excès diastéréomérique de 60% en faveur du stéréoisomère *cis*. Cet excès peut être mesuré sur la base de l'intégration et du couplage des protons benzyliques en RMN ^{1}H (Figure **36**). Dans le cas de l'isomère *cis* ces protons sont énantiotopiques et forment un singulet à 3,86 ppm. L'isomère *trans* est également visible dans le brut réactionnel et les protons diastéréotopiques forment chacun un doublet (δ 3,77 et 4,01 ppm) caractérisé par un effet de toit et une constante géminée de 14,3 Hz.

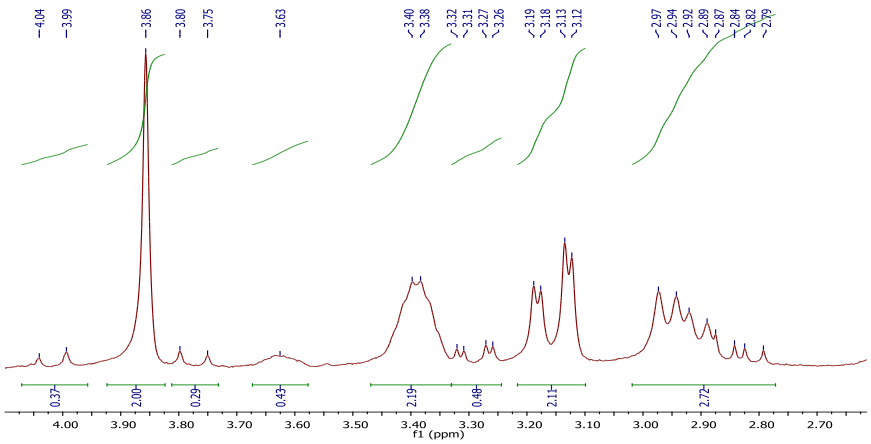


Figure 36 Détermination de la stéréochimie du composé 82g (brut, ^{1}H NMR, 300MHz, $CDCl_3$)

La 2-méthoxybenzylamine **288** quant à elle s'additionne également de manière quantitative sur la dièneedione **141** pour former majoritairement le stéréoisomère *cis* **82h** par analogie avec la benzylamine **287**. En effet les protons benzyliques sortent sous forme d'un singulet à 3,80 ppm. L'excès diastéréomérique a pu être évalué comme étant supérieur à 70% par RMN en comparant plusieurs signaux et notamment les protons méthyliques sortant sous forme de singulet à 3,56 ppm pour le composé majoritaire et à 3,65 ppm pour le minoritaire, les protons portés par les bras phénacyles ou encore les quatre protons aromatiques déblindés par l'effet d'anisotropie des carbonyles qui sortent également à un déplacement chimique différent suivant l'isomère (Figure **37**).

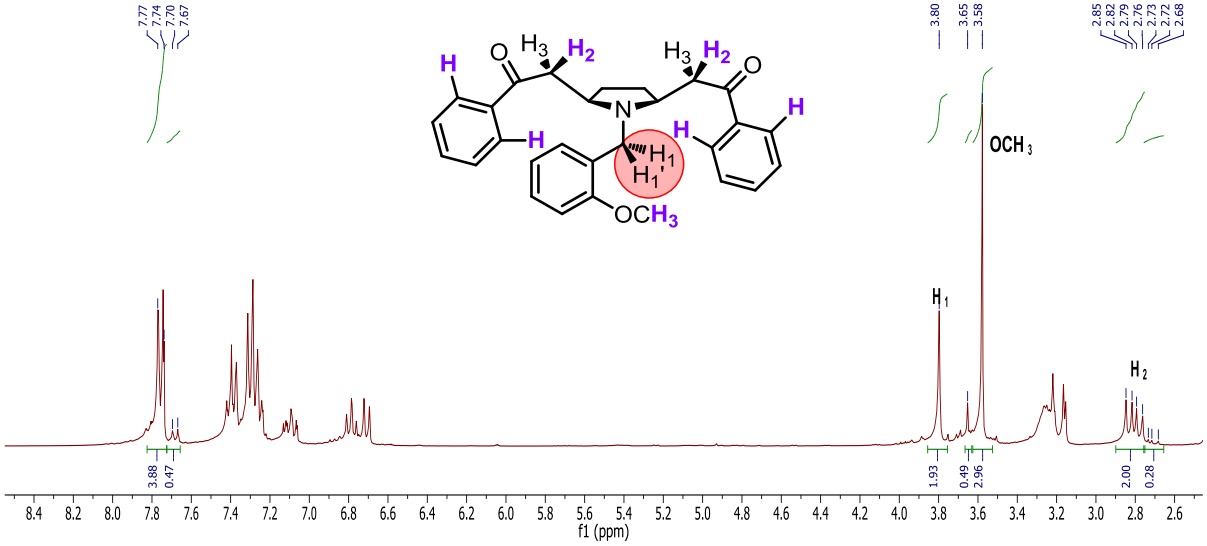


Figure 37 Détermination de l'excès diastéréomérique du composé 82h (brut, ^{1}H NMR, 300MHz, $CDCl_3$)

L'allylamine **289** s'additionne également quantitativement sur la dièneedione **141** et la pyrrolidine **82i** est obtenue par simple évaporation de l'excèdent d'amine. L'agrandissement ci-dessous (Figure **38**) montre que dans le benzène deutéré le signal des protons allyliques ($H_{1,1'}$) se superpose à celui de deux protons énolisables (H_2). La deutération des protons H_2 dans le CD_3OD permet de s'affranchir de cette superposition et confirme l'absence d'un couplage géminé entre les deux protons allyliques H_1 et $H_{1'}$ qui sont donc énantiotopiques car strictement équivalents. La stéréochimie relative des substitutions en positions 2 et 5 est donc bien *syn*.

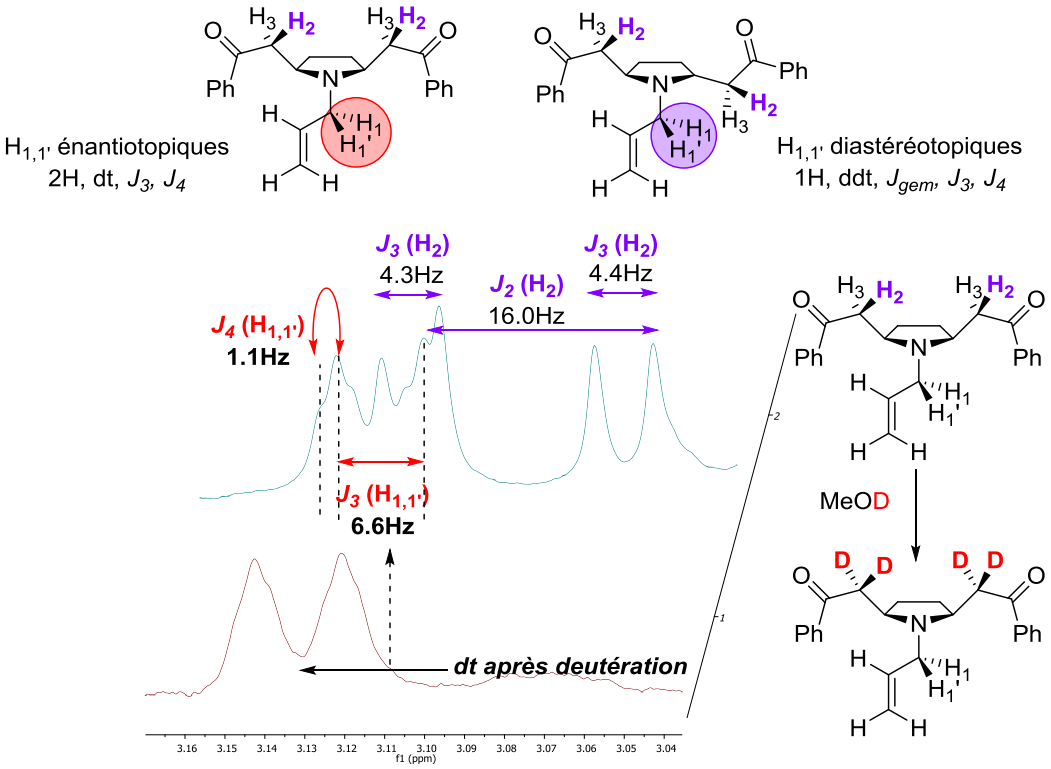


Figure 38 Détermination de la stéréochimie *cis* du composé 82i (^{1}H RMN, 300MHz, C_6D_6)

La pyrrolidinine **82j** est formée quantitativement par l'addition de la benzhydrylamine **290** sur la dièneedione **141**. Par ailleurs, ce composé à la caractéristique physique d'être solide et cristallise dans le cyclohexane. Sa configuration relative a ainsi pu être déterminée sans ambiguïté, révélant une symétrie parfaite de la molécule (Schéma **116** et figure 3**9**). Ce cliché cristallographique montre l'orientation des positions 2 et 5 du même côté et en position *anti* au substituant benzhydryle porté par l'azote (Figure **39**).

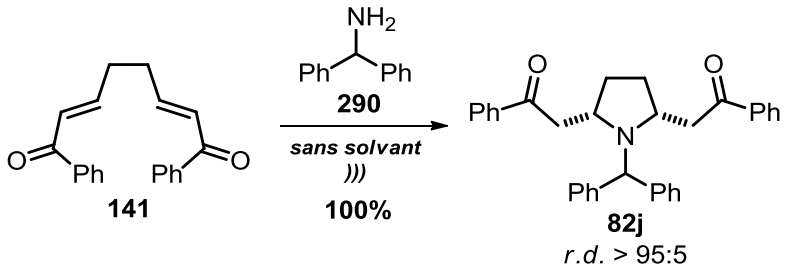


Schéma 115 Addition de la benzhydrylamine.

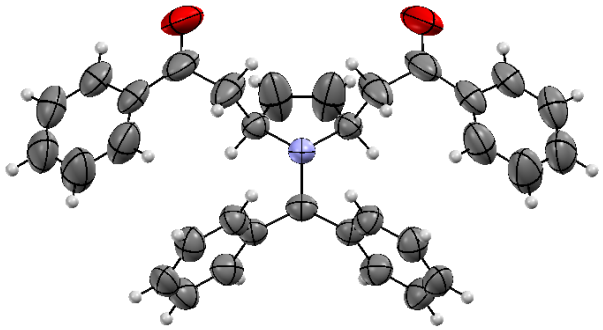
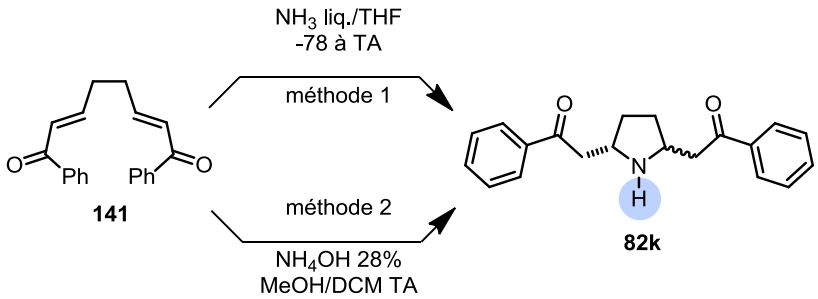


Figure 39 Cliché cristallographique de 82j (Pascal Retailleau, ICSN).

Des homologues pyrrolidiniques de la nor-lobélanine **82k** et de la lobélanine **82l** par double addition d'ammoniac ou de méthylamine **269** ont pu également être synthétisés. Deux voix d'addition d'ammoniac sur la dièndione **141** ont été étudiées :

-La première consiste en la condensation de l'ammoniac liquide à -78°C sur la dièndione dissoute dans le THF : la réaction est agitée pendant 3h à basse température puis pendant 12h à température ambiante. Ainsi, la pyrrolidine **82h** désirée est obtenue avec un rendement de 100% sous forme d'un mélange équimolaire des deux isomères *cis* et *trans*. (Tableau **15**)

-La seconde voie consiste en l'addition directe à température ambiante d'une solution aqueuse d'ammoniac à la dièndione **82k** préalablement dissoute dans un mélange CH_2Cl_2/MeOH. Les deux isomères sont ainsi obtenus en proportion 70:30 avec un rendement de 92%. (Tableau **15**)



Entrée	Méthode	Conversion %	ρ (%)	*r.d.*[a]
1	1	100	100	50:50
2	2	100	92	70:30

[a] Diastéréosélectivités mesurées par intégration des signaux des protons angulaires (en positions 2 et 5) par RMN ^{1}H du brut réactionnel après évaporation des solvants

Tableau 15 Synthèse d'homologues pyrrolidiniques de la nor-lobélanine 82k.

Une cristallisation sélective réalisée à basse température (-20°C) dans l'isopropanol permet d'isoler un seul diastéréoisomère avec un rendement de plus de 90%. La stéréochimie 2,5-*cis* de celle-ci a été confirmée par diffraction des rayon-X (Figure **40**).[64]

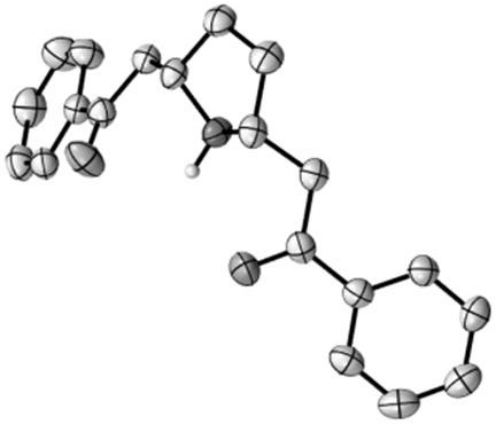


Figure 40 Cliché cristallographique de 82k (Pascal Retailleau, ICSN)

La méthylamine **269** est également un bon partenaire dans le processus de cyclisation de DAM car elle permet d'accéder directement à des structures hétérocycliques *N*-méthylées.
Quelle que soit la source commerciale de méthylamine **269** utilisée les résultats sont identiques que la réaction soit conduite dans l'eau ou dans le THF (Schéma **117**).

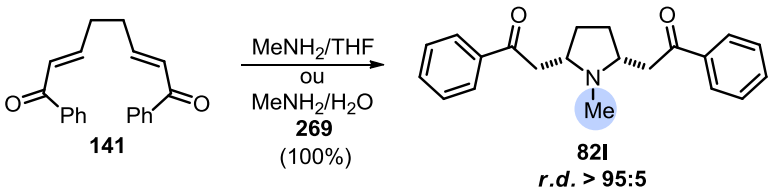


Schéma 116 Synthèse d'homologues pyrrolidiniques de lobélanine 82l.

Une fois de plus, les rendements sont quantitatifs et les bruts réactionnels révèlent la transformation totale du substrat en produit cyclisé après évaporation de l'excédent d'amine primaire. La diastéréosélectivité est cette fois-ci nettement supérieure et le diastéréomère minoritaire n'est pas observé en RMN (*e.d.* > 95%).

Ainsi grâce à la stratégie de DAM employée, nous avons pu accéder à un large panel d'hétérocycles azotés (Figure **41**). En plus d'être efficace en termes de rendement, cette réaction permet de créer deux liaisons C-N de manière chimio et stéréospécifique avec des nucléophiles azotés variés. Il est donc possible d'étudier maintenant le comportement de ces nouveaux substrats vis-à-vis de réducteurs chiraux.

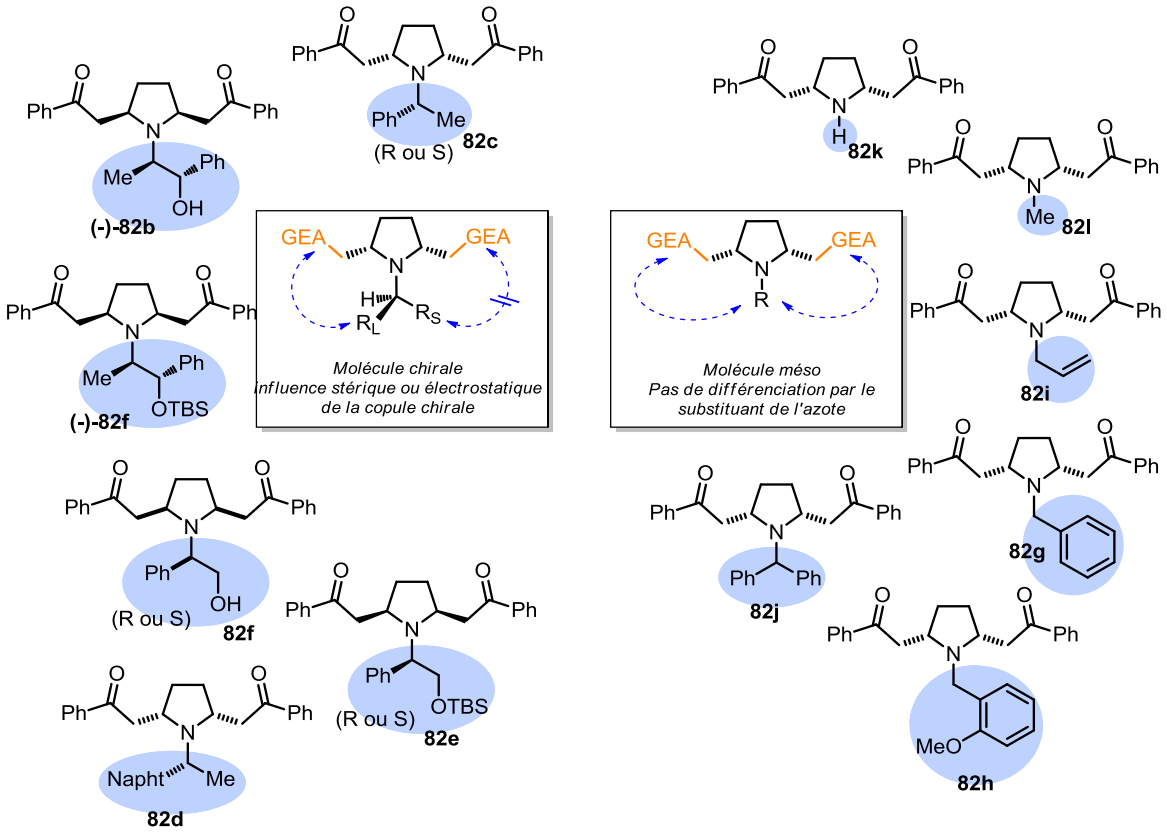


Figure 41 Large panel d'hétérocycles azotés obtenu par DAM.

Lorsque deux fragments moléculaires identiques sont attachés à une entité symétrique, on obtient une molécule *méso* achirale. Il est nécessaire, dans ce cas, d'utiliser un réactif chiral pour désymétriser cette molécule. Cette stratégie sera abordée, dans un premier temps dans notre étude des réductions asymétriques de ces substrats *méso* au moyen de catalyseurs énantiopurs.

3 Etudes de réductions désymétrisantes

3.1. Aspects bibliographiques

Le grand potentiel de la désymétrisation énantiosélective a été largement exploité dans une gamme variée de substrats achiraux et *méso* (Figure **42**). Ainsi, un large panel de composés énantiomériquement enrichis (ou) des composés énantiomériquement purs a été synthétisé de manière énantiosélective par une myriade de transformations chimiques, la majorité d'entre elles peuvent être classées comme suit:

• ouverture nucléophile d'anhydrides, d'imides ou d'époxydes *méso* achiraux pour former des liaisons C-X (X = O, N, C, S ou halogène).[152, 162, 166, 167, 168,169]

• désymétrisation de composés *méso* bifonctionnels (de type diols, diamines, dithiols, acides dicarboxyliques et dérivés) par transformation du groupe fonctionnel. En fonction du catalyseur employé; de hauts niveaux d'énantiosélectivité peuvent être atteints. [152, 153, 162, 170,171]

• les méthodes de désymétrisation oxydante; comme la désymétrisation de diènes par époxydation de Sharpless, ont également reçu une attention considérable. D'autres transformations, notamment la dihydroxylation de Sharpless, l'aminohydroxylation l'iodolactonisation, la réaction de Baeyer-Villiger, l'hydroboration ou la C-H activation, ont également été utilisée comme startégie de désymétrisation.[152,153,162]

• diverses réactions de formation de liaisons C-C inter- et intramoléculaires comme l'annélation de Robinson, l'oléfination de Wittig, les cyclopropanations, les ène-réactions, la métathèse d'oléfines, les couplages pallado-catalysé, la C-H insertion ont également été utilisés comme transformations désymétrisantes efficaces.[152, 153, 162]

---

[166] Hodgson D M, Gibbs A R, Lee G P, Enantioselective desymmetrisation of achiral epoxides, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 14361-84.
[167] Chen Y, McDaid P, Deng L, Asymmetric Alcoholysis of Cyclic Anhydrides, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2965-84.
[168] Pineschi M, Asymmetric Ring-Opening of Epoxides and Aziridines with Carbon Nucleophiles, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4979-88.
[169] Dickmeiss G, De Sio V, Udmark J, Poulsen T B, Marcos V, Jørgensen K A, Organocatalytic Asymmetric Desymmetrization–Fragmentation of Cyclic Ketones, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6650-53
[170] Díaz-de-Villegas M D, Gálvez J A, Badorrey R, López-Ram-de-Víu M P, Organocatalyzed Enantioselective Desymmetrization of Diols in the Preparation of Chiral Building Blocks, *Chemistry – A European Journal* **2012**, *18*, 13920-35.
[171] Müller C E, Schreiner P R, Organocatalytic Enantioselective Acyl Transfer onto Racemic as well as meso Alcohols, Amines, and Thiols, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6012-42.

• la déprotonation énantiosélective de substrats symétriques ou *méso* par des bases chirales, qui constituent sans doute la plus grande et la plus simple classe de catalyseurs ou réactifs chiraux. Cependant, dans la plupart des cas, des quantités stœchiométriques de base chirale sont requises.[152, 153, 166, 168]

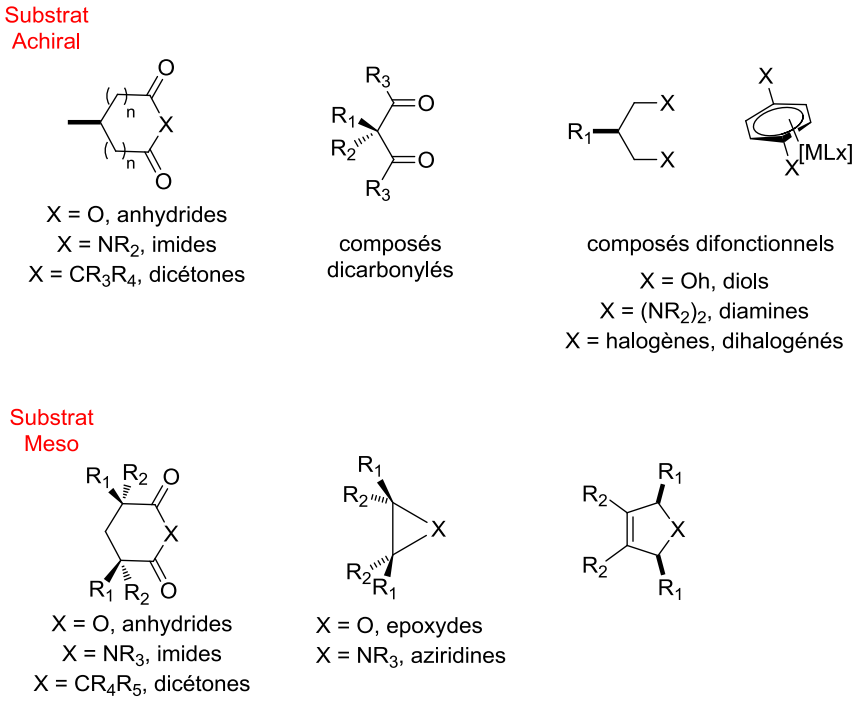


Figure 42 Structures générales des substrats achiraux et méso dans les réactions de désymétrisation.

• la réduction désymétrisante de dicarbonyle *méso* ou symétriques. La littérature compte de nombreux articles et revues qui étudient les réductions désymétrisantes. Cependant les exemples concernant la désymétrisation par réduction de dicétones sont rares. Le travail proposé constitue donc un défi de taille puisque bien qu'un large panel de méthodes de désymétrisation ait déjà été développé, peu s'applique à la monoréduction stéréosélective de dicétones. Les processus de réductions désymétrisantes ont ainsi été particulièrement appliqués à la monoréduction de β- et γ-dicétones qui, le plus souvent cycliques, permettent une différenciation fonctionnelle plus aisée. Le rapprochement des centres et l'augmentation des contraintes stériques facilitent la différenciation des fonctions carbonylées. Dans la suite de cet inventaire non exhaustif de la littérature, les meilleurs résultats en termes

d'énantiosélectivité obtenus pour la réduction désymétrisante de composés dicarbonylés *méso* seront mis en évidence.

3.1.1. Approches diastéréosélectives

Vogel a développé dans les années 80 des voies de synthèse de plateformes dicétoniques non planes **293** par mono-élongation basée sur des réactions de Diels-Alder (Schéma **118**). [172] Ces systèmes non plans **293** symétriques formés sont diastéréosélectivement différenciables par un contrôle stérique du substrat. La monoréduction avec un réducteur comme le borohydrure de tetrabutylammonium permet alors une différenciation diastéréofaciale de la dicétone **293** et l'obtention du produit monoréduit **294** avec un excellent rendement. [173]

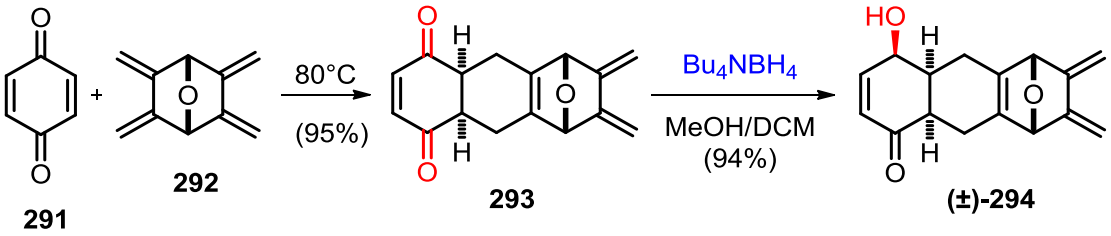


Schéma 117 Monoréduction utilisant le borohydrure de tetrabutylammonium

Récemment, de nombreux exemples de la littérature ont mis en évidence que l'emploi d'un réactif achiral porteur d'un seul équivalent d'hydrure permettait de monoréduire diastéréosélectivement des cyclopentanediones 2,2-disubstituées **295** en céto-alcools correspondants **296-300** (Schéma **119**).[174], [175]

[172] Vogel P, Springer Berlin, Ed. K. Krohn, Heidelberg **2008**, *282*, 187.
[173] Pinkerton A A, Schwarzenbach D, Stibbard J H A, Carrupt P A, Vogel P, Nonplanarity of pi systems in 5,6-bis(methylene)-7-oxanorborn-2-ene, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2095-96.
[174] Thornton P D, Burnell D J, A Pauson−Khand and Ring-Expansion Approach to the Aquariane Ring System, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3195-98.
[175] Carr J M, Snowden T S, Comparative reductive desymmetrization of 2,2-disubstituted-cycloalkane-1,3-diones, *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 2897-905.

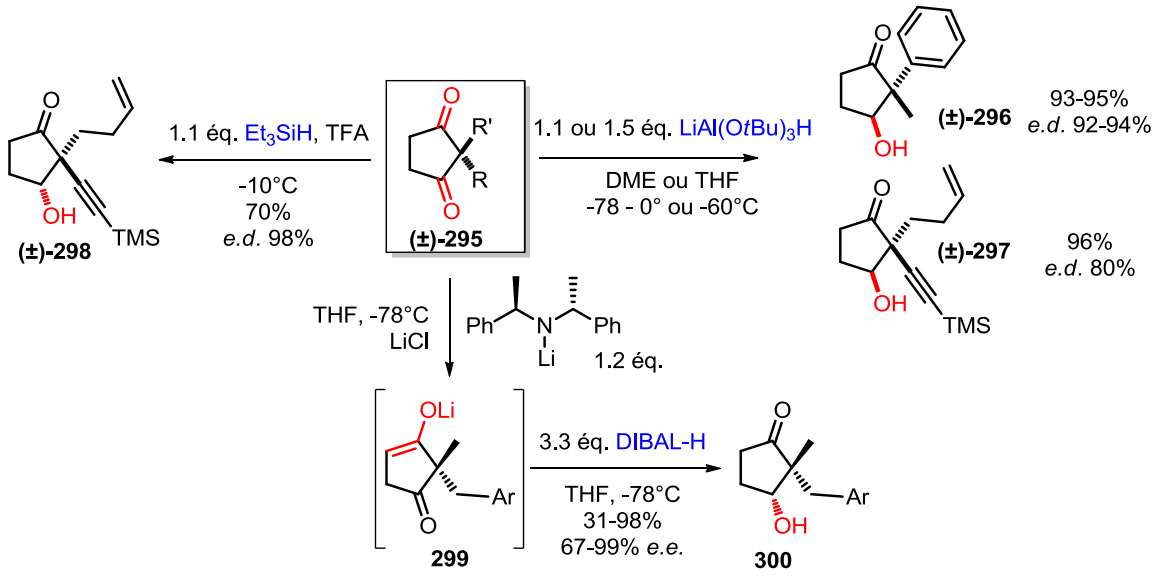


Schéma 118 Monoréductions des cyclopentanediones 2,2-disubstituées

Les réductions par l'hydrure de tri(*tert*-butoxy)aluminium et de lithium et par le borohydrure de sodium conduisent à une attaque sur la face la plus encombrée du substrat, permettant d'obtenir les céto-alcools **296** et **297** tandis que l'attaque d'un silane s'effectue sur la face la moins encombrée pour fournir le cétol **298**. Une version énantiosélective a également été développée par Simpkins par énolisation asymétrique du substrat au moyen d'une base chirale permettant la monoprotection anionique en **299** préalablement à la réduction proprement dite.[176]

3.1.2. Approches énantiosélectives

- **Réductions biocatalysées**

Les réductions asymétriques par biocatalyse de dicétones symétrique et *méso* ont été largement développées et étudiées au cours des réactions de désymétrisation réductrice. Elles offrent ainsi un accès rapide à de nombreux composés carbonylés énantiomériquement enrichis avec de bons rendements et de bonnes énantiosélectivités.[162, 172] Quelques exemples de désymétrisation biocatalytique de composés possédant des carbones pro-stéréogéniques comme la cyclopentane-1,3-dione **301**, [177] la cyclohexane-1,3-dione **303**, [178] les dicétones

[176] Butler B, Schultz T, Simpkins N S, Chiral base mediated transformation of cyclic 1,3-diketones, *Chem. Commun.* **2006**, 3634-36.
[177] Brooks D W, Grothaus P G, Irwin W L, Chiral cyclopentanoid synthetic intermediates via asymmetric microbial reduction of prochiral 2,2-disubstituted cyclopentanediones, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2820-21.
[178] Iwamoto M, Kawada H, Tanaka T, Nakada M, Preparation of new chiral building blocks via asymmetric catalysis, *Tet. Lett.* **2003**, *44*, 7239-43.

bicycliques **305**[179] et dicétones acycliques **307**[180] sont présentées dans le schéma **120**. Les enzymes responsables de la réduction microbienne ou enzymatique des cétones sont les alcools déshydrogénases. Elles ont une reconnaissance du substrat stricte et une énantiosélectivité élevée. Parmi les microorganismes les plus utilisés nous pouvons citer *Saccharomyces cerevisiae* (levure de boulanger). (Schéma **120**).

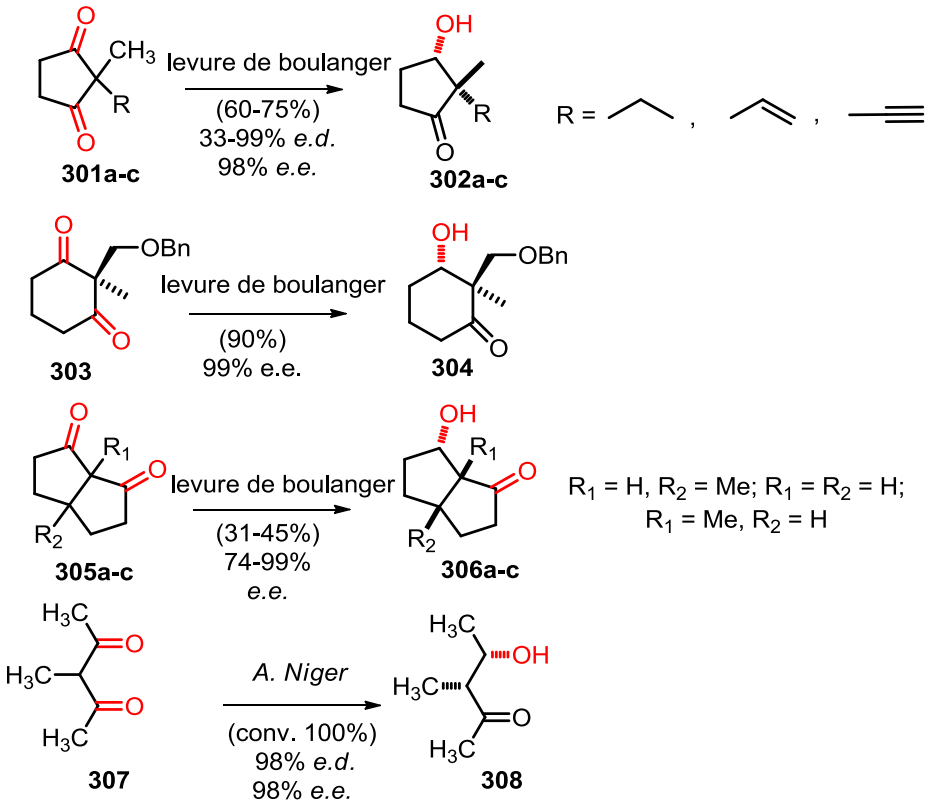


Schéma 119 Exemples de désymétrisation par réduction asymétrique biocatalysée.

Toutefois il est a noté que l'utilisation de ces méthodes ne s'applique qu'à des substrats simples rendant leur utilisation comme méthode générale de réduction impossible. D'autre part la réduction par la fermentation de la levure souffre d'un certain nombre d'inconvénients, notamment la nécessité d'utiliser de grands volumes au cours de la réaction, un gênant et abondant dégagement de CO_2, et enfin, les difficultés d'extraction de produits solubles dans l'eau.

[179] Inoue T, Hosomi K, Araki M, Nishide K, Node M, Enantioselective reduction of σ-Symmetric bicyclo[3.3.0]octane-2,8-diones with baker's yeast, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *6*, 31-34.
[180] Fauve A, Veschambre H, Use of biological systems for the synthesis of chiral molecules. 5. Microbiological reduction of acyclic .beta.-diketones, *J. Org. Chem*. **1988**, *53*, 5215-19.

- **Réductions catalysées par les oxazaborolidines chirales**

Shimizu *et al.* ont montré en 2000 que des 1,3-cyclopentanediones **301d** pouvaient être stéréosélectivement réduites par un borane en présence d'une oxazaborolidine chirale **309** dérivée de la *L*-thréonine (Schéma **121**). Ainsi en jouant sur le nombre d'équivalent de BH_3-THF utilisés lors de la réaction les auteurs peuvent contrôler la mono- ou la di-réduction du substrat de départ **301d**. [181]

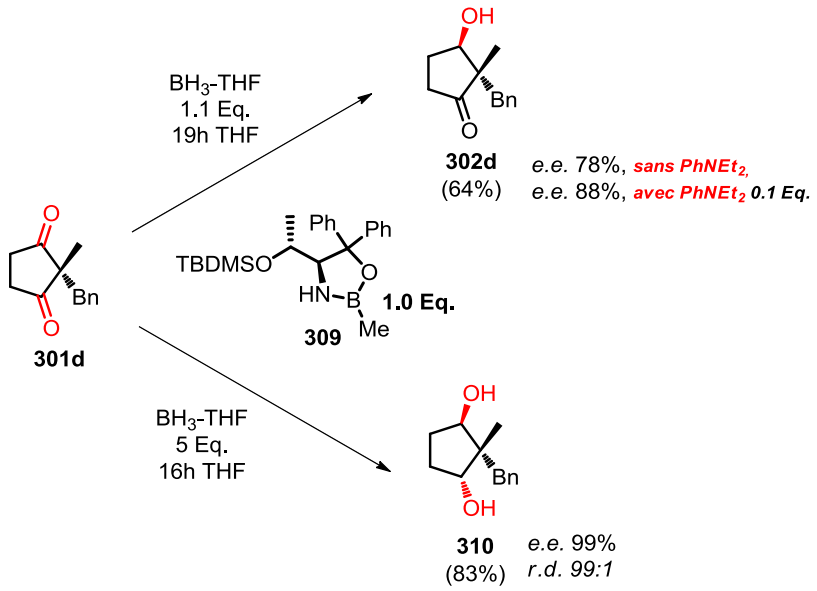


Schéma 120 Réduction de la 1,3-cyclopentanediones 301d.

Lors de l'utilisation de cinq équivalents de BH_3-THF et d'un équivalent de ligand **309**, la cyclopentanedione est transformée en diol *thréo* **310** avec une excellente stéréosélectivité. Une quantité stoechiométrique de ligand est nécessaire pour limiter la perte de diastéréosélectivité liée à une réduction inter- ou intra-moléculaire par le borate formé *in situ*. En réduisant la quantité d'hydrure à un équivalent, la même cyclopentanedione est monoréduite en **302d** et l'ajout de *N*,*N*-diéthylaniline permet d'augmenter sensiblement l'excès énantiomérique. Le rôle de cet additif sera démontré plus tard par Corey (*cf* ci-après). Le substituant méthyle de l'atome de bore de l'oxazaborolidine **309** est également important car il prévient la formation d'espèces catalytiques dimériques pouvant altérer la stéréosélectivité.[182] En 2007, l'équipe de Corey revisite la synthèse de Torgov de la méthoxy-

[181] Shimizu M, Yamada S, Fujita Y, Kobayashi F, Highly stereocontrolled reduction of 1,3-cyclopentanediones using oxazaborolidine-BH3, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, *11*, 3883-86.
[182] Salunkhe A M, Burkhardt E R, Highly enantioselective reduction of prochiral ketones with N,N-diethylaniline·borane (DEANB) in oxazaborolidine-catalyzed reductions, *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 1523-26.

estrone **314** (Schéma **122**).[183] Pour ce faire, la même méthode de désymétrisation de 1,3-cyclopentanediones est utilisé, en utilisant cette fois-ci un autre système réducteur catalytique **312** (le système classique s'avérant inadapté) dont l'efficacité est démontrée sur une large gamme de 1,3-cyclopentanediones et s'applique à une échelle de plusieurs grammes. Cependant, une lacune de ce procédé est la formation dans chaque cas, du 1,3-diol, qui est généré par une sur-réduction de la β-hydroxycétone.

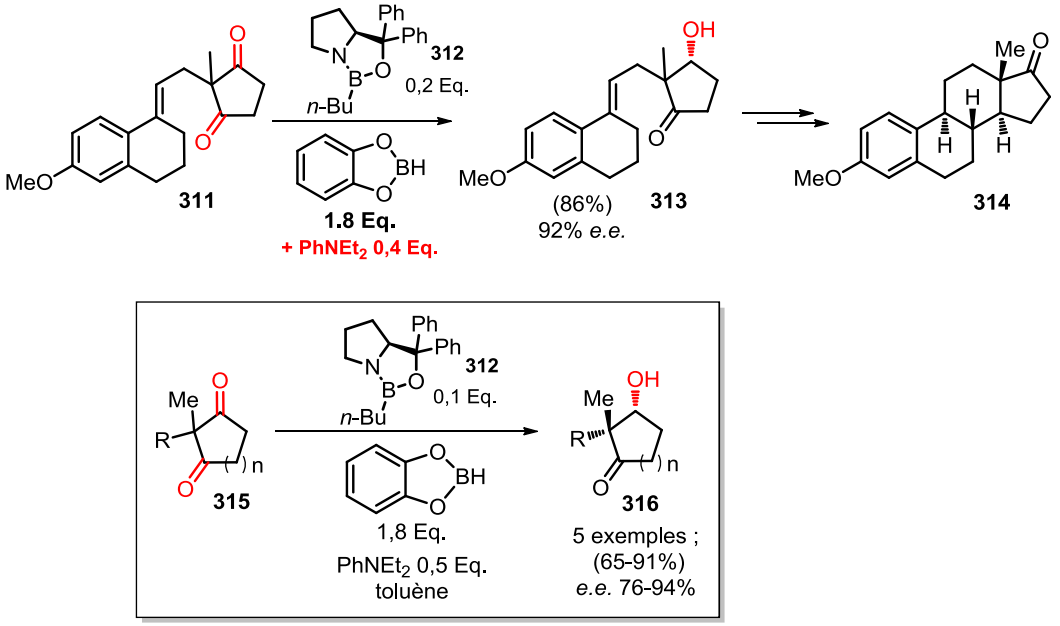


Schéma 121 Synthèse de Torgov de la méthoxy-estrone 314.

Le mécanisme proposé fait intervenir deux espèces zwitterioniques (**Figure 43**). La première est l'espèce réductrice résultant de l'assemblage d'une molécule de catécholborane et de *N*,*N*-diéthylaniline, et la seconde est catalytique et résulte de la liaison entre une molécule de catécholborane avec l'oxazaborolidine **312**. Corey explique que cette seconde espèce catalytique n'est pas réductrice mais que l'équivalent de catécholborane vient ici affaiblir la densité électronique de l'azote pyrrolidinique afin d'exacerber le caractère acide de Lewis de l'atome de bore de l'oxazaborolidine (*E.T.*).

[183] Yeung, Chein R-J, Corey E J, Conversion of Torgov's Synthesis of Estrone into a Highly Enantioselective and Efficient Process, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10346-47.

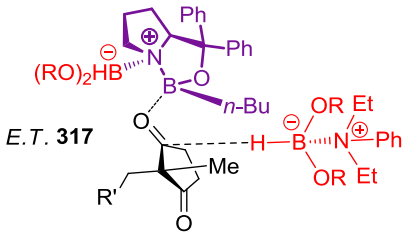


Figure 43 Etat de transition 317.

Cette hypothèse mécanistique a été récemment rectifiée par Corey qui a redémontré que la *N*,*N*-diéthylaniline est en réalité nécessaire à la déshydratation d'oxazaborolidines hydratées **318**, délétères au processus de réduction (Schéma **123**). [184]

Des traces d'eau peuvent catalyser la formation de ces espèces qui entrent en compétition dans la chélation du catalyseur avec le substrat.

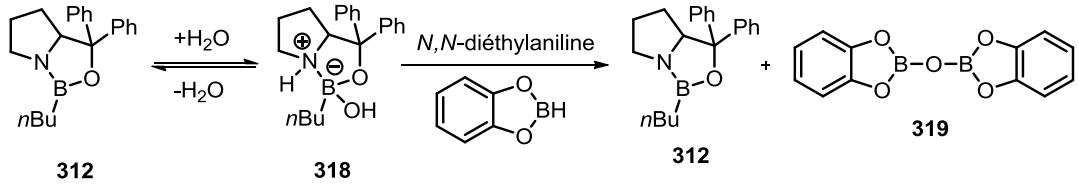


Schéma 122 Hypothèse mécanistique de la déshydratation de l'oxazaborolidines 318.

En 2006 Nising et ses collaborateurs illustrent un autre exemple de l'intérêt des oxazaborolidines dans la désymétrisation de dicétones (Schéma **124**). Les auteurs exploitent ici la concavité du composé *méso* **320** afin de différencier l'une des deux cétones prochirales au moyen d'une mono-réduction énantiosélective catalysée par l'oxazaborolidine **321**. [185]

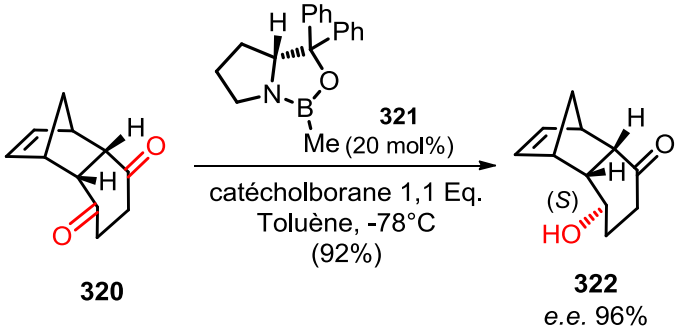
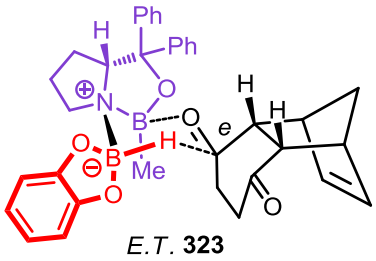


Schéma 123 Désymétrisation de dicétones 320 par Nising

[184] Chein R-J, Yeung Y-Y, Corey E J, Highly Enantioselective Oxazaborolidine-Catalyzed Reduction of 1,3-Dicarbonyl Compounds: Role of the Additive Diethylaniline, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1611-14.
[185] Nising C F, Ohnemüller U K, Bräse S, A Short and Practical Access to both Enantiomers of 4-Hydroxycyclohexenone Based on a Desymmetrizing CBS Reduction, *Synthesis*, **2006**, 2643-45.

L'attaque du catécholborane sur la face extérieure est favorisée par la concavité du substrat **320**. Par conséquent, la *Ré*-sélectivité du réactif est très majoritairement en faveur d'une monoréduction de **322** (Figure **44**). En effet, le catalyseur chiral **321** sélectionne la cétone pro-*S* par une approche *exo*, conduisant ainsi au produit de monoréduction **322** avec d'excellents rendements et excès énantiomérique.



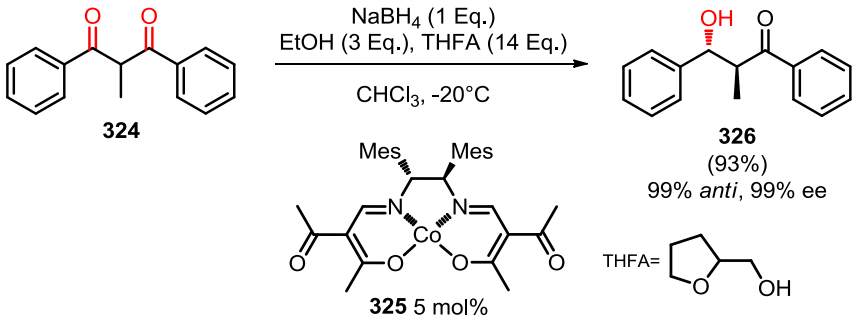
E.T. **323**

Figure 44 Etat de transition.

La discrimination des deux cétones par le catalyseur chiral est plus rapide que la réduction par le catécholborane seul additionné très lentement sur 17 heures. L'oxazaborolidine se complexe à la cétone sur la face *exo* de la molécule et le catécholborane, moins réactif, vient ensuite s'ajouter dans un E.T. à six chaînons et délivre l'hydrure sur la face *Ré* de la cétone (E.T. **323**, Figure **44**).

- **Réduction désymétrisante catalysée par un complexe de cobalt**

Le groupe de Yamada, rapporte en 2001, la désymétrisation asymétrique de 1,3-dicétones acycliques telles que **324** au moyen d'une réduction utilisant le borohydrure de sodium prémodifié par le furfurol (THFA) et en présence d'un complexe chiral de cobalt **325** (Schéma **125**).[186]



324

326
(93%)
99% *anti*, 99% ee

325 5 mol%

Schéma 124 Réduction de Yamada.

[186] Ohtsuka Y, Koyasu K, Ikeno T, Yamada T, Reductive Desymmetrization of 2-Alkyl-1,3-diketones Catalyzed by Optically Active β-Ketoiminato Cobalt Complexes, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2543-46

La diastéréosélectivité de la réaction est expliquée par une attaque *anti* de l'hydrure suivant un modèle de Felkin-Anh. Le catalyseur énantiopur oriente l'énantiosélectivité de la réaction en sélectionnant l'une des deux faces (*Ré*/*Si*) du substrat (Schéma **126**).

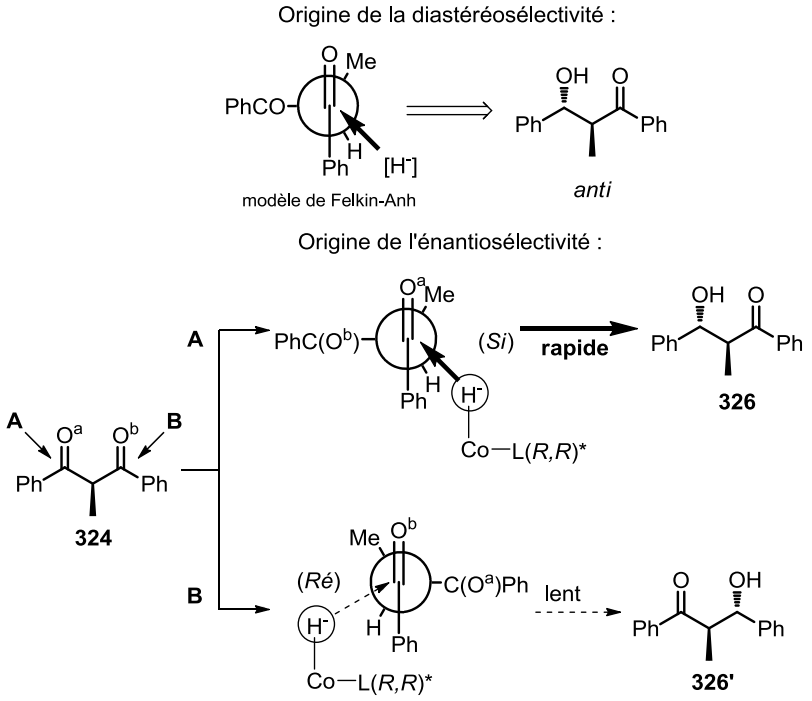


Schéma 125 Attaque de l'hydrure selon le modèle de Felkin-Anh.

- **Réduction désymétrisante par transfert d'hydrure**

La réduction de cétones par transfert d'hydrure est une méthode de choix pour transformer catalytiquement une cétone en alcool secondaire chiral.[187] Elle est réalisée en présence d'un catalyseur organométallique à base de métal de transition : rhodium, ruthénium, iridium. De manière assez caractéristique, il se forme dans le milieu un hydrure métallique, formé par β-élimination d'hydrure provenant d'un donneur tel le propan-2-ol. L'hydrogène est ensuite transféré à partir du métal vers l'accepteur carbonylé (Schéma **127**).

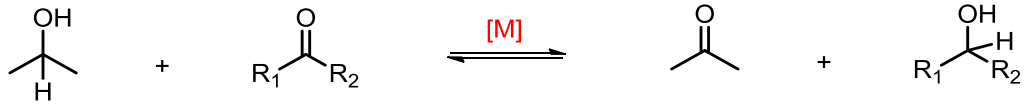


Schéma 126 Schéma général de réduction de cétone par réaction de transfert d'hydrure

[187] Noyori R, Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities (Nobel Lecture), *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-22.

Dans les années 1995,[188] l'équipe de Noyori développe un nouveau système catalytique Ru/TsDPEN, qui devient alors un des premiers catalyseurs efficace pour le transfert d'hydrogène sur cétone en termes de rendement et d'énantioselectivité. Ainsi, ces dernières années des précurseurs intéressants pour la préparation de molécules complexes ont été préparés avec une haute énantioselectivité par transfert d'hydrure sur des dicétones *méso* par l'utilisation du catalyseur de Noyori [Ru((*S*,*S*)-TsDPEN)(*p*-cymene)] **327.** [189]

Le mécanisme alors proposé est dit de sphère externe dans lequel l'alcool n'est jamais coordiné sur le métal. Il débute par la conversion du précatalyseur **327** en une espèce insaturée **328** par élimination de HCl au moyen d'une base. Le complexe actif d'hydrure de ruthénium **329** est engendré par le transfert de protons de l'*iso*propanol selon un mécanisme concerté à six centres décrit dans le schéma ci-dessous. La cétone prochirale est convertie en alcool de la même manière, par transfert simultané de l'hydrure du ruthénium et du proton NH du ligand dont l'hydrogène établit une liaison hydrogène avec l'oxygène de la cétone à réduire (Schéma **128**).

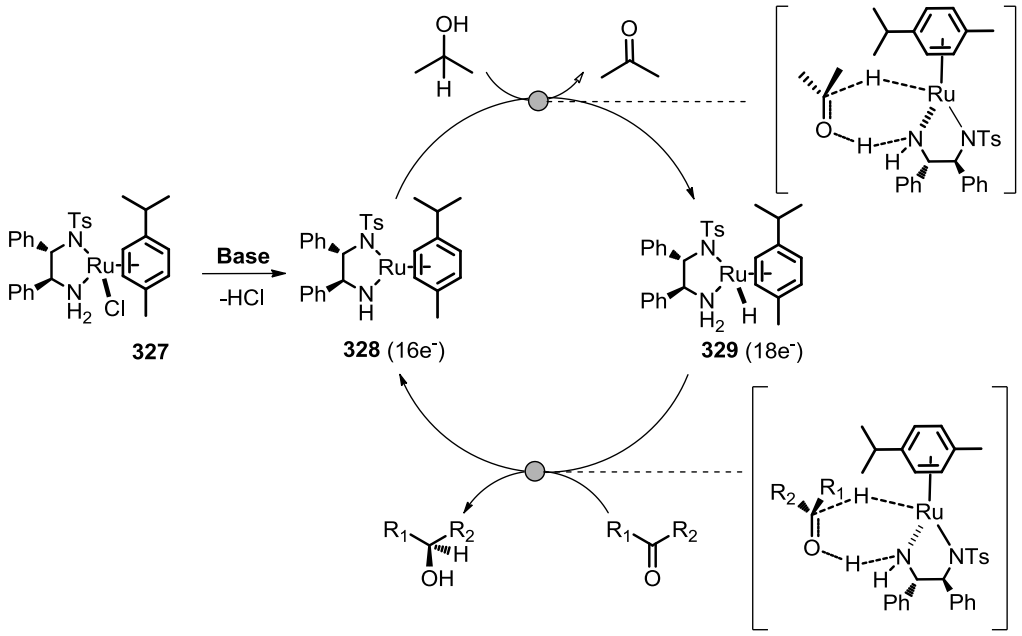


Schéma 127 Mécanisme du transfert d'hydrure proposé par Noyori

Aussi en 2009, les groupes de Metz et Chiu utilisent les conditions standard d'hydrogénation préalablement décrites à savoir 11 mol% de catalyseur et l'*iso*propanol comme solvant à

[188] Hashiguchi S, Fujii A, Takehara J, Ikariya T, Noyori R, Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by Chiral Ruthenium(II) Complexes, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7562-63.
[189] Fujii A, Hashiguchi S, Uematsu N, Ikariya T, Noyori R, Ruthenium(II)-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones Using a Formic Acid−Triethylamine Mixture, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2521-22.

température ambiante (Schéma **129**).[190] Le complexe de ruthénium (II) est préparé extemporanément et ajouté à la dicétone **330**. L'hydroxycétone **331** est alors obtenue avec un rendement élevé et une très bonne énantiosélectivité (81 et 93% *e.e.*, respectivement).

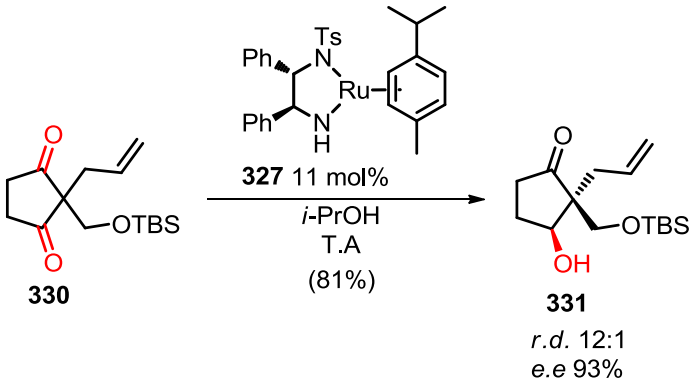


Schéma 128 Réduction de la 1,3-cyclopentanedione 330 dans l'*iso*propanol.

En 2011 et 2012, le groupe de McIntosh applique la réaction de réduction par transfert d'hydrure asymétrique de Noyori sur le substrat **332** (Schéma **130**). Ils utilisent une quantité stoechiométrique d'acide formique comme source d'hydrogène pour effectuer la monoréduction de la dicétone **332** en présence du complexe de ruthénium chiral **327**. [191] L'emploi d'acide formique, qui peut être vu comme un adduit de H_2 et de CO_2, rend la réaction irréversible et permet ainsi une amélioration de la conversion par rapport à l'emploi de l'*iso*propanol (Schéma **131**). Les deux cétones du composé **332** sont cinétiquement différenciées par le complexe de ruthénium chiral *via* l'état de transition supposé **333**.

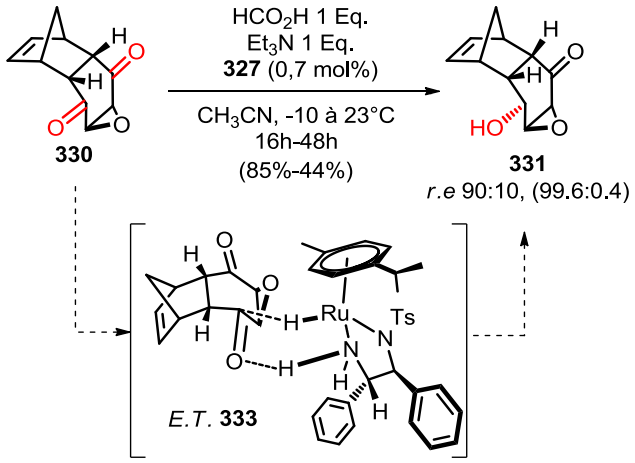


Schéma 129 Réduction par transfert d'hydrure avec le couple avec HCOOH/Et_3N.

[190] Shi B, Merten S, Wong D K Y, Chu J C K, Liu L L, Lam S K, Jäger A, Wong W-T, Chiu P, Metz P, The Rhodium-Catalyzed Carbene Cyclization Cycloaddition Cascade Reaction of Vinylsulfonates, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 3128-32.
[191] Clay D R, Rosenberg A G, McIntosh M C, Efficient, scalable asymmetric synthesis of an epoxy quinol via Noyori desymmetrization of a meso diketone, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, *22*, 713-16.

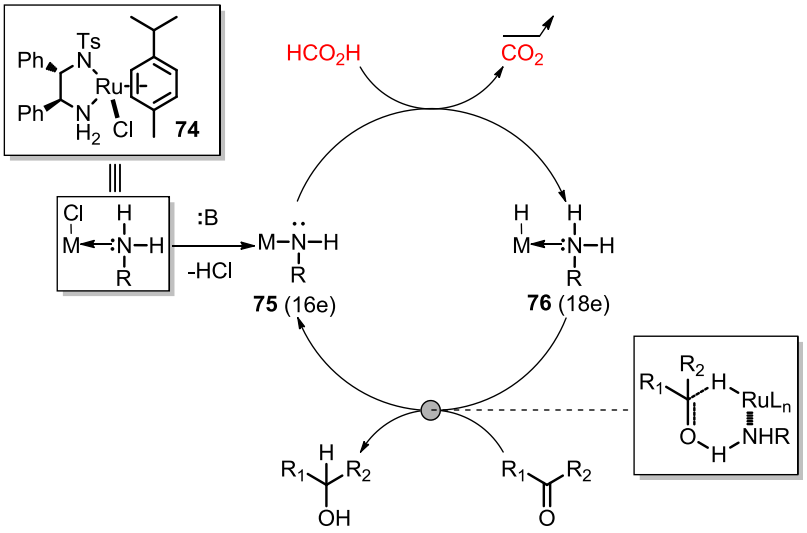


Schéma 130 Transfert d'hydrure *via* l'acide formique

L'hydroxycétone polycyclique **334**, est obtenue, au bout de 16h de réaction, avec un bon rendement de 85% et un excès énantiomérique moyen de 80%. En laissant la réaction 48h, l'énantiosélectivité est augmentée (>99%) par résolution cinétique de l'énantiomère minoritaire. Bien que celle-ci ait permis une augmentation de l'excès énantiomérique du composé final (de 80 à 99%), cela s'est fait au détriment du rendement passant de 85 à 44%. La réduction par transfert d'hydrure de Noyori a également été appliquée par le groupe de Cossy à diverses dicétones-1,3 substituées en position 2 (Schéma **132**). Ainsi la 2-méthyl-3-hydroxycétone *syn* **336** a été isolée avec un rendement de 38% et un faible excès diastéréo- et énantiomérique.[192] Cette méthodologie a également été employée dans une synthèse hautement convergente du (+)-stémoamide **340**.[193] Dans cet exemple, la première réduction est cinétique et l'intermédiaire **337** cyclise spontanément dans le milieu basique en lactone **338** qui est à son tour réduite par le catalyseur régénéré pour former la γ-hydroxy-lactone **339** (Schéma **132**). Ce procédé permet de contrôler en un seul pot trois centres asymétriques contigus au départ d'un synthon achiral **335** et illustre l'intérêt des stratégies de désymétrisation dans la synthèse totale des produits naturels.

[192] Eustache F, Dalko P I, Cossy J, Enantioselective Monoreduction of 2-Alkyl-1,3-diketones Mediated by Chiral Ruthenium Catalysts. Dynamic Kinetic Resolution, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1263-65.
[193] Bogliotti N, Dalko P I, Cossy J, Desymmetrization of Substituted 1,3-Diketones: A Formal Synthesis of (+)-Stemoamide, *Synlett*, **2006**, 2664-66.

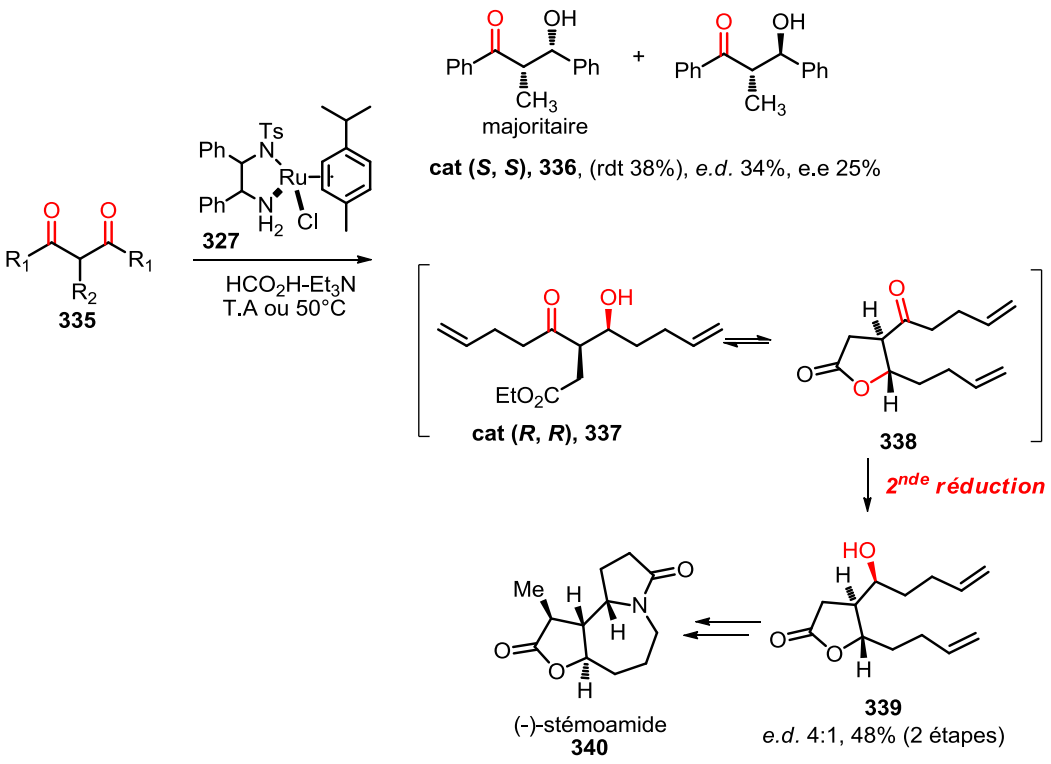


Schéma 131 synthèse de la (-)-stémoamide 340.

- **Désymétrisation de substrats présentant deux cétones éloignées**

Peu d'exemples de désymétrisation de substrats présentant deux cétones éloignées existent dans la littérature. Nous pouvons citer l'exemple de synthèse d'analogues de la céphalostatine **342** qui illustre parfaitement la convergence de ces stratégies de désymétrisation dans la synthèse de molécules complexes (Schéma **133**). [194] La réduction par un sélectride en défaut permet d'obtenir 49% de produit monoréduit depuis un précurseur dicétonique **341.**

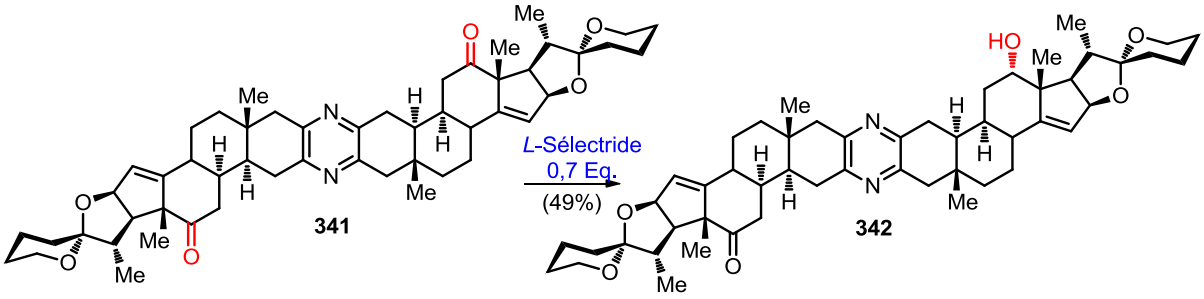


Schéma 132

Le dernier exemple a été évoqué précédemment à savoir la synthèse de la lobéline par Klingler qui est l'une des rares approches permettant de différencier diastéréo- et énantio-

[194] Drögemüller M, Flessner T, Jautelat R, Scholz U, Winterfeldt E, Synthesis of Cephalostatin Analogues by Symmetrical and Non-Symmetrical Routes, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, *1998*, 2811-31.

sélectivement un dérivé dicétonique (la lobélanine **267**) dont les fonctions carbonylées sont séparées de plus de deux atomes (*cf.* Schéma **107**). [164]

Ainsi ces exemples montrent les difficultés d'optimisation des réactions de désymétrisation dont les rendements restent modestes lorsque les deux fonctions carbonyles sont éloignées (<50%). Il en va donc d'un grand intérêt de développer des méthodes efficaces permettant de progresser dans ce domaine de la chimie de synthèse.

Le travail proposé constitue donc un défi de taille puisque bien qu'un large panel de méthodes de désymétrisation ait déjà été développé, peu s'applique à la monoréduction stéréosélective de dicétones éloignées.

3.2. Présentation des résultats

De cette étude bibliographique, il en résulte que l'utilisation d'un réactif achiral encombré et porteur d'un seul équivalent d'hydrure (tels que les sélectrides, l'hydrure de tri-(*tert*-butoxy)-aluminium et de lithium ou le triéthylsilane) favorise les processus de monoréductions diastéréosélectifs. Dans le cas des approches énantiosélectives, l'utilisation des boranes catalysés par les oxazaborolidines chirales ainsi que le procédé de transfert d'hydrogène de Noyori constituent les deux méthodes les plus utilisées à ce jour. Cependant, l'exemplification de ces procédés est limitée à des substrats présentant une diversité structurale relativement restreinte. Il est donc difficile de prédire leur performance dans les expériences de réductions envisagées dans ce chapitre. Nous avons choisi au cours de nos travaux de nous intéresser plus particulièrement au transfert d'hydrure de Noyori dans la mono- et di-réduction de substrats pyrrolidiniques méso et chiraux précédemment préparés.

3.2.1. Réduction de la série de pyrrolidines *méso*

- **Rationalisation en série *méso***

L'étude de la sélectivité de la réaction de transfert d'hydrure de Noyori dans la mono- et di-réduction de substrats *méso* présente une difficulté majeure qui est la multitude de composés pouvant être obtenus au cours de la réaction.

Pour déterminer la stéréochimie des stéréoisomères obtenus au cours des réductions catalysées par des ligands chiraux, nous avons entrepris dans un premier temps de réduire

sélectivement par un réactif achiral notre pyrrolidine **87l** sous forme de composés monoréduits ou diréduits.

Lorsqu'un excès de réducteur est ajouté dans le milieu réactionnel, la double réduction d'un composé *méso* peut fournir quatre diols stéréoisomères (Figure **45**) : deux *méso* ***syn*-343** et ***anti*-343** distinguables en RMN ainsi que deux énantiomères *thréo* (**343'** et *ent*-**343'**), strictement équivalents en RMN.

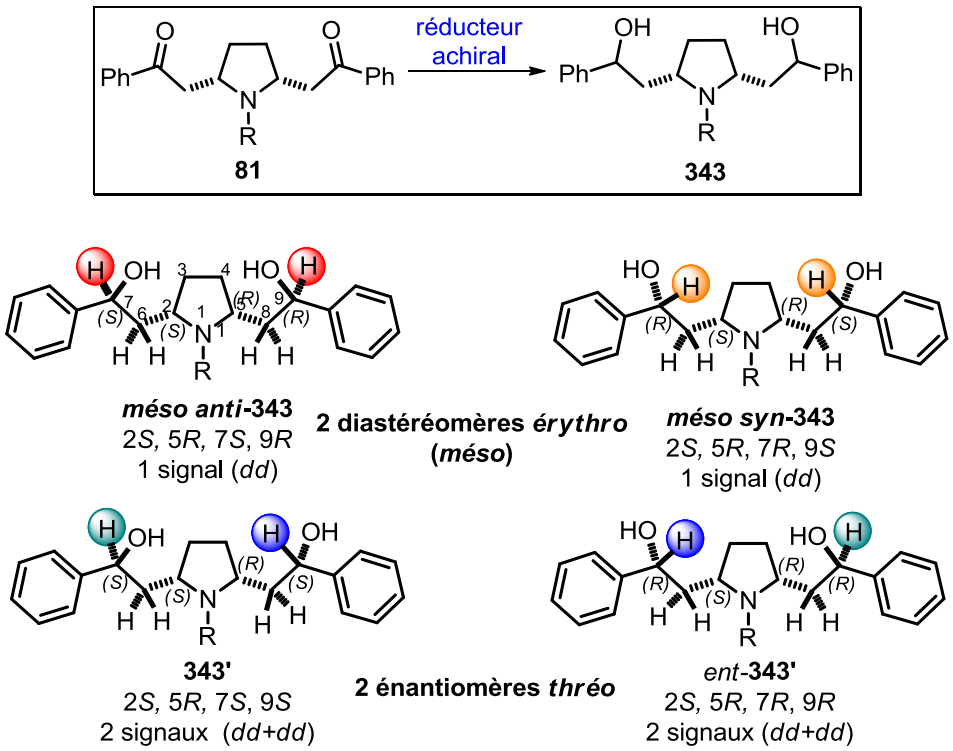


Figure 45 Diréduction de composés *méso* (équivalence RMN des protons indiquée en couleur).

La réduction de composés carbonylés par les hydrures est l'une des méthodes de synthèse les plus importantes pour la préparation d'alcools secondaires. Des réducteurs comme le $LiAlH_4$ et le $NaBH_4$ sont des réactifs très largement utilisés en chimie organique.[195] Ils sont tous deux capables de délivrer plusieurs hydrures au cours d'un même processus de réduction. Ainsi, l'ajout d'un excès de $NaBH_4$ réduit totalement la pyrrolidine **82l** en un mélange de diols **344l** isolés par chromatographie sur colonne de silice avec 65% de rendement. Malgré de nombreux efforts, les différents stéréoisomères sont difficiles à séparer. Toutefois l'analyse

[195] Donohoe T J, *Oxidation and reduction in organic synthesis*, Oxford University Press, Oxford, **2000**.

RMN ^{1}H des bruts réactionnels nous a permis de mesurer la conversion et nous montre clairement la présence des quatre distéréoisomères diréduits (Figure **46**).

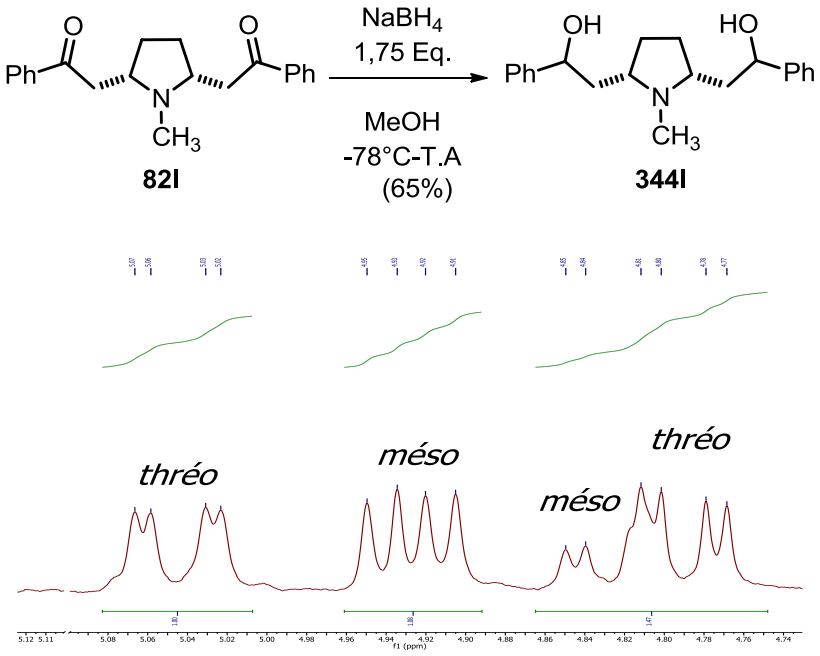


Figure 46 protons benzyliques caractéristiques (bruts réactionnels, $CDCl_3$ RMN ^{1}H 300MHz)

L'agrandissement du spectre RMN ^{1}H (Figure **46**) montre la présence de deux *dd* (δ 5,06 et 4,81 ppm) correspondants aux protons benzyliques du diastéréomère *thréo*. Les autres signaux (*dd*, δ 4,95 et 4,85 ppm) correspondent quant à eux aux protons benzyliques équivalents de deux diastéréomères *méso* (de type *anti*- et *syn*-**344**). Il est à remarquer que le triplet dédoublé observé sur la figure **46** est en fait le résultat de la superposition de deux doublets dédoublés dont l'un appartient à la forme *méso* et l'autre à une forme *thréo* racémique **344l**.
Cette expérience devrait simplifier l'interprétation RMN et donc permettre une étude plus aisée de la diastéréoselectivité du transfert d'hydrure par le catalyseur de Noyori sur nos pyrrolidines *méso*.

En ce qui concerne la mono-réduction d'un composé *méso* quatre stéréomères peuvent être obtenus sous forme de deux couples d'énantiomères qui devraient être distinguables en RMN. (Figure **47**)

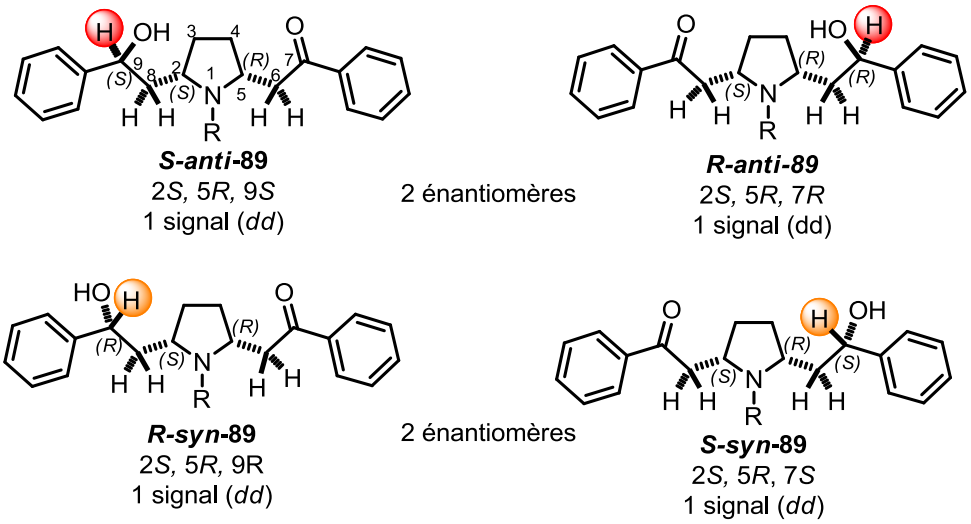
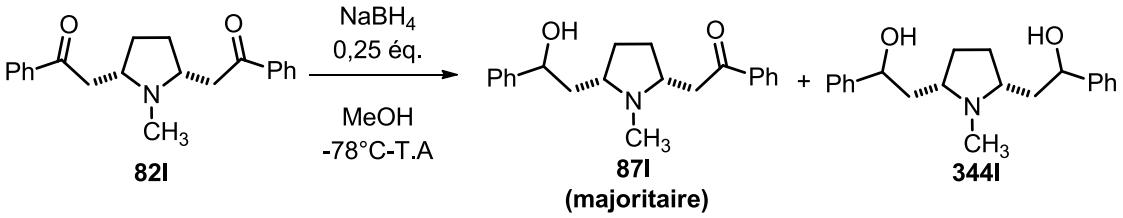


Figure 47 Monoréduction de composés *méso* (équivalence RMN des protons indiquée en couleur).

La réduction de la pyrrolidine **82l** par 0,25 éq. de $NaBH_4$ permet une réduction partielle (60% de conversion mesurée par RMN ^1H) de la pyrrolidine **82l** en un mélange complexe de produits. Cependant, l'analyse RMN du brut réactionnel nous permet de distinguer clairement la présence des diols minoritaires *thréo* et *méso* mais également les produits de monoréduction très majoritaires sortant sous la forme de deux *dd* (δ 5,12 et 4,91 ppm). Encore une fois ces différents stéréoisomères sont difficiles à séparer mais détectables en RMN (Figure **48**).



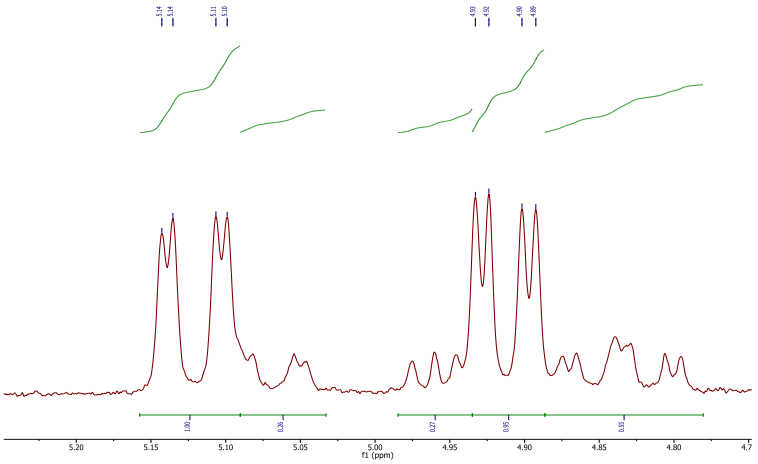


Figure 48 Protons benzyliques caractéristiques (bruts réactionnels, $CDCl_3$ RMN ^1H 300MHz).

3.2.2. Réduction de l'homologue pyrrolidinique de la lobélanine 82l

- **Choix du donneur d'hydrogène :**

Le donneur d'hydrogène le plus souvent utilisé pour l'hydrogénation par transfert d'hydrogène est l'*iso*propanol. Celui-ci se montre très efficace et présente de nombreux avantages comme son faible coût, sa non-toxicité, sa capacité à solubiliser une grande partie des composés organiques. Son produit de déshydrogénation, l'acétone peut facilement être éliminée du milieu dans le cas d'une réaction équilibrée défavorable. Toutefois ce phénomène de réversibilité peut affecter les résultats et fréquemment détériorer la pureté énantiomérique du produit chiral obtenu.[196]

Afin de pallier cet inconvénient, un second donneur d'hydrogène est utilisé : l'acide formique généralement sous forme azéotrope avec la triéthylamine qui conduit à des réactions irréversibles par élimination de CO_2 permettant la conversion totale de la cétone au cours de sa réduction.[197] Nous avons donc opté pour ce mélange azéotropique.

- **Détermination de la quantité d'acide formique nécessaire:**

Nos premiers essais de réduction ont été réalisés au départ du substrat **82l** en présence de 7 mol% du catalyseur [RuCl(η^6-arene)$_2$(*R*,*R*)-TsDPEN] **327**. Nous avons choisi dans un premier temps de faire varier la quantité d'acide formique en utilisant la même proportion de base Et_3N (0,5 éq.) indispensable à l'activation du catalyseur, afin d'identifier le meilleur ratio acide/base nécessaire pour une conversion totale de notre substrat. Notons que le substrat pyrrolidinique **82l** possède lui aussi un azote basique pouvant participer à la déprotonation du catalyseur.

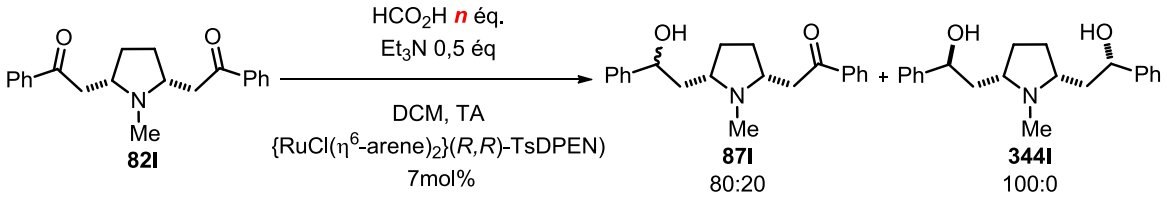
Un suivi cinétique dans le $CDCl_3$ a pu être réalisé grâce à la simplicité du protocole réactionnel à savoir : milieu non anhydre, ni dégazé, à température ambiante et sans nécessité de traitement.

La cinétique de la réaction a ainsi été évaluée à une concentration de 0,01 M par addition d'acide formique à des intervalles réguliers de 24h. Les conversions et les proportions des

[196] Palmer M J, Wills M, Asymmetric transfer hydrogenation of CO and CN bonds, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 2045-61

[197] Tanis S P, Evans B R, Nieman J A, Parker T T, Taylor W D, Heasley S E, Herrinton P M, Perrault W R, Hohler R A, Dolak L A, Hester M R, Seest E P, Solvent and in situ catalyst preparation impacts upon Noyori reductions of aryl-chloromethyl ketones: application to syntheses of chiral 2-amino-1-aryl-ethanols, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2154-82.

produits de la réaction à différents temps réactionnels sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau **16**).



Entrée	mol.L^{-1}	HCO_2H *n éq.*	Tps réact.	82l (%) SM	87l (%) mono	344l (%) di	87l/344l
1		1,0	24h	80	20	0	0
2		2,0	48h	50	40	10	0.25
3	**0,01**	2,5	72h	30	50	20	0,40
4		4,75	96h	10	55	35	0,62
5		**6,75**	**120h**	**0**	**60**	**40**	**0,67**

Tableau 16 Détermination de la quantité d'acide formique nécessaire.

A une concentration de 0,01 M, la réaction est lente, 120h sont nécessaires pour avoir une consommation totale du substrat de départ. Il est à noter que le pourcentage de produit de monoréduction reste majoritaire même après ajout d'un large excès d'acide formique. Le rapport des alcools formés témoigne de cet effet et montre qu'une consommation totale du substrat s'accompagne d'une augmentation de la di-réduction. Ainsi, dans ces conditions, il est nécessaire d'ajouter 6,75 équivalents d'acide formique pour consommer totalement la pyrrolidine **82l.**

Seuls deux isomères monoréduits sont détectés en RMN sur le brut réactionnel avec un excès diastéréomérique de 60% qui reste constant dans chacun des essais (Figure **49**).

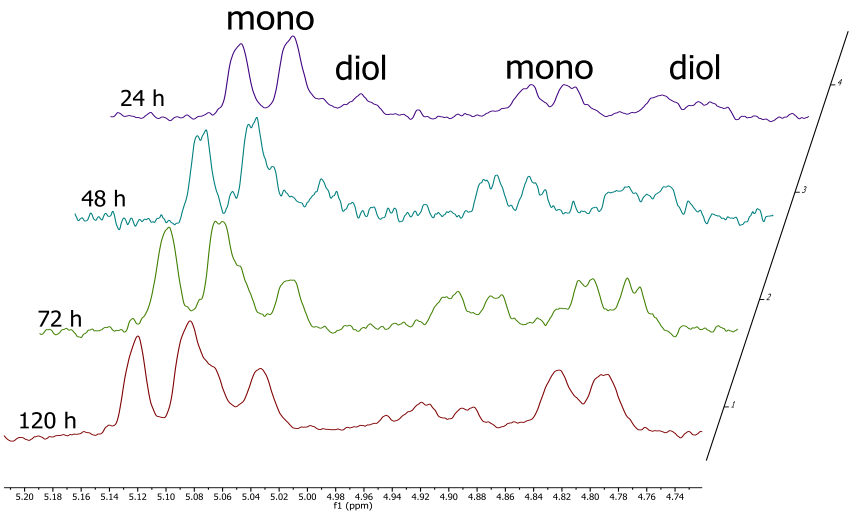


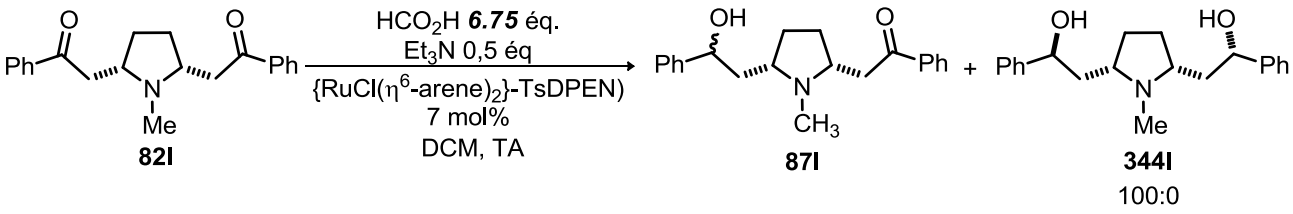
Figure 49 Suivi réactionnel à 0,01 M.

Les produits de mono- et de di-réductions peuvent être séparés par chromatographie sur colonne d'alumine neutre. Le diastéréoisomère *thréo* **344l'** est obtenu avec un rendement de 40%. Un mélange de deux diastéréoisomères issu de la monoréduction **87l** est isolé avec un rendement de 45%. Le diastéréomère majoritaire a pu être isolé avec 30% de rendement.

Ces premiers résultats très encourageants nous ont permis d'isoler un diastéréomère mono-réduit prouvant l'efficacité de cette méthode quant à la sélectivité de la réaction. Afin d'améliorer cette sélectivité le criblage d'un certain nombre de paramètres a alors été entrepris.

- **Effet de la concentration:**

Une série d'expériences a été menée dans les conditions préalablement établies à savoir 6,75 équivalents d'acide formique et 0,5 équivalents de base dans du DCM à différentes concentrations variant de 0,05 M à 0,5 M. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau **17** ci-dessous.



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Tps réact.	Conversion (%)	Proportion 87l (%) (*r.d.*)	Proportion 344l (%)
1	DCM	**0,005**	120	20	90	10
2		**0,001**	120	45	70 (100/0)	30
3		**0,01**[a]	120	50	70 (80/20)	30
4		**0,05**	120	61	34	66
5		**0,1**	120	90	30 (80/20)	70
6		**0,2**	120	>90	<5	>95
7			**24**	**62**	**34**	**66**
8		**0,5**	**24**	**>95**	**30**	**70**

[a] Pour rappel : par ajout successif d'acide formique, la conversion est totale au bout de 120h de réaction.

Tableau 17 Réduction de 82l, effet de la concentration.

La réaction est fortement ralentie à faible concentration. Le taux de conversion dépassant difficilement les 60% au bout de 120h de réaction à des concentrations inférieures à 0,05 M. Au-delà, le taux de conversion a été poussé à 90% au bout de 120h voire au bout de 24h dans le cas d'une concentration à 0,5 M avec une proportion en diols très majoritaire.

Dans un milieu un peu moins concentré (0,2 M), il est possible de déplacer la consommation du produit de monoréduction vers la formation du diol. Celui-ci est alors obtenu avec une conversion quasi-totale (tableau **17** - entrée **6**) et est isolé avec un rendement de 90% et une excellente diastéréoselectivité (RMN >95%), signifiant que les diastéréoisomères monoréduits observés sont probablement des intermédiaires communs au processus de formation du même diol **344l**.

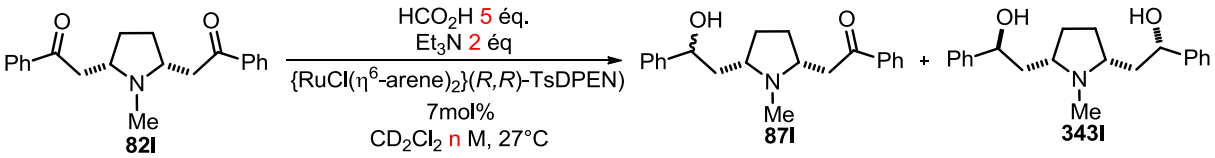
Contrairement aux résultats précédemment obtenus lors de l'addition successive d'acide formique à une concentration de 0,01 M (tableau **16** - entrée **5**), étonnamment l'ajout en une portion des 6,75 équivalents d'acide formique au début de réaction ne permet d'avoir qu'une conversion partielle au bout du même temps de réaction (tableau **17** - entrée **3**). Par conséquent les rendements s'en trouvent également diminués passant à 30% pour le composé monoréduit **87l** et 10% pour le produit de diréduction **344l**.

Au vue de ce problème de reproductibilité, il semblerait que la vitesse de la consommation d'acide formique soit un facteur limitant de la réaction.

Pour confirmer cette hypothèse nous avons tenté de réaliser plusieurs suivis cinétiques par RMN à différentes concentrations de dichlorométhane deutéré. Nous avons malheureusement rencontré quelques difficultés de mise au point expérimentale et notamment sur le prélèvement des infimes quantités de base à introduire. Pour pallier ce problème, nous avons alors travaillé avec un mélange Et_3N/HCOOH en proportion 2/5.

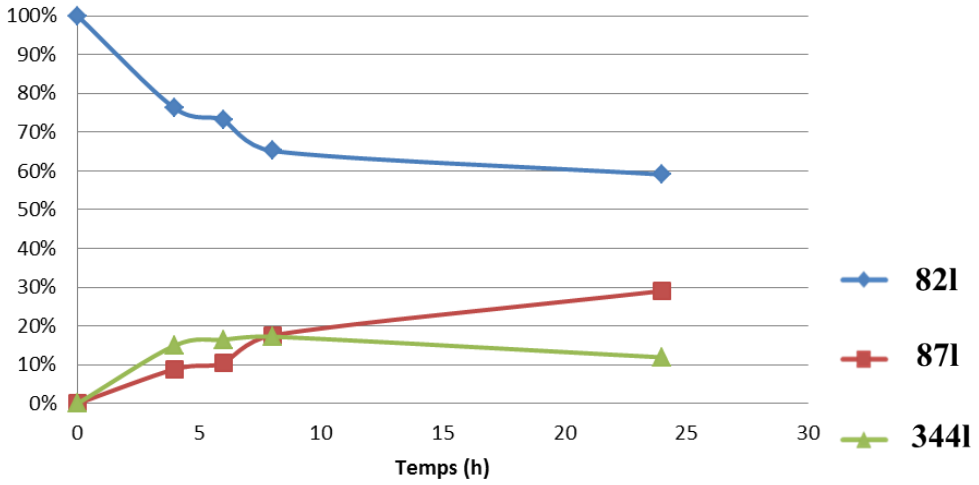
Ce choix a été motivé par le fait qu'un essai préalable de réduction à 0,2 M dans le DCM avec 2 équivalents de base Et_3N et 5 équivalents d'acide formique nous a donné des résultats identiques à ceux obtenus avec un mélange azéotropique Et_3N/HCOOH en proportion 0,5/6,75. Ceci nous confirme bien que le facteur limitant n'est pas la quantité de base présente dont la proportion est compensée par la basicité de notre substrat.

Les premiers résultats obtenus montrent qu'en dessous de 0,05 M la cinétique est trop lente. Les résultats les plus exploitables sont représentés ci-contre pour deux concentrations, 0,05 M et 0,2 M dont la cinétique a été réalisée sur 24h (Figure **50** et Figure **51**). En effet en dessous de 0,05 M la cinétique est trop lente et à 0,5 M la cinétique est trop rapide.



Cinétique à 0,05 M.

Temps (h)	0	4,00	6,00	8,00	24,00
SM 82l	100%	76%	73%	65%	59%
Diol 344l	0%	9%	10%	18%	29%
Mono 87l	0%	15%	16%	17%	12%



Cinétique à 0,2 M.

Temps (h)	0	4,00	6,00	8,00	24,00
SM 82l	100%	70%	50%	44%	38%
Diol 344l	0%	12%	19%	26%	41%
Mono 87l	0%	18%	31%	30%	21%

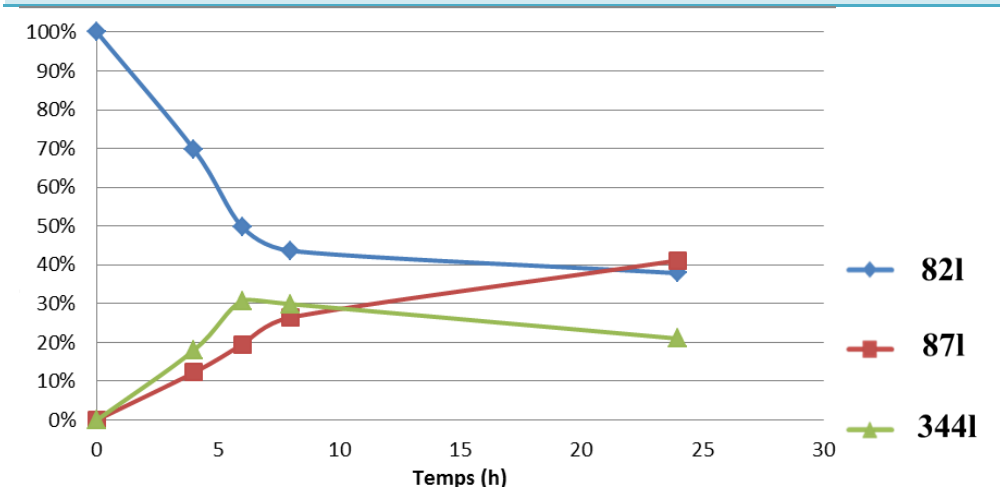


Figure 50 Suivi cinétique à 0,05 M et à 0,2 M.

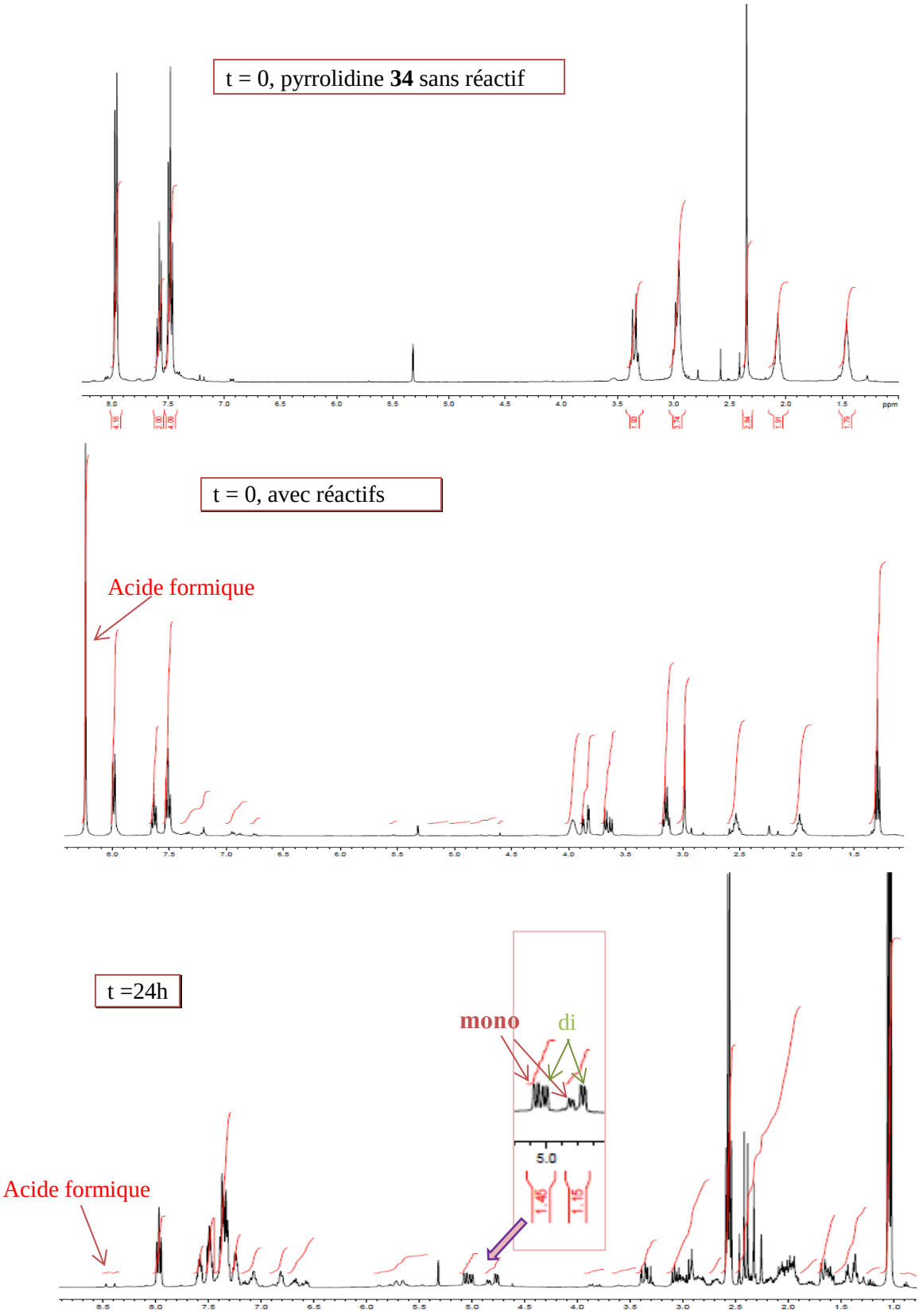


Figure 51 Suivi cinétique de la disparition de l'acide formique à 0,2 M.

Quelle que soit la concentration de départ, on constate que la cinétique est fortement ralentie après 6 heures de réaction correspondant probablement à la disparition d'acide formique du milieu. En effet, les spectres RMN (Figure **51**), nous permettent de voir sans ambiguïté que, dans ces conditions, l'acide formique disparait totalement au bout de 24 h de réaction. Ce qui explique, d'une part, le ralentissement de la cinétique de la réaction et la conversion partielle observée, même après un temps prolongé (120h) de réaction (tableau **17** - entrée **3**). Ainsi une addition successive de source d'hydrogène bien que fastidieuse semble donc nécessaire dans ces conditions pour consommer totalement la pyrrolidine de départ.

Ces courbes confirment aussi clairement que le produit de monoréduction formé en premier est lui-même réduit. Malgré cela, il est intéressant de noter qu'à 0,02 M, le ratio de produit mono et diréduit à 6h est en faveur du produit du monoréduit désiré. D'autre part, il est à noter qu'à 0,5 M, la cinétique est très rapide provoquant une consommation du produit monoréduit formé presque instantanément en produit de diréduction. De ce fait le ratio mono-diréduit est en faveur du di au bout de 6 heures de réaction.

Il parait ainsi évident qu'il nous faut trouver des conditions opératoires permettant une disparition de la dicétone de départ en moins de 10 heures. Ce qui nous permettra certainement d'augmenter notre ratio mono/di en faveur du produit issu de la monoréduction.

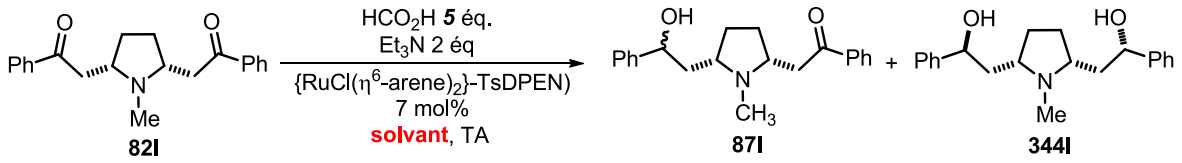
- **Effet du solvant:**

L'effet de solvant est bien connu dans la littérature pour affecter l'énantiosélectivité de la réduction de cétone par transfert d'hydrure au moyen du catalyseur ruthénié. Il est spéculé que la différence de constante diélectrique des différents solvants utilisés ou leur capacité à former des liaisons hydrogène contribuent à augmenter, voire même inverser l'énantiosélectivité de réduction des dicétones. [198,199]

Nous avons naturellement testé une batterie de solvants à une concentration de 0,2 M, en présence du mélange azéotropique Et_3N/HCOOH en proportion 2/5 après 6 heures de réaction à température ambiante, conditions pour lesquelles nous avons obtenu précédemment le meilleur ratio mono-di en faveur du mono au bout d'un temps relativement courts (Tableau **18**, Figure **52**). De nouveau, la conversion et la proportion des produits sont mesurées sur la

[198] Clay D R, McIntosh M C, Anomalies in the asymmetric transfer hydrogenation of several polycyclic meso compounds, *Tetrahedron. Lett.* **2012**, *53*, 1691-94.
[199] Yamakawa M, Yamada I, Noyori R, CH/π Attraction: The Origin of Enantioselectivity in Transfer Hydrogenation of Aromatic Carbonyl Compounds Catalyzed by Chiral η6-Arene-Ruthenium(II) Complexes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 2818-21.

base de l'analyse du brut réactionnel en RMN ^{1}H. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	**87l** (%)	**344l** (%)
1	**DCM**					50	62	38
2	**CH_3CN**					90	10	90
3	***i*PrOH**					92	10	90
4	**DMF**	0,2	7	6h	24	95	<5	>95
5	**THF**					28	-	-
6	**HFIP**					0	-	-
7	**C_6D_6**					<5	-	-

Tableau 18 Effet du solvant à 0,2 M.

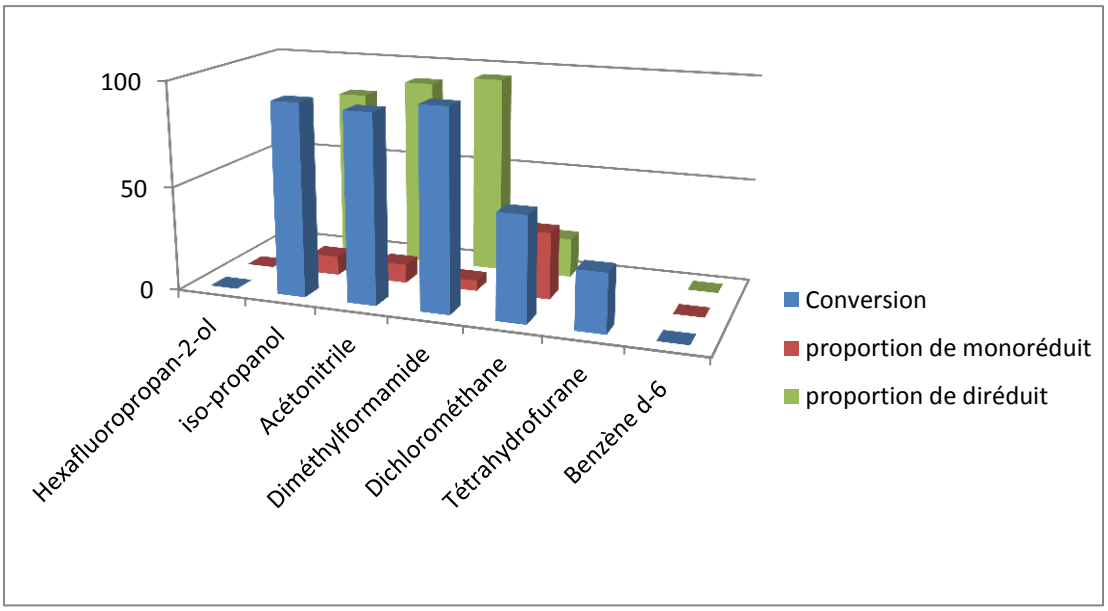


Figure 52 Screening de solvants pour la réduction de la dicétone 82l après 6h de réaction (les conditions standards sont décrites dans le Tableau 18).

Le changement du dichlorométhane (solvant apolaire aprotique) en acétonitrile ou DMF (solvants polaires aprotiques) ou encore en *iso*propanol (solvant polaire protique et co-donneur d'hydrogène dans la réaction de Noyori) permet d'accélérer la cinétique de la réaction et une consommation quasi-totale du substrat de départ en 6h. Dans des solvants

comme le THF ou le benzène deutéré la conversion est lente aboutissant même dans le cas du THF à une dégradation partielle du substrat.

Dans un solvant polaire comme l'*iso*propanol si la conversion est plus rapide, la réaction se fait en faveur du produit de diréduction. Il a été montré récemment que la liaison hydrogène entre l'oxygène de la cétone et le solvant protique tel que le méthanol abaisse les énergies d'état de transition par rapport aux états non solvatés de transition ce qui peut expliquer la grande réactivité de la réaction dans l'*iso*propanol jouant le rôle de navette à proton (Figure **53**).[199]

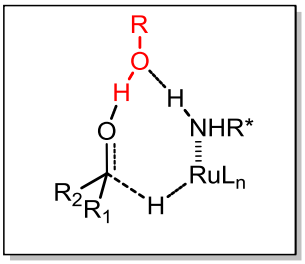


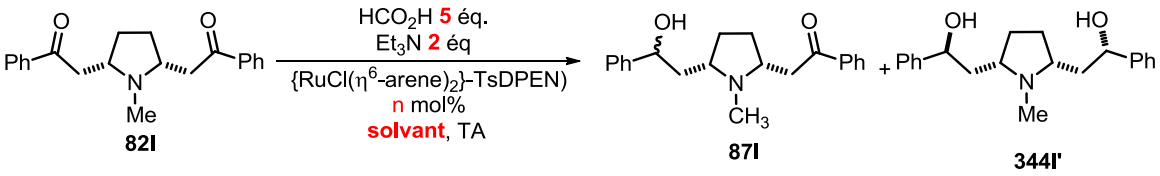
Figure 53 Etat de transition du transfert d'hydrogène dans un alcool.

En revanche dans l'HFIP (tableau **18** - entrée **6**), il n'y a pas de réaction ce qui peut s'expliquer par le caractère acide de ce solvant pouvant inhiber l'activation du catalyseur par la Et_3N qui formerait un complexe stable avec l' HFIP.[200]

D'autre part, il n'est pas étonnant que, dans des solvants comme le benzène, une interaction électrostatique CH-Π entre le noyau benzénique et le noyau mésytilène du catalyseur vienne modifier la conformation du catalyseur le rendant moins efficace.

Nous avons donc entrepris de réaliser des cinétiques de réaction dans trois solvants choisis au vue des résultats précédemment observés : le DCM, l'acétonitrile et l'*iso*-propanol. Si le DMF donne des résultats comparables à ceux obtenus avec l'acétonitrile et l'*iso*propanol, nous avons volontairement mis de côté ce solvant plus difficile à éliminer en fin de réaction. Chaque essai a été réalisé dans les conditions suivantes : acide formique / Et_3N en proportion 5/2, dans un solvant à 0,2 M avec 3,5 ou 7 mol% de catalyseur de Noyori **327**. (Tableaux **19**, **20** et **21**)

[200] Berrien J-F, Ourévitch M, Morgant G, Ghermani N E, Crousse B, Bonnet-Delpon D, A crystalline H-bond cluster of hexafluoroisopropanol (HFIP) and piperidine: Structure determination by X ray diffraction, *J. Fluorine Chem.* **2007**, *128*, 839-43.



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	87l (%) (*r.d.*)	344l (%)
1	**DCM**	**0,2**	**3,5**	1h	24	36	100 (67/33)	-
2				6h		60	73 (70/30)	27
3				24h		80	50 (70/30)	50
4			**7**	6h		50	62	38
5				8h		56	46	54
6				24h		62	34	66

Tableau 19 Étude cinétique dans le dichlorométhane.

Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	87l (%) (*r.d.*)	344l (%)
1	**CH_3CN**	**0,2**	**3,5**	25mn	24	60	71 (65/35)	29
2				**1h**		**70**	**75 (65/35)**	**25**
3				3h		83	54	46
4				6h		85	33 (65/35)	67
5			7	25mn		70	65 (67/33)	35
6				1h		80	33	67
7				3h		85	27	73
8				6h		90	10	90
9				12h		100	<5 (67/33)	>95

Tableau 20 Étude cinétique dans l'acétonitrile.

Entrée	**Solvant**	**mol.L^{-1}**	**Catalyseur (mol%)**	**Tps réact.**	**T°C**	**Conv. (%)**	**87l (%) (*r.d.*)**	**344l (%)**
1	***i*-PrOH**	**0,2**	3,5	1h	24	5	100	-
2				2h30		54	77 (62/38)	33
3				6h00		82	27	73
4			7	1h		58	78 (65/35)	22
5				2h30		79	27 (65/35)	73
6				6h		92	10 (100/0)	90

Tableau 21 Étude cinétique dans l'*iso*propanol.

Dans le DCM, si les résultats sont conformes à ceux déjà observés avec 7 mol% de catalyseur, en revanche on observe étonnamment une amélioration de la conversion avec 3,5 mol% de catalyseur ce qui permet au bout de 6h d'avoir 60% de conversion avec une proportion mono-di en faveur du produit de monoréduction (tableau **19** - entrée **2**).

Dans l'acétonitrile, il est possible de déplacer totalement la consommation du produit de départ en 12h seulement à 0,2 M vers la formation du diol **344l** qui est alors obtenu avec 100% de conversion (tableau **20** – entrée **9**). Si au bout de 3 ou 6 heures de réaction la conversion est déjà très bonne, malheureusement le produit de diréduction reste dans chacun des cas très largement majoritaire (tableau **20** - entrées **7** et **8**). Ce rapport en faveur du produit de diréduction est inversé lorsque l'on arrête la réaction après 25 minutes de réaction (tableau **20** - entrée **5**). L'utilisation de 3,5 mol% de catalyseur permet un ralentissement de la cinétique de la réaction ce qui permet au bout d'une heure d'avoir une conversion convenable et une proportion en produit de monoréduction de 75% qui a pu être isolé avec un rendement de 50% (tableau **20**- entrée **2**). La diastéréosélectivité déterminée par RMN est moyenne de l'ordre de 30% pour les produits de monoréduction mais excellente pour le produit de diréduction (>95%) signifiant que les diastéréomères monoréduits observés sont aussi des intermédiaires communs au processus de formation du même diol **344l**.

Contrairement à ce que nous avons pu observer dans l'acétonitrile, la cinétique de la réaction dans l'*iso*propanol est fortement ralentie et notamment quand la réaction est réalisée avec 3,5 mol% de catalyseur où la conversion passe de 70% dans l'acétonitrile à 5% dans l'*iso*propanol (tableaux **20** et **21** - entrées **1**). Bien que la cinétique soit plus rapide que dans le DCM, aucune amélioration en termes de sélectivité ou encore de diastéréoselectivité n'a pu être observée avec ce solvant.

Grâce à l'étude réalisée sur les différents paramètres qui régissent le transfert d'hydrogène sur le dicétone *méso* **82l**, on constate que les différents systèmes catalytiques étudiés conduisent à des différences remarquables sur le plan de la sélectivité (produit de monoréduction ou de diréduction). D'autre part la concentration en substrat et le choix du solvant ont une influence marquée sur l'activité catalytique.

Cette étude préalable nous a permis d'optimiser au mieux les conditions expérimentales pour obtenir, avec un rendement honorable de presque 50%, les deux diastéréoisomères issus de la monoréduction. Ces derniers ont été isolés sur colonne d'alumine avec 31% rendement pour l'un sous la forme d'une huile et 17% de rendement pour l'autre qui a la caractéristique d'être

solide et qui cristallise. Sa configuration relative a ainsi pu être déterminée sans ambiguïté (Schéma **134**, Figure **54**).

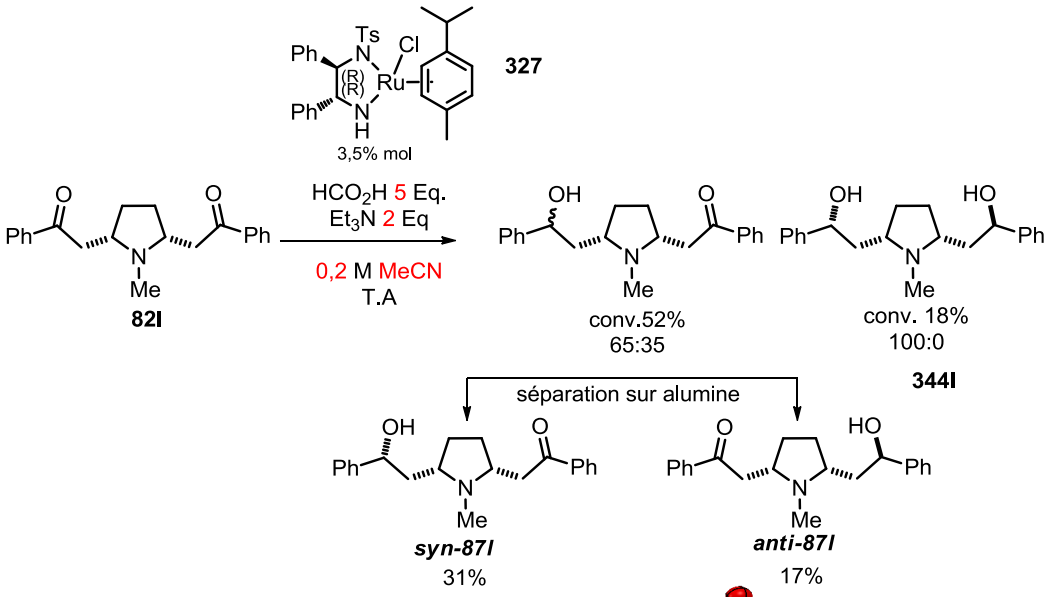


Schéma 133 Réduction de 82l dans l'acétonitrile.

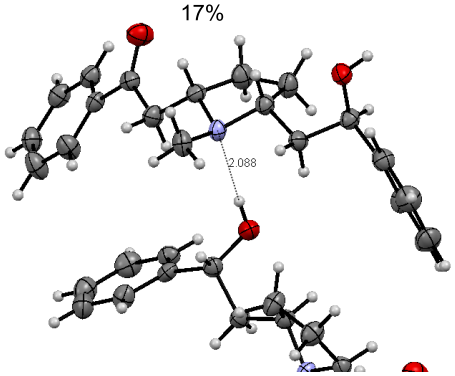


Figure 54 Cliché cristallographique de *R*-87l (Pascal Retailleau, ICSN)

L'amélioration de la stéréosélectivité et de la proportion de monoréduction nécessiterait un criblage plus approfondi de ligands mais nous avons tout d'abord étudié l'influence du substrat en faisant simplement varier la nature du substituant porté par l'azote.

3.2.3. Etude du potentiel de désymétrisation par le substrat

Il a d'abord été évoqué par Noyori et collaborateurs [201] et depuis largement admis[202,203] qu'il pouvait exister une interaction électrostatique stabilisante CH(η^6-arène)–Π(arène) (Figure **55**)

[201] Noyori R, Yamakawa M, Hashiguchi S, Metal−Ligand Bifunctional Catalysis: A Nonclassical Mechanism for Asymmetric Hydrogen Transfer between Alcohols and Carbonyl Compounds, *J. Org. Chem*. **2001**, *66*, 7931-44.

[202] Fang Z, Wills M, Asymmetric Transfer Hydrogenation of Functionalized Acetylenic Ketones, *J. Org. Chem*. **2013**, *78*, 8594-05.

ou CH(η^6-arene) – Π(acétylénique) (Figure **55**) entre un atome d'hydrogène du η^6-arène du catalyseur et un système aromatique ou acétylénique du substrat. Cette interaction est critique pour le contrôle de la stéréochimie absolue du produit. Cet effet est encore plus important si un groupe méthyle est présent sur le η^6-arène du catalyseur.

Cependant, cela nécessite que le substrat contienne un cycle aromatique convenablement situé. Ainsi les «dialkyles» cétones sont réduites avec une nettement moins bonne énantiosélectivité.

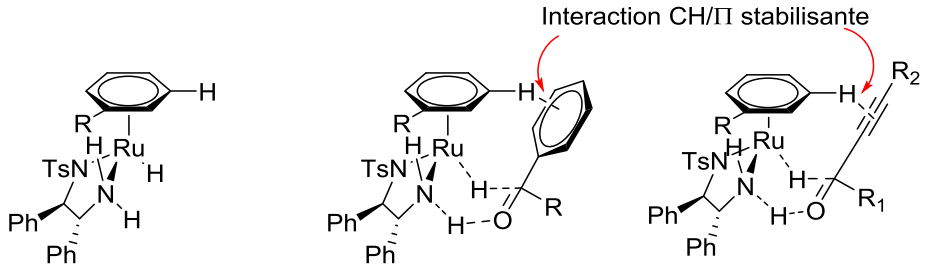


Figure 55 Interactions électrostatiques stabilisantes.

On a pu constater lors de la réduction de la pyrrolidine *méso* **82l**, que la diastéréoselectivité de la réaction était moyenne. Que devient cette diastéréosélectivité si le substrat de départ possède une copule sur l'azote pouvant également réaliser cette interaction Π/CH ?

Pour tenter de répondre à cette interrogation, trois substrats méso portant un groupement allyle (**82i**), benzyle *o*-OMe (**82h**) et benzydryle (**82j**) ont été étudiés dans la réduction de Noyori. (Figure **56**)

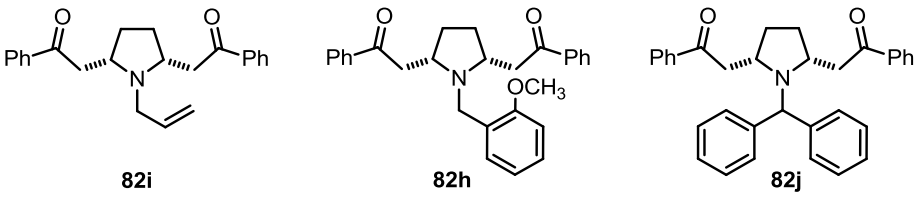
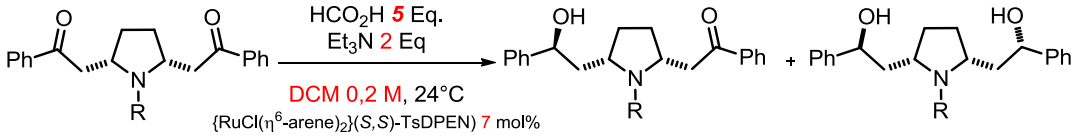


Figure 56 Les substrats *méso* 82i, 82h et 82j.

Les premières tentatives de réduction ont été réalisées dans le dichlorométhane à une concentration de 0,2 M avec 7 mol% de catalyseur. Le rapport acide formique/triéthylamine utilisé est le même que précédemment à savoir 5/2. Comme auparavant les conversions et les

[203] Kišić A, Stephan M, Mohar B, Asymmetric Transfer Hydrogenation of 1-Naphthyl Ketones by an ansa-Ru(II) Complex of a DPEN-SO2N(Me)-(CH2)2(η6-p-Tol) Combined Ligand, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1614-17.

proportions en produits mono- et di-réduits sont mesurées par RMN sur le brut réactionnel et regroupées dans le tableau ci-dessous.



82i, R= Allyle
82h, R= Benz-*o*-OMe
82j, R= Benzydryle

87i, R= Allyle
87h, R= Benz-*o*-OMe
87j, R= Benzydryle

344i, R= Allyle
344h, R= Benz-*o*-OMe
344j, R= Benzydryle

Entrée	Substrat	Tps réact.	Conv. (%)[a]	87i-j (%)[a] (*e.d. %*)	344i-j(%)[a] (*e.d. %*)
1	82i	6h	>95	55 (> 95)	45 (> 95)
2	82h		>95	54 (> 95)	46 (> 95)
3	82j		75	85 (34)	15 (> 95)

[a] Conversions et diastéréosélectivités déterminées par RMN ^{1}H sur le brut réactionnel

Tableau 22 Réduction des les substrats *méso*.

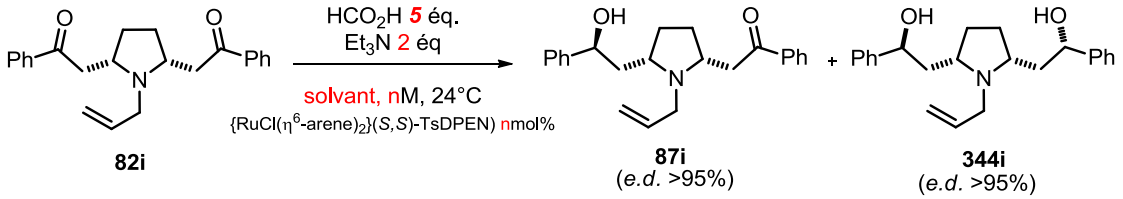
La première constatation sur ces essais préliminaires de réduction est que la cinétique de la réaction est accélérée par rapport au substrat *N*-méthylé **82l**, pour lequel la conversion n'était que de 50% pour un même temps de réaction (Tableau **19** - entrée **2**). La conversion est excellente pour les substrats **82i** et **82h** (Tableau **22** - entrées **1** et **2**). En revanche la sélectivité est nettement améliorée puisque l'excès diastéréomérique est supérieur à 95% pour chaque produit.

La conversion de la pyrrolidine **82j** est quant à elle amenée à 75% en 6 heures et les produits issus de la monoréduction sont largement majoritaires (85%). Toutefois on retrouve l'excès diastéréomérique modeste obtenus avec la pyrrolidine *N*-méthylée (Tableau **22** - entrée **3**).

Il semble donc que la conformation qu'adopte la molécule en fonction des substituants portés par l'azote soit primordiale pour la diastéréoselectivité de la réaction. La présence d'un allyle ou d'un substituant benzyle *ortho*-substitué par un groupement électrodonneur méthoxy provoque une conformation dissymétrique de la pyrrolidine rendant ainsi une des cétones plus accessible.

Cette réaction de réduction étant substrat dépendante, nous avons donc dû faire pour chaque pyrrolidines de départ, un criblage orienté par les résultats précédemment obtenus sur le substrat **82l**, pour trouver les meilleures conditions favorisant l'obtention de la pyrrolidine monoréduite. Nous avons fait varier différents paramètres comme le solvant, la concentration,

la quantité de catalyseur, ou encore un dernier paramètre que nous n'avions pas exploré jusqu'alors, la température. Les résultats les plus significatifs en terme de conversion et de sélectivité sont résumés dans les tableaux ci-après (tableaux **23, 24, 25**).



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)[a]	87i (%)[a]	344i (%)[a]
1	**DCM**	**0,2**	7	4h	24	>95	65	35
2			3,5	6h		>95	63	37
3			1,2	18h		5	-	-
4		**0,1**	**7**	**18h**		**90**	**80 (65)[b]**	**20**
5		**0,01**	7	48h		30	65	35
6	**MeCN**	**0,2**	7	1h	24	90	50	50
7		**0,1**	7	1h30		90	36	64
8			**3,5**	**3h30**		**>95**	**64**	**36**
9	**DMF**	**0,2**	7	4h	24	100	5	95
10				4h	-20	100	5	95
11	**DCM/DMF**	**0,2**	7	4h	24	100	5	95
12	**(1/1)**			4h	-40	100	5	95
13	***i*PrOH**	**0,2**	7	4h	24	100	0	100

[a] Conversion s déterminée par RMN ^{1}H sur le brut réactionnel
[b] rendement isolé après purification sur colonne d'alumine neutre

Tableau 23 Influence sur la sélectivité, de la modification de différents paramètres lors de la réduction de la pyrrolidine 82i.

Ce criblage sur la pyrrolidine **82i** montre que le DCM et l'acétonitrile sont les solvants de choix pour effectuer cette réduction et obtenir majoritairement le dérivé monoréduit **87i**. Le DMF ou l'*iso*propanol donnant le produit de diréduction majoritairement après un temps relativement court. Malgré notre volonté de ralentir la cinétique de la réaction en travaillant à froid (Tableau **23** - entrées **10, 12**) ou en réalisant un mélange de solvants DMF/DCM dans lequel la vitesse de la réaction est ralentie (Tableau **23** - entrées **11**, **12**), nous n'avons pu inverser cette tendance.

Bien que l'acétonitrile, nous permette d'obtenir une très bonne conversion, en un temps de réaction très court, le meilleur rapport conversion/sélectivité pour le produit de monoréduction **87i** est obtenu en utilisant 3,5 mol% de catalyseur à une concentration de 0,1 M (Tableau **23** - entrée **8**). En revanche pour cette même concentration, la réaction est fortement ralentie dans le DCM par rapport à une concentration de 0,2 M (Tableau **23** - entrée

4) passant ainsi de 4h à 18h pour une conversion quasi-totale. Ce ralentissement a permis néanmoins d'augmenter significativement à 80% la proportion de l'isomère monoréduit **87i**. Celui-ci est isolé avec un bon rendement de 65% par chromatographie sur colonne d'alumine neutre.

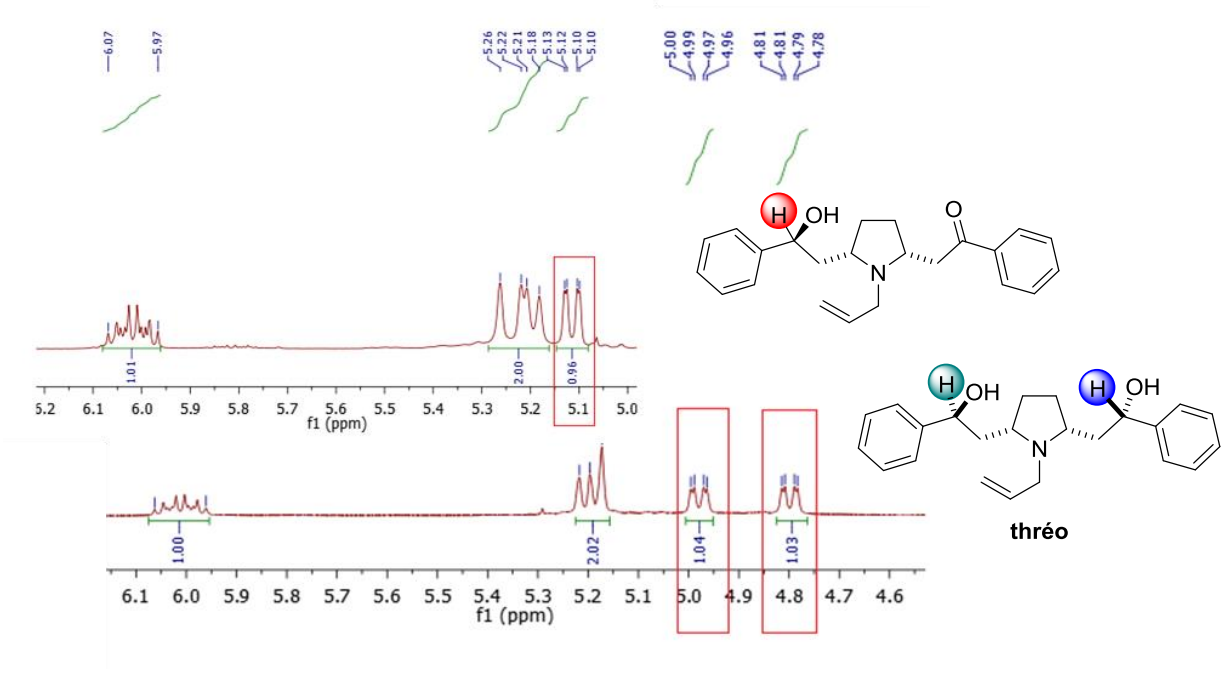
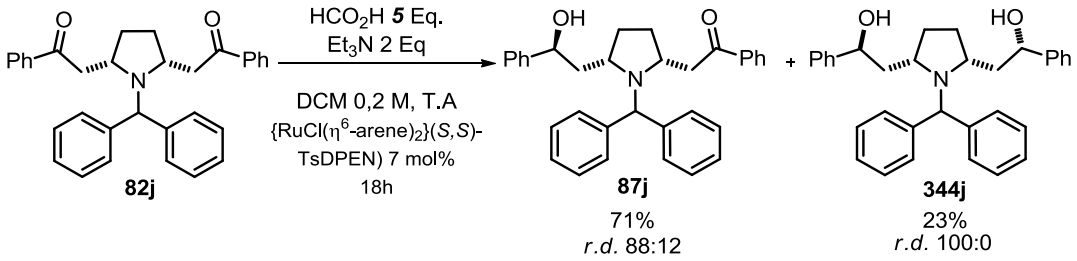


Figure 57 Protons benzyliques caractéristiques de 87i et *thréo*-344i (produits isolés, $CDCl_3$, RMN ^1H 400 MHz).

Dans le cas de la double réduction de **82i**, la diastéréosélectivité est excellente supérieure à 95%, l'agrandissement du spectre RMN ^1H (figure **57**) montre la présence de deux dd (δ 4,98 et 4,80 ppm) correspondants aux protons benzyliques du diastéréomère *thréo*. Le produit de monoréduction est également obtenu sous forme d'un seul diastéréomère (Figure **57**).

Pour ce qui est du substrat **82j**, nous avons juste poussé la réaction à 18 heures, ce qui nous a permis d'obtenir une excellente conversion de 95%. Les deux diastéréoisomères **87j** issus de monoréduction sont isolés par chromatographie sur colonne d'alumine avec un rendement de 63% pour l'un et 8% pour l'autre. Le diastéréoisomère *thréo* **344j** a quant à lui été isolé avec un rendement de 23% (Tableau **24**, Figure **58**).



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	**87j** (%) (*r.d.*)	**344j** (%) (*r.d.*)
1	**DCM**	**0.2**	7	6h	24	75	85 (67/33)	15 (100/0)
2				**18h**		**95**	**76 (88/12)**	**24 (100/0)**

Tableau 24 Réduction de la pyrrolidine 82j.

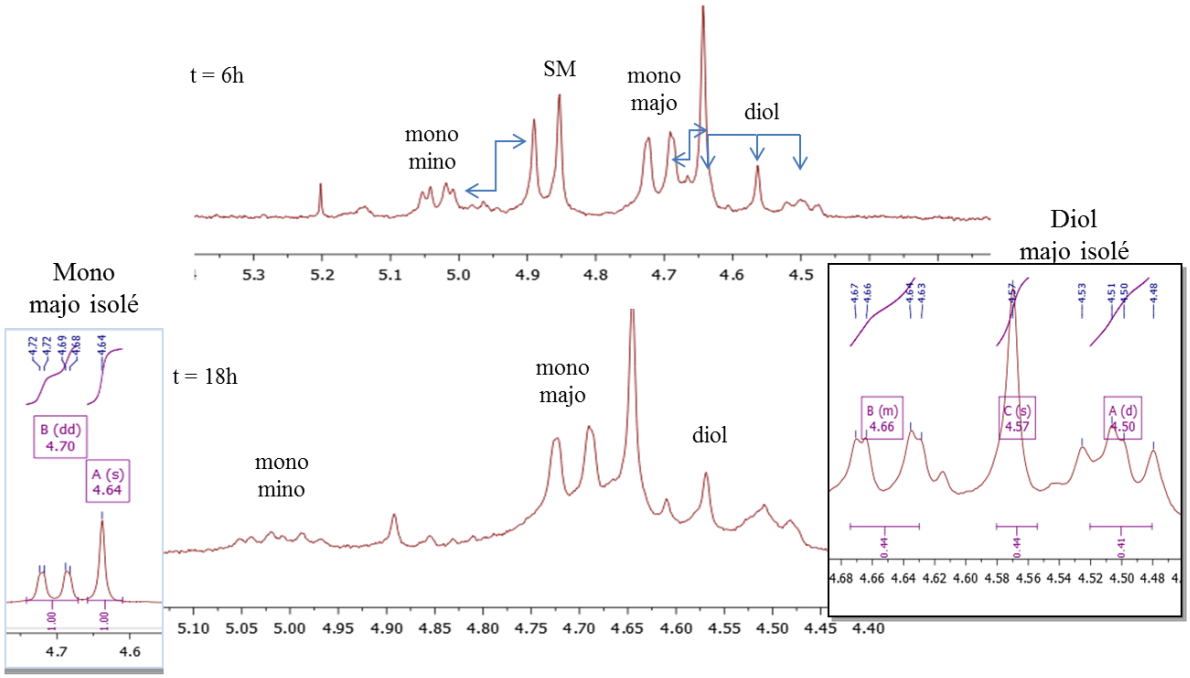
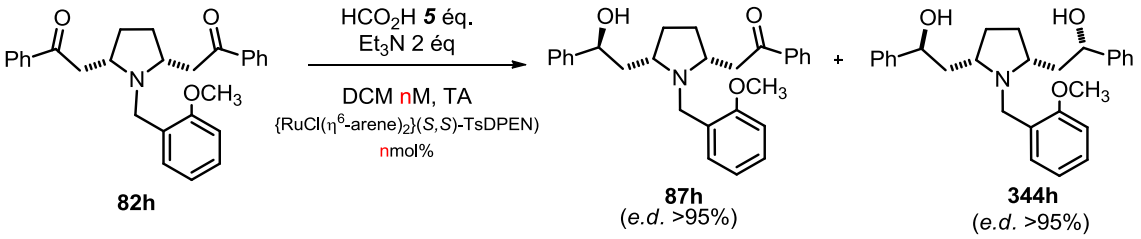


Figure 58 Suivi cinétique, (brut réactionnel à 6h et 18h, $CDCl_3$, RMN ^{1}H 400 MHz).

Inversement, au départ de la pyrrolidine **82h**, en diminuant les temps réactionnels à 1h, la proportion en mono-réduit **87h** est de l'ordre de 70% tout en conservant une très bonne conversion (Tableau **25** - entrée **1**).



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. [a] (%)	87h (%)	344h (%)
1	**DCM**	**0,2**	**7**	**1h**	**24**	**90**	**70 (60%)[b]**	**30**
2				3h30		>95	59	41
4		**0,1**	7	1h	24	80	72	28
5				3h30		85	71	29

[a] Conversion s déterminée par RMN ^{1}H sur le brut réactionnel
[b] rendement isolé après purification sur colonne d'alumine neutre

Tableau 25 Réduction de la pyrrolidine 82h.

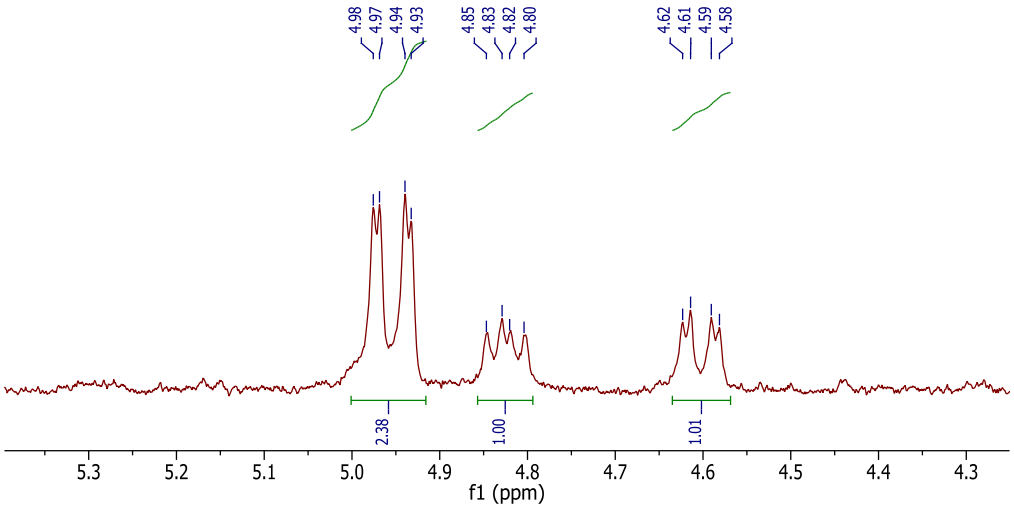


Figure 59 Agrandissement d'un brut réactionnel des protons benzyliques caractéristiques (RMN ^{1}H, $CDCl_3$, 300 MHz).

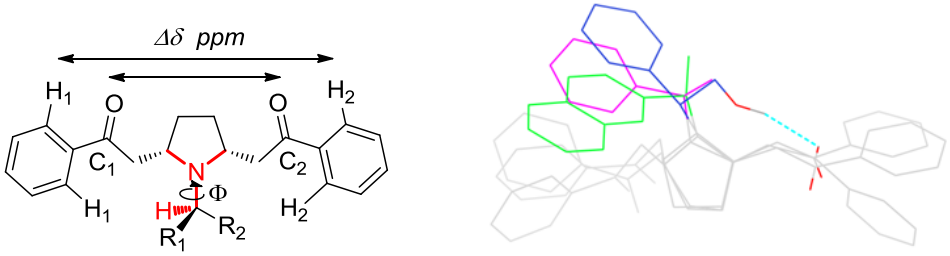
Ainsi, nous constatons que la présence d'un groupement *o*-méthoxy donneur sur l'arène η^6 du substituant, accélère de manière significative, la cinétique de la réaction, ce qui peut s'expliquer par une interaction dopante Π/CH du catalyseur.

D'autre part la présence, sur l'azote, d'un groupement monosubstitué donc encombré dissymétriquement permet d'obtenir une meilleure diastéréosélection, comme l'ont montré les résultats des réductions sur les substrats **82i**, **82h** *vs* les substrats **82j**, **82f** qui sont parfaitement symétriques.

Fort de ces résultats, et de l'importance prouvée du substituant porté par l'azote de la pyrrolidine, la suite de notre travail s'est orientée vers l'étude de l'influence stérique ou électrostatique d'un centre stéréogène.

- **Etude du potentiel de désymétrisation par un substrat chiral**

Afin d'essayer de rationaliser l'effet d'un centre stéréogène porté par l'atome d'azote sur la géométrie de la molécule et ainsi étudier son effet sur la réduction désymétrisante, nous avons utilisé comme outil la RMN. Celle-ci renseigne sur la différenciation stéréo-électronique des fonctions cétones (Tableau **26**). En effet, les différences de déplacements chimiques des protons aromatiques en *ortho* (H_1 et H_2) en RMN ^1H ainsi que celles des fonctions carbonylées (C_1 et C_2) en RMN ^{13}C donnent une information intéressante quant à la différence d'environnement chimique des fonctions cétones.



Produits	R_1	R_2	$\Delta\delta$ ^1H ppm $[H_1-H_2]$	$\Delta\delta$ ^{13}C ppm $[C_1-C_2]$	Angle dièdre Φ
(+)-82c	**CH_3**	**Ph**	**0,11**	**0,04**	8
(+)-82d	**CH_3**	**Napht**	**0,00**	**0,00**	81
(-)-82a	**Ph**	**CH_2OH**	**0,22**	**0,19**	10
(-)-82b	**CH_3**	**CH(OH)Ph**	**0,04**	**0,24**	1
(-)-82e	Ph	CH_2OTBS	0,06	0.11	15

Tableau 26 Modélisation Sybil 8.0, méthode Monte Carlo, minimisation Gasteiger-Hückel (Jordi Rodrigo et Guillaume Bernadat BioCIS).

Paradoxalement, l'augmentation de la taille du substituants portés par l'azote semble défavorable à la différenciation des deux cétones : les différences de déplacements chimiques sont élevées avec des « copules » de taille moyenne tandis qu'elles s'annulent avec des « copules » encombrées **(+)-82d**. Ces résultats ont pu être corroborés non seulement par la

modélisation moléculaire des pyrrolidines mais également par les résultats expérimentaux précédemment décrits (Tableau **26**) :

L'encombrement provoque une torsion orthogonale de la « copule » par rapport à l'hétérocycle azoté central. Cette torsion est évaluée par la mesure de l'angle dièdre entre le centroïde de la pyrrodine et la liaison C-H de la « copule chirale ». La torsion de la « copule » est d'autant plus favorisée que la valeur de l'angle est proche de 90°. Ainsi, lorsque la « copule » porte un groupement naphtyle (**82d**), tous les protons subissent le même effet d'anisotropie. En revanche la présence d'un groupement phényle (**82c**, **82a**, **82b** et **82e**) favorise un stacking en T qui stabilise une orientation repliée de l'un des bras par rapport à l'autre.

La présence d'une fonction alcool permettrait d'améliorer la différenciation par le biais d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'hydroxyle de la « copule » et l'un des carbonyles. Ceci expliquerait la différence élevée des déplacements chimiques des pyrrolidines **82a** et **82b**. Malgré ces observations, l'instabilité déjà observée des pyrrolidines **82a** et **82b**, les rendent inexploitables dans notre étude de réduction désymétrisante.

Nous avons donc choisi de travailler avec 3 substrats chiraux stables préparés par réaction de double aza-Michael cyclisante comme décrits précédemment :

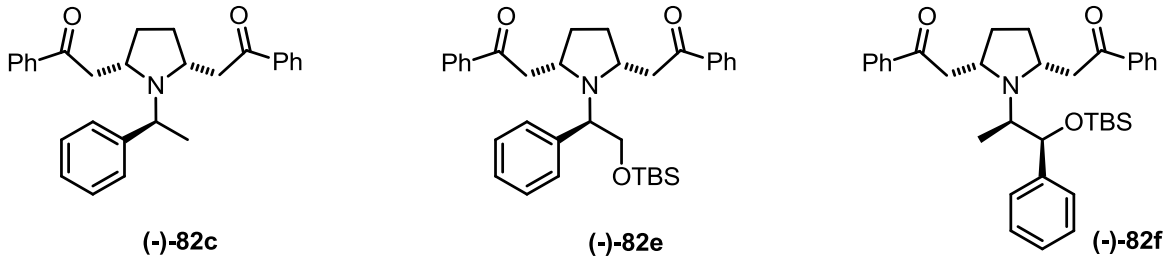
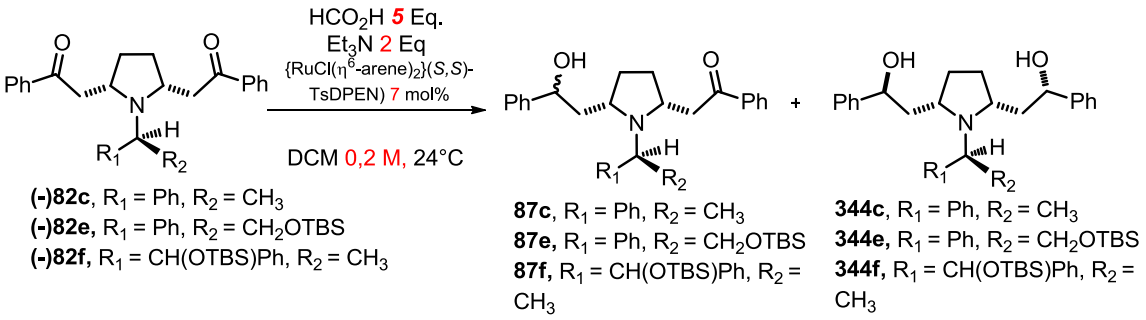
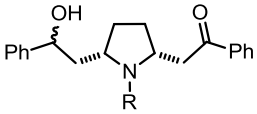
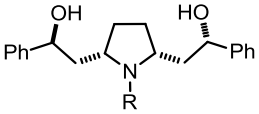


Figure 60 Les 3 substrats chiraux stables 82c, 82e et 82f.

Les premiers essais de réduction ont été réalisés dans les mêmes conditions qu'en série *méso*, soit dans le dichlorométhane à une concentration de 0,2 M, avec 7 mol% de catalyseur en utilisant un mélange acide formique/triéthylamine 5/2. Un suivi CCM a montré qu'au bout de 6 heures la conversion est partielle pour chaque substrat, nous avons donc poussé la réaction à 18 heures.

Une fois de plus, les conversions et les proportions en produits mono- et di-réduits sont mesurées par RMN sur le brut réactionnel et regroupées dans le tableau **27**.



Entrée	Substrat	Tps réact.	Conv. (%)[a]	 (%)[a] (*r.d %*)	 (%)[a] (*r.d %*)
1	**(-)-82c**	18h	70	45 (r.d > 95)	55 (r.d > 95)
2	**(-)-82e**	18h	>95	70 (*r.d* = 40)	30 (r.d > 95)
3	**(-)-82f**	18h	50	85 (-)[b]	15 (-)[b]

[a] Conversions et diastéréosélectivités déterminées par RMN ^{1}H sur le brut réactionnel
[b] le brut réactionnel montre la présence de deux diastéréomères pour le composé monoréduit, mais les excès diastéréomériques n'ont pas pu être déterminé.

Tableau 27 Essais de réduction sur substrats chiraux stables.

La première constatation sur ces premiers essais de réduction est que la cinétique de la réaction est ralentie pour les composés **82c** et **82f** par rapport aux substrats *méso* **82i** et **82h** précédemment étudiés, l'encombrement engendré par le centre stéréogène ou une conformation contrainte en étant certainement la cause. En effet, nous avons montré précédemment que même à hautes températures, la compression stérique empêche la rotation de la «copule» chirale.[75]

Pour ce qui est du composé **82e**, on peut aisément imaginer une interaction du groupement OTBS avec le catalyseur, ce qui expliquerait la conversion quasi-totale au bout de 18h de réaction (Tableau **27** - entrée **2**).

D'autre part, l'obtention de deux diastéréoisomères monoréduits, observés sur les bruts réactionnels au départ des substrats **82e** et **82f**, nous confirme bien que la présence d'une copule chirale encombrée provoque certainement une modification de la conformation globale de la molécule qui engendre une position orthogonale de l'aromatique sous l'hétérocycle azoté, éloignant ainsi les deux bras cétoniques de la pyrrolidine, de la copule portée par l'azote, et entraînant ainsi la faible différenciation des deux cétones (Figure **61**).

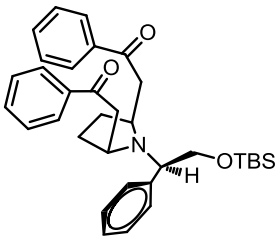
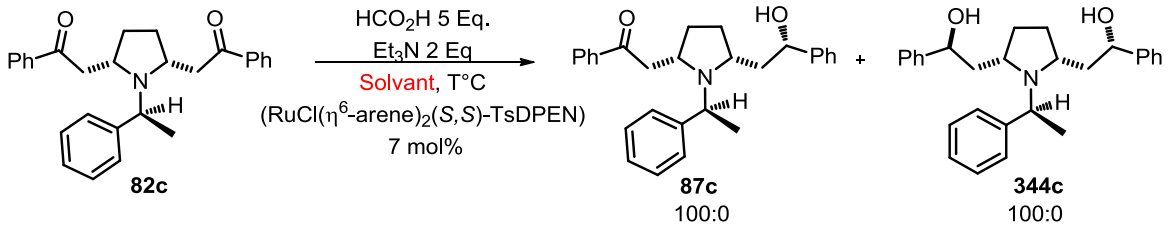


Figure 61 Faible différenciation des deux cétones du substrat 82e.

Si on peut observer une bonne diastéréosélectivité pour les composés issus de la réduction de la pyrrolidine **82c**, en revanche la proportion en composés monoréduit et diréduit est en faveur du diol après 18h de réaction (Tableau **27** - entrée **1**). En réalisant une cinétique de la réaction dans ces conditions nous avons pu observer qu'au bout de 1 heure de réaction la conversion était déjà de 60%, avec une proportion en produit monoréduit **87c** de 60%. Une augmentation significative de la proportion en composé **87c** est observée lorsque la réduction est menée à une concentration de 0,1 M et stoppée à 1 heure de réaction. Celui-ci a pu ainsi être isolé, sur colonne d'alumine, avec un rendement de 45% (Tableau **28**, Figure **62**).



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Tps réact.	T°C	Conversion (%)	**87c** (%)	**344c** (%)
1	**DCM**	**0,2**	1h	24	65	60	40
2		**0,1**	**1h**	**24**	**60**	**83**	**17**

Tableau 28 Effet de la concentration.

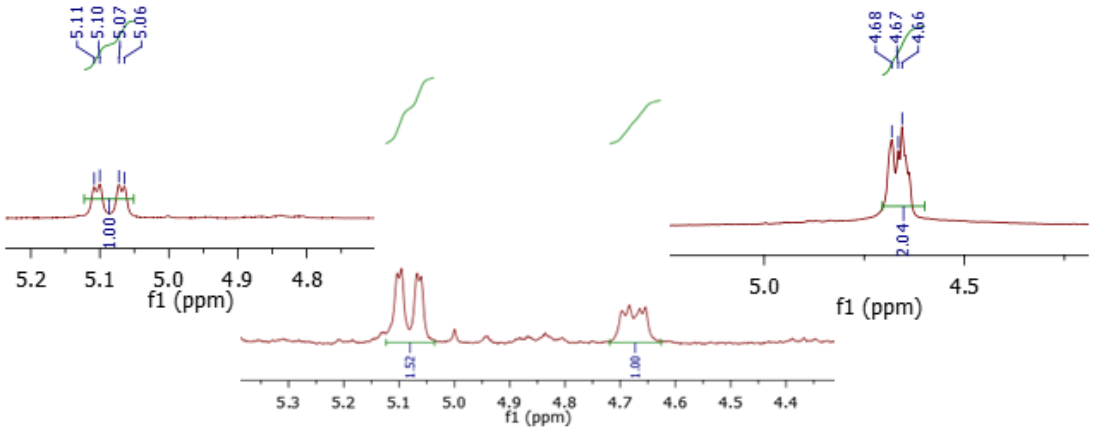
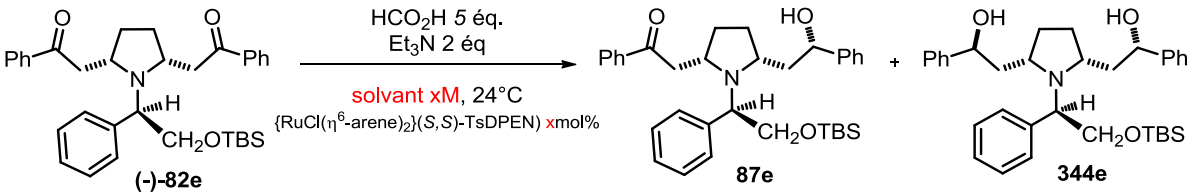


Figure 62 Agrandissement d'un brut réactionnel et des diastéréoisomères isolés, des protons benzyliques caractéristiques (RMN 1H, $CDCl_3$, 300 MHz).

Toujours dans l'optique d'améliorer la sélectivité de la réaction de Noyori sur nos substrats, nous avons de nouveau, cherché à modifier les paramètres de la réaction sur le composé (-)-**82e**. De nombreux essais ont été réalisés et les résultats les plus significatifs sont regroupés dans le tableau **29**.



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	Catalyseur (mol%)	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	**87e** (%)	**344e** (%)
1	**DCM**	**0,2**	7.0	18h	24	100	70 (70/30)	30
2			3.5	18h		85	60	40
3		**0.1**	7	18h		80	75	25
4	**MeCN**	**0,2**	7	3h		100	56 (57/43)	43
5	**DMF**	**0.2**	7	6h		100	50 (50/50)	50
6	**MeCN/DCM (1/1)**	**0.2**	**7**	**1h30**		**100**	**70 (88/12)**	**30**

Tableau 29 Études de l'effet de solvant.

Si dans le DCM, la dilution ou la diminution de la quantité de catalyseur ne permet pas d'améliorer la sélectivité de la réaction en faveur du produit de monoréduction (Tableau **29** - entrées **2** et **3**), en revanche le changement de solvant a un effet marquant sur les résultats obtenus. En effet, nous pouvons de nouveau constater que les solvants polaires comme l'acétonitrile ou le DMF permettent une totale conversion du substrat **82e** en moins de 6h. Toutefois cette accélération est délétère, comme nous l'avons déjà observé, à la fois pour la sélectivité de la réduction et pour la diastéréosélectivité du composé mono-réduit **87e** obtenu (Tableau **29** - entrées **4** et **5**). En revanche en travaillant dans un mélange DCM/MeCN en proportion 1/1, le composé de monoréduction **87e** est obtenu majoritairement en un temps relativement court 1h30, avec cette fois une nette amélioration de l'excès diastéréomérique passant ainsi de 40% (entrée **1**) à 70% (entrée **6**).

Le produit de mono-réduction majoritaire a pu être isolé sur colonne d'alumine neutre avec un rendement de 55%, en revanche nous n'avons pas été en mesure de séparer les produits de mono-réduction minoritaire et de di-réduction (Figure **63**).

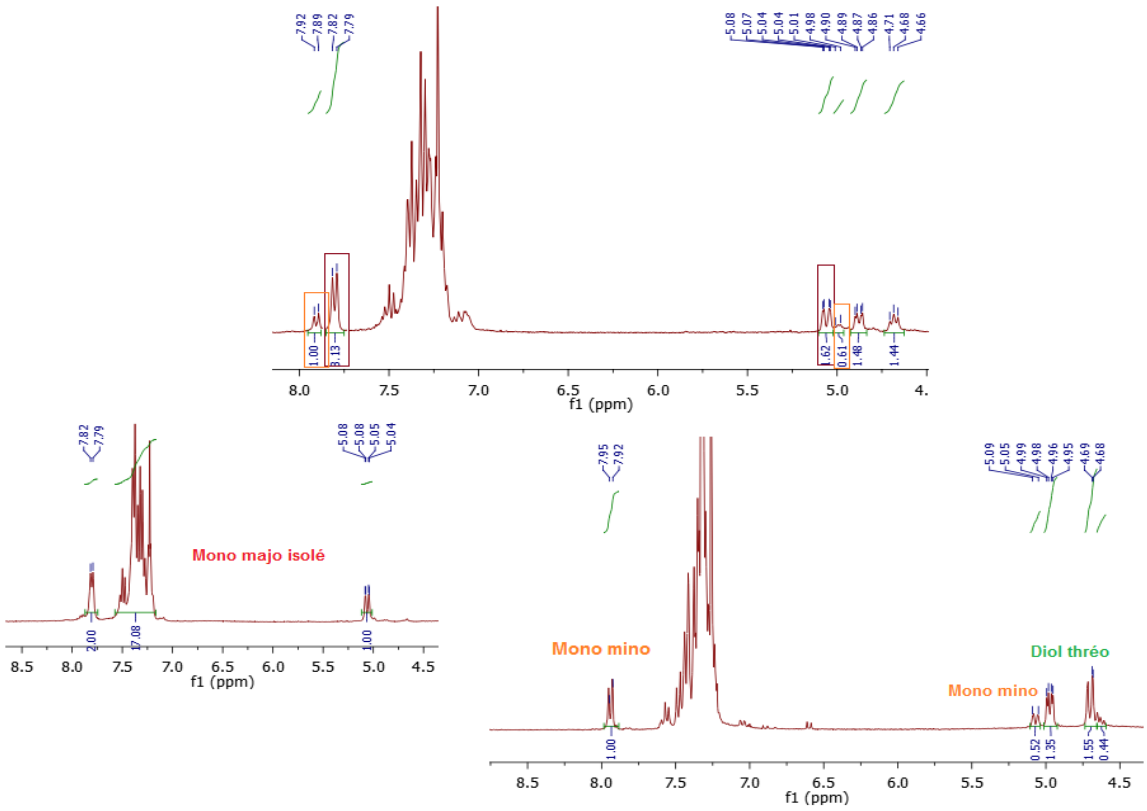
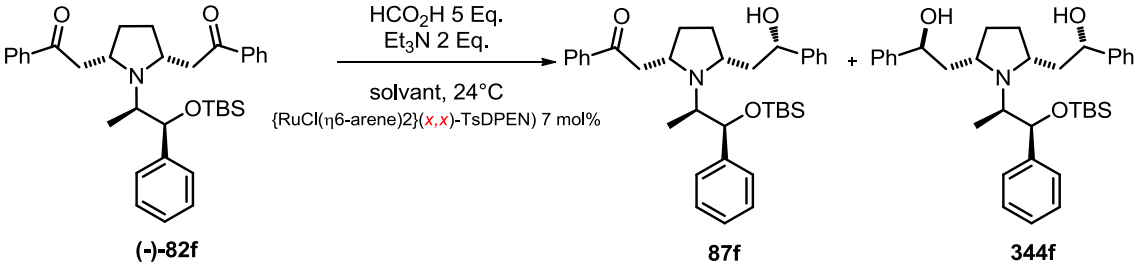


Figure 63 Agrandissement d'un brut réactionnel et des diastéréoisomères isolés, des protons benzyliques caractéristiques (RMN ^{1}H, $CDCl_3$, 300 MHz).

L'effet de l'encombrement de la copule sur la cinétique de la réaction est largement démontré lorsque la réduction est réalisée sur le substrat **(-)-82f**, puisque nous n'avons obtenu que 50% de conversion au bout de 18 heures de réaction en utilisant le catalyseur habituel (*S*,*S*). Toutefois la proportion en composé monoréduit est largement majoritaire (Tableau **27** - entrée **3**).

Il est à noter qu'au bout de 4 heures de réaction dans les même conditions, le produit de monoréduction est obtenu presque exclusivement (Tableau **30** - entrée **2**). Si la sélectivité est excellente, malheureusement tous nos efforts pour améliorer la conversion et notamment l'utilisation de l'acétonitrile à 0,2 M (entrées **7** et **8**), sont restés vains.

En revanche, l'effet "**match/mismatch**" du catalyseur a pu être mis en évidence sur la pyrrolidine **(-)-82f**. En effet, en utilisant 7 mol% du catalyseur (*R,R*), la cinétique de la réaction est accélérée quel que soit le solvant (tableau **30** - entrées **1**, **4** et **9**).



Entrée	Solvant	mol.L^{-1}	**Catalyseur**	Tps réact.	T°C	Conv. (%)	**87f** (%)	**344f** (%)
1	**DCM**	**0,2**	(*R,R*)	4h	24	80	69 (45)[a]	31 (20)[a]
2			(*S,S*)	4h	24	40	>95	<5
3		**0.1**	(*S,S*)	4h	24	5	-	-
4			(*R,R*)	4h	24	65	70	30
7	**MeCN**	**0,2**	(S,S)	4h	24	35	30	5
8				48h	24	50	90	10
9			(*R,R*)	4h	24	80	30	70

[a] rendement isolé après purification sur colonne d'alumine neutre

Tableau 30 Étude de l'effet l'effet match/mismatch.

Bien que la conversion ait été améliorée en utilisant l'autre configuration du ligand, la proportion en composé issu de la mono-réduction s'en trouve diminuée. Nous avons tout de même pu isoler un mélange de produits de céto-alcool diastéréoisomères **87f** avec un rendement de 45%.

4 Conclusions et perspectives

La désymétrisation efficace des dérivés dicétoniques synthétisés par la voie de double aza-Michael est un défi majeur pour accéder aux analogues de la (-)-lobéline **46**.

En effet, il n'existe qu'un seul exemple à ce jour de réduction désymétrisante de dicétones qui soit réalisé sur un système non cyclique ou non contraint et possédant un azote basique. Ainsi l'hydrogénation de Noyori, décrit par Klinger et son équipe permet d'obtenir diastéréo- et

énantio-sélectivement la (-)-lobéline **46** avec des rendements très modestes variant de 35 à 45%, rendements qui demanderaient à être nettement améliorés (Schéma **107**).

Pour répondre à ce challenge, nous avons étudié la réduction énantiosélective de Noyori utilisant un ligand chiral externe. L'investigation faite sur un grand nombre de substrats, pour lesquels nous avons apporté une modification structurale par l'encombrement du substituant de l'azote, nous a permis de démontrer l'efficacité de cette méthode (Figure **64**).

Ainsi, il nous a été possible d'isoler les diastéréoisomères monoréduits avec des rendements variant de 45 à 71% selon le substrat de départ. Ces résultats déjà très encourageants, laissent supposer qu'il est encore possible d'améliorer la sélectivité par la modification structurale cette fois du catalyseur ou en utilisant des techniques de réduction en flux continu.

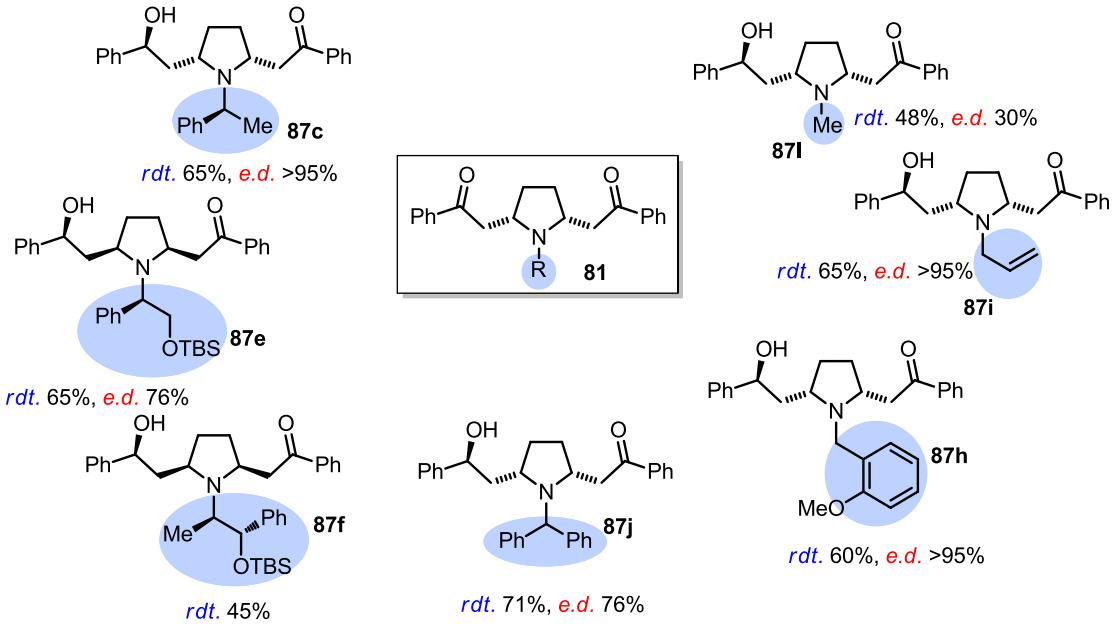


Figure 64 Bilan des mono-réductions.

Il a été difficile de rationnaliser tous les résultats obtenus, d'autant que les configurations des diastéréoisomères issus des réductions n'ont pu être déterminées avec certitude par RMN 2D.

Pour déterminer la stéréochimie des produits de réduction obtenus et ainsi envisager une meilleure compréhension de l'influence de la conformation de nos structures dans ces réactions de réduction, nous envisageons de réaliser des mesures de dichroïsme circulaire vibrationnel combiné à des calculs théoriques par DFT. Cette technique développée dans les

années 70, rencontre depuis ces dernières années un succès important et plus particulièrement pour la détermination de configuration absolue de molécules chirales.[204]

Une confirmation par cristallographie aux rayons X peut être envisagée par formation, par des agents énantiopurs, tel le réactif de Mosher, d'esters chiraux cristallisables. De même en cas d'absence de cristallisation, une analyse RMN couplée à des calculs de DFT sera également réalisée.

D'autres réductions énantiosélectives utilisant un ligand chiral peuvent être envisagées et notamment *via* l'utilisation d'oxazoborolidines chirales dont l'efficacité a été démontrée dans la littérature. [179-185]

[204] Devlin F J, Stephens P J, Besse P, Are the absolute configurations of 2-(1-hydroxyethyl)-chromen-4-one and its 6-bromo derivative determined by X-ray crystallography correct? A vibrational circular dichroism study of their acetate derivatives, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 1557-66.

Chapitre IV : Conclusion & Perspectives

Partie expérimentale fournie sur demande

(***delphine.joseph@u-psud.fr***)

L'ensemble du travail présenté dans ce manuscrit a été consacré à la synthèse de deux nouvelles séries chimiques de nouveaux ligands des nAChRs.

Le **chapitre I** introduit d'une part les approches par fragments permettant la conception rationnelle de nouveaux ligands, d'autre part les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine **39** et leurs ligands. L'importance de la lobéline **46** comme ligand clé des nAChRs est mise en avant. Ses caractéristiques chimiques et pharmacochimiques, nous ont ainsi amené à concevoir par une approche par fragments des ligands hybrides de la lobéline et de la nicotine.

Afin de rendre compte des particularités conformationelles de la lobéline **46**, nos ligands hybrides se sont scindés en deux familles :

- Les hybrides de structure compacte **345** (détaillés dans le **chapitre II**).
- Les hybrides de structure étendue **346** (détaillés dans le **chapitre III**).

Une stratégie basée sur la désymétrisation tardive ou précoce du succinaldéhyde **90**, a été mise en place pour satisfaire ces deux axes de développement (Schéma **135**).

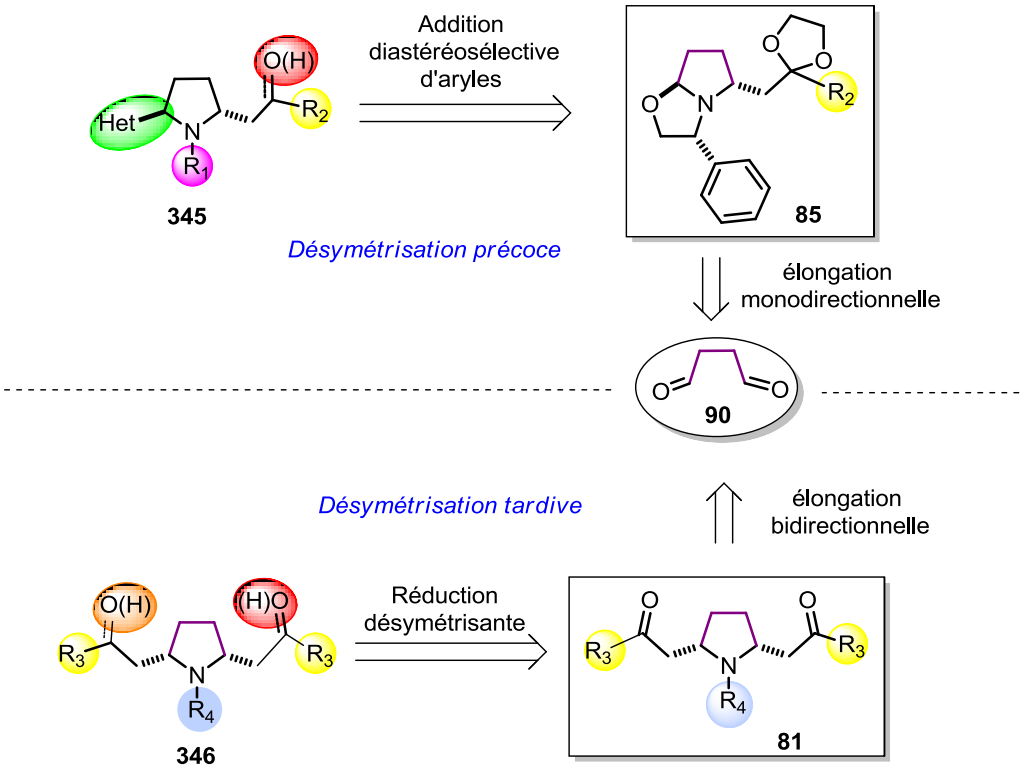


Schéma 134 Stratégie basée sur la désymétrisation tardive ou précoce.

Les hybrides de structure compacte : la chimie des iminiums masqués

Le **chapitre II** rend compte de l'élaboration des hybrides de structure compacte, en se basant sur une voie de synthèse hautement diastéréosélective d'addition d'arylmagnésiens sur une oxazolopyrrolidine pivot obtenue de manière originale. La suite de la synthèse de ces hybrides a été réalisée à la fois en série phényle et en série pyridyle, en confirmant les possibilités d'introduction de diversité moléculaire. Les travaux méthodologiques de clivage de la copule chirale, issue du phénylglycinol, ont par ailleurs permis d'accéder de manière inattendue à une nouvelle série de molécules dites chimères. Ces nouvelles structures extrêmement peu décrites ont été intégrées au projet, nous offrant une nouvelle famille pharmacologiquement intéressante. (Figure **65**)

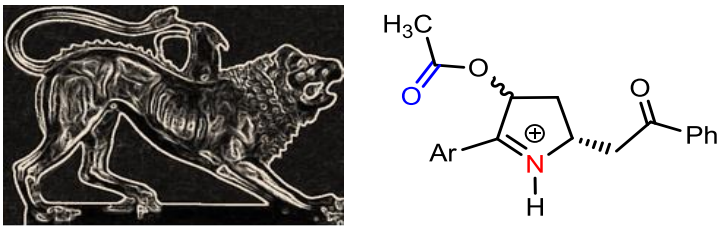


Figure 65 Molécules chimères.

Les hybrides de structure étendue : désymétrisation des analogues pyrrolidiniques de lobélanine par réduction

Le **chapitre III** s'est focalisé sur la synthèse des hybrides de structure étendue par la désymétrisation tardive d'un panel de 2,5-diphénacyl-pyrrolidine *méso* et pseudo-*méso*, différant par le substituant porté par l'azote. Dans cette partie, nous avons réalisé une étude méthodologique de la réduction désymétrisante de ces dicétones analogues de la lobélanine **267**. La réduction asymétrique de Noyori a fait l'objet d'une investigation importante. Les facteurs tels que la concentration, la température, la nature du solvant ainsi que l'effet de l'encombrement issue des substituants portés par l'atome d'azote ont été étudiés. L'obtention de différents diastéréoisomères mono-réduits a permis de valider cette stratégie de désymétrisation tardive. Par ces travaux, nous avons montré que des procédés tels que la chimie en flux pourraient apporter un gain considérable en sélectivité et en efficacité.

Perspective à court terme :

Actuellement, il reste à compléter les évaluations biologiques effectuées sur différents sous-types de récepteurs de nAChRs (les récepteurs torpilles et les récepteurs α7 et α4β2). (Tableau **31**) Les études de RSA menées sur ces familles de composés de haute homologie structurale permettront *in fine* de développer des outils bioinformatiques de conception rationnelle de ligands des nAChRs répondant à des critères de sélectivité sous-typique et fonctionnelle (nature et conformation du récepteur).

Liste des molécules soumises aux évaluations électrophysiologiques sur les récepteurs torpilles et les récepteurs α7 et α4β2

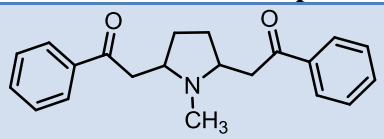
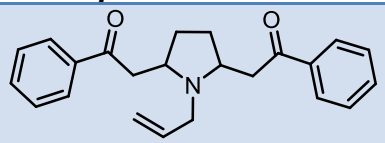
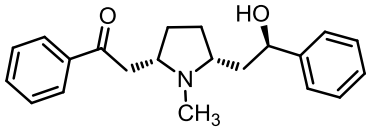
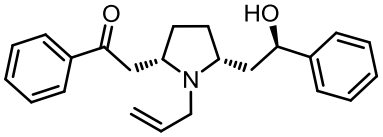
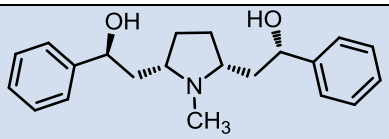
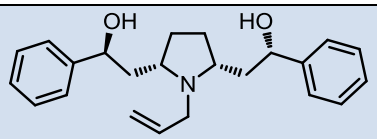
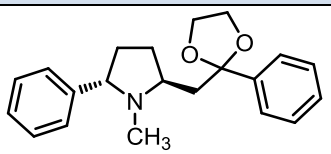
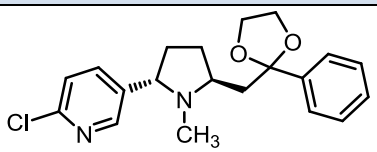
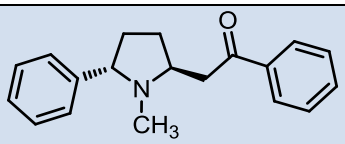
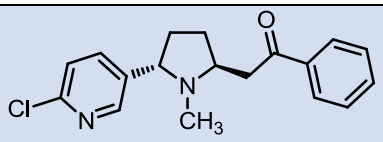
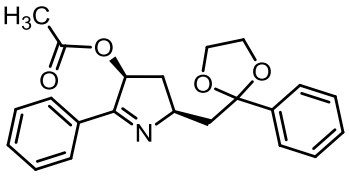
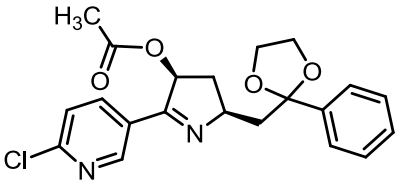
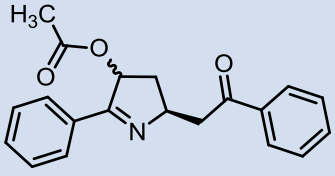
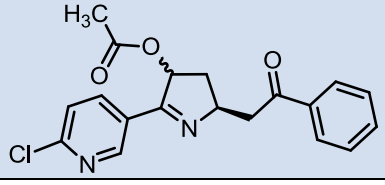
	
	
	
	
	
	
	
(-)-lobéline	**(-)-nicotine**

Tableau 31

Partie expérimentale

Fournie sur demande

(*delphine.joseph@u-psud.fr*)