THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Spécialité Ingénierie Biomoléculaire
École doctorale Sciences Chimiques Balard
Unité de recherche : UMR 5247, Institut des Biomolécules Max Mousseron

Bisphosphonates d'intérêt biologique : méthodologie de synthèse et évaluation biologique

Présentée par Ilyana GONZALES
Le 17 novembre 2023

Sous la direction de Suzanne PEYROTTES

Devant le jury composé de

Karine ALVAREZ, Directrice de Recherche, CNRS, Université Aix-Marseille II	Présidente du jury
Marc LECOUVEY, Professeur, Université Sorbonne Paris Nord	Rapporteur
Jean-François BETZER, Chargé de Recherche, CNRS, Université Paris Saclay	Rapporteur
Jean-Pierre UTTARO, Maître de Conférence, Université de Montpellier	Examinateur
Suzanne PEYROTTES, Directrice de Recherche, CNRS, Université de Montpellier	Directrice de thèse

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Remerciements

Ce manuscrit de thèse est le fruit de trois années de recherche durant lesquelles j'ai pu mener le projet qui m'a était confié par le Docteur Suzanne Peyrottes, grâce à l'aide et le soutien de nombreuses personnes.

De ce fait, je tiens en premier à remercier le Docteur Suzanne Peyrottes, ma directrice de thèse, pour son accompagnement, sa patience, sa disponibilité, ses encouragements et sa pédagogie. Le Docteur Peyrottes a ce pouvoir d'expliquer les choses compliquées avec simplicité et précision en plus de voir le positif dans chaque situation. Un remerciement très particulier au Docteur Jean-Pierre Uttaro, pour son accompagnement tout au long de mon dernier projet (qui nous a fait aller de surprise en surprise), pour sa gentillesse, son écoute et ses nombreux conseils.

Je souhaite aussi remercier l'école doctorale Sciences Chimiques Balard (ED 459) pour son accompagnement, ainsi que le CNRS et la Région Occitanie pour avoir financé le projet.

J'exprime toute ma gratitude envers le Professeur Marc Lecouvey et le Docteur Jean-François Betzer pour avoir accepté de juger ces travaux en tant que rapporteurs. De même, je remercie les Docteurs Karine Alvarez et Jean-Pierre Uttaro d'avoir accepté d'être membre de ce jury.

Je remercie aussi les Docteur Sharon Wein (IE CNRS) et Lars Petter Jordheim (INSERM Lyon, UMR 5286), ainsi que Emeline Cros-Perrial (INSERM Lyon, UMR 5286), pour avoir réalisé les tests biologiques de nos composés sur les lignées cellulaires. Enfin, merci au personnel du Laboratoire de Mesures Physiques de l'Université de Montpellier pour sa disponibilité, et plus particulièrement à Aurélien Lebrun qui a toujours pris du temps pour répondre à mes questions et m'aider à trouver des solutions aux problématiques que j'ai pu rencontrer lors de mes caractérisations RMN. Merci aussi à Gilles Valettes et Guillaume Cazals qui se sont assurés des différentes caractérisations de mes composés en spectroscopie de masse.

Je remercie évidemment tous mes copains du Département des Analogues et Constituants des Acides Nucléiques (DACAN), qu'ils soient de l'équipe Nucléosides et Effecteurs Phosphorylés (NuEP) ou ChemBioNAc. En premier, le Docteur Thomas Cheviet, affectueusement surnommé Tommy, sans qui ce projet n'aurait jamais vu le jour. Tout d'abord un grand soutien à la paillasse grâce à son expérience, sa pédagogie et sa grande intelligence scientifique, il est devenu avec le temps, un soutien émotionnel, discret mais constamment

présent, un ange gardien que je souhaite à chaque étudiant en thèse. Valentin, Valou, mon acolyte, mon partenaire de crime, avec qui j'ai tant partagé, que ce soit de longues discussions scientifiques, des fous rires à en pleurer parce que nous n'arrivions pas à calculer une concentration, des repas confinés dans notre bureau à se raconter nos secrets ou encore nos nombreuses séances de cinéma. Je pense aussi à Anaïs, ma partenaire de laboratoire, merci de m'avoir soutenu quand la chimie mettait mes émotions à rudes épreuves. Tes playlists joviales de fanfare, qui faisaient compétition avec mes musiques mélancoliques, m'ont accompagnées des jours les plus joyeux aux journées les plus démoralisantes. Un grand merci aussi à Mathis, mon acolyte de thèse, avec qui j'ai eu l'honneur de partager un bureau lors de la difficile tâche de rédaction. Tu m'as montré que mon cœur était plus résistant que je le croyais en me faisant peur quotidiennement, ce qui certes, à peut-être endommagé mes cordes vocales mais m'a aussi beaucoup fait rire. Merci aussi à Sara, notre ingénieure d'étude polyvalente, mi-mécanichien, mi-réparatrice de machines. Ton rire qui resonnait dans les couloirs accompagnait régulièrement nos journées. Et enfin, merci à Félix pour sa gentillesse et ses playlists du soir qui nous motivaient.

Je souhaiterai aussi remercier ceux qui ne sont pas de la même équipe, mais qui sont tout comme. Dans un premier temps, Kevan, qui est venu à ma rencontre le premier jour de ma thèse, et qui s'est montré d'une gentillesse incroyable. Son rire, sa disponibilité et nos longues discussions le soir me sont chers. Zachary, arrivé comme stagiaire en janvier 2021, aujourd'hui bientôt docteur et qui fait presque compétition avec les meilleurs bodybuilders du monde. Merci de m'avoir tant fait rire, de m'avoir laissé conquérir ta paillasse à coup de dessin (même si tu effaçais régulièrement ma chocolatine), de m'avoir initier à la micro-seringue (et fait rater ton expérience), et d'avoir toujours respecté notre deal du chocolat. Marion, pour ton rire, et ta gentillesse. Ta douceur et ton sourire égaillait régulièrement ma journée. Et évidemment Marcel, qui sous ses airs de dur est une personne adorable, qui a su se rendre disponible quand j'en avais besoin.

Je pense aussi à tous ceux que j'ai pu croiser dans mon parcours, avec qui j'ai partagé quelques mois, mais qui me marqueront pour le reste de ma vie. Yan, Yanou, Tchoupi, merci de m'avoir tant fait rire, d'avoir accompagné mes soirées, mais surtout de m'avoir sortie. J'ai énormément partagé avec toi, que ce soit des moments de stress qui sont devenus des anecdotes qui nous ferons toujours rire, mais aussi de longues discussions autour d'un

diabolo. Evidemment, je ne peux citer Yan sans citer Jawad, nous étions un trio incomparable pendant 6 mois, et nos moments partagés me sont chers et m'ont permis de m'évader du labo. Je souhaite aussi remercier Florian, Flou, qui m'a beaucoup fait rire tout en sachant rester sérieux lorsqu'il le fallait.

Je souhaite aussi remercier tous ceux qui ont travaillé à mes côtés, et qui ont fait partie de mon quotidien pendant tous ces mois de thèses : Natacha, Mégane, Romain, Laura, Océane, Joris, Nessrine, Amina, Mohammad, Sonia, Coralie et Albert pour son aide et ses conseils. Je remercie aussi les stagiaires qui ont travaillé sur mes projets : Xavier, Charlie et Erwan.

J'ai une pensée particulière pour les membres permanents de l'équipe des NueP. Le Professeur Béatrice Roy, avec qui j'ai pu partager un bureau les premiers mois de thèse, et qui a toujours été souriante, le Docteur David Egron, le Professeur Christophe Mathé, et évidemment Martine qui a toujours un mot gentil à dire.

Je ne peux évidemment conclure ces remerciements sans avoir une attention particulière pour ceux qui n'ont pas partagé ma vie de labo, mais qui ont toujours été un soutien à côté. Merci à mes meilleures amies Célia, Agathe, Fanny, Sarah et Caroline, qui confirment le fameux dicton « Loin des yeux, près du cœur », et qui ont toujours été là pour m'écouter, dans les bons comme dans les mauvais jours. Chaque moment à vos côtés est un moment hors du temps. Vous rencontrer est l'une des plus belles choses qui me soient arrivées. Hicham, qui m'a accueilli tant de fois à Lille au cours de ma thèse, pour oublier un peu les aventures du labo. Et ma famille, l'un de mes plus gros soutiens : mon Papa, Stef, Gwen, Aude, Antonyn, ma Maman, Angel. Un merci tout particulier à Bonnie, qui partage ma vie depuis maintenant deux ans, pour son soutien émotionnel et affectif, et son poil doux qui a su me réconforter tous les soirs.

Table des matières

REMERCIEMENTS **2**

TABLE DES MATIERES **6**

ABREVIATIONS **10**

INTRODUCTION GENERALE **14**

CHAPITRE I : INTRODUCTION **22**

I. LES BISPHOSPHONATES : GENERALITES, SYNTHESE ET MODES D'ACTION 22

I.1. Historique : découverte et applications *22*

I.2. Structures *25*

I.3 Mécanisme d'action *26*

II. LES AMINO-BISPHOSPHONATES : SYNTHESE ET NOUVELLES ACTIVITES BIOLOGIQUES 30

II.1. Synthèse *30*

II.1.A. Synthèse one-pot des acides bisphosphoniques 30

II.1.A.1. Attaque nucléophile d'un dérivé phosphoré sur une liaison C=O 30

II.1.A.2. Méthode radicalaire 35

II.1.B. Synthèse des esters d'acides bisphosphoniques 36

II.1.B.1. Condensation tri-composante d'une amine avec de l'orthoformiate d'éthyle et du diéthylphosphite 36

II.1.B.2. Réarrangement de Beckmann 39

II.1.B.3. Réaction de Vilsmeier-Haack 39

II.1.B.4. Utilisation de di- et/ou tri-alkylphosphites 41

II.1.B.5. Amination électrophile 45

II.1.B.6. Utilisation de phosphites sillylés 45

II.1.B.7. Synthèse d'aziridines bisphosphonates 47

II.1.B.8. Attaque nucléophile d'un carbanion sur un dérivé phosphoré 48

II.1.B.9. Réaction d'insertion N-H 49

II.1.B.10. Méthode électrochimique 50

II.1.B.11. Méthode radicalaire 51

I.1.C. Exemples de fonctionnalisation d'amino-bisphosphonates 52

II.2. Activités biologiques et modes d'action *54*

II.2.A. Propriétés anti-parasitaires 54

II.2.B. Propriétés antibactériennes 59

II.2.C. Lutte contre le virus de l'immunodéficience humain (VIH) 63

II.2.D. Propriétés anti-tumorales 64

II.2.D.1. Inhibition de la prolifération cellulaire et induction de l'apoptose 65

II.2.D.2 Inhibition de l'adhésion et de l'invasion des cellules tumorales 66

II.2.D.3 Inhibition de l'angiogenèse 67

II.2.D.4. Immunothérapie par activation des lymphocytes γδT 67

II.2.D.5. Effet synergique en association avec les traitements anti-néoplastiques. 68

III. PRESENTATION DES PROJETS ET LEURS OBJECTIFS 68

CHAPITRE II : SYNTHESE D'AZIRIDINES *GEM*-BISPHOSPHONATES ET EVALUATION BIOLOGIQUE 74

I. INTRODUCTION 74

I.1. Les phosphon(r)yl azirdines dans la littérature 74

I.2. Présentation de la réaction développée au laboratoire pour la synthèse d'aziridines N-méthylène-gem-bisphosphonates 75

I.2.A. Influence de la nature du groupement protecteur et du substituant de l'aziridine 76

I.2.B. Importance du motif aziridine 77

I.2.C. Influence des conditions opératoires 78

I.2.D. Mécanisme proposé 81

I.3. Objectifs 82

II. MODIFICATION DU DIALKYLPHOSPHITE 85

III. DEPROTECTION EN ACIDES BISPHOSPHONIQUES 91

III.1. Déprotection du composé tétrabenzylé 91

III.2. Déprotection du composé tétraéthylé 92

III.2.A. Tentatives d'obtention des formes sodées 93

III.2.B. Tentatives d'obtention des formes triéthylammonium 96

III.2.C. Conclusions 96

IV. SYNTHESES D'AZIRIDINES *N*-METHYLENE-*GEM*-BISPHOSPHONATES 97

IV.1. Synthèse d'aziridines N-Cbz 98

IV.1.A. Introduction d'un groupement Cbz sur des amino-alcools ou amino-acides commerciaux 99

IV.1.B. Réduction des amino-acides *N*-Cbz 99

IV.1.C. Obtention des aziridines *N*-Cbz par cyclisation intramoléculaire d'amino-alcools 100

IV.1.D. Voie de synthèse alternative pour l'obtention d'aziridines incluant un motif pyridine 100

IV.1.D.1. Synthèse des esters méthylique de la *L*-(pyridinyl)alanine 102

IV.1.D.2. Introduction du groupement Cbz à partir de 96a-98a 102

IV.1.D.3. Réduction des amino-esters 87b-89b 103

IV.1.D.4. Synthèse des aziridines *N*-Cbz par cyclisation intramoléculaire des amino-alcools 104

IV.2. Obtention des aziridines N-méthylène-gem-bisphosphonates 104

IV.3. Déprotection en acides bisphosphoniques 106

V. EVALUATION BIOLOGIQUE *IN VITRO* 108

VI. MODELISATION MOLECULAIRE *IN SILICO* DE BISPHOSPHONATES COMMERCIAUX ET DES STRUCTURES SYNTHETISEES 108

VI.1. Protocole de docking moléculaire 110

VI.2. Résultats de modélisation in silico de bisphosphonates commerciaux et structures synthétisées 114

VI.3. Conclusion 121

VII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ASSOCIEES A CES TRAVAUX 122

PARTIE EXPERIMENTALE DU CHAPITRE II 124

I. CONDITIONS EXPERIMENTALES POUR L'EVALUATION BIOLOGIQUE DES AZBISPS 126

II. PROTOCOLES OPERATOIRES ET DESCRIPTIONS DES CARACTERISATIONS 127

CHAPITRE III : SYNTHESE D'AZIRIDINES N-METHYLENE PHOSPHONATES 156

I. INTRODUCTION 156
II. CARACTERISATION RMN 157
III. INFLUENCES DES CONDITIONS EXPERIMENTALES 159
IV. EXEMPLIFICATION DE LA REACTION 161
V. IDENTIFICATION DE PRODUITS SECONDAIRES ET PROPOSITION D'UN MECANISME 164
VI. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 167

PARTIE EXPERIMENTALE DU CHAPITRE III 168

CHAPITRE IV : ETUDE PRELIMINAIRE D'HYDROPHOSPHO(I)NYLATION D'ALCYNES PAR PHOTOCHIMIE 174

I. HYDROPHOSPHONYLATION D'ALCYNES 174
I.1. Rappels bibliographiques 174
I.1.A. Bis-hydrophosphonylation d'alcynes 174
I.1.B. Hydrophosphonylation d'alcènes et d'alcynes par photochimie 177
I.2. Résultats 178
I.2.A. Etude de la formation des bisphosphonates à partir du vinylphosphonate correspondant 178
I.2.B. Etude de la formation des bisphosphonates à partir du cyclohexylacétylène correspondant 182
I.3. Exemplification 190
I.3.A. Analyse des bruts réactionnels 190
I.3.B. Traitement et purification 191
I.4. Pistes en vue de l'élucidation du mécanisme 192
I.5 Conclusions et Perspectives 194
II. HYDROPHOSPHINYLATION D'ALCYNES PAR PHOTOCHIMIE 195
II.1. Rappels bibliographiques 195
II.2. Résultats 197
II.3. Conclusions et perspectives 201

PARTIE EXPERIMENTALE DU CHAPITRE IV 202

I. SYNTHESE DES VINYLPHOSPHONATES 202
II. SYNTHESE DES BISPHOSPHONATES 203
III. SYNTHESE DE VINYLPHOSPHINATES 204
IV. SYNTHESE DES BISPHOSPHINATES 205
V. CARACTERISATION D'UN SOUS-PRODUIT DE REACTION 206
VI. CARACTERISATION DE LA BOC-ANILINE COMME SUBSTRAT 206

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 208

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 212

ANNEXES..... 234

Abréviations

ACN : acétonitrile

AIBN : azobisisobutyronitrile

ALE : agent d'inversion de latence

AMBP : amino-méthylène-bisphosphonate

AMP : adénosine-5'-monophosphate

ANP : acyclonucléoside phosphonate

AppCH_2P : adénosine 5'-O-(β,γ-méthylènetriphoshate)

ApppI : acide triphosphorique 1-adénosin-5'-yl ester 3-(3-méthylbut-3-ényl) ester

ATP : adénosine-5'-triphosphate

AzbisP : aziridine *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonate

AzmonoP : aziridine *N*-méthylènephosphonate

BnOH : alcool benzylique

Boc : *tert*-butoxycarbonyle

BP : bisphosphonate

BTC : carbonate de bis(trichlorométhyle) ou triphosgène

Cbz : carboxybenzoyle

CbzCl : chloroformate de benzyle

CCM : chromatographie sur couche mince

COSY : correlation spectroscopy

CPME : méthoxycyclopentane

DABCO : 1,4-diazabicyclo[2.2. 2]octane

DBnP : dibenzylphosphite

DC : cellule dendritique

DCC : dicyclohexylcarbodiimide

DCM : dichlorométhane

DEP : diéthylphosphite

DIAD : diisopropyl azodicarboxylate

DIBAL : hydrure de diisobutylaluminium

DIPEA : diisopropyléthylamine

DMAD : éthynedicarboxylate de diméthyle

DMF : diméthylformamide

DMP : diméthylphosphite

DMSO : diméthylsulfoxide

DPAP : 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone

DPPA : azoture de diphénylphosphoryle

DPhP : diphénylphosphite

D*t*BuP : di-*tert*-butylphosphite

***E*. coli** : Escherichia coli

EC_{50} : concentration efficace médiane

ED_{50} : dose efficace médiane

EDCI : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide

E. histolytica : *Entamoeba histolytica*

EMA : European Medecines Agency

ESI : *electrospray ionisation*

EtOH : éthanol

Fc-PDA : 4 - ferrocenyl-butaminopropylamine

FDA : Food Drug Administration

FPPS : farnésyle pyrophosphate synthase

HePPS : héptaprényl pyrophosphate synthase

***h*FPPS** : farnésyle pyrophosphate synthase humaine

HMBC : *heteronuclear multiple bond correlation*

HSQC : *heteronuclear single bond correlation*

IC_{50} : concentration inhibitrice médiane

IPA : isopropanol

IPP : isopentyl diphosphate

LDA : lithium diisopropylamide

L. donovani : *Leishmania donovani*

LiHMDS : bis(triméthylsilyl)amidure de lithium

L. infantum : *Leishmania infantum*

L. mexicana amazonensis : *Leishmania mexicana amazonensis*

MBA : méthylènebisacrylamide

MeOH : méthanol

MenA : 1,4-dihydroxy-2-naphthoate polyprényltransferase

$MeSO_3H$: acide méthylsulfonique

MP : mono-phosphonate

MS : spectrométrie de masse

NaHMDS : bis(triméthylsilyl)amidure de sodium

***n*-BuLi** : *n*-Butyllithium

***N*-BP** : amino-bisphosphonate

OPPS : octaprényl diphosphate synthase

PDMA : Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

Pf* *: Plasmodium falciparum

P. falciparum : *Plasmodium falciparum*

$PhSO_3H$: acide benzylsulfonique

PP_i : pyrophosphate inorganique

RMN : résonance magnétique nucléaire

ROS : *reactive oxygen species*

RP : *reverse phase*

SATE : S-(acyl-2-thioéthyle)

SPE : extraction sur phase solide

TAHA : traitement antirétroviral hautement actif

T. brucei : Trypanosoma brucei

T.cruzi : *Trypanosoma cruzi*

TEAB : bicarbonate de triéthylammonium

Tf_2O : anhydride triflique

TFA : acide trifluoroacétique

T. gondii : *Toxoplasma gondii*

THF : tétrahydrofurane

Ts : tosyle

UPPS : undecaprényl diphosphate synthase

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

Introduction générale

Le cancer est une maladie caractérisée par le développement de cellules anormales qui prolifèrent de manière incontrôlée, et qui sont parfois capables de se propager à l'ensemble du corps par le biais de métastases. Il est causé par des mutations génétiques au sein de cellules saines, qui sont la conséquence d'interactions entre des facteurs génétiques propres au sujet et des agents extérieurs (physique comme les UV, chimiques comme l'alcool, le tabac ou l'amiante, et biologiques comme les infections virales ou parasitaires).[1] Les traitements proposés pour lutter contre un cancer agissent localement (cible uniquement les cellules cancéreuses de l'organe atteint, telle que la chirurgie ou la radiothérapie) ou par voie générale (l'ensemble des cellules cancéreuses et saines de l'organisme sont alors affectées par la chimiothérapie et la radiothérapie), et sont souvent combinés pour accroitre leur efficacité (**Figure 1**).[2] Selon un rapport de l'OMS, le cancer a été à l'origine de près de 10 millions de morts en 2020, faisant de cette affection l'une des premières causes de mortalité dans le monde.[3] Les trois cancers les plus courants sont le cancer du sein (2,26 millions de cas), le cancer du poumon (2,21 millions de cas) et le cancer colorectal (1,93 millions de cas). Toutefois, ceux à l'origine du plus grand nombre de morts sont le cancer du poumon (1,80 million de morts), le cancer colorectal (916 000 morts), et le cancer du foie (830 000 morts). Le développement de nouveaux traitements est donc toujours d'actualité.

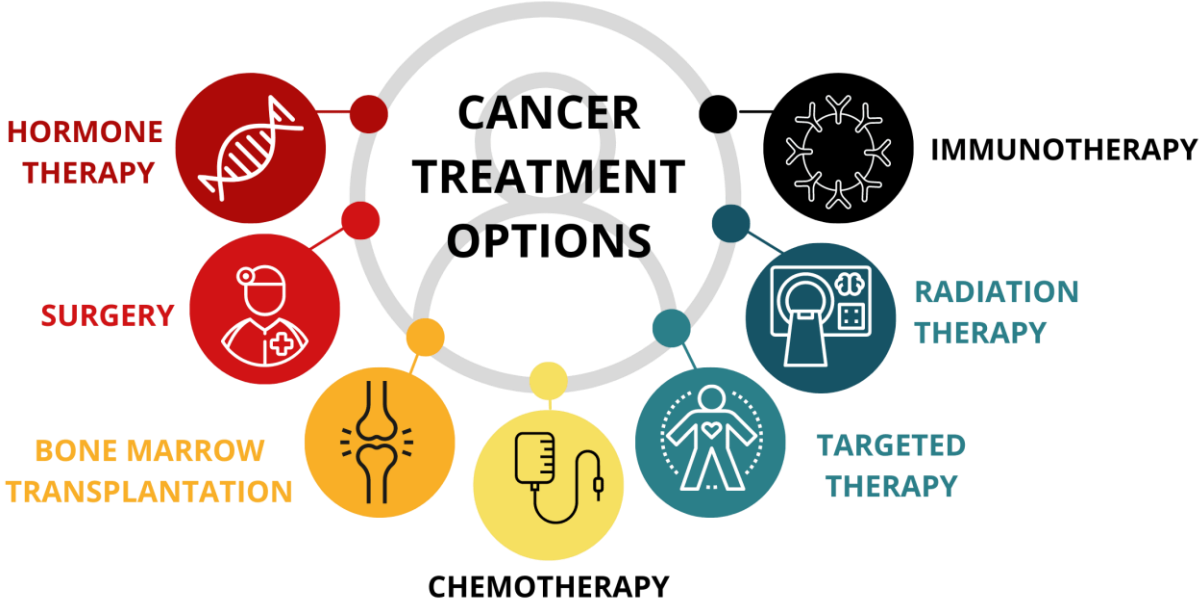


Figure 1 - Traitements anticancéreux actuels utilisés seul ou en combinaison[4]

Le paludisme est une maladie infectieuse causée par la transmission de parasites du genre Plasmodium (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae et Plasmodium knowlesi*) à l'homme lors des repas sanguins (piqures) de moustiques infectés. Selon le dernier rapport de l'OMS sur le paludisme dans le monde publié en 2021, sur les 247 millions de cas de paludisme, 619 000 personnes en sont décédées.[5] La quinine est le traitement le plus ancien pour lutter contre l'infection, mais depuis des traitements plus efficaces comme la chloroquine ou l'artémisinine ont été développés (**Figure 2**). Toutefois, l'émergence de parasites résistants à l'ensemble de ces molécules est une menace importante. En 2021, le « RTS,S », un vaccin préventif a été mis sur le marché, mais il montre une efficacité modérée et ne cible que le parasite *P. falciparum* (parasite mortel). Dans ce contexte, la découverte de nouveaux traitements préventifs ou curatifs est primordiale afin d'envisager l'éradication de cette maladie.

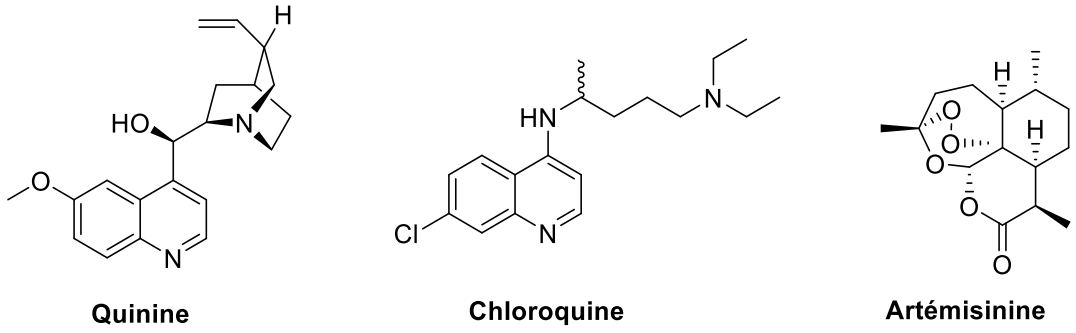


Figure 2 – Structures de molécules utilisées dans le traitement antipaludique

Découvert il y a presque 130 ans, les bisphosphonates sont de puissants inhibiteurs du remodelage osseux, ce qui les positionne comme le traitement de choix contre l'ostéoporose ainsi que d'autres maladies osseuses. De plus, les bisphosphonates sont régulièrement utilisés comme adjuvants aux traitements antitumoraux afin de réduire les complications osseuses associées.[6] Les amino-bisphosphonates (N-BPs) exercent leur action thérapeutique en inhibant la farnésyl pyrophosphate synthase (FPPS), impliquée dans la voie mévalonate, ce qui en fait une cible thérapeutique intéressante pour de nouvelles applications. A titre d'exemple, les N-BPs ont démontré *in vitro* des activités antitumorales et antiparasitaires prometteuses, activités associées à l'inhibition de la FPPS.[7,8]

Ce manuscrit, composé de quatre parties, a pour fil conducteur la synthèse et l'étude de nouveaux bisphosphonates.

Le chapitre introductif décrit brièvement l'historique de la découverte de cette famille d'agents thérapeutiques, ainsi que les principales voies d'accès et applications des N-BPs.

Notre équipe a récemment proposé une voie de synthèse permettant l'accès à des aziridines aminométhylène-*gem*-bisphosphonates, une nouvelle classe de N-BPs incluant un motif aziridine. L'objectif du chapitre II est d'exploiter cette réaction pour accéder à des N-BPs inédits en tant que potentiels agents antitumoraux et/ou antipaludiques.

Le chapitre III s'intéresse à la modulation des conditions réactionnelles de la voie d'obtention des aziridines aminométhylène-*gem*-bisphosphonates (précedemment citée) afin de préparer des aziridines N- méthylènephosphonates.

Le dernier chapitre décrit les résultats préliminaires d'une étude qui devrait permettre d'établir une voie de synthèse inédite et écoresponsable de bisphospho(i)nates via une double addition radicalaire d'H-phospho(i)nates.

Chapitre I

-

Introduction

Chapitre I : Introduction

I. Les bisphosphonates : généralités, synthèse et modes d'action

I.1. Historique : découverte et applications

En 1894, Théodor Slazer, un pharmacien allemand, met en évidence une impureté phosphoré contenue dans l'acide phosphorique commercial, sans réussir à l'identifier (**Figure 3**). Deux ans plus tard, Hans von Baeyer, un chimiste allemand, fils d'Aldof von Baeyer (lauréat du prix Nobel de Chimie en 1905 pour ses travaux sur les barbituriques, classe de médicaments à large spectre d'activité agissant comme dépresseurs du système nerveux central) décrit pour la première fois, la synthèse et la structure d'un bisphosphonate[9]. Ce dernier s'avère être le même composé que celui découvert par Théodor Slazer. La structure décrite par von Baeyer est confirmée en 1901 par Wilhelm Heidepriem, encore étudiant en doctorat sous la supervision du chimiste Karl Andreas Hoffman.[10]

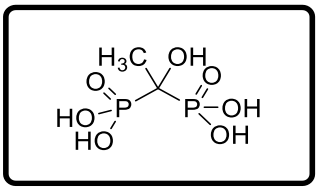


Figure 3 - Structure du premier bisphosphonate observé par Slazer puis synthétisé et décrit par von Baeyer

Les bisphosphonates sont alors essentiellement utilisés dans l'industrie (textile, pétrolière, des fertilisants, etc.) en tant qu'inhibiteurs de corrosion et pour la prévention de l'entartrage des installations d'eau. Ces applications sont basées sur la capacité des bisphosphonates à complexer des métaux, et plus particulièrement à empêcher la précipitation du carbonate de calcium.[11]

En 1968, Fleisch *et al.*, découvrent la capacité du pyrophosphate inorganique (PPi) à prévenir le processus de calcification (dépôt de sels de calcium dans les tissus et les organes qui n'en contiennent pas à l'état normal)[12] en se liant à l'hydroxyapatite, composante essentielle des os, et ainsi prévenir la dissolution de cette dernière. Cependant, le PPi est particulièrement sensible à l'hydrolyse, et perd rapidement ses propriétés de chélation en solution. L'équipe s'intéresse alors aux bisphosphonates, en tant qu'analogues non-hydrolysables du PPi, et qui

s'avèrent capables d'inhiber la résorption osseuse via leur liaison avec l'hydroxyapatite.[13] Ainsi, il a fallu attendre 72 ans après la découverte du premier bisphosphonate pour que les premières études en vue d'une application médicale soient menées sur cette famille de molécules. La **Figure 4** retrace la séquence chronologique de l'évolution des bisphosphonates de leur découverte jusqu'à l'autorisation de mise sur le marché du minodronate. En 1969, deux équipes de recherche, Fleisch *et al.* et Francis *et al*. rapportent simultanément les effets bénéfiques de l'étidronate et du clodronate (**Figure 5**) sur la calcification vasculaire et la résorption osseuse *in vivo*[14,15]. La même année, Francis *et al.*, en collaboration avec Fleisch, traite pour la première fois une patiente atteinte d'une pathologie osseuse, la fibrodysplasie ossifiante progressive (ossification progressive des muscles squelettiques et des tendons qui les rattachant aux os)[16] avec l'étidronate, marquant ainsi la première application en médecine humaine d'un bisphosphonate.[17] Cependant, l'autorisation de mise sur le marché de l'étidronate n'est délivré qu'en 1977 pour le traitement de la maladie de Paget (remodelage pathologique excessif et anarchique des tissus osseux provoqué par une suractivité des ostéoblastes et ostéoclastes).[18]

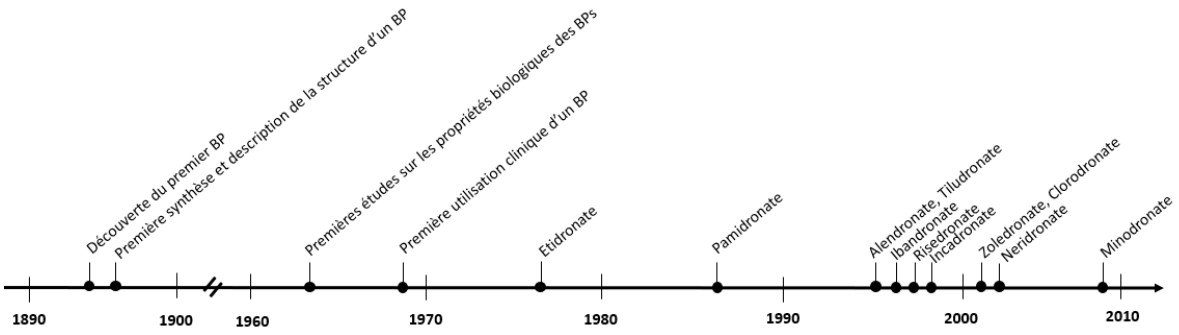


Figure 4 - Historique des bisphosphonates et leurs premières autorisations de mise sur le marché approuvée par la FDA (USA), EMA (Europe), PMDA (Japon)

Depuis, cette famille de composés a trouvé de nombreuses autres applications.[6] Ils sont notamment présents dans de nouvelles classes d'herbicides[19], ou utilisés en tant qu'agents d'extraction des ions actinides.[20] En médecine humaine, les bisphosphonates sont essentiellement utilisés dans le traitement de maladies osseuses (ostéoporose, maladie de Paget, ostéogenèse imparfaite, hypercalcémie, etc.)[21], en tant qu'agents d'imagerie lorsqu'ils sont associés au technicium-99m[22] (détection des métastases osseuses ou autres lésions osseuses) ou encore comme adjuvants aux traitements antitumoraux pour limiter l'apparition

de métastases osseuses liées (cancers du sein, de la prostate, myélome, carcinome à cellules rénales, etc.) et réduire les complications osseuses associées.[23] Enfin, ils sont aussi utilisés comme vecteurs osseux (« osteotropic drug delivery system ») pour la délivrance de principes actifs (anti-inflammatoire, etc.).[24] Enfin, le néridronate est actuellement utilisé comme traitement de choix pour lutter contre le syndrome douloureux régional complexe, à l'origine de fortes douleurs musculosquelettiques.[25]

Les bisphosphonates ont aussi démontré des activités antiparasitaire[8], antibactérienne[26], antivirale[27,28] et antitumorale.[7]

La **Figure 5** présente les différentes structures de bisphosphonates utilisés en clinique et leur application thérapeutique.

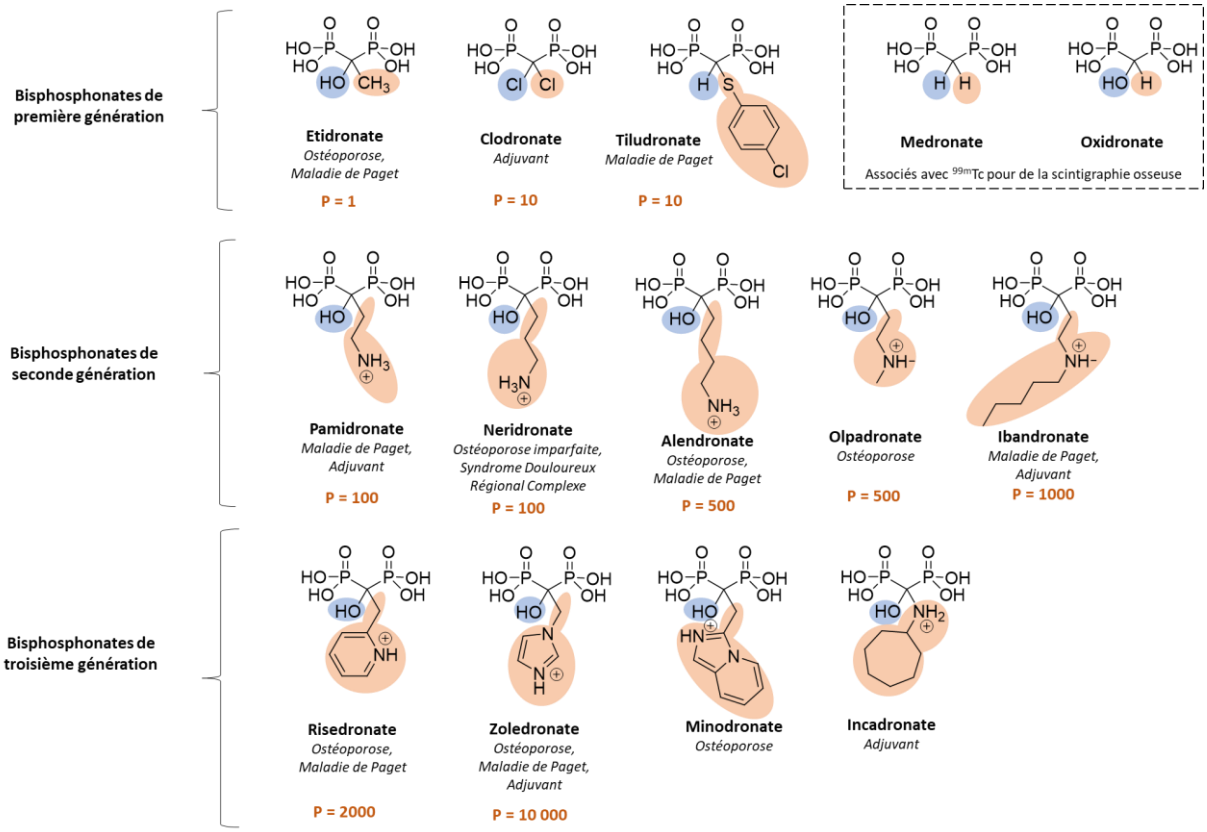


Figure 5 - Structures des différents bisphosphonates (représentés sous leur forme acide) utilisés en clinique et classés par générations. P = puissance relative d'inhibition des ostéoclastes par rapport à l'étidronate (mesuré *in vitro*)

I.2. Structures

Les bisphosphonates sont des analogues stables du PPi, dans lesquels la liaison P-O-P est remplacée par une liaison P-C-P résistante à l'hydrolyse chimique et enzymatique. Ils peuvent posséder deux substituants (R_1 et R_2, **Figure 6**) liés au carbone géminal et à l'origine de la grande diversité structurelle et la versatilité de leurs applications pharmaceutiques.[29]

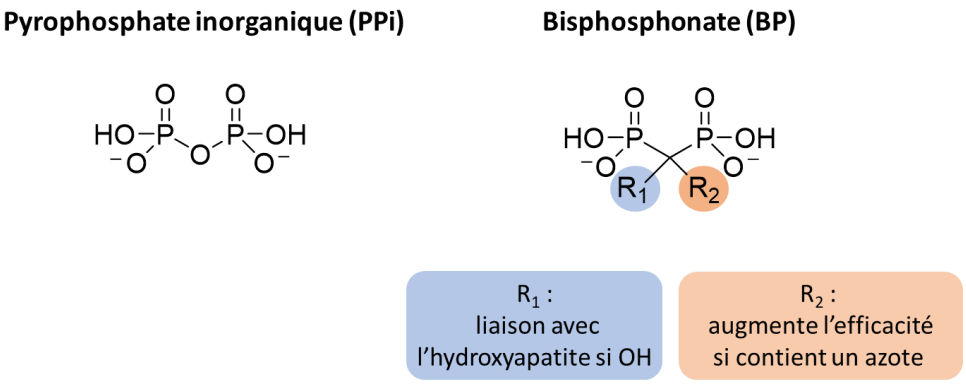


Figure 6 - Structures génériques du PPi inorganique et d'un bisphosphonate

Le squelette central des bisphosphonates est de configuration planaire en « W ».[30] La présence des deux groupements phosphonates latéraux leur permet de se lier efficacement à l'hydroxyapatite présente à la surface de l'os (à condition qu'ils soient sous forme di-anionique). L'ajout d'un groupement hydroxyle en position R_1 permet de renforcer la liaison du bisphosphonate avec l'hydroxyapatite en formant une liaison tridente avec le calcium (**Figure 7**). La présence de cette interaction est à l'origine de la grande spécificité des bisphosphonates pour les tissus osseux. Tandis que le substituant en position R_2 est responsable de l'activité anti-résorption de l'os, sa nature conditionne l'efficacité thérapeutique ainsi que le mécanisme d'action du bisphosphonate.[31]

Les BPs sont répertoriés en trois catégories selon leurs structures chimiques (**Figure 5**). La première génération de BPs est caractérisée par la présence de substituants peu encombrés ou de groupes d'atomes. Le substituant R_1 peut éventuellement être un hydroxyle (étidronate) et le substituant R_2 ne possède pas d'atome d'azote. Les seconde et troisième générations sont caractérisées par la présence d'un atome d'azote dans la chaîne latérale R_2 et forment le groupe des « amino-bisphosphonates » (N-BPs). La présence de cet hétéroatome augmente l'efficacité des BPs de 10 à 10 000 fois par rapport à l'étidronate.[32] La seconde génération correspond à des N-BPs dont le substituant R_2 est une chaine carbonée

incluant un atome d'azote substitué ou une fonction amine terminale, permettant de potentialiser l'effet biologique de ces derniers. La troisième génération, la plus récente, regroupe les N-BPs porteurs d'un hétérocyclique azoté ou d'une amine substituée par un cycle. A ce jour, il s'agit de la génération possédant l'effet biologique le plus important sur les pathologies osseuses ciblées.[23]

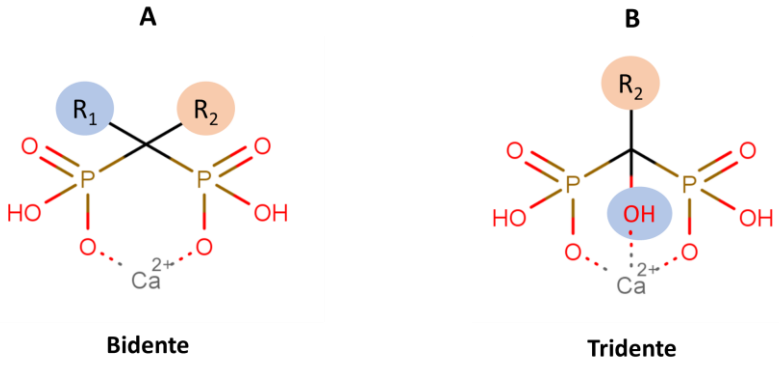


Figure 7 - Structure planaire en "W" (O=P-C-P=O) du bisphosphonate à l'origine d'une liaison bidente avec le calcium (**A**) et d'une liaison tridente plus forte lorsque R_1 est un hydroxyle (**B**)

I.3 Mécanisme d'action

La caractéristique essentielle des BPs est leur forte affinité pour les tissus osseux, ce qui leur permet de s'accumuler efficacement sur l'entièreté du squelette. C'est la raison pour laquelle ils sont aujourd'hui prescrits comme médicaments de première intention dans le traitement de maladies osseuses caractérisées par une suractivité ou un déséquilibre de l'activité des ostéoclastes (résorption osseuse) et des ostéoblastes (formation osseuse), à l'origine d'un excès de remodelage squelettique.[23]

Les BPs se lient à l'hydroxyapatite située sur les sites de résorptions osseuses du squelette, où la matrice osseuse est exposée. Associés à l'os nouvellement formé, ils n'exercent aucune activité biologique sur le squelette et restent inertes. Ce n'est que pendant la résorption osseuse suivante qu'ils sont libérés et absorbés par endocytose dans les ostéoclastes, site de leur activité biologique (**Figure 8**).[33]

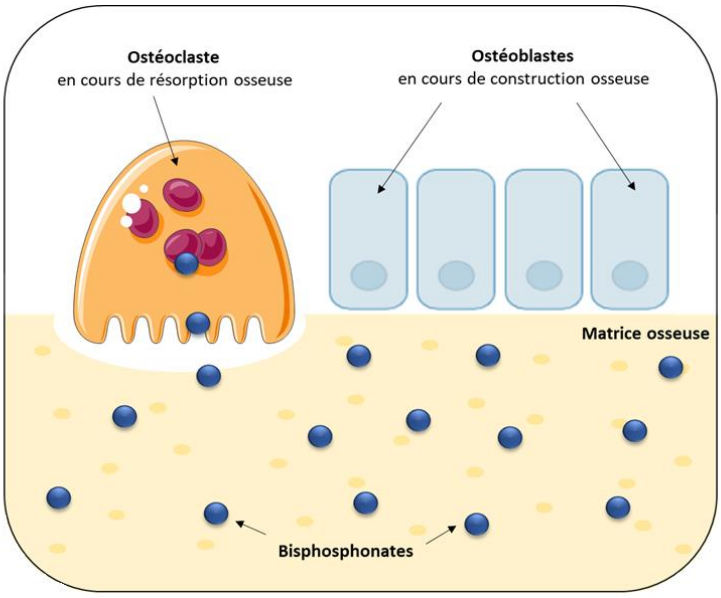


Figure 8 - Endocytose des bisphosphonates contenus dans la matrice osseuse par les ostéoclastes pendant la résorption osseuse

Le mode d'action des BPs et leur capacité à interagir avec les ostéoclastes sont intimement liés à leur structure chimique :

- Les dérivés de première génération, ne contenant pas d'atome d'azote dans leur structure, sont métabolisés en un analogue cytotoxique de l'ATP (**Figure 9**).[34] Les BPs, une fois absorbés dans les ostéoclastes, interagissent avec l'aminoacyl-ARNt synthase, qui catalyse la formation de l'adénosine 5'-O-(2,3-méthylènetriphoshate) ($AppCH_2P$).[35] L'$AppCH_2P$, analogue non-hydrolysable de l'ATP, du fait de la présence du motif P-C-P, s'accumule à l'intérieur des ostéoclastes, bloquant de nombreux processus cellulaires ATP-dépendants, et induit *in fine* l'apoptose.[36]
- Les seconde et troisième générations de BPs, contenant un atome d'azote, inhibent la résorption osseuse en interagissant avec la farnésyl pyrophosphate synthase (FPPS) impliquée dans la voie du mévalonate[37] (**Schéma 1**). En se liant à la FPPS, les N-BPs bloquent la synthèse du farnesyl-5-diphosphate, une molécule essentielle à la biosynthèse du squalène, lui-même précurseur de divers isoprénoïdes (cholestérol, corticostéroïdes, hormones stéroïdes, etc.) et étape primordiale au maintien du squelette cellulaire. De plus, le farnesyl-5-diphosphate est également impliqué lors de la prénylation (addition d'un motif farnésyl ou géranyl) de nombreuses protéines telles que Rab, Rac et Rho, responsables de l'organisation du cytosquelette et du plissement de la membrane cellulaire[38]. Cette inhibition affecte aussi les protéines de signalisation

impliquées dans la transmission du signal cellulaire de survie, ce qui conduit finalement à l'apoptose des ostéoclastes[39]. La seconde conséquence de l'inhibition de la FPPS par les N-BPs est l'accumulation d'isopentyl diphosphate (IPP), un métabolite de la FPPS, qui conjugué à l'adénosine 5'-monophosphate (AMP) forme l'acide triphosphorique 1-adénosin-5'-yl ester 3-(3-méthylbut-3-ényl) ester (ApppI), un analogue cytotoxique de l'ATP, à l'origine de l'apoptose de l'ostéoclaste (comme observée avec l'AppCH$_2$P).[40,41]

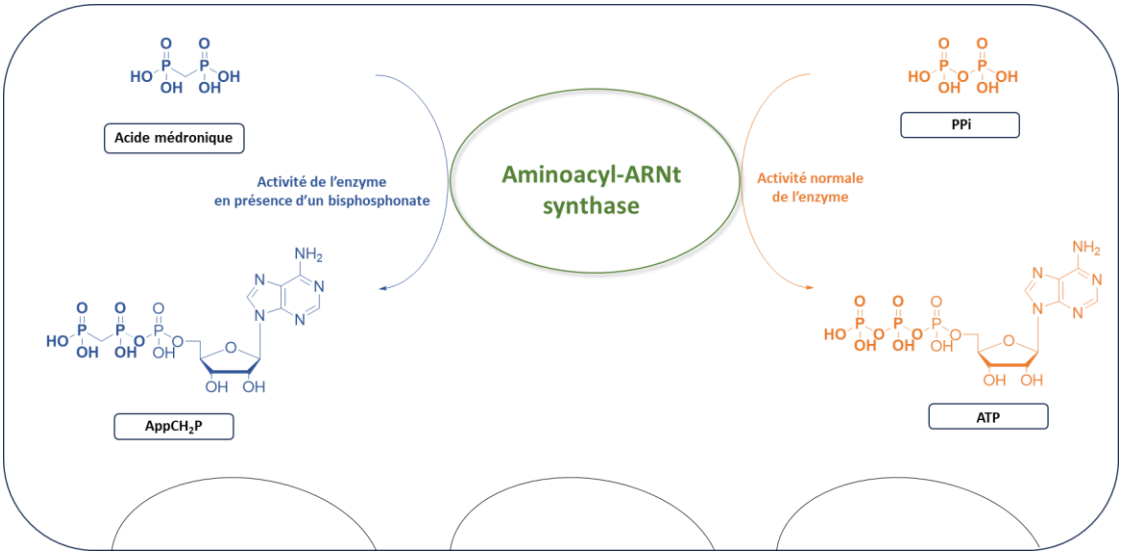


Figure 9 – Métabolisation d'un bisphosphonate (exemple de l'acide médronique) en AppCH$_2$P par l'aminoacyl-ARNt synthase dans le cytoplasme des ostéoclastes. Mécanisme en compétition avec le métabolisme du PPi en ATP

Si la FPPS est exprimée de façon ubiquitaire dans les cellules mammifères, seuls les ostéoclastes sont affectés par l'apoptose provoquée par les N-BPs. Cela s'explique par la capacité des BPs à sélectivement se lier et être retenus par les tissus osseux avant l'endocytose dans les ostéoclastes lors de la résorption osseuse.[23]

Le potentiel relatif d'inhibition des ostéoclastes par les différents bisphosphonates par rapport à celui de l'étidronate est reporté dans la **Figure 5**.[42] En parallèle, le potentiel d'inhibition de la FPPS par certains BPs a été étudié *in vitro*. Les résultats démontrent une corrélation entre la capacité d'inhibition de la FFPS et celle d'inhiber la résorption osseuse (zoledronate ≈ minodronate > risedronate > ibandronate > incadronate > alendronate > pamidronate).[32]

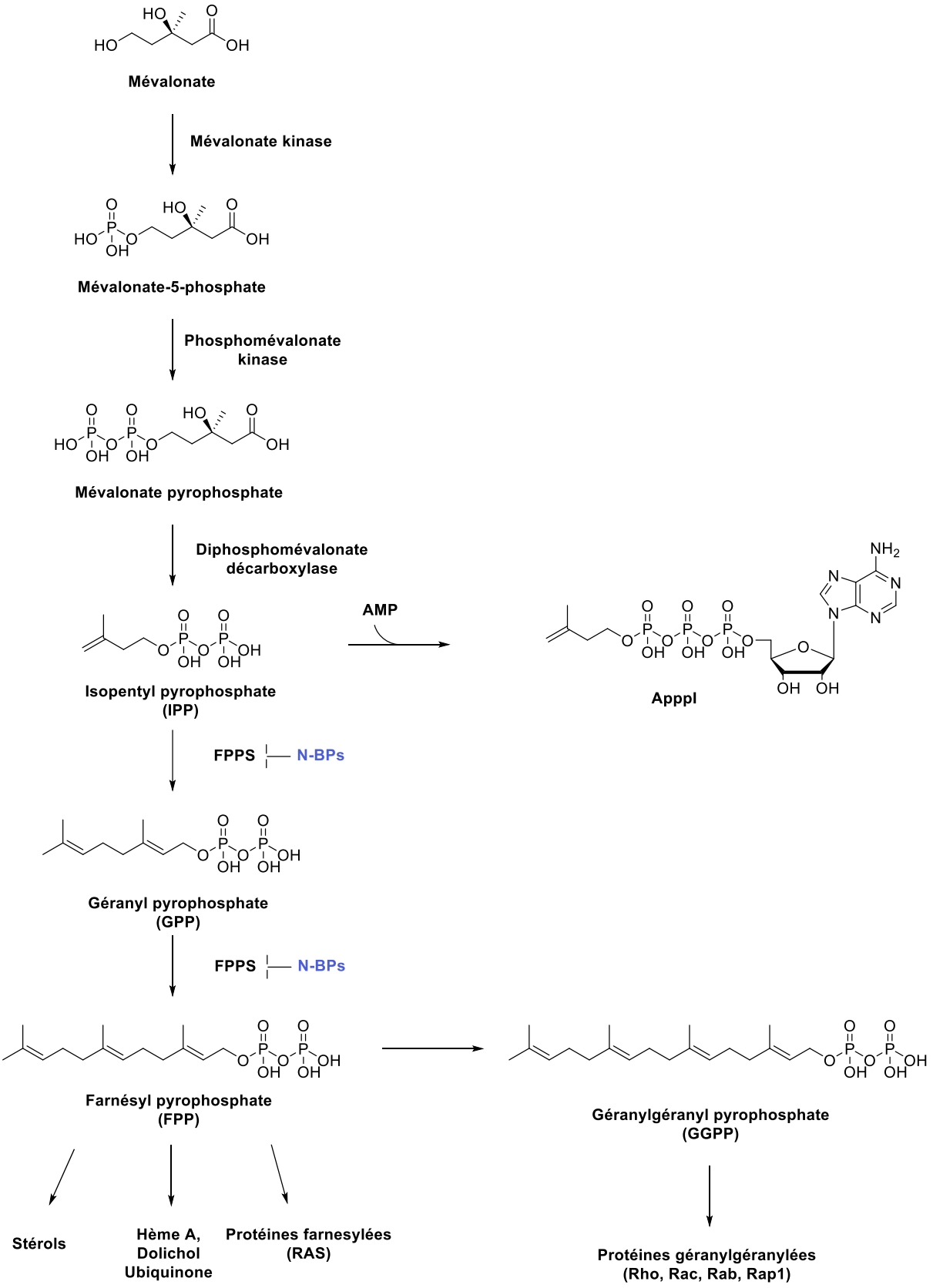


Schéma 1 - Inhibition de la voie du mévalonate par les *N*-BPs, accumulation d'ApppI cytotoxique et conséquences sur la production de molécules essentielles à la survie des ostéoclastes

Ce manuscrit s'intéresse plus particulièrement à la synthèse de nouveaux N-BPs, en conséquence, le paragraphe suivant détaille les différentes voies de synthèse permettant l'obtention de N-BPs, hydroxylé ou non en position α.

II. Les amino-bisphosphonates : synthèse et nouvelles activités biologiques

II.1. Synthèse

II.1.A. **Synthèse one-pot des acides bisphosphoniques**

II.1.A.1. Attaque nucléophile d'un dérivé phosphoré sur une liaison C=O

Les différentes méthodologies décrites dans ce paragraphe découlent de la réaction décrite par Plöger *et al.* en 1972.[43] Celle-ci met en jeu la phosphonylation du formamide en présence de trichlorure de phosphore (PCl_3) et d'acide phosphoreux (H_3PO_3) suivie d'une étape d'hydrolyse aqueuse, pour obtenir l'acide bisphosphonique avec des rendements de 30 à 44%.

Le mécanisme exact de la réaction n'est pas connu, mais il est fait l'hypothèse que la réaction passe par un intermédiaire iminium (**Schéma 2**).[44]

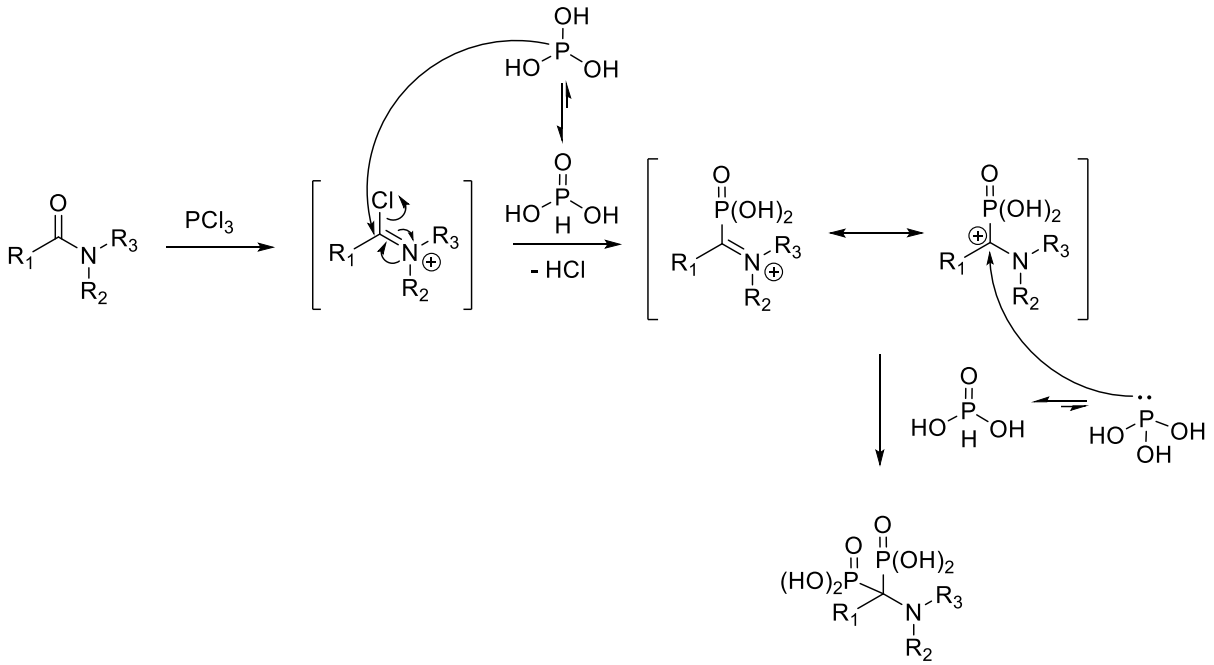
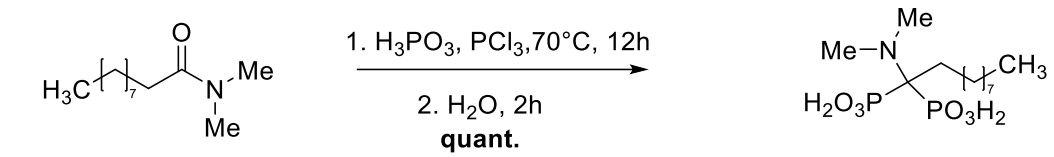


Schéma 2 -Mécanisme de phosphonylation d'amides en présence de PCl_3 et de H_3PO_3

Par la suite, cette réaction a été étendue à des amides primaires, secondaires et tertiaires. Pour exemple, l'amino-méthylène-bisphosphonate (AMBP) **1** est obtenu de façon quantitative, par phosphonylation du *N*,*N*-diméthyl-nonylamide en présence de H_3PO_3 et de PCl_3 à 70°C, suivi d'une étape d'hydrolyse (**Schéma 3**).[45]



***N*,*N*-diméthylnonylamide** **1**

Schéma 3 – Bisphosphonylation du *N*,*N*-diméthylnonylamide en présence de H_3PO_3 et PCl_3

Cette même méthodologie a été appliquée à des diamides par Worms *et al.*[46] Le produit obtenu dans les conditions de la réaction dépend du nombre de carbones (n) séparant les deux amides. Lorsque que n = 2 ou 3, l'acide bisphosphonique cyclique **4** est observé, tandis que si n > 3, c'est un mélange de bis- et tétraphosphonates **2** et **3** qui est observé (**Schéma 4**).

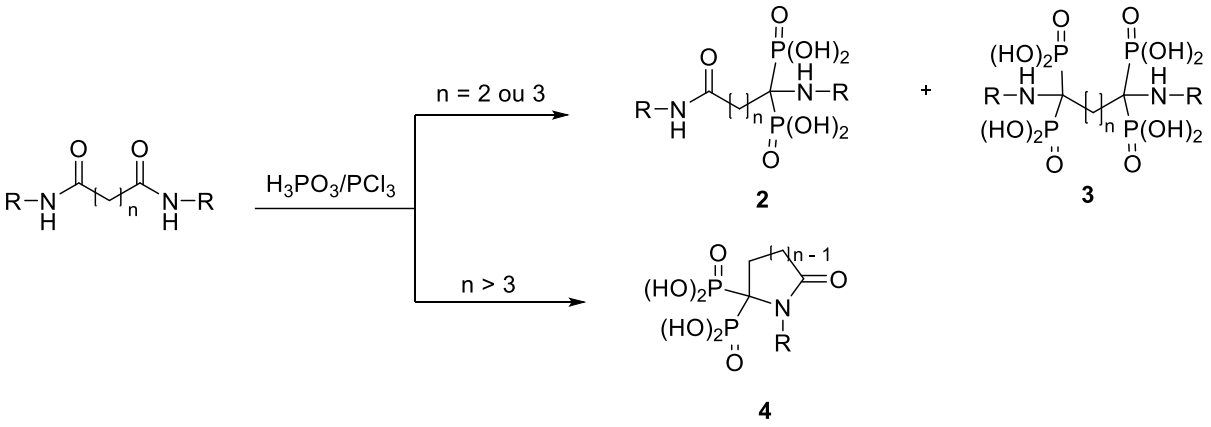
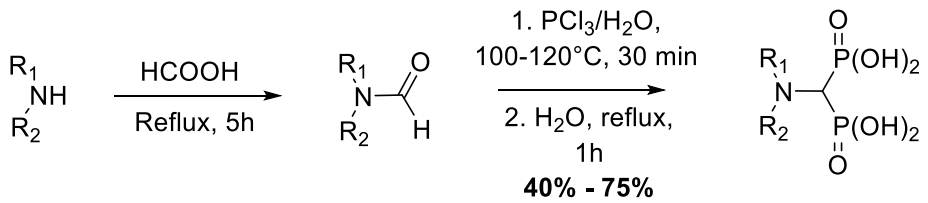


Schéma 4 - Synthèse du bis ou tétraphosphonate en fonction de la nature du diamide

Wu et *al.* ont développé une méthode de phosphonylation one pot d'amines primaires ou secondaires.[47] Les amines sont formylées en présence d'acide formique puis un traitement en présence de PCl_3/H_2O conduit aux acides aminomethylène-1,1-bisphosphoniques avec des rendements de 46 à 75% (**Schéma 5**).



R_1 = Me, Et, Ph, *n*-Pr, *n*-Bu, $HOCH_2CH_2$, *n*-octyl, *c*-hex, 3-$Me_2N(CH_2)_3$, 2-MeC_6H_4

R_2 = H, Me, Et, *n*-Pr, *n*-Bu, $HOCH_2CH_2$

Schéma 5 - Synthèse one-pot d'amino-bisphosphonate à partir d'amines

De la même façon que les amides, les nitriles peuvent être phosphonylés pour obtenir les 1-amino-1,1-bisphosphonates correspondants en présence de H_3PO_3 et/ou de PX_3 (X= Br ou Cl) et de nombreux substrats ont été utilisés, dont des 3-oxonitriles[48], l'acide cyanoacétique[49], le cyanamide d'hydrogène ou encore le 4-nitrophénylacétonitrile.[50] Pour exemple, cette méthode a récemment été utilisée en présence d'acide méthylsulfonique ($MeSO_3H$)[51] ou d'acide benzènesulfonique ($PhSO_3H$) pour la synthèse de N-BPs dérivées d'acides gras à partir de nitriles portant une chaîne carbonée (n = 2 à 4). La synthèse de ce type de dérivés peut aussi se faire en présence de H_3PO_3 seul (n = 0 ou 1) (**Schéma 6**).[52]

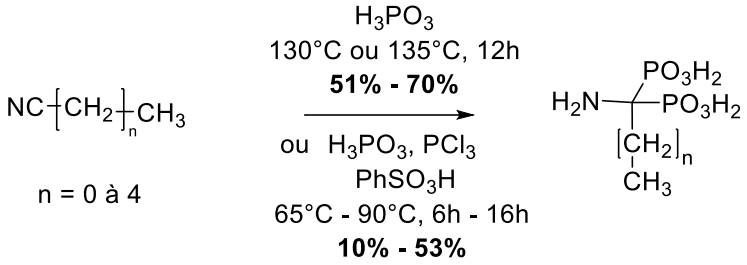


Schéma 6 - Synthèse d'AMBPs dérivés d'acides gras à partir de nitriles. Le protocole dépend du nombre de carbone (n) de la chaîne secondaire

Les conditions de réaction sont suffisamment douces pour pouvoir les appliquer à des dérivés peptidiques cyanoéthylés (**Schéma 7**).[50]

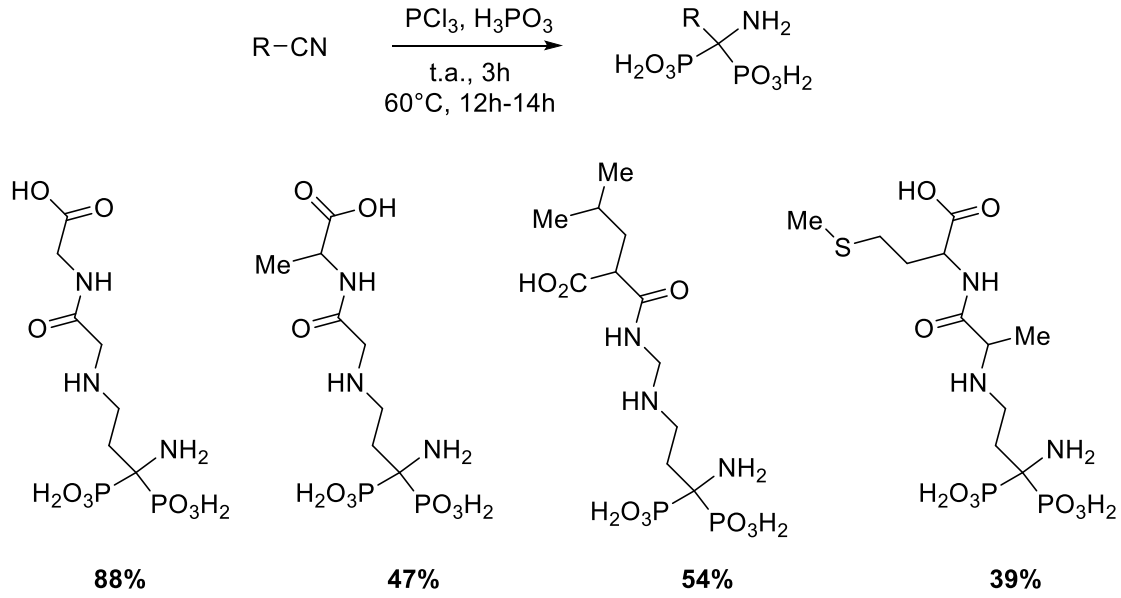
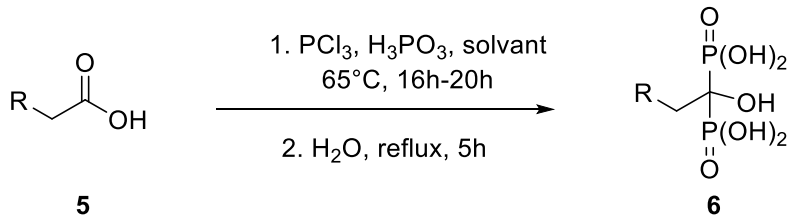


Schéma 7 - Synthèse de dérivés peptidiques d'AMBPs à partir de nitriles

L'utilisation d'acide phosphoreux seul est aussi possible pour la bisphosphonylation de l'acétonitrile et du phénylacétonitrile. En revanche, dans ces conditions (H_3PO_3, 200°C), le bisphosphonate formé à partir de l'acide cyanoacétique subit une décarboxylation.[49] La méthode n'est pas non plus applicable au benzonitrile qui se révèle peu réactif vis-à-vis de l'acide phosphoreux. Cependant, l'utilisation de $H_3PO_3/AlCl_3$ à 180°C permet de remédier à cette limitation.[53]

La même méthode de synthèse est applicable pour le développement d'amino-hydroxy-bisphosphonate, dont les voies de synthèse sont peu nombreuses malgré leur grand intérêt biologique. Pour exemple, la synthèse de l'hydroxy-bisphosphonate **6** est décrite par la réaction de l'acide carboxylique **5** avec un mélange d'acide phosphoreux (H_3PO_3) et de chlorure de phosphore (PCl_3 ou PCl_5) suivi d'une hydrolyse à chaud (**Schéma 8**).[54,55,56,57,58]



5 **6**

R = alkyl, aryl, NR, halogène

Solvant = chlorobenzène (**50%**), acide méthylsulphonique (**38%**), sulfolane (**60%**), liquides ioniques (**49%**), diphenyl ether (**77%**)

Schéma 8 - Synthèse d'α-hydro-bisphosphonate à partir d'acide carboxylique

Le mécanisme exact de la réaction n'est à ce jour pas encore élucidé, mais il est certain que le premier intermédiaire formé est le chlorure d'acyle **7** (**Schéma 9**).[59] L'intermédiaire réagirait avec l'espèce phosphorée trivalente **8**, pour donner le cétophosphonate **9** qui subirait une seconde attaque nucléophile de **8** pour donner, après hydrolyse, l'α-hydroxy-bisphosphonate **6** final. Dans le cas de l'utilisation d'acide méthylsulphonique comme solvant de réaction, sa réaction avec le substrat de départ pourrait donner le dérivé d'anhydride mixte **10** comme intermédiaire de réaction.[60] Il est aussi possible de remplacer PCl_3 par du chlorure de thionyle, afin de générer *in situ* le chlorure d'acyle.

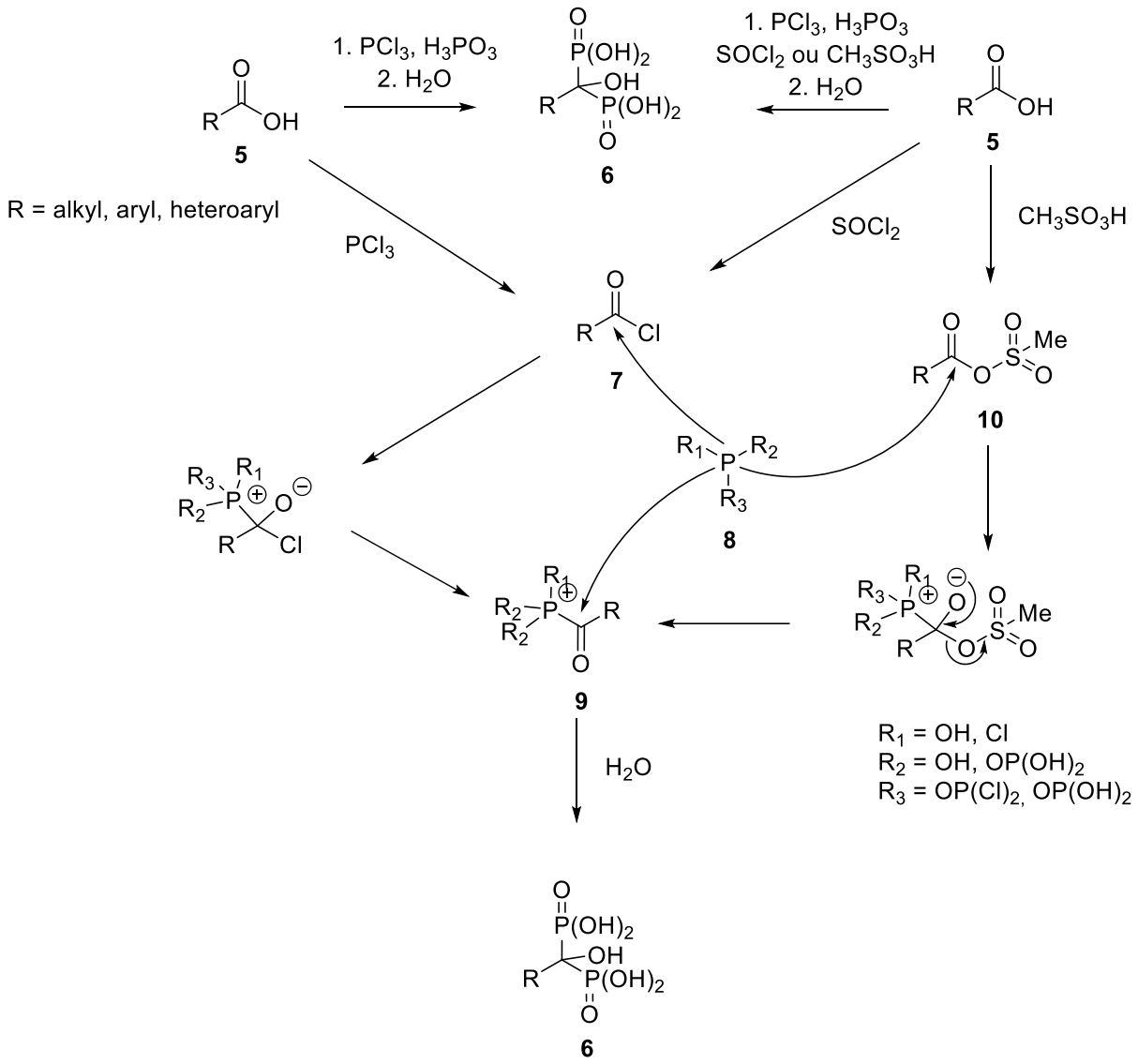


Schéma 9 – Mécanisme de formation d'α-hydroxy-bisphosphonate à partir d'acide carboxylique

De façon très similaire, l'hydrolyse du nitrile **11** en présence d'acide sulfonique permet la formation *in situ* de l'acide carboxylique qui réagit alors avec PCl_3 selon le mécanisme précédemment décrit, pour donner l'acide amino-hydroxy-bisphosphonique **12** (**Schéma 10**).[51]

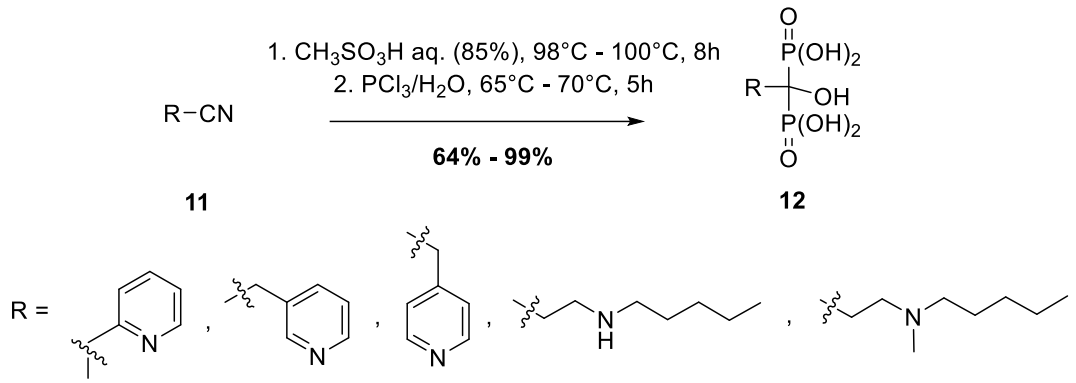


Schéma 10 - Synthèse d'hydroxybisphosphonates à partir de nitriles

II.1.A.2. Méthode radicalaire

Plus récemment, une réaction radicalaire pour la double phosphonylation de nitrile a été développée. Elle est basée sur un double transfert de radical, initié par la réaction entre le dichlorure de titanocène (Cp_2TiCl_2) et du zinc. Le radical formé est transféré à l'oxyde de propylène ce qui conduit à une coupure homolytique au niveau de la liaision C-O. Un second radical est ensuite transféré au diéthylphosphite qui réagit alors avec le nitrile (**Schéma 11**). Ce dernier serait possiblement complexé à du titanium, ce qui aurait pour effet d'accroître le caractère accepteur de radical du groupement cyano. Le mécanisme de la seconde addition de diéthylphosphite reste non élucidé, l'addition pouvant être radicalaire comme nucléophile. L'utilisation de l'oxyde de propylène peut-être évité si la réaction est faite sous activation micro-ondes, mais il faut noter la présence de plusieurs sous-produits.[61]

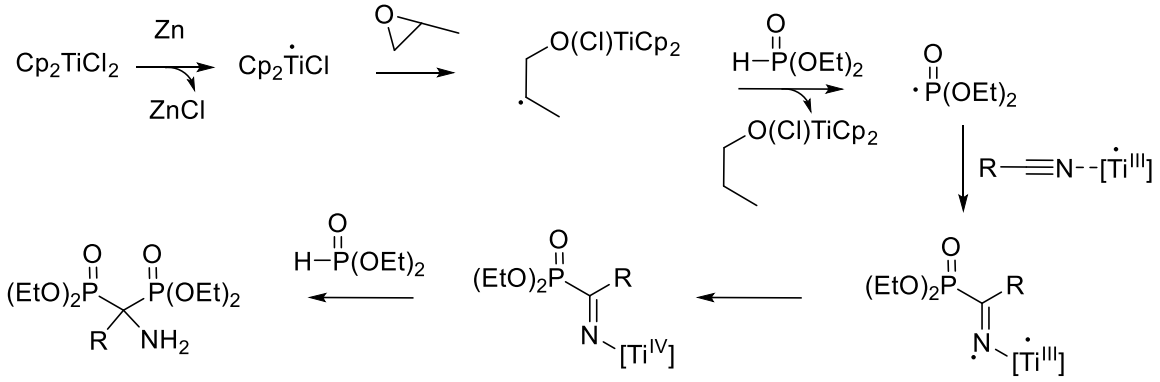


Schéma 11 - Mécanisme radicalaire proposé pour la formation d'AMBPs à partir de nitrile en présence de dichlorure de titanocène

II.1.B. Synthèse des esters d'acides bisphosphoniques

II.1.B.1. Condensation tri-composante d'une amine avec de l'orthoformiate d'éthyle et du diéthylphosphite

La réaction de condensation d'une quantité stœchiométrique d'amine, de diéthylphosphite et d'orthoformiate d'éthyle est la méthode la plus utilisée pour préparer une grande variété d'AMBPs (>300 structures décrites à ce jour).[44] Elle a été décrite pour la première fois par Suzuki *et al.*[62] en 1979, puis plus tard étendue par Maier[63] suivi de Ebetino *et al.*[64]

Le mécanisme de la réaction a été étudié par suivi RMN ^{31}P à partir de la *p*-nitroaniline comme substrat nucléophile (**Schéma 12**).[65] La première étape est similaire à la réaction de Kabachnik-Field[66] avec la formation de deux imines, **13** et **14**, produits respectifs de la simple ou double substitution nucléophile associée à une élimination d'éthanol. Les deux imines intermédiaires subissent l'attaque nucléophile d'une molécule de diéthylphosphite pour donner les deux intermédiaires phosphonates **15** et **16.** L'étape suivante consiste en une lente élimination d'éthanol ou d'amine pour former l'intermédiaire **17** commun aux deux voies. La dernière étape consiste en une seconde phosphonylation pour donner l'amino-bisphosphonate attendu. Les quatre intermédiaires, deux imines (**13** et **14**) et deux alkoxyphosphonates (**15** et **16**), en constant équilibre cinétique et thermodynamique, ont été identifiés et caractérisés. Leur ratio dépend de la nature de l'amine et des conditions de réactions (molarité, temps, température). De la même façon, la cinétique de la réaction dépend de la nucléophilie de l'amine.

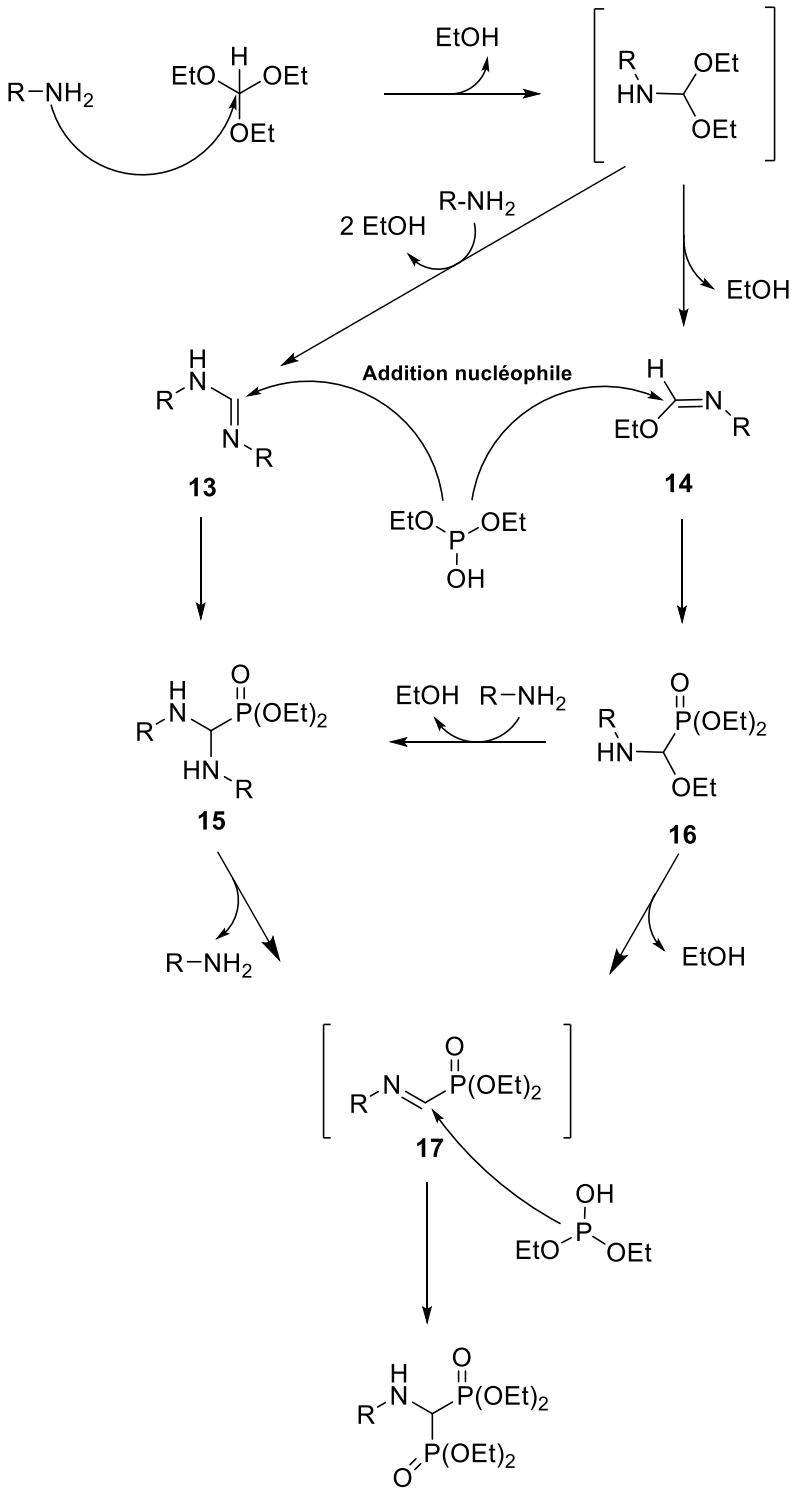


Schéma 12 - Mécanisme de formation d'amino-bisphosphonates par condensation d'une amine avec l'orthoformiate d'éthyle et du diéthylphosphite

La réaction a depuis largement été appliquée à des amines N-monosubstituées ou N,N-di-substituées de natures variées, qu'elles soit linéaires ou cycliques (aziridine, pipéridine, morpholine, etc.) (**Schéma 13**).[67,68,69,70]

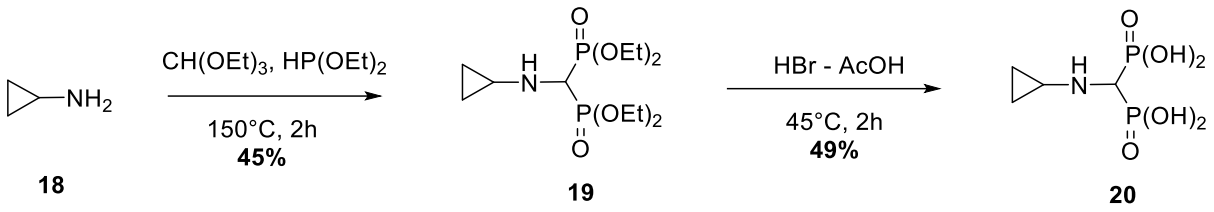


Schéma 13 - Synthèse de l'amino-bisphosphonate **19** à partir de l'amine **18** en présence de triéthyl orthoformate et de diéthylphosphite, suivi d'une hydrolyse pour obtenir l'AMBP **20**

Cette méthode permet notamment de synthétiser l'AMBP **21**, un précurseur particulièrement important pour l'obtention de bisphosphonates conjugués d'intérêt biologique. A titre d'exemple, le ligand macrocyclique de type DOTA **22** contient un groupement bisphosphonate lui permettant de se lier à l'hydroxyapatite présente à la surface des os, suggérant une possible application en imagerie médicale ou en tant que médicament (**Schéma 14**).[71]

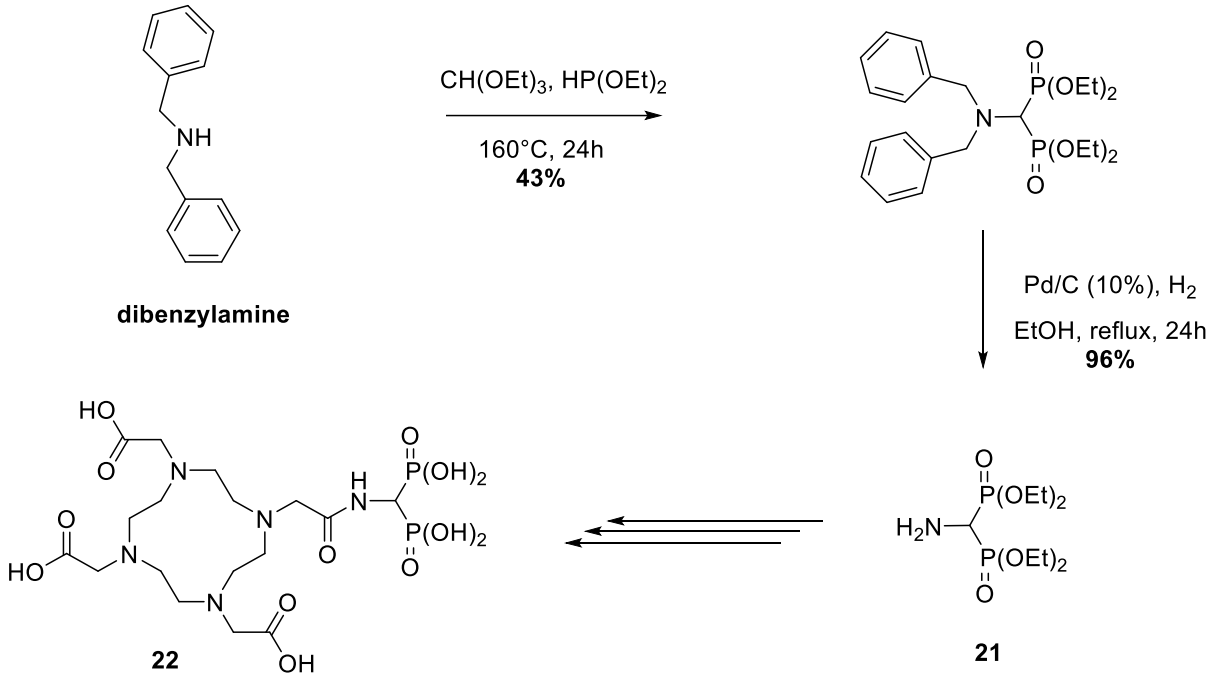


Schéma 14 - Synthèse de l'AMBP **21**, précurseur du ligand BPAMD **22**

Depuis, la réaction de condensation tri-composante a été maintes fois décrites en incluant quelques modifications synthétiques. L'une des plus intéressante consiste en la synthèse de bisphosphonates par activation micro-ondes[72,73], sans solvant [74,75]. La réaction peut aussi être catalysé par du dioxide de titane[76] qui agit comme un acide de Lewis ou encore par des éthers couronnes[68]. Une alternative consiste à remplacer le diéthylphosphite par du triéthylphosphite.[77,78]

II.1.B.2. Réarrangement de Beckmann

En 1994, Yokomatsu *et al.,*[79] décrivent pour la synthèse d'AMBP à partir d'oximes via un réarrangement de Beckmann, en présence de triéthylphosphite (ou de diéthylphosphite) et d'oxychlorure de phosphore ($POCl_3$) (**Schéma 15**).

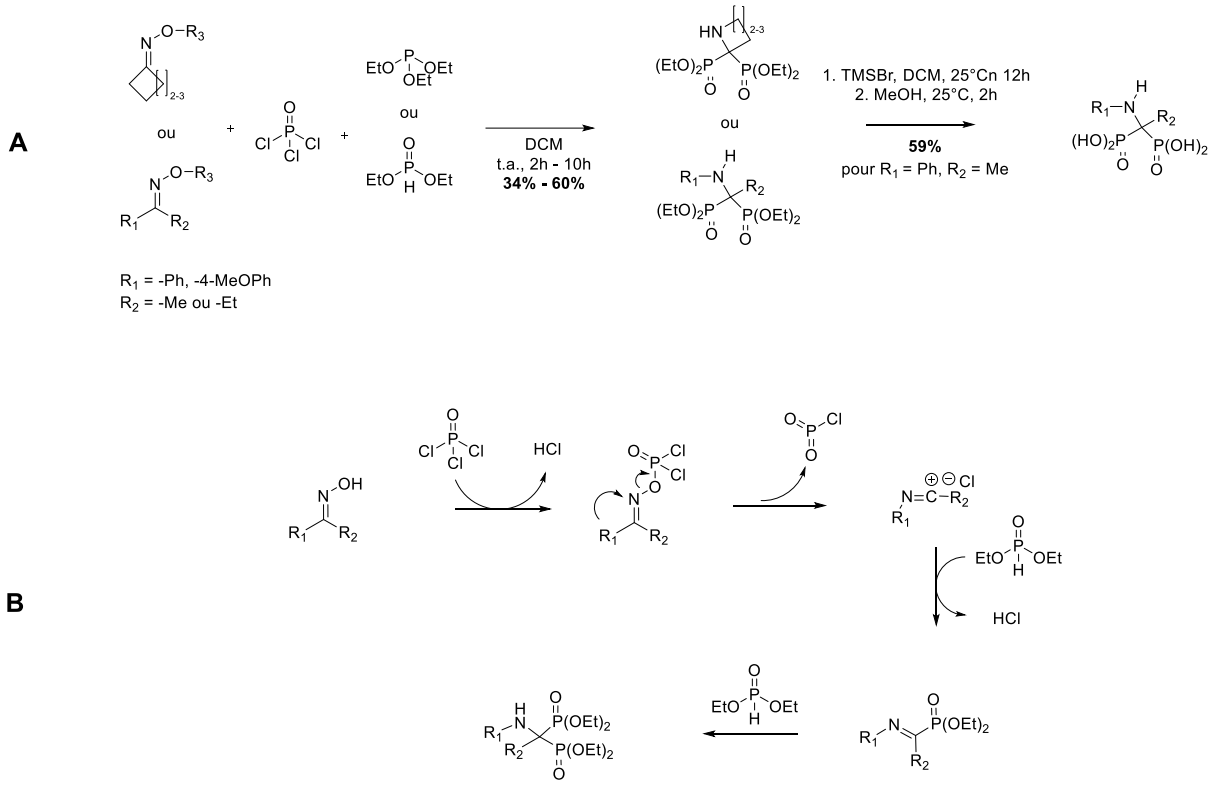


Schéma 15 – Synthèse d'AMBPs à partir d'oximes décrite par Yokomatsu *et al.* (**A**) et mécanisme associé passant par un réarrangement de Beckmann (**B**)

II.1.B.3. Réaction de Vilsmeier-Haack

Les conditions réactionnelles décrites par Yokomatsu *et al.* ont été reprises par Qian *et al*.[80] et Olive *et al*.[81] et appliquées à des amides. Ainsi, le trialkyphosphite, en association avec les réactifs de Vilsmeier, permet d'obtenir les AMBPs désirés. La réaction développée par Quin et Olive est particulièrement intéressante lorsqu'elle est appliquée à des lactames puisqu'elle permet d'accéder à des AMBPs cycliques (**Schéma 16**).[82,83,84] Les esters bisphosphoniques sont ensuite convertis en acides bisphosphoniques par traitement avec HCl concentré.[85]

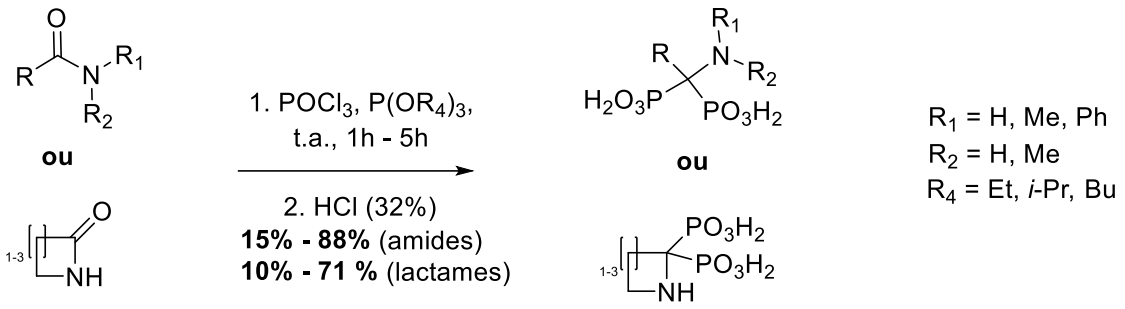


Schéma 16 – Synthèse d'AMBPs linéaire ou cyclique à partir d'amides ou de lactames

Le mécanisme de la réaction implique une première étape similaire à la réaction de Vilsmeier-Haack[86] qui permet la formation d'un chlorure d'iminium comme intermédiaire. L'étape suivante consiste en la double addition du trialkylphosphite pour donner l'AMBP désiré (**Schéma 17**).[87,82]

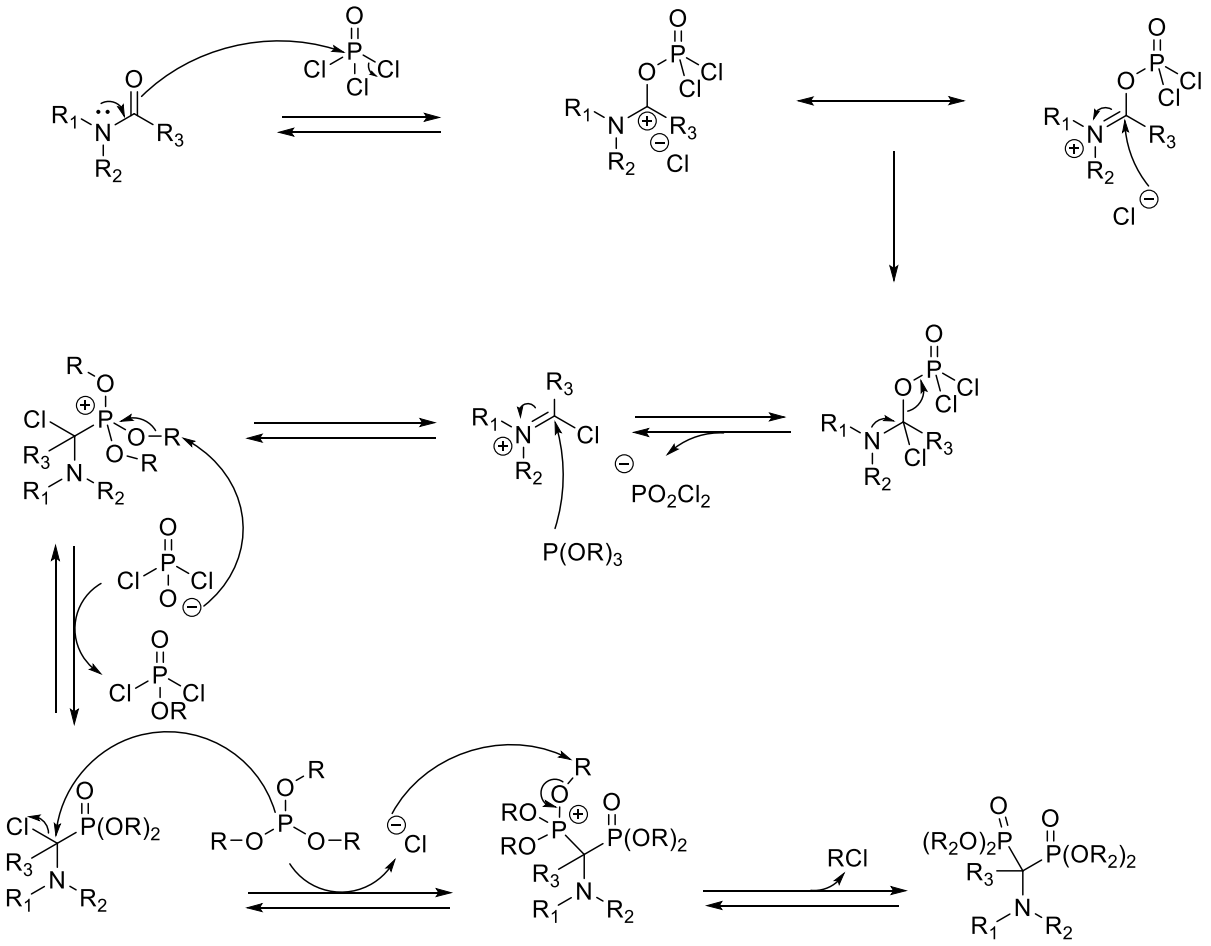


Schéma 17 - Mécanisme de la formation d'AMBPs à partir de réactifs de type Vilsmeier

Cependant, il est à noter que les amides primaires ne réagissent pas avec $POCl_3$ en présence de diéthylphosphite.[84] Et que les amides trop encombrées comme MeC(O)NHR (R = *t*-Bu, *sec*-Bu) mène à la formation du bisphosphonate avec de faibles rendements (20-30%).[88] De plus, si les lactames aliphatiques donnent des ABPS cycliques, les lactames benzoannulés (groupements amines de type aniline) donnent généralement des mono-phosphonates (MP) de diverses structures. Le résultat étant dépendant de la taille du cycle du substrat. Ces MPs sont de plus instables à l'hydrolyse, et se décomposent au stockage.[85]

Yu et al. ont développé une réaction similaire en remplaçant le $POCl_3$ par du carbonate de bis(trichlorométhyle) (BTC) aussi appelé triphosgène.[89]

II.1.B.4. Utilisation de di- et/ou tri-alkylphosphites

L'une des méthodologies décrites fait intervenir le traitement d'isonitriles par du triéthylphosphite en présence d'un excès d'HCl.[90,91] Dans ces conditions, une grande variété d'AMBPs aromatiques ont été obtenus. Une simple hydrolyse en milieu acide permet d'isoler les acides bisphosphoniques correspondants (**Schéma 18**).

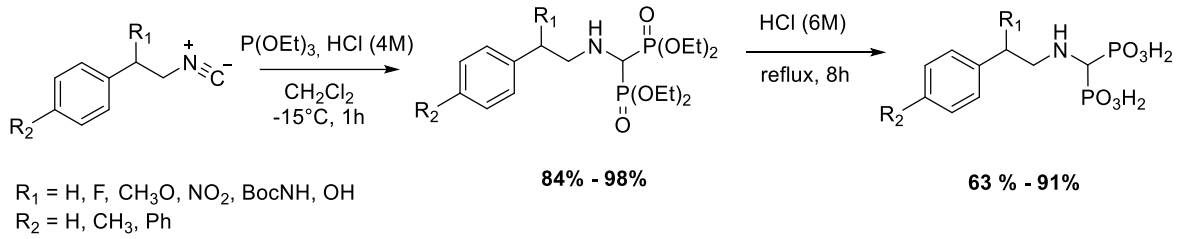


Schéma 18 - Synthèse d'amino-bisphosphonates à partir d'isonitriles suivi d'une hydrolyse pour obtenir les produits sous forme acide

Selon le même protocole, Goldeman *et al.*[92] ont décrit la synthèse d'acides bis(aminomethylydène)bisphosphoniques dont les groupements bisphosphonates sont séparés par un lien aliphatique ou aromatique. L'étape d'hydrolyse des groupements dialkylphosphonates se fait soit en présence d'HCl à reflux, soit avec du TMSBr suivi d'une méthanolyse (**Schéma 19**).

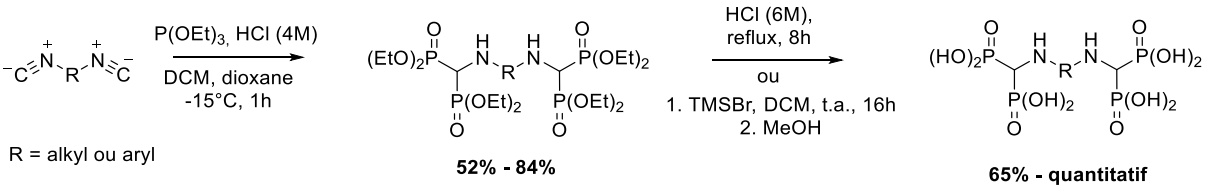


Schéma 19 - Synthèse de bis(amino)bisphosphonates à partir d'isonitriles suivi d'une hydrolyse pour obtenir les produits sous forme acide

Une série de 17 amino-bisphosphonates (rendement de 35% - 75%) a été obtenu par bis-phosphonylation de nitriles en présence d'un système $ZnCl_2/Et_3N$ (**Schéma 20**). La méthode a été étendue à des aldéhydes, traitées avec du chlorhydrate d'hydroxylamine ($NH_2OH.HCl$) pour obtenir 6 nouveaux amino-bisphosphonates (rendement de 47% - 63%).[93]

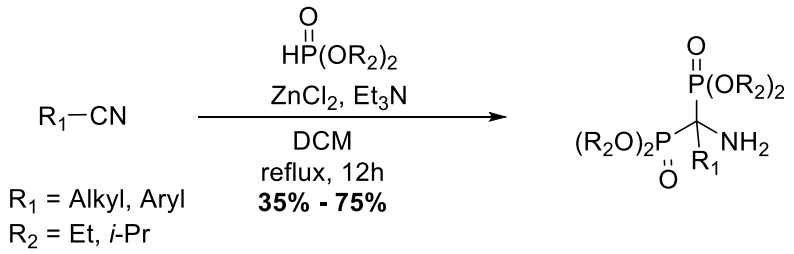


Schéma 20 - Double addition de dialkylphosphites sur des nitriles médiée par $ZnCl_2/Et_3N$

Récemment, Islas et García ont décrit la phosphonylation du benzonitrile en présence de di-*iso*-propryl phosphite et de triéthylborane (Et_3B) comme acide de Lewis, catalysée par du chlorure de nickel ($NiCl_2.H_2O$). L'utilisation d'un excès de Et_3B change la sélectivité de la réaction et l'oriente vers la formation de produits secondaires non-phosphorés.[94]

Les imines ayant été décrites comme intermédiaires réactionnels lors de la formation d'AMBP[95,96,65], elles sont donc des substrats de départ pertinents. La réaction a alors été développée à partir d'imines *N*-alkylés comme l'éthoxyméthylèneimine, en présence d'un mélange de diéthyl(trimethylsilyl)phosphate ou de tris(trimethylsilyl)phosphate et de dialkylphosphite (**Schéma 21**).[97]

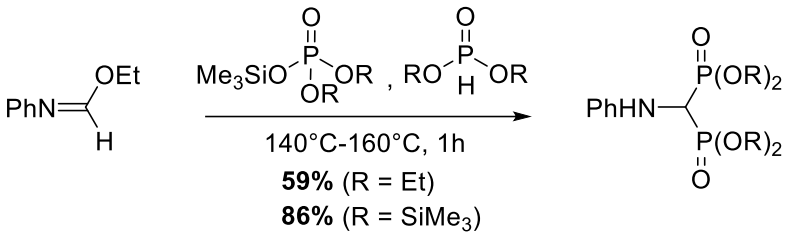


Schéma 21 - Synthèse d'amino-bisphosphonates à partir d'imines *N*-alkylés

L'utilisation de sels d'iminium en présence de triméthylphosphite[98] ou de triméthylsilyl trifluoromethanesulfonate[99] permet également d'isoler des aminobisphosphonates N,N-dialkylés.

Une autre méthodologie de synthèse consiste à mettre en réaction un phosphono-azadiène en présence de diméthyltriméthylsilyl phosphite et d'acide sulfurique.[100] La nature du produit de la réaction dépend de l'encombrement stérique du groupement R_1 porté par l'imine, l'addition du phosphite pouvant théoriquement se faire sur trois positions (**Schéma 22**). Dans la majorité des cas, c'est la double addition 1,2 qui aura lieu pour donner des γ-phosphono-α-aminobisphosphonates. Mais, dans le cas où R_1 est un *t*-Bu c'est le produit d'addition 1,2-1,4 qui se forme.

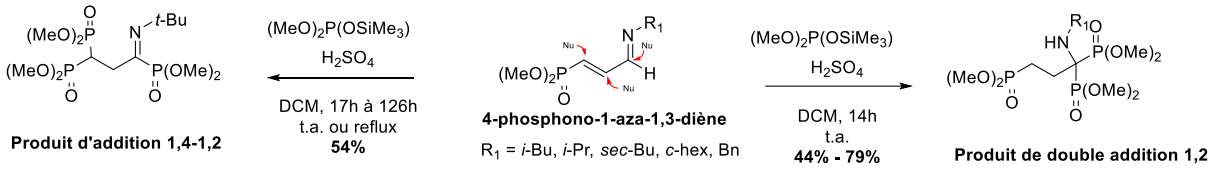


Schéma 22 – Synthèse d'amino-bisphosphonates à partir de phosphono-diène dont la nature varie en fonction de la régiosélectivité de la réaction

L'utilisation de diéthylphosphite en présence d'anhydride triflique (Tf_2O) en tant qu'agent d'activation et de 2,6-lutidine en tant que base a permis d'obtenir les AMBPs correspondants à partir d'amides secondaires (20 exemples décrits avec des rendements de 55% à 93%) ou tertiaires (12 exemples avec des rendements de 72% à 95%) (**Schéma 23**).[101] La réaction passe par un intermédiaire nitrilium.

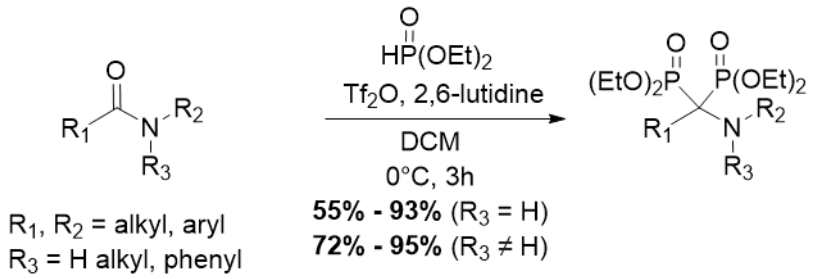


Schéma 23 - Synthèse d'AMBP à partir d'amides secondaires ou tertiaires par activation avec Tf_2O

Une autre façon d'obtenir des AMBPs est de traiter de diéthylacétals de *N*,*N*-dialkylformamide avec un excès de pivaloylphosphonite en présence de chlorure de zinc pour donner les AMBPs. Dans ces conditions, le pivaloylphosphonite se décompose en diéthylphosphite qui est le vrai réactif de la réaction (**Schéma 24**).[99]

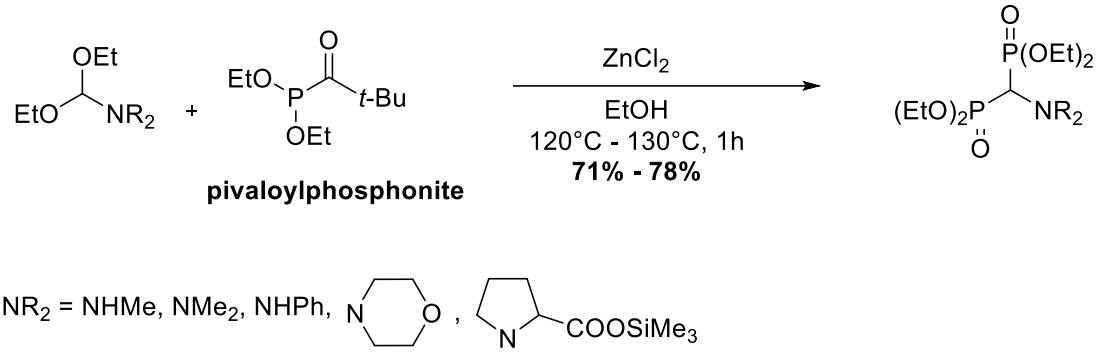


Schéma 24 - Synthèse d'AMBPs à partir de diéthylacétales de *N*,*N*-dialkylformamide catalysée par $ZnCl_2$

Les acides 2-amino-1-hydroxy-ethylène-1,1-bisphosphoniques **25**, **26** et **27** ont tous les trois étés obtenus à partir de la *N*-phtaloylglycine (**Schéma 25**), traitée successivement avec du chlorure de thionyle ($SOCl_2$) puis du triméthylphosphite pour donner le cétophosphonate **23**. L'addition du diméthylphosphite, en présence de di-*n*-butylamine comme catalyseur donne le 2-amino-1-hydroxyéthylène-1,1-bisphosphonate **24**. L'hydrolyse des fonctions esters en milieu acide permet l'accès à l'acide phosphonique correspondant **25**. Ce dernier est mis en réaction avec un mélange d'acide formique et de formaldéhyde, pour conduire successivement aux dérivés mono-*N*- puis di-*N*-*N*-méthylé, respectivement **26** et **27**.[102]

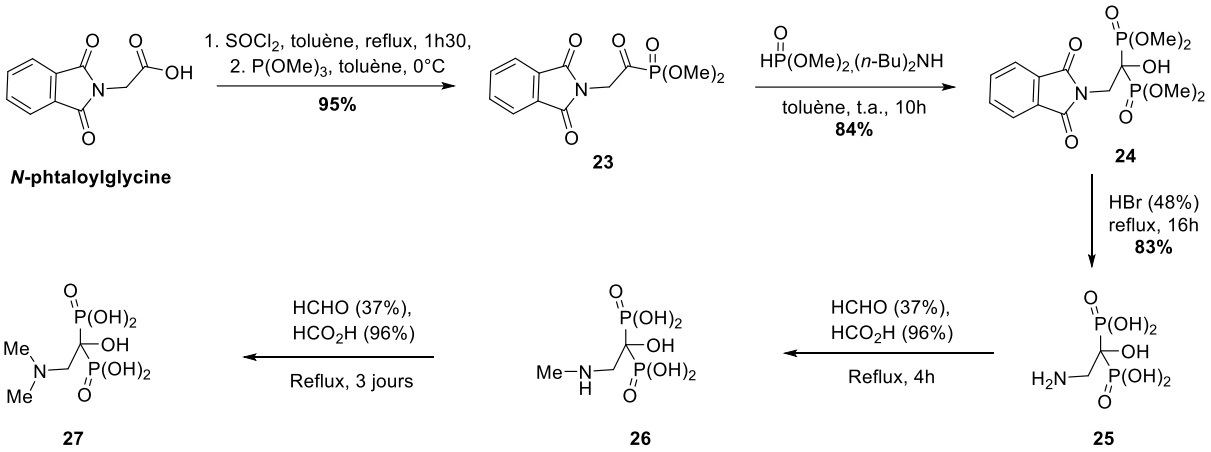


Schéma 25 – Synthèse des acides 2-amino-1-hydroxy-ethylène-1,1-bisphosphoniques **25**, **26** et **27** à partir de de la *N*-phtaloylglycine

II.1.B.5. Amination électrophile

L'amination électrophile du tétraallyl méthylènebisphosphonate **28**, synthétisé à partir de tétrachlorure méthylènebisphosphonate, donne accès à l'amino-bisphosphonate **29**, précurseur des prodrogues de vancomicine et oritacancine.[103] Ces glycopeptides bisphosphonylés présentent une activité antibactérienne et il serait envisageable de les utiliser comme antibiotique dans le traitement de l'ostéomyélite (infection osseuse causée par une bactérie ou plus rarement un champignon) (**Schéma 26**).[104]

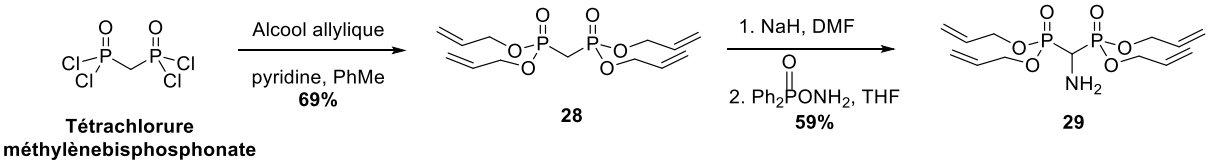


Schéma 26 - Synthèse du N-BP **29** par amination éléctrophile tétraallyl méthylènebisphosphonate **28**

II.1.B.6. Utilisation de phosphites sillylés

L'utilisation de phosphites silylés permet d'obtenir des AMBP tétra-silylés, à partir desquels les acides bisphosphoniques sont facilement accessibles via une simple étape solvolyse (MeOH, EtOH, H_2O, acétone).

Le triflate de triméthylsile ($CF_3SO_3SiMe_3$) utilisé en tant que catalyseur permet d'obtenir des AMBPs à partir de formamides ou d'éthoxyméthylèneimines en présence d'un excès de tris(trimethylsylil)phosphite.[105,106] Le mécanisme proposé met en jeu la formation d'un

intermédiaire iminium (**Schéma 27**). Cette réaction a récemment été étendue à des *N*-formyl-aminoquinolines pour la synthèse de nouveaux AMBPs.[107]

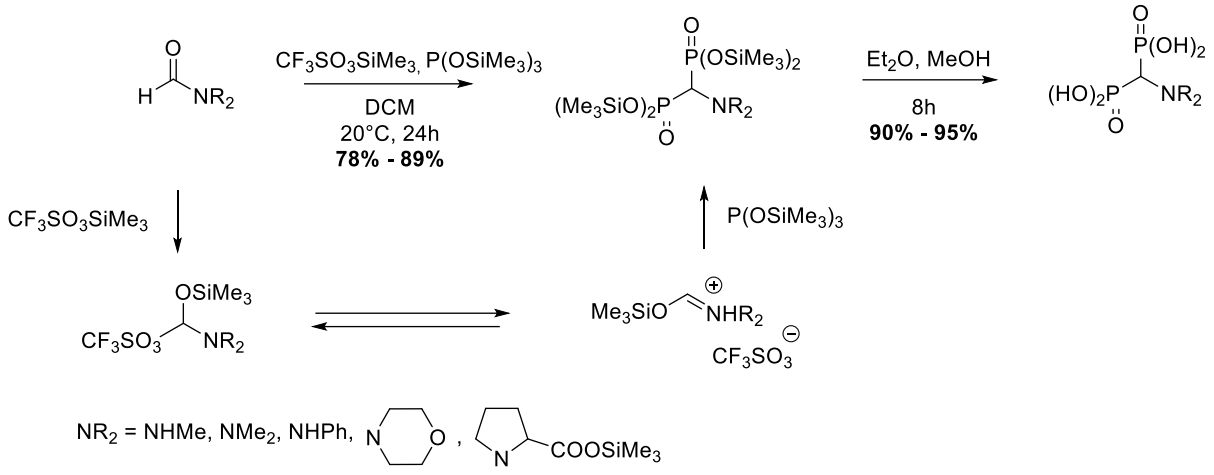


Schéma 27 - Synthèse de tétra-triméthylsilyl amino-bisphosphonate à partir de formamides en passant par un intermédiaire immonium

L'hydroxy-méthylènebisphosphonate **31** est obtenu en one-pot par traitement de l'ester silylé **30** (obtenu à partir de la proline) avec du chlorure de thionyle suivi d'un traitement par un excès de diéthyl(triméthylsilyl) phosphite et une éthanolyse (**Schéma 28**).[108]

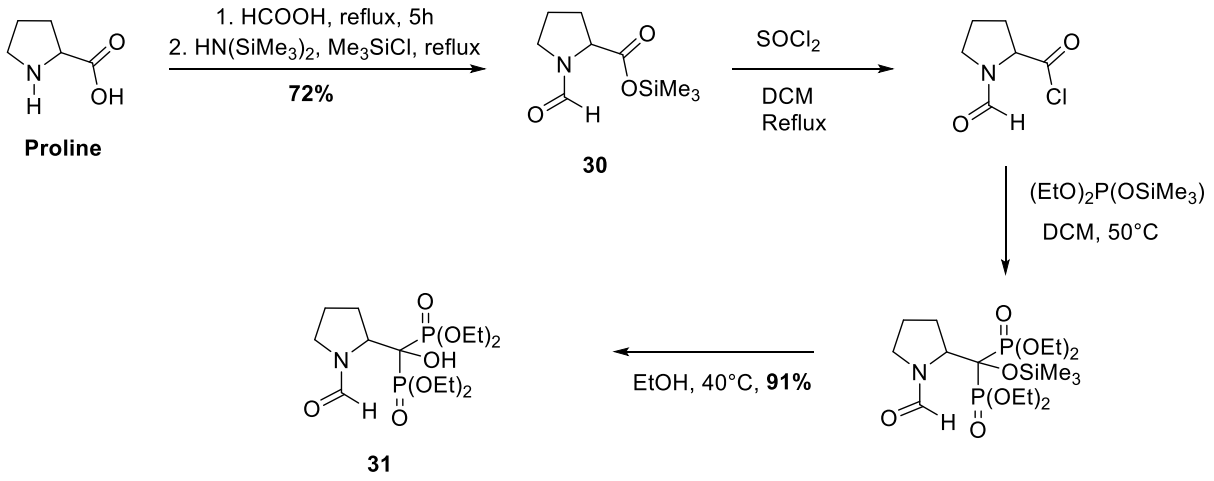


Schéma 28 - Synthèse one-pot de l'AMBP **31** à partir de l'ester silylé **30**

Plus récemment, Legigan *et al.* ont décrit la synthèse d'acides hydroxy-bisphosphoniques incluant un motif triazoles à partir des acides carboxyliques correspondants (**Schéma 29**).[109]

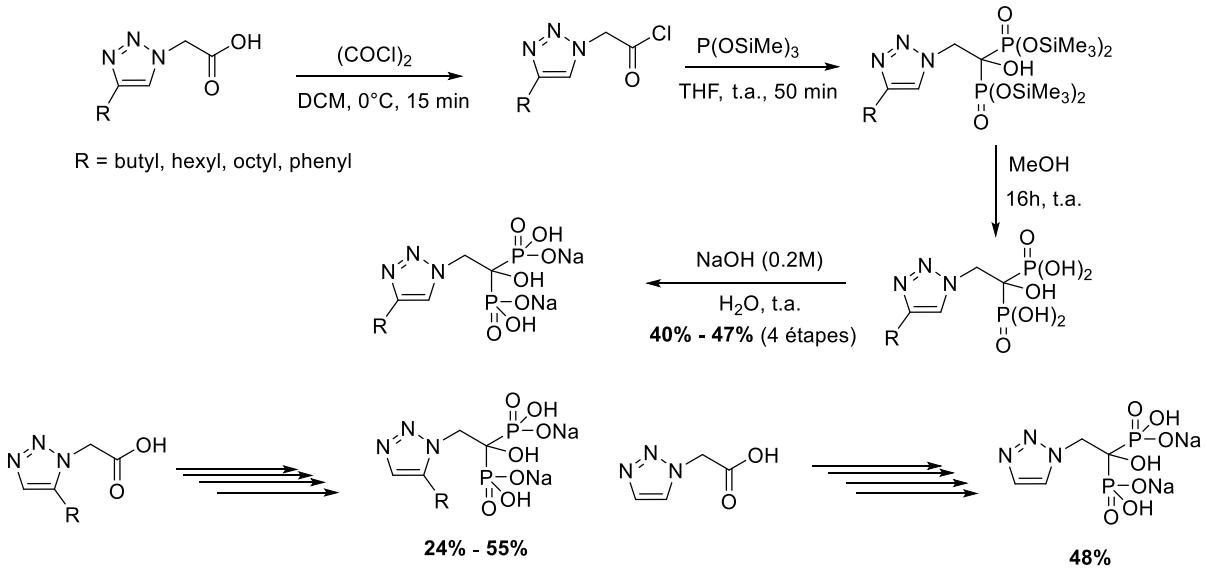


Schéma 29 - Synthèse de bisphosphonates dérivés du triazole à partir d'acides carboxyliques

Ces composés ont été testés pour leurs activités antitumorales potentielles (poumon, sein, pancréas) et deux d'entre eux possèdent des activités prometeuses.[109]

II.1.B.7. Synthèse d'aziridines bisphosphonates

Stevens *et al.* ont décrit la synthèse de l'aziridine bisphosphonate **32** par traitement de 1,1-bisphosphono-2-aza-1,3-diène avec un excès de diazométhane (**Schéma 30**).

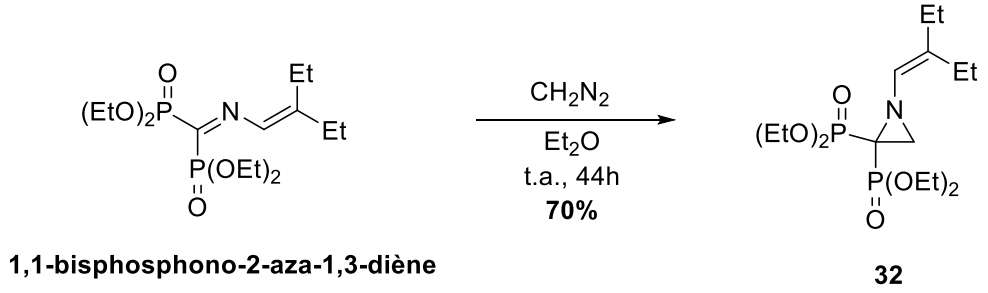


Schéma 30 – Synthétise de l'aziridine bisphosphonate **32**

Récemment, notre équipe a décrit la synthèse de nouveaux aminométhylène-*gem*-bisphosphonates contenant un motif aziridine par réaction d'une aziridine *N*-carbamate et de diéthylphosphite en présence de LiHMDS (**Schéma 31**).[110] La description de cette réaction et de son mécanisme font l'objet de l'introduction du chapitre II de ce manuscrit.

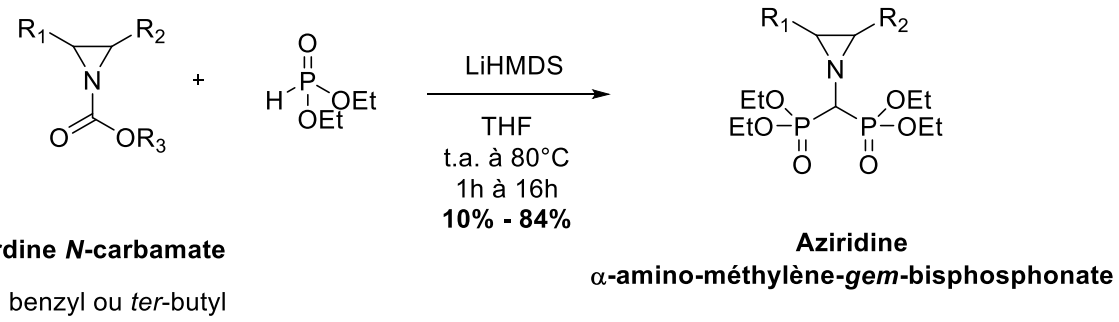


Schéma 31 - Synthèse d'aziridines α-aminométhylène-*gem*-bisphosphonates à partir d'aziridines *N*-carbamate

II.1.B.8. Attaque nucléophile d'un carbanion sur un dérivé phosphoré

La réaction du *N*-octylpyrrolidinone avec du LDA, suivi de l'addition de diéthyl phosphorochloridite ($ClP(OEt_2)$) et d'une étape d'oxydation *in situ* conduit à la formation du bisphosphonate géminal **33** (**Schéma 32**).

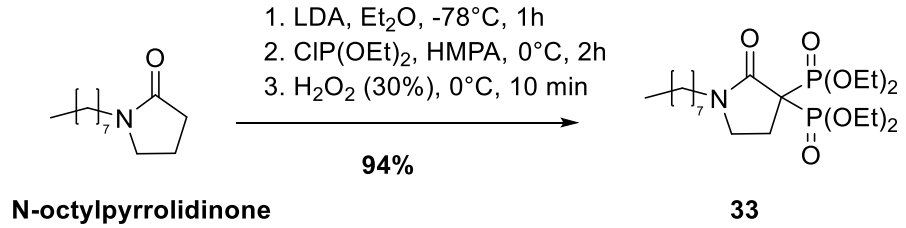


Schéma 32 - Synthèse du bisphosphonate **33** à partir du *N*-octylpyrrolidinone

Une variante de cette réaction concerne la synthèse des AMBPs vicinal **34** et géminal **35** à partir d'imides cycliques en présence non pas de LDA mais de LiHMDS (**Schéma 33**). La formation respective des produits, dépend de la position de l'énolate intermédiaire qui se forme, lui-même dépendant de la méthode utilisée. Dans le cas où la phosphonylation se fait en une étape, le produit vicinal est obtenu. Dans le cas où elle se fait en deux étapes, la double phosphonylation se fait essentiellement sur un seul carbone, menant à la formation du bisphosphonate géminal majoritaire par rapport au bisphosphate vicinal.[111]

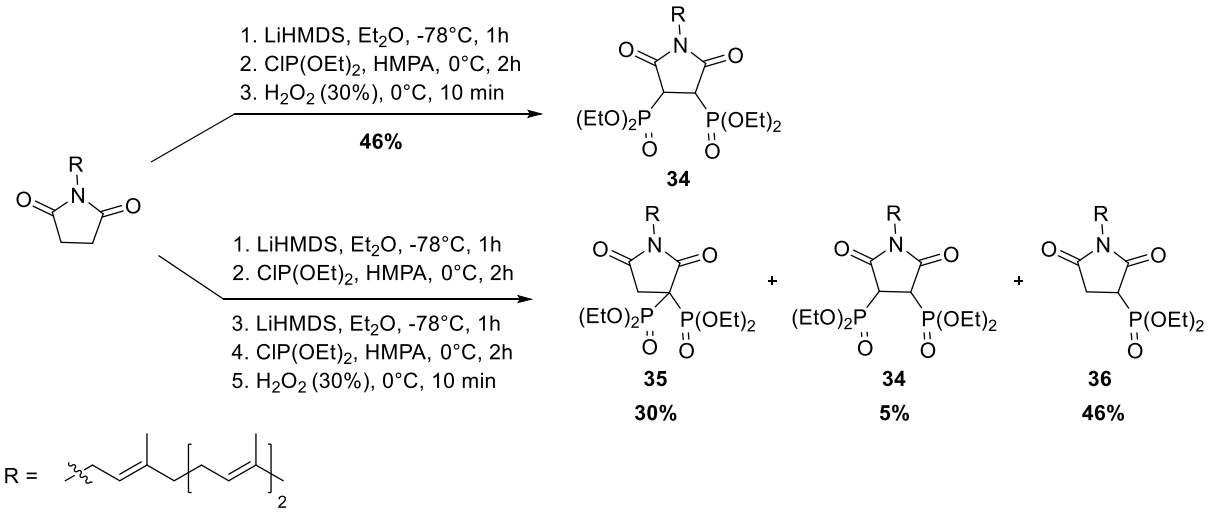
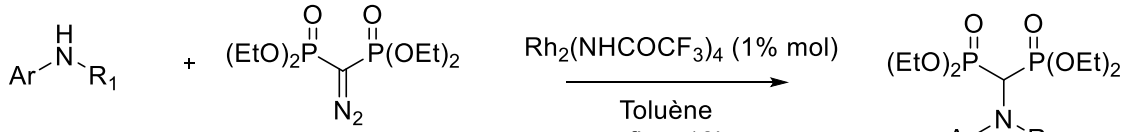


Schéma 33 - Synthèse des bisphosphonates vicinal **34** et géminal **35** à partir de N-farnesyl imide

II.1.B.9. Réaction d'insertion N-H

Lecerclé a décrit la réaction d'insertion N-H d'une amine dans le tétraéthyl diphosphonodiazométhane catalysée par $Rh_2(NHCOCF_3)_4$ (**Schéma 34**).[112] La réaction n'est cependant applicable qu'à des amines aromatiques.



R_1 = H ou Me
Ar = -Ph, -Ph-Ph, -Ph-OMe, -Ph-NO_2

Schéma 34 – Réaction d'insertion N-H d'une amine aromatique catalysée au rhodium

Le mécanisme proposé intègre une première étape de complexation entre le carbone polarisé du composé diazoté sur le catalyseur $Rh_2(NHCOCF_3)_4$ pour générer un intermédiaire diazonium. L'étape suivante, considérée comme l'étape limitante, consiste en une extrusion irréversible de diazote (**Schéma 35**). Le complexe formé réagit alors rapidement avec l'amine pour former l'amino-bisphosphonate attendu.

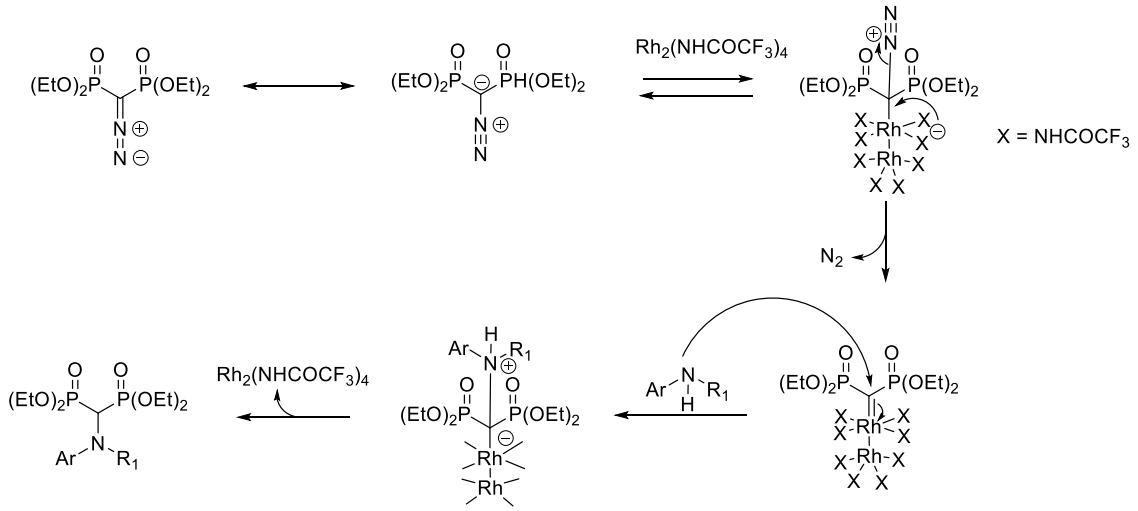


Schéma 35 – Mécanisme proposé pour la formation d'amino-bisphosphonate via une réaction d'insertion N-H d'une amine aromatique catalysée par $Rh_2(NHCOCF_3)_4$

La méthode a été entendue à la synthèse de bisphosphonates bipodaux à partir de diamines (**Schéma 36**), ligands d'uranyl (UO_2^{2+}). Ces complexes sont particulièrement utiles pour la gestion des déchets nucléaires ou en thérapie de chélation en cas d'intoxication.[113,114]

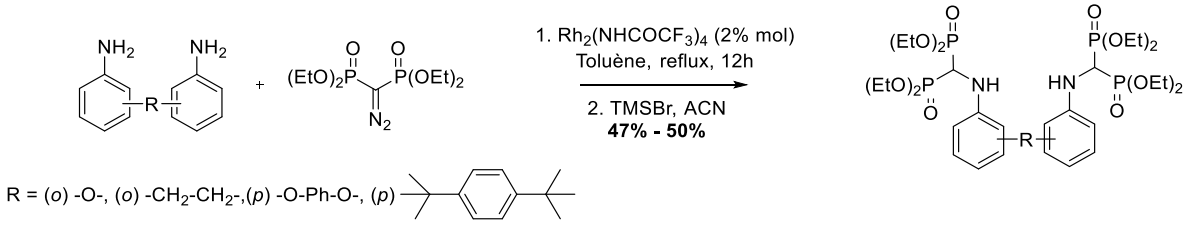


Schéma 36 - Synthèse de bisphosphonates bipodaux par insertion N-H d'une diamine catalysée au rhodium

II.1.B.10. Méthode électrochimique

En 2015, une voie de synthèse d'α-aminoalkylidènebisphosphonates **40** par α-phosphonylation de 1-(*N*-acylamino)alkylphosphonates **37**, obtenus à partir d'acide *N*-acyl-α-aminés, a été développée.[115] Elle implique l'activation électrophile de la position α de **37** par α-méthoxylation électrochimique dans le méthanol en présence de NaCl, suivie de la substitution du groupement méthoxy par le tétrafluoroborate de triphénylphosphonium pour donner le sel de phosphonium **39**. Ce dernier réagit ensuite avec du trialkylphosphite en présence d'une base de Hünig et d'iodure de méthylphénylphosphinium selon un mécanisme de type Michaelis-Arbuzov pour donner **40** (**Schéma 37**, **Voie A**). Plus récemment, cette réaction a été améliorée par la même équipe, et étendue à la synthèse de 11 nouveaux

analogues bisphosphonates d'acides aminés *N*-protégés (Cbz, Piv, Ac). La nouvelle voie de synthèse permet le passage en une étape de **38** à **40** par simple traitement avec du triphénylphosphonium tétrafluoroborate ($PPh_3.HBF_4$) et du triéthyl phosphite ($P(OEt)_3$) (**Schéma 37**, **Voie B**).[116]

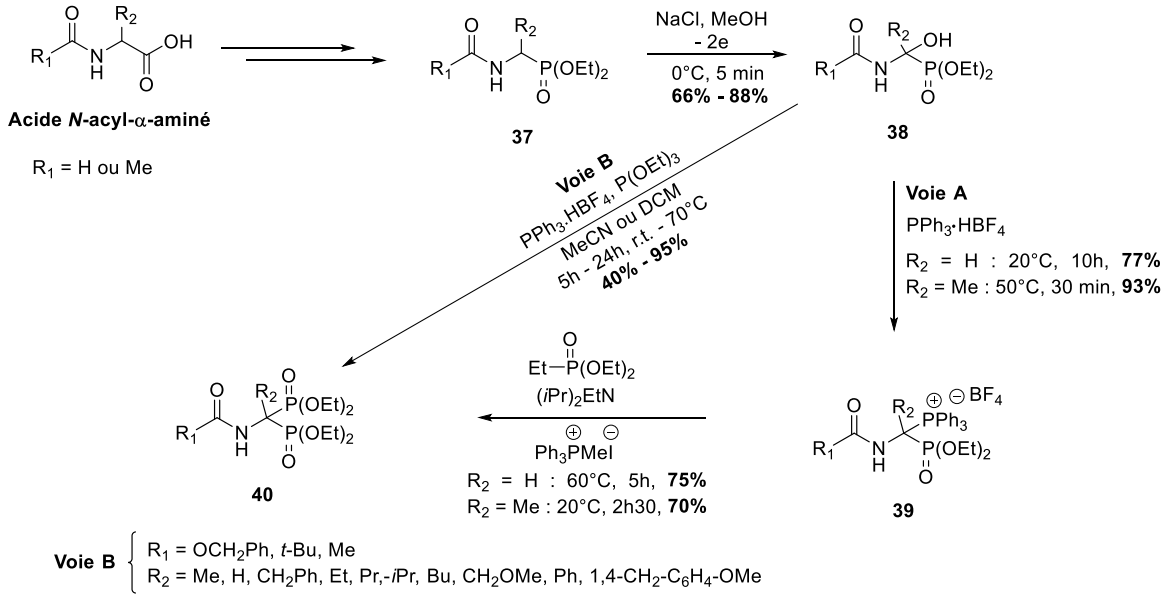


Schéma 37 - Synthèse d'aminobisphosphonates à partir de 1-(*N*-acylamino)alkylphosphonates

II.1.B.11. Méthode radicalaire

Gouault-Bironneau a décrit l'addition radicalaire d'hypophosphite de sodium sur des alcynes vrais en présence de triéthylborane pour accéder à des 1,1,bis-H-phosphinates.[117] Les bisphosphonates correspondants sont obtenus après une étape d'ozonolyse. La méthode a été appliquée sur une variété de substrats dont la propargylamine (**Schéma 38**).

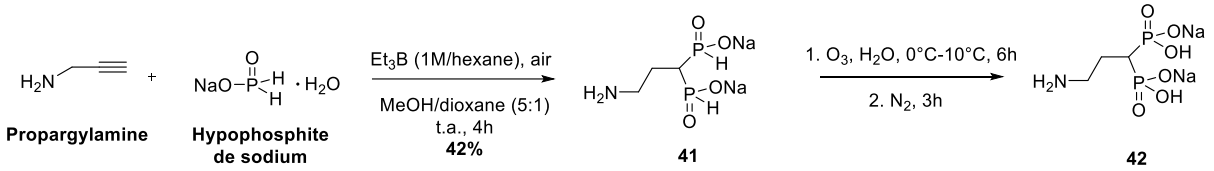


Schéma 38 - Synthèse du bisphosphonate **42** à partir de bisphosphinate **41,** obtenu par réaction radicalaire entre la propargylamine et l'hypophosphite de sodium

I.1.C. Exemples de fonctionnalisation d'amino-bisphosphonates

Les amino-méthylène-bisphosphonates peuvent être obtenus à partir de bisphosphonates déjà existants, via différents types de réaction (acylation, amidation, etc.). Ce paragraphe décrit quelques exemples intéressants de fonctionnalisation de bisphosphonates qui ont donné lieu à des dérivés d'intérêt biologique.

L'une des voies de fonctionnalisation les plus décrites fait appel à une acylation selon la réaction de Schotten-Bauman, notamment pour la synthèse de dérivés catéchol pour une utilisation potentielle en thérapie de chélation (**Schéma 39**) ou à partir d'un acide carboxylique dans des conditions classiques de couplage peptidique. [118,119]

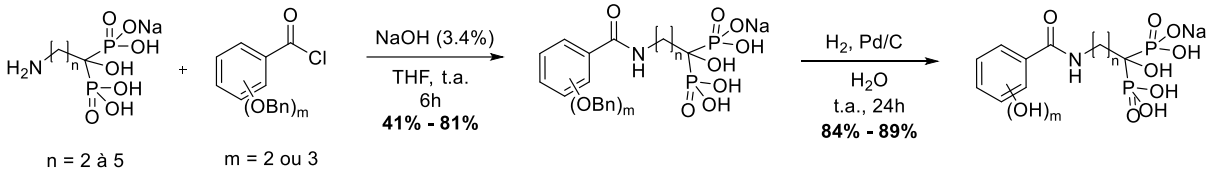


Schéma 39 – Synthèse d'amino-bisphosphonates selon la réaction de Schotten-Bauman, suivi d'une hydrogénolyse pour obtenir les acides bisphosphoniques

En raison de la forte polarité des acides bisphosphoniques qui les rend insolubles dans la plupart des solvants, la fonctionnalisation de ces derniers est donc compliquée. Par conséquent, la majorité des réactions sont effectuées à partir de tétra-alkylaminobisphosphonates.

A titre d'exemple, l'utilisation de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) ou d'azoture de diphénylphosphoryle (DPPA) a été décrite pour la synthèse de conjugué d'estradiols susceptibles de réduire la perte de masse osseuse résultant de l'ostéoporose (**Schéma 40**).[120]

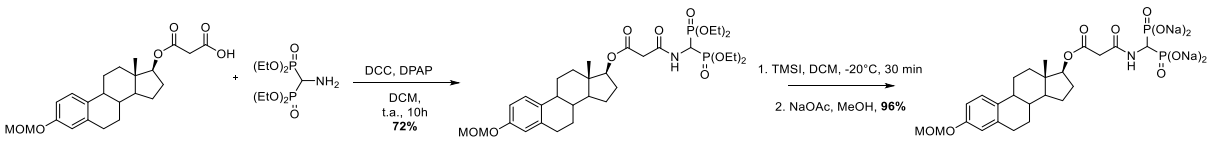


Schéma 40 – Exemple de conjugué estradio-bisphosphonate obtenu par couplage peptidique en présence de DCC

L'une des autres voies de fonctionnalisation est la synthèse de polymères obtenus à partir de monomères contenant le groupement bisphosphonate. Citons par exemple la copolymérisation de méthylènebisacrylamide (MBA) avec le bisphosphonate **43** et le 4-ferrocenyl-butaminopropylamine (Fc-PDA) en présence d'une amine primaire (permet

l'hydrosolubilité du composé final) qui donne accès au polymère **44**, qui pourrait être utilisé pour une libération lente d'antitumoraux dérivés du ferrocène au voisinage des tissus osseux (**Schéma 41**).[121]

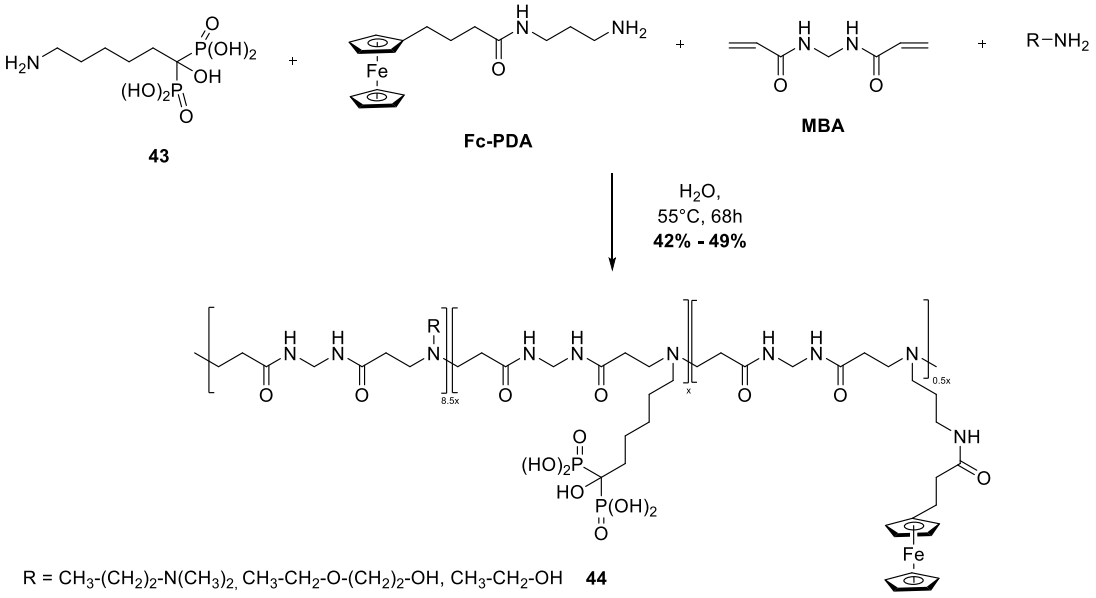


Schéma 41 - Synthèse du polymère **44**

Avec le même objectif, Bonzi et al. ont décrit la synthèse d'un polysaccharide bio-conjugué via le couplage entre le paclitaxel (anti-tumoral inhibiteur de la mitose), le pullulane, et un espaceur tétra-peptidique, suivi de la conjugaison avec l'alendronate (**Schéma 42**).

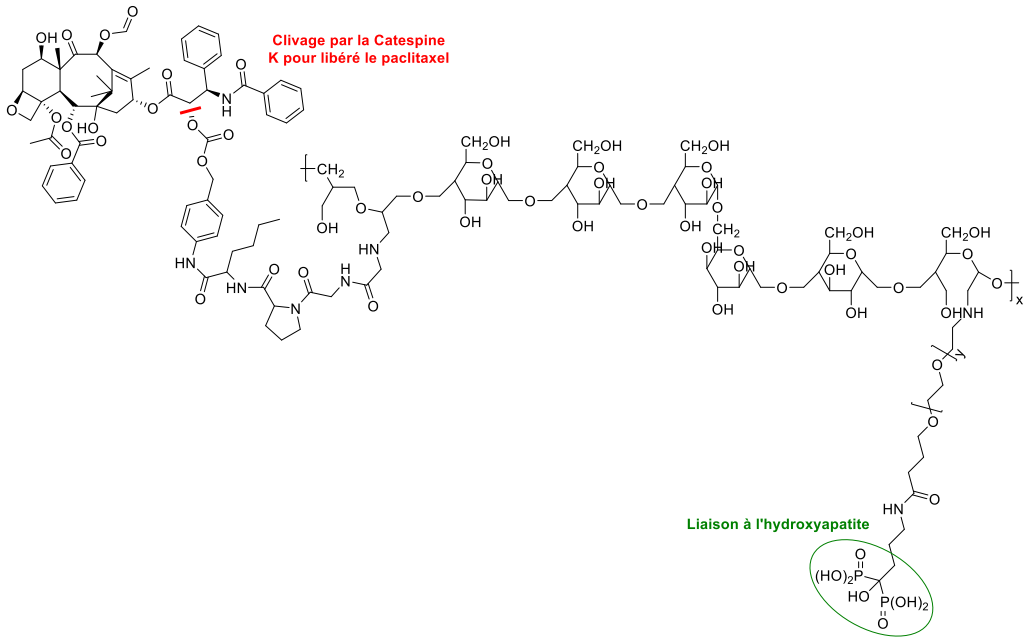


Schéma 42 – Structure de Pull-(GGPNle-ϕ-PTX)-(PEG-ALN)

Ce bio-conjugué se révèle avoir une forte affinité pour l'hydroxyapatite et le paclitaxel est libéré sous l'action de la Cathepsine K. Ce bio-conjugué a présenté une activité antitumorale prometteuse pour le traitement de néoplasmes telles que des métastases osseuses liées à un cancer du sein.[122]

II.2. Activités biologiques et modes d'action

Les N-BPs sont aujourd'hui essentiellement utilisés pour le traitement de maladies osseuses. Mais de nombreuses études récentes ont démontré leur capacité à induire de façon directe ou indirecte d'autres activités biologiques.[34,7,123]

II.2.A. Propriétés anti-parasitaires

Le terme parasitose concerne l'ensemble des maladies liées à des parasites qui infectent un organisme appelé « hôte » pour y vivre à ses dépens. Il existe trois types de parasites : les protozoaires (monocellulaire), métazoaires (pluricellulaires comme les vers), et les arthropodes (animaux qui servent de vecteurs comme les tiques). Parmi les maladies parasitaires, les maladies tropicales et subtropicales, telles que la maladie de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), la Leishmaniose viscérale (ex : *Leishmania donovani, Leishmania mexicana amazonensis*) ou encore le paludisme (ex : *Plasmodium falciparum*), sont considérés comme des problèmes de santé publique, en particulier dans les pays en émergence (Afrique, Asie, Amérique Latine). Elles peuvent aussi affecter des régions *a priori* moins propices telles que l'Amérique du Nord et l'Europe du fait du changement climatique et des mouvements de population.[123]

Ces dernières années, diverses stratégies de développement de médicaments antiparasitaires ont été explorées. L'utilisation de N-BPs en fait partie avec plus de nombreux composés reportés dans la littérature pour leur activité antiparasitaire durant les deux dernières décénies.[8,124,123] Leur mécanisme d'action inclut l'inhibition de la voie mévalonate, et plus particulièrement celle de l'enzyme FFPs, responsable de la synthèse de dérivés lipidiques (stérols et poly-isoprénoides) qui régule l'intégrité et le fonctionnement des cellules. En parallèle, de nombreuses études ont montré la présence de cette même enzyme au sein de parasites[8,125,126,127] (protozoaires et métazoaires) et dont la structure est similaire à la FFPS humaine.

La **Figure 10** montre le complexe formé entre le risedronate et la FPPS humaine (**Figure 10**, **A**)[37] ou la FPPS de *Trypanosoma cruzi* (**Figure 10**, **B**)[128] en présence de molécules d'eau et de trois cations divalents (Mg^{2+}). En dépit de différences dans la séquence d'amino-acides, l'organisation spatiale des protéines est similaire. Les cations pontent les chaînes secondaires des Asp107 et Asp243 (FPPS humaine) ou celles des Asp102, Asp98 et Asp250 (FPPS *T. cruzi*) avec les oxygènes du bisphosphonate dans les deux cas. Il est à noter que pour l'IPP, substrat naturel de la FPPS, les atomes d'oxygène du pyrophosphate interagissent avec des résidus chargés positivement sans l'intervention de cations divalents.[129]

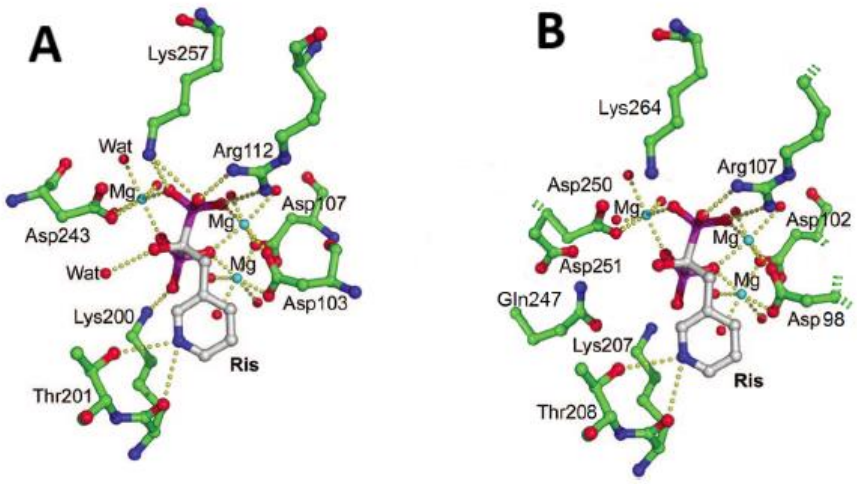


Figure 10 - Représentation des interactions du risedronate avec les ions Mg^{2+} et les résidus acides aminés du site actif de la FPPS humaine (**A**) et de *Trypanosoma cruzi* (**B**)

La **Figure 11** présente des N-BPs (commerciaux ou non) ayant démontré une certaine activité contre un ou plusieurs parasites. Les valeurs d'IC_{50} (concentration inhibitrice médiane) correspondantes sont présentées dans le **Tableau 1**. Leur structure est variable, le groupement amino pouvant être en α des phosphores ou intégré à la chaîne secondaire, et ils contiennent majoritairement un groupement hydroxyle en α du bisphosphonate. Le **Tableau 1** regroupe les différentes valeurs d'inhibition de la croissance de parasites par des N-BPs. Les promastigotes de *T. brucei* sont les plus sensibles aux N-BPs, et plus particulièrement à l'ibandronate commercial, et les dérivées pyridinium **49b** et **50**, qui inhibent la croissance du parasite avec des valeurs d'$IC_{50} < 1$ µM. Les tachyzoites de *T. goondi* sont eux particulièrement sensibles au zoledronate et au risedronate. En revanche, les amastigotes de *L. donovani*, les intraérytrocytes *de P. falciparum* et les trophozoites *E. histolytica* sont aussi sensibles aux N-BPs mais dans une moindre mesure puisque les meilleurs valeurs d'IC_{50} observées sont

inférieures à 10 µM. Les amastigotes de *T. cruzi* sont en revanche les seuls insensibles aux N-BPs décrits. De façon générale, le risedronate est le N-BP le plus actif contre la prolifération des parasites étudiés.

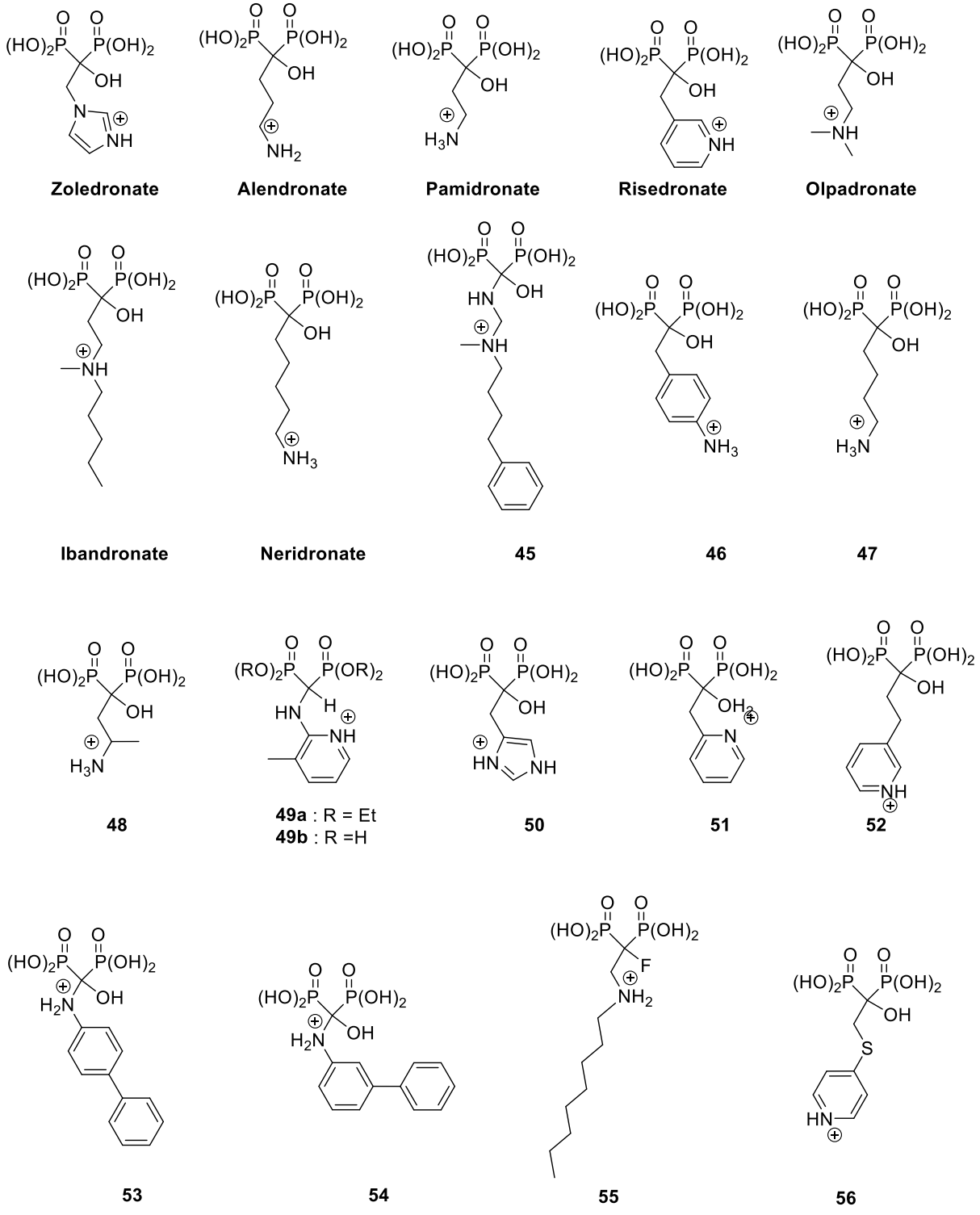


Figure 11 - Structures des amino-bisphosphonates reportés pour leur activité anti-parasitaire

Tableau 1 – Résultats d'inhibition de la croissance de 5 parasites par différents N-BPs

Gras : IC_{50} < 10 µM / **Gras** + grisé : IC_{50} < 1 µM

IC_{50} en µM (écart-type (±) si disponible)							
Composé	*T. brucei* promastigotes	*T. cruzi* amastigotes	*L. donovani* amastigotes	*T. gondii* tachyzoites	*P. falciparum* intraerythrocyte	*E. histolytica* trophozoites	**Ref**
Zoledronate				**0.79**	>200	12	B, D
Alendronate	>200	147 ± 31.2	82.5 ± 14.6	25 ± 6.3	>200	>200	A, D
Pamidronate	177 ± 51.	60 ± 11.4		65.6 ± 6.2	>200	>200	A, D
Risedronate	**8.6 ± 2.7**	123 ± 26.4	**2.3 ± 0.3**	**0.49 ± 0.05**	123 ± 22.5	73.5	A, D
Olpadronate	**5.4 ± 0.9**	>200	>200		>200	>200	A, D
Ibandronate	**0.96**			54.92			B, C
Neridronate	31.7 ± 8.7	>200	>200	59.70	>200	>200	A, B, D
45					2.90	23.4	D
46	40 ± 5.1	>200	>200	68.2 ± 13.2	>200		A
47	>200	>200	129 ± 18.3	>200	>200	>200	A, D
48	**7.8 ± 3.0**	>200	>200		>200	>200	A, D
49a	27.9 ± 13.1	>200	82.1 ± 9.0	44.48	>200		A, B
49b	**0.7 ± 0.3**	147 ± 33.2			>200		
50	**8.6 ± 3.6**	35 ± 8.3		**6.70**	>200		A, B,
51	**0.22**			**8.11**	>200		B, C, D
52	**1.7 ± 0.3**	>200	>200	>200	>200		A
53					76.6	**8.76**	D
54					>200	**6.60**	D
55		>10	>10				C, E
56	19.8 ± 7.2	>200	>200	72.52	**7.7 ± 1.4**		A, B

Références = A [8], B[130], C[131], D[67], E[132]

Une étude menée par Montalvetti *et al*. montre que les N-BPs, risedronate, alendronate et pamidronate, inhibent la FPPS du parasite *T. cruzi* (TcFPPS) avec des K_i = 0.032 µM - 1.04 µM alors que l'étidronate, non-azoté, inhibe la TcFPPS avec un K_i = 61.08 µM.[133] L'hypothèse est faite que l'activité antiparasitaire des N-BPs pourrait s'expliquer par leur accumulation préférentielle dans les acidocalcisomes des parasites, qui sont des organelles riche en calcium et pyrophosphate.[134]

Le risedronate, l'ibandronate et l'alendronate ont aussi été testés contre *L. infatum in vitro* et seul le risedronate montre une activité intéressante (IC_{50} = 13.8 µM). Il a été démontré que ces trois N-BPs provoquent un altération ultra-structurelle des promastigotes *L.infantum*, telles qu'une accumulation de petite vésicule dans la région de Golgi, ou un gonflement de la mitochondrie.[135]

De façon générale, les N-BPs les plus actifs sont ceux contenant un hétérocycle azoté dans leur structure.

Seuls quelques composés ont été testés *in vivo* sur un modèle murin. Parmi eux, le pamidronate et le risedronate inhibent la croissance de *L. donavi* lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse ou intrapéritonéale. Le pamidronate administré par voie intrapéritonéale à 10mg/kg/jour pendant 5 jours sur une souris infectée par *L. mexicana amazonensis* (leishmaniose cutanée) permet l'éradication des amastigotes au niveau des sites de lésions).[136,134]

Certains N-BPs présentent des activités d'inhibition de parasites encourageants, et leur étude, notamment d'un point de vue clinique, est une voie qu'il faudra exploiter plus largement. En effet, parmi les N-BPs étudiés, certains sont déjà approuvés par la FDA ou l'EMA et pourraient donc faire l'œuvre d'un repositionnement.

Une autre stratégie pour lutter contre les infections parasitaires consiste en la synthèse de complexes qui associent des ligands possédant une activité antiparasitaire à des ions métalliques (Cu^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}) (**Figure 12**). L'objectif est alors de créer un effet de synergie ou additif en combinant les effets pharmacologiques du métal et du ligand, souvent en multipliant les mécanismes d'action.[137,138] Ainsi, le risedronate associé à des ions Mn^{2+} montre une forte inhibition (IC_{50} = 14 ± 4 µM) de la prolifération des amastigotes *T. cruzi* dans les

cellules Vero comparé au risedronate seul (IC_{50} = 55 ± 5 µM), ainsi qu'une faible toxicité dans cette même lignée cellulaire.[139] De la même façon, l'ibandronate a été complexé à des ions métalliques et présente une bien meilleure inhibition (IC_{50} ≈ 2.6-8.1 µM) des amastigotes *T. cruzi* que l'ibandronate seul (IC_{50} > 100 µM). [140]

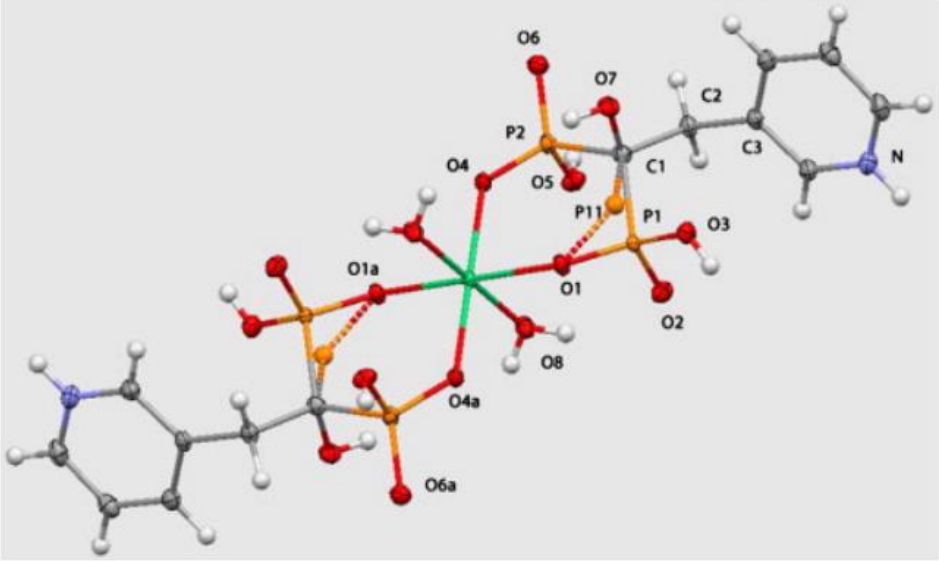


Figure 12 - Structure moléculaire du complexe $[Ni^{II}(Ris)_2(H_2O)_2]$

Avec la découverte de plusieurs dizaines de molécules possédant une activité antiparasitaire *in vitro* (IC_{50} ≤ dizaine de µM) les bisphosphonates azotés se présentent comme des candidats d'intérêt pour le développement de nouveaux antiparasitaires. Néanmoins, la perspective de leur application clinique future demeure incertaine avec seules quelques molécules testées *in vivo*. De plus, les études menées jusqu'à présent ont principalement porté sur la confirmation de leur activité antiparasitaire et leur non-toxicité sur animal. Par conséquent, bien que les résultats soient encourageants, leur efficacité chez l'homme reste à établir.

II.2.B. Propriétés antibactériennes

Les infections d'origine bactériennes représentent la seconde cause de décès dans le monde, après les affections cardiaques, avec 7.7 millions de mort en 2019. Sur les 33 genres et espèces de bactéries (représentant 11 maladies infectieuses) étudiées, les 5 premières (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae et Pseudomonas aeruginosa*) sont responsable de 54.9% de décès.[141] Avec la résistance aux antibiotiques de plus en plus marquée, les infections bactériennes représentent un problème

majeur de santé publique. Le développement de nouveaux antibiotiques est donc plus qu'urgent.

Dans le cas de potentiels N-BPs antibactériens, plusieurs stratégies ont été envisagées.[34] La première est basée sur l'inhibition d'enzymes impliquées dans la biosynthèse d'isoprénoïdes uniquement présentes chez les bactéries.[26] L'objectif est donc de synthétiser des analogues de produits (MK-4, UP particulièrement) issuent de la biosynthèse bactérienne qui serviront de ligands pour les enzymes suivantes citées dans le **Schéma 43**.

L'undecaprényl diphosphate synthase (UPPS) est une enzyme responsable de la biosynthèse des peptidoglycanes de la paroi cellulaire des bactéries. La particularité de l'UPPS est qu'elle présente 4 sites de liaison, augmentant les possibilités de liaison de différents ligands. L'héptaprényl diphosphate synthase (HePPS) et l'octaprényl diphosphate synthase (OPPS) sont des enzymes responsables de la formation d'ubiquinone et de ménaquinone, requise pour le transport d'électron, et donc primordiale pour la synthèse d'adénosine 5'-triphosphate (ATP).

La **Figure 13** - N-BPs testés pour leur activité antibactérienne**Figure 13** présente un inhibiteur (le composé **57**) de l'OPPS de *E.coli* (IC_{50} ≈ 5.6 nM) et les 8 N-BPs analogues de **57**, les plus actifs *in vitro* contre *S. aureus*. [26] Le **Tableau 2** rapporte les valeurs d'EC_{50} (concentration efficace médiane) de ces 8 composés contre les bactéries *S. aureus, B. subtilis, B. anthracis* Sterne et *M. smegmatis*.

Une autre stratégie consiste en la synthèse de bio-conjugué possédant un motif bisphosphonate. L'avantage de cette approche est qu'elle permet de cibler les os pour la délivrance de principes actifs, notamment pour le traitement de l'ostéomyélite, une infection bactérienne de l'os généralement causé par la bactérie *S. aureus* et difficile à traiter du fait de la faible distribution des antibiotiques au niveau des os. L'équipe de Far, a développé une série de prodrogues glycopeptidiques constituées de l'association d'un antibiotique (vancomicyne ou oritavancine) et d'une partie bisphosphonate via un linker (glycolamide ou acyloxyméthyle carbamate). L'un des composés (**Figure 14**) possède *in vitro* une IC_{50} minimum 4 fois plus faible que la vancomicyne ou l'oritavancine seule en présence de sérum de souris.[103]

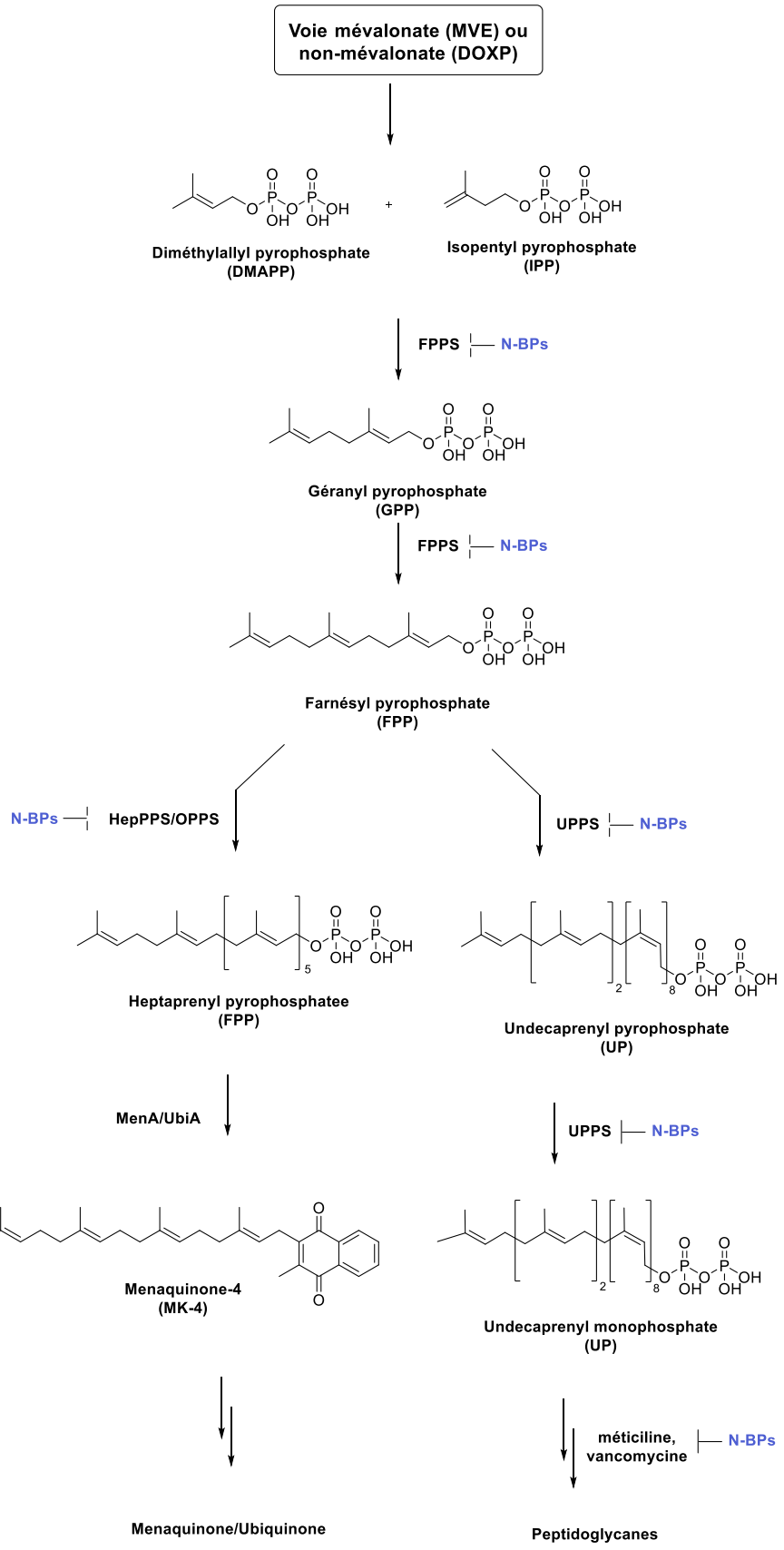


Schéma 43 - Biosynthèse d'isoprénoïdes dans de nombreuses bactéries.

MenA = 1,4-dihydroxy-2-naphthoate polyprényltransferase

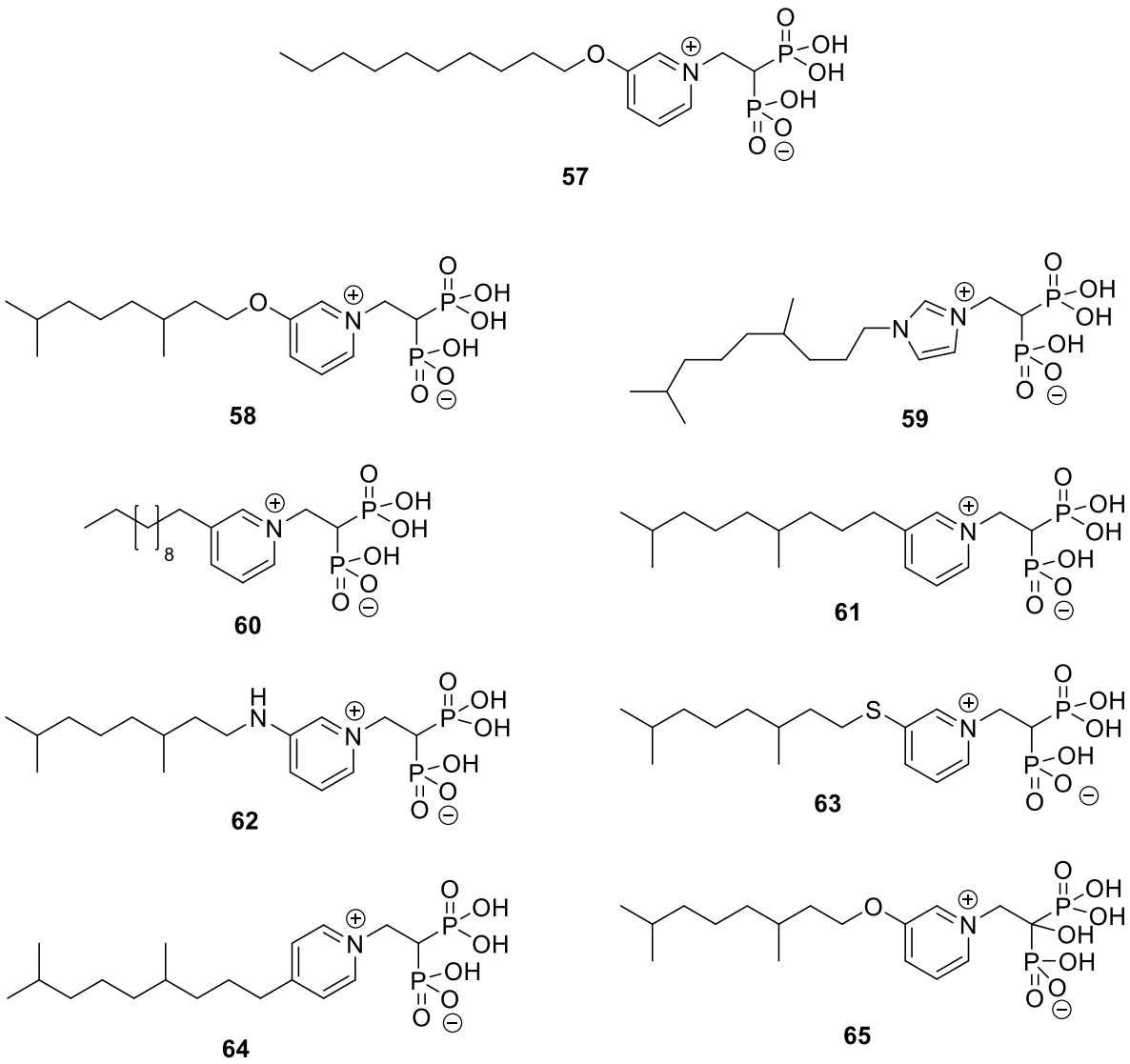


Figure 13 - N-BPs testés pour leur activité antibactérienne

Tableau 2 – Valeurs d'EC_{50} de 8 N-BPs contre 4 souches bactériennes

	EC_{50} en µM			
Composés	*S. aureus*	*B. subtilis*	*B. anthracis* Sterne	*M. smegmatis*
58	**2.4**	5.4	33	14
59	**4.1**	4.4	63	**3.4**
60	**4.8**	**1.4**	30	14
61	5.2	5.0	31	14
62	5.7	**1.9**	31	13
63	6.4	**0.9**	41	14
64	7.4	5.2	50	17
65	12	11	86	38

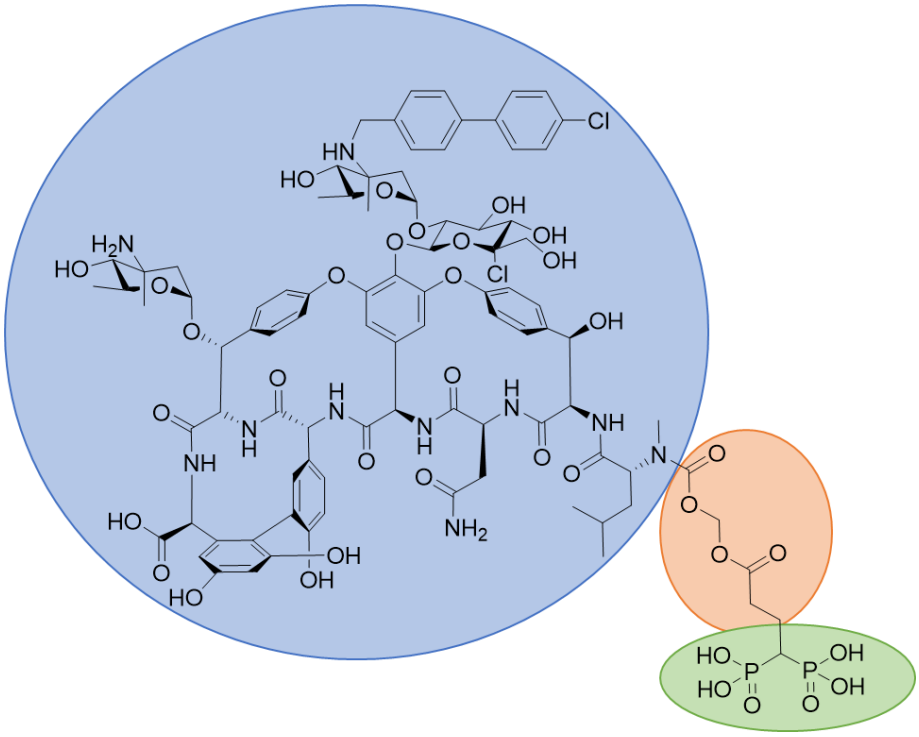


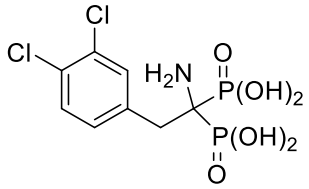
Figure 14 – Structure d'un bio-conjugué constitué de l'association de l'oritavancine (en bleu) et d'une partie bisphosphonate (en vert) liés par un linker de type acyloxyméthyle carbamate (en orange)

Les différentes stratégies de développement de nouveaux N-BP pour la lutte contre les infections bactériennes montrent des résultats encourageants, mais à ce jour, aucun N-BP n'a encore été testé *in vivo*.

II.2.C. Lutte contre le virus de l'immunodéficience humain (VIH)

L'intégrase (IN) est une enzyme virale qui catalyse l'intégration des copies de l'ADN viral du VIH-1 dans le gênome de l'hôte. Elle joue donc un rôle clé dans le cycle de vie du VIH et peut donc être considérée comme une cible thérapeutique de grand intérêt pour le développement de nouveaux antiviraux.[142]

Parmi les 19 N-bisphosphonates testés par Agapkina *et al.* comme inhibiteur de l'IN du VIH-1, seul le N-BP **66** se révèle être un inhibiteur non-compétitif avec une IC_{50} = 7 µM. Les études de SAR précédemment réalisées ont démontrés que la présence d'un groupement chlorobenzyl est essentielle à l'activité inhibitrice des N-BP (**Figure 15**).[27] Bien que ce résultat soit intéressant, à ce jour, seuls des études d'inhibition enzymatique ont été réalisées, et aucune évaluation *in vivo* ou *in vitro* n'a été menée.



66

Figure 15 - Structure du N-BP inhibiteur de l'intégrase du VIH-1

Le traitement antirétroviral hautement actif (TAHA) désigne couramment les polythérapies d'antirétroviraux luttant contre le VIH qui agissent en inhibant la multiplication du virus dans l'organisme. Une des problématiques rencontrée lors de l'utilisation de polythérapie antivirale est qu'elles ne peuvent pas être considérées comme curatives, puisqu'il persiste un réservoir de cellules infectées par le VIH. Ces dernières contiennent une forme stable et latente du virus, invisible pour le système immunitaire et qui n'est pas ciblée par les antirétroviraux actuels. A l'arrêt du traitement ce virus reprend sa multiplication. Pour contrer ce phénomène, l'une des stratégies, dite de « choc et d'abatage », en cours de développement est l'utilisation d'agent d'inversion de latence (ALE), des petites molécules capables de purger efficacement ce réservoir.

Très récemment, Sanz et al. ont démontré la capacité de certains N-BP (alendronate, zoledronate, pamidronate) à agir comme un ALE.[143] Les études menées *in vitro*, sur cellules rCD4 T issues de patient infectés par le VIH et sous traitement antirétroviral, ont montré non seulement une réactivation du VIH-1 contenu dans le réservoir (qui devient donc détectable aux traitements) mais active aussi les cellules effectrices du système immunitaire. La réactivation est confirmée *in vivo* lors du traitement de patients infectés par le VIH. Ce travail, préliminaire, montre que les N-BPs sont de bons candidats pour le développement de nouveaux traitements antirétroviraux, mais des études cliniques plus approfondies devront être réalisées. L'une des approches proposées serait la combinaison de N-BPs avec des composés capables de renforcer l'immunité pré-existante.

II.2.D. Propriétés anti-tumorales

Les N-BPs ont la capacité d'améliorer le pronostic vital des patients atteints de cancer du sein, de la prostate, et myélomes.[7] Pendant de nombreuses années, ce constat était associé à l'idée qu'ils jouaient un rôle de contrôle sur les effets secondaires des cancers sur les os en association avec des traitement antitumoraux. Au fil des années, de nombreuses études ont

démontré les propriétés antitumorales directes (inhibition de la prolifération cellulaire et induction de l'apoptose, inhibition de l'adhésion et de l'invasion des cellules tumorales) et indirectes (inhibition de l'angiogenèse, effet immunomodulateur par activation des lymphocytes γδT, synergie avec des anti-néoplastiques) des N-BPs.

II.2.D.1. Inhibition de la prolifération cellulaire et induction de l'apoptose

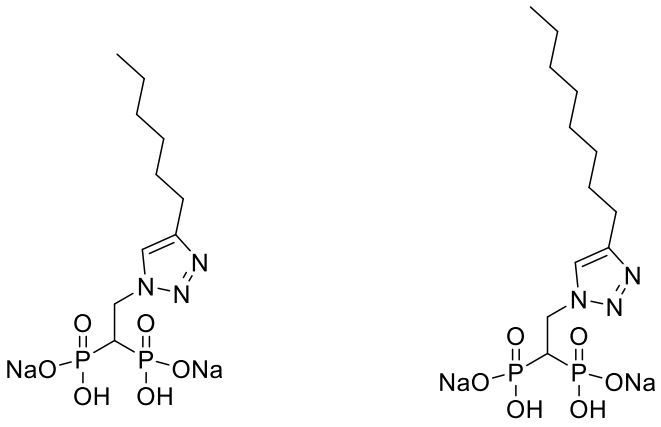
Plusieurs études ont démontré la capacité des N-BPs à inhiber la prolifération cellulaire et à induire l'apoptose dans plusieurs lignées de cellules cancéreuses de façon dose-dépendante (myélome multiple (MM : os et moelle osseuse), poumon, pancréas, sein, colon, prostate).

Le zoledronate est le N-BP le plus cité pour ses capacités à agir en tant qu'anti-tumoral.[144,145,146] Pour exemple, l'exposition de cellules mononuclées de moelle osseuse humaine issues de 8 patients atteints de MM à de faibles doses de zoledronate (0.1 µM à 1 µM) pendant trois jours montre une réduction significative de leur prolifération et une augmentation de l'apoptose.[144] Ce constat a par la suite été confirmé *in vivo*, sur modèle murin dans lequel ont été inoculé des cellules plasmatiques tumorales (INA-6 et JK-6). Le traitement consistait en 7 injections sur 14 jours de 2 µg ou 8 µg de zoledronate, la première dose est similaire à la dose clinique standard (4 mg) converti en mg/kg (8 µg = 0.32 mg/kg; 2 µg = 0.08 mg/kg; patients = 0.06 mg/kg). Les deux groupes ont montré un taux de survie significativement plus long que le groupe contrôle non-traité.[147]

Legigan *et al.* ont récemment décrit la synthèse de deux N-BPs possédant un motif triazole et une chaine à 6 carbones (**Figure 16**, composé **67**), présentant une bonne activité antiproliférative sur des lignées cellulaires tumorales humaines MIA PaCa-2 (pancréas), MDA-MB-231 (sein) et A549 (poumon) avec des valeurs d'IC_{50} comprises entre 0.75 µM et 2.4 µM. Le composé **67** est 4 à 12 fois plus efficace que le zoledronate (IC_{50} = 8.8 µM - 10.1 µM). Un analogue possédant une chaine à 8 carbones (**Figure 16**, composé **68**) a également montré une activité anti-proliférative intéressante sur ces mêmes lignées cellulaires (MIA PaCa-2, MDA-MB-231) avec des IC_{50} respectives de 1 µM et 1.2 µM alors qu'il est inactif sur la lignée A549 poumon (IC_{50}> 100 µM).[109]

Les propriétés d'inhibition de la prolifération des cellules tumorales et l'induction de leur apoptose sont associées à plusieurs mécanismes d'action. Le premier consiste en l'inhibition de la FPPS[145,144] ou de la GPPS[109], des enzymes clés impliquées dans la voie de mévalonate et

provoquant ainsi la non-prénylation des protéines, mais aussi l'accumulation d'IPP qui en se conjuguant à l'ADP forme un analogue cytotoxique de l'ATP, et donc à l'apoptose des cellules. Le second mécanisme passe par l'inhibition des récepteurs du facteur humain de croissance épidermale (EGFR ou HER), une protéine kinase essentielle pour la signalisation et la prolifération cellulaire. Toutefois, seules certaines lignées cellulaires sont HER dépendantes (poumon, sein, colon), elles ne seront donc pas toutes sensibles à ce type d'inhibiteurs.[148,149]



67

IC_{50} = 0.75 µM (MIA PaCa-2)
2.4 µM (MDA-MB-231)
1.7 µM (A549)

68

IC_{50} = 1.0 µM (MIA PaCa-2)
1.2 µM (MDA-MB-231)
> 100 µM (A549)

Figure 16 - Structures des N-BPs incluant un noyau triazole et dotés d'une activité antitumorale *in vitro*

II.2.D.2 Inhibition de l'adhésion et de l'invasion des cellules tumorales

La formation de métastases est une un processus multi-étapes incluant le détachement des cellules tumorales du site primaire, leur entrée dans la circulation sanguine ou le système lymphatique suivi de la colonisation de sites secondaires dit distaux, et enfin leur prolifération au sein de ces nouveaux sites.[150] A faible dose, les N-BPs sont capables de contrer ce processus en induisant une modification de la structure des cellules tumorales, en agissant sur l'expression des composants de la matrice extracellulaire (ECM), de telle façon qu'elles ne puissent pas adhérer aux différents sites distaux.

Pour exemple, le zoledronate inhibe l'adhésion des cellules de carcinome du sein (IC_{50} = 15 µM pour MCF-7 et 20 µm pour MDA-MB-231) en diminuant l'expression de la fibronectine (glycoprotéine nécessaire à l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire) et de l'actine,

ce qui dérégule le cytosquelette.[151,152] Le zoledronate pourrait aussi limiter l'invasion des cellules tumorales en bloquant la prénylation des protéine Ras via l'inhibition de la GPPS.[153]

II.2.D.3 Inhibition de l'angiogenèse

La néo-angiogenèse est la capacité des cellules tumorales à générer un nouveau réseau vasculaire à partir de celui déjà existant pour approvisionner la tumeur en nutriments.[154] Parmi les différents facteurs angiogéniques, le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) est une protéine plasmatique promouvant l'angiogenèse, ce qui en fait une cible thérapeutique de choix pour inhiber l'angiogenèse.

L'injection d'une dose (4 mg dans 100 mL de solution saline à 0.9%) de zoledronate, avant la chimiothérapie, chez trente patientes portant des métastases osseuses induites par un cancer du sein, a permis une diminution significative du niveau de VEGF (-34% à 21 jours).[155]

L'exposition des macrophages, qui contribuent à l'angiogenèse et la croissance des cellules plasmatiques associées, au zoledronate (seul ou en association avec le bortezomib) résulte en une réduction de la phosphactivation de VEGF-2 et des cytokines angiogéniques (VEGF, PDGF, etc.).[156]

II.2.D.4. Immunothérapie par activation des lymphocytes γδT

Les γδT sont des lymphocytes impliqués dans la réponse immunitaire et la réponse inflammatoire. Les cellules Vγ9Vδ2 T, les γδT les plus abondantes dans la circulation sanguine, sont principalement activées par des phosphoantigènes tels que l'IPP. Dans des cellules humaines saines, la concentration en IPP est cependant trop faible pour activer les lymphocytes Vγ9Vδ2. Mais dans la plupart des cellules tumorales, la suractivité de la voie mévalonate, conduit à une accumulation d'IPP responsable de l'activation des lymphocytes Vγ9Vδ2 qui sont capables d'exercer leur fonction soit en induisant l'apoptose, soit en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires.[157, 158]

Des lymphocytes Vγ9γδ T activés ex-vivo par le zoledronate et de l'interleukine 2 ont été injectés pendant deux semaines, en 4 fois, chez 6 patients atteints de MM. La quantité de Vγ9γδ T augmente dans le système sanguin des patients, en plus de n'induire aucun effet secondaire grave pendant le traitement. L'activation des lymphocytes Vγ9Vδ T par le zoledronate se révèle être une approche d'immunothérapie prometteuse dans le traitement de patients atteints de MM.[159]

II.2.D.5. Effet synergique en association avec les traitements anti-néoplastiques.

Les paragraphes précédents ont montré les capacités des N-BPs à agir en tant qu'anti-tumoraux à travers plusieurs effets. Ces effets peuvent être accrus via une co-administration lors de traitements de chimiothérapie ou l'utilisation d'agents biologiques (ou les deux), dans l'optique d'effets synergiques ou additifs.[7]

Le bortezomib (inhibiteur de protéasomes) est le traitement de choix pour le MM, mais présente de nombreux effets secondaires (en particulier la pancytopénie, qui est la chute du nombre de cellules sanguines), obligeant à une diminution de la dose administrée ou un potentiel arrêt du traitement. L'une des solutions envisagées est la synthèse de bio-conjugués associant un agent anti-tumoral à un N-BP. Ainsi, le bio-conjugué ODX, constitué d'un carbohydrate portant 8 molécules d'alendronate et de guanidine a été dévéloppé.[160] *In vitro*, le conjugué se lie aux cellules osseuses et inhibe la croissance des cellules tumorales, ce qui n'est pas le cas de bortzomib utilisé seul. Le même constat a été fait sur modèle murin, avec une diminution de la perte osseuse et moins d'effets secondaires. Le médicament a été testé jusqu'en phase clinique IIb, mais faute de moyens, il n'est pas passé en phase III.

Plusieurs lignées issues du cancer du sein (MCF-7, MDA-MB-436) et de la prostate (PC3) ont été traitées par une combinaison de zoledronate et de doxorubicine (chimiothérapie). L'apoptose des cellules est observée avec un effet synergique, mais cet effet ne peux avoir lieu que si le zoledronate pénètre les cellules directement après la doxorubicine.[161]

Différents N-BPs (clodronate, ibandronate, pamidronate, zolédronate) usuellement administrés pour le traitement d'affection osseuse, ont été étudiés en essais cliniques pour leurs propriétés anti-cancéreuses. Cependant, le traitement est souvent administré en association d'une chimiothérapie. Il n'est donc pas certain que ces effets soient incombables aux N-BPs seuls. Pour exemple, les patients atteints du cancer de la prostate meurent souvent à la suite de complications osseuses associées à ce cancer. L'utilisation de zoledronate en tant qu'adjuvant a permis d'augmenter le taux de survie, mais par un effet indirect.[7]

III. Présentation des projets et leurs objectifs

Ce manuscrit se divise en trois chapitres, chacun d'entre eux concerne un projet.

Les deux premiers chapitres concernent le développement d'une réaction récemment découverte au laboratoire (**Schéma 44**), et permettant soit la synthèse d'aziridines α-

méthylène-*gem*-bisphosphonates soit celle d'aziridines α-méthylènephosphonates en fonction des conditions expérimentales utilisées.

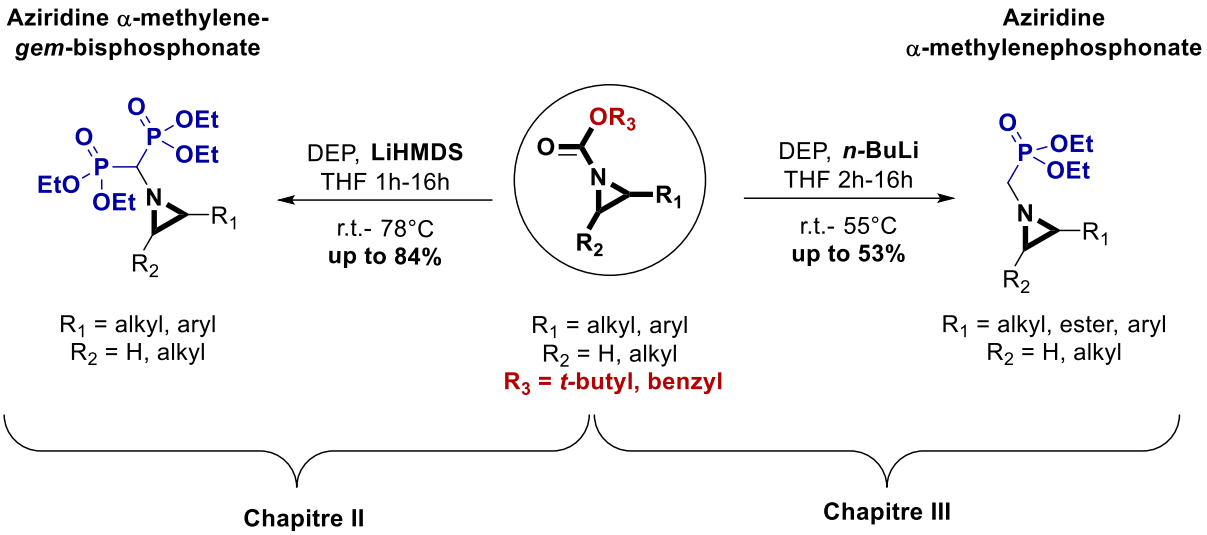


Schéma 44 -Synthèse d'aziridine α-méthylène-*gem*-bisphosphonates ou d'aziridine méthylènephosphonates à partir d'aziridines *N*-carbamates

Nous nous sommes successivement intéressés à la modification des groupements protecteurs (**Schéma 45**, R_1) du bisphosphonate afin de déterminer les meilleures conditions d'obtention des acides bisphosphoniques correspondants, puis à la préparation de divers amino-*gem*-bisphosphonates fonctionnalisés par des substituants variés (**Schéma 45**, R_2) dans l'optique de tester leurs potentielles activités biologiques et plus particulièrement antiparasitaires et antitumorales.

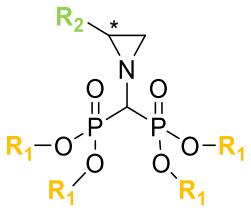


Schéma 45 - Modification de la nature des substituants R_1 visant à l'optimisation de la réaction et de la nature des substituants R_2 pour obtenir une nouvelle série de composés d'intérêt

Le chapitre III porte sur la synthèse d'aziridines N-méthylène phosphonates à partir de la même réaction (**Schéma 44**). L'influence de la nature du groupement carbamate et des substituants R_1 et R_2 a été étudiée. En particulier, le suivi RMN ainsi que l'isolement et la

caractérisation des produits secondaires formés ont permis d'appuyer le mécanisme réactionnel proposé.

Le chapitre IV concerne l'initiation d'un nouveau projet de recherche visant à générer un groupement bisphosphonate par voie radicalaire selon une réaction d'hydrophosphonylation. Ce travail préliminaire a consisté en l'étude de l'influence des conditions réactionnelles sur le ratio des bisphosphonates géminaux et vicinaux, puis en l'optimisation des conditions de traitement et d'isolement des produits formés.

Chapitre II

-

Synthèse d’aziridines gem-bisphosphonates et évaluation biologique

Chapitre II : Synthèse d'aziridines *gem*-bisphosphonates et évaluation biologique

I. Introduction

Le chapitre introductif fait état des nombreuses approches décrites pour la synthèse d'amino-methylène-bisphosphonates de diverses natures.[162,44,163] Récemment, notre équipe a développé une méthodologie de synthèse permettant l'accès à de nouveaux dérivés incluant un motif bisphosphonate porté par l'azote d'une aziridine et dénommés aziridines aminométhylène-*gem* bisphosphonates.[110] Ce chapitre rapporte les travaux menés pour appliquer cette réaction à la synthèse de nouveaux bisphosphonates d'intérêt et évaluer leur activité biologique en tant qu'antipaludique[67,131] et/ou antitumoral.[7]

I.1. Les phosphon(r)yl azirdines dans la littérature

La synthèse de phosphonates aza-hétérocycliques, caractérisés par l'insertion d'un groupement phosphonate sur un cycle azoté, est mainte fois décrite dans la littérature.[164] Parmi ces composés, se trouve deux types de cycles à 3 carbones (aziridines) substitués par un groupement phosphoré : les aziridines-2-phosphonates pour lesquelles le groupement phosphonate est porté par un des carbones de l'aziridine et les 1-phosphorylaziridines dont le groupement phosphoré est porté par l'azote de l'aziridine. Les aziridines-2-phosphonates conduisent par ouverture de cycle, soit à l'α-aminophosphonate soit au β-aminophosphonate correspondant, en fonction des substituants portés par l'hétérocycle (**Schéma 46**).[165,166] L'ouverture des 1-phosphorylaziridines est également décrite et le ratio des produits formés dépend de la nature du substituant porté par l'aziridine mais aussi de la nature du réactif de Grignard (**Schéma 47**).[167]

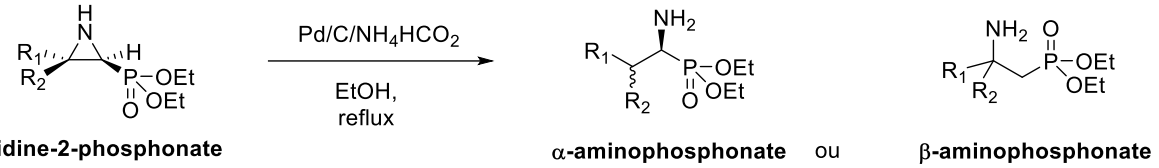
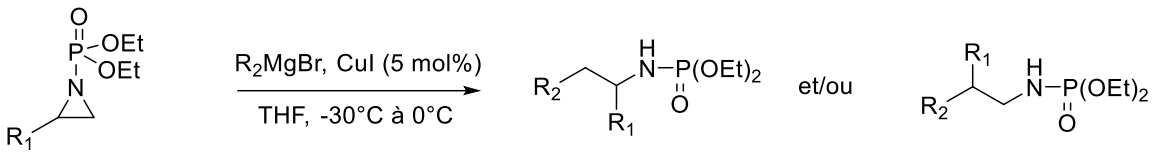


Schéma 46 - Ouverture régiosélective d'aziridines-2-phosphonate



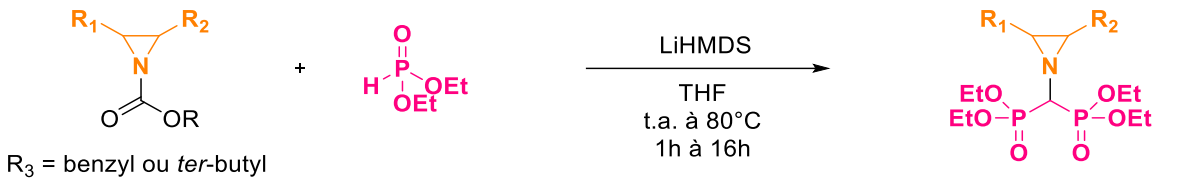
1-phosphorylaziridine

Schéma 47 - Ouverture de 1-phosphorylaziridines

L'obtention d'aziridines portant deux groupements phosphonates n'avait, jusqu'à la découverte d'une nouvelle réaction par notre équipe, jamais été décrite. Cette réaction se veut donc novatrice puisqu'elle permet l'accès à de nouveaux composés phosphorés, les aziridines aminométhylène-*gem* bisphosphonates (AzbisPs).[110]

I.2. Présentation de la réaction développée au laboratoire pour la synthèse d'aziridines *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonates

Dans l'objectif de préparer des β-aminophosphonates par ouverte de cycle d'une *N*-Cbz-aziridine en présence de diéthylphosphite (DEP) et de LiHMDS, nous avons observé la formation d'aziridines α-methylène-*gem*-bisphosphonates.[110,168] Les conditions générales de la réaction sont décrites dans le **Schéma 48**.



R_3 = benzyl ou *ter*-butyl

Azirdine carbamate **Diéthylphosphite**

Aziridines α-amino-méthylène-*gem*-bisphosphonate

Schéma 48 - Synthèse d'aziridines α-amino-méthylène-*gem*-bisphosphonates à partir d'une aziridine *N*-carbamoylée et de DEP en présence de LiHMDS

La formation de l'AzbisP est en compétition avec la réaction d'ouverture de l'aziridine qui peut conduire au β-aminophosphonate (**Schéma 49**). L'influence des conditions réactionnelles et de divers paramètres structuraux sur la régiosélectivité de la réaction a donc été étudiée.

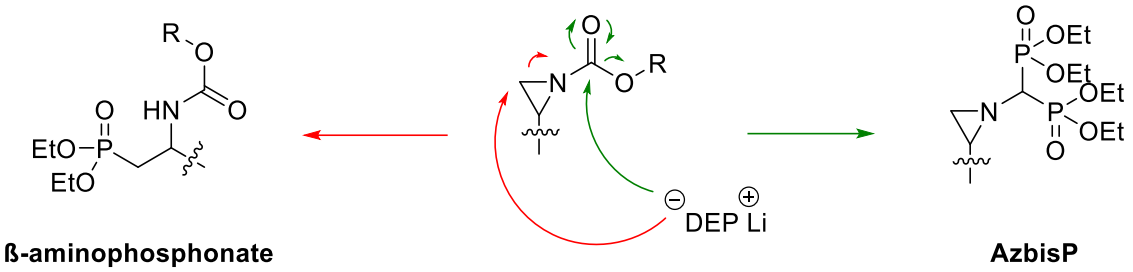


Schéma 49 - Compétition entre la formation du β-aminophosphonate et/ou de l'AzbisP en fonction de la position de l'attaque de l'anion diéthylphosphite

I.2.A. Influence de la nature du groupement protecteur et du substituant de l'aziridine

Dans un premier temps, l'équipe a démontré que la présence d'un groupement carbamate (Cbz, Boc) sur l'aziridine est indispensable à la formation de l'AzbisP. En effet, si le groupement carbamoyle est remplacé par un groupement acyle, qui n'a pas de caractère nucléofuge, cela conduit à l'ouverture de l'hétérocyclique plutôt qu'à la formation du produit désiré (résultat non publié).[168]

La formation des AzbisPs se fait à partir des aziridines *N*-Boc ou *N*-Cbz, ces dernières étant généralement plus réactives. Cette différence de réactivité peut s'expliquer par le fait que l'ion benzylate soit un meilleur groupement partant que l'ion *tert*-butylate. Le benzylate ayant un pKa plus faible (15,2) que celui du *tert*-butylate (19), il est donc plus nucléofuge, facilitant sa substitution par l'ion diéthylphosphite (**Figure 17**).

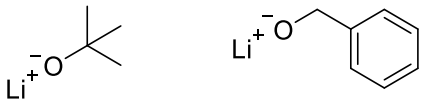


Figure 17 - pKa des alcoolates

En présence d'un groupement électroattracteur, le β-aminophosphonate est observé en tant que sous-produit de la réaction. En effet, ces groupements augmentent l'électrophile de l'aziridine, jusqu'à parfois dépasser celle du carbamate, menant à une compétition entre la formation de l'AzbisP et celle du β-aminophosphonate.

Enfin, la réaction est particulièrement sensible à la gêne stérique et à la contrainte de cycle, c'est la raison pour laquelle la réaction est peu effective sur des aziridines di-substituées et se fera plutôt sur des aziridines mono-substituées.

I.2.B. Importance du motif aziridine

La présence de l'aziridine est une condition essentielle à la formation des AzbisPs. En effet, la mise en réaction de divers composés azotés hétérocycliques (4 à 6 carbones) et aliphatiques dont l'azote est protégé par un carbamate (**Figure 18**) n'a pas permis d'isoler le BP correspondant.[168]

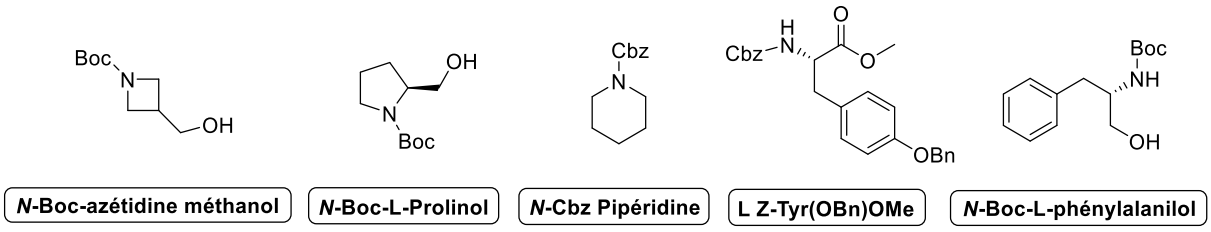
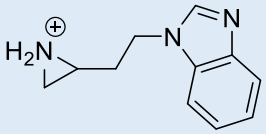
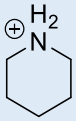
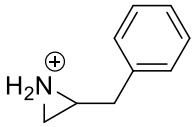
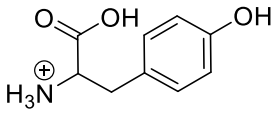
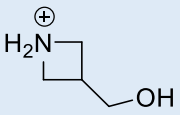
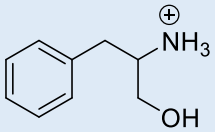
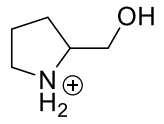


Figure 18 - Différentes amines *N*-carbamate, primaires ou secondaires, cycliques et aliphatiques testées dans les conditions de la réaction

L'absence de réactivité de ces composés (**Figure 18**) peut s'expliquer par une différence d'électrophilie de l'azote par rapport à celui de l'aziridine. En effet, l'aziridine étant la plus contrainte des hétérocycles, le doublet non liant de l'azote est moins disponible ce qui lui confère le pKa le plus faible (couple NH^+/N) (**Tableau 3**). L'électrophilie de l'azote réduit alors la densité électronique sur le groupement carbamate qu'il porte, favorisant l'attaque à l'origine de la réaction de formation de l'AzbisP.

Tableau 3 – Valeurs de pKa pour le couple NH+/N de différents composés azotés (calculées par MarvinSketch)

Structure	pKa NH^+/N	Structure	pKa NH^+/N
	7.53		11
	7.80		9.19
	10 - 11		9.43

	10.8

Le manque de réactivité des amines *N*-carbamates aliphatiques pourrait s'expliquer par la présence de l'amine primaire, qui lorsqu'elle porte un groupement carbamate possède un pKa (couple NH/N-) d'environ 13-15, et est donc susceptible d'être déprotonée par le LiHMDS (pKa = 30). L'amidure qui en résulte entre en résonance avec le carbonyle, empêchant l'attaque du DEP. La présence d'un carbamate dont l'azote est disubstitué, et plus particulièrement d'une aziridine est donc obligatoire pour obtenir l'AzbisP (**Schéma 50**).

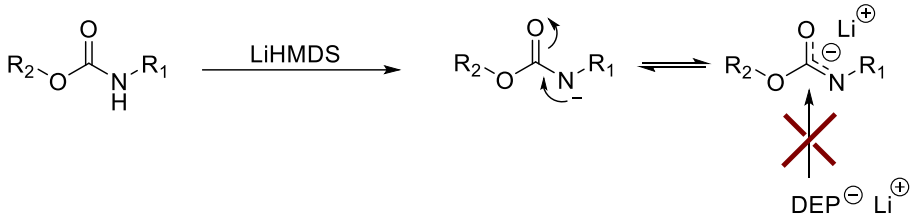


Schéma 50 - Mécanisme envisagé pour la déprotonation d'un carbamate en présence de LiHMDS et formation d'un amidure empêchant l'attaque du diéthylphosphite lithié

I.2.C. Influence des conditions opératoires

- **Nature de la base**

Diverses bases ayant un pKa supérieur à celui du DEP (pKa = 15.3, évalué par Marvin Sketch), ont été testées dans les conditions de la réaction. L'utilisation de bases sodés telles que NaH (pKa = 35) ou NaHMDS (pKa = 26) ou encore *t*-BuOK (pKa = 17) mène à la formation prédominante du β-aminophosphonate tandis que la base lithiée LiHMDS (pKa = 30) conduit à la formation de l'AzbisP. La régiosélectivité de la réaction dépend donc de la force de la base et également du contre-ion associé (**Schéma 51**). Il est à noter que l'utilisation de *n*-BuLi, une autre base lithiée a mené à la formation d'un nouveau produit identifié comme étant l'aziridine *N*-méthylènephosphonate (AzmonoP) (**Schéma 52**). L'étude approfondie de cette réaction fait l'objet du chapitre III.

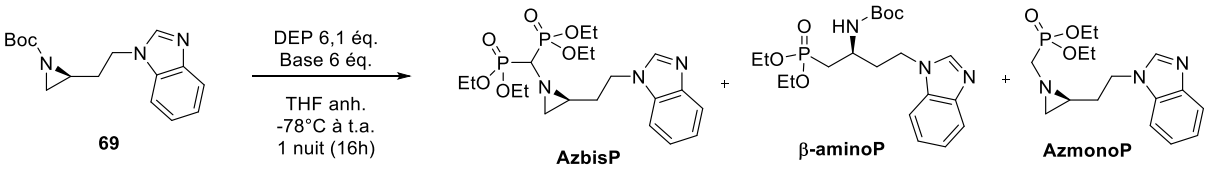


Schéma 51 - Produits formés en fonction de la nature de la base utilisée dans les conditions de la réaction

L'hypothèse avancée est que le lithium agit comme un acide de Lewis oxophile suffisamment fort pour augmenter l'électrophilie du carbonyle quand il se coordine au carbamate (**Schéma 52**), favorisant ainsi l'attaque de l'anion diéthylphosphite sur le groupement carbamate au détriment du carbone de l'aziridine. En revanche, les ions Na^+ et K^+ sont des acides de Lewis trop faibles pour activer de façon similaire le carbamate, l'attaque se fera donc sur le carbone de l'aziridine, conduisant à son ouverture.

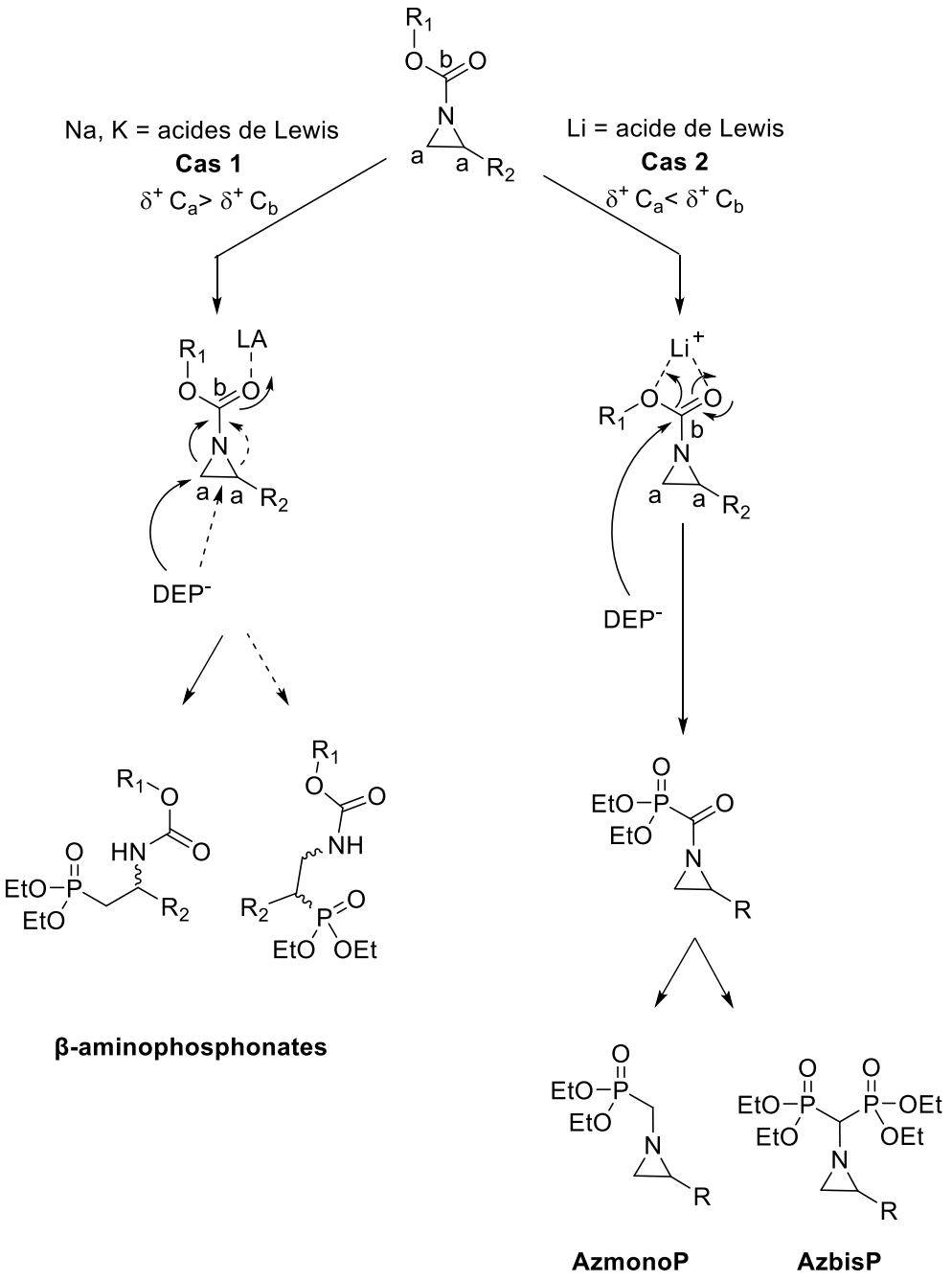


Schéma 52 - Différence de régiosélectivité de l'attaque du DEP en fonction du contre-ion impliqué

- **Nombre d'équivalents de phosphite et température**

Les conditions initialement utilisées pour la réaction mettent en jeu 6.1 équivalents de DEP. Une baisse du nombre d'équivalent entraîne une baisse significative du rendement et de la cinétique de la réaction (**Tableau 4**). Un rendement faible est observé avec 2.1 ou 3.1

équivalents de DEP. Il augmente significativement à partir de 4.1 équivalents, indiquant que la réaction nécessiterait plus de 3 équivalents pour former l'AzbisP.

Tableau 4 - Influence du nombre d'équivalents de diéthylphosphite sur la cinétique et le rendement de la réaction pour la formation de l'AzbisP

t(h) : temps de réaction nécessaire à la consommation totale du substrat de départ

Entrée	DEP (équiv.)	Base (équiv.)	t (h)	Rendement (%)
1	2.1	2	6	**13**
2	3.1	3	4.5	**14**
3	4.1	4	4	**29**
4	5.1	5	2.5	**32**
5	6.1	6	2	**69**

Il a donc été fait le choix d'utiliser 6.1 équivalents de DEP, ce qui permet de maximiser le rendement, mais aussi d'optimiser la cinétique de réaction puisque le temps nécessaire à la consommation du substrat de départ type est de seulement 2h.

De façon générale, l'augmentation de la température (55°C ou 80°C) augmente la cinétique de la réaction. En revanche, si le rendement de l'AzbisP obtenue à partir d'une aziridine *N*-Boc est positivement impacté, elle semble délétère pour les substrats portant un groupement Cbz, sûrement sensible à la température.

I.2.D. Mécanisme proposé

Tout au long de l'optimisation diverses observations, concernant notamment la nécessité d'avoir un cycle aziridine portant un groupement carbamate et la présence d'un ion lithium, ont été faites. Associées à des expériences complémentaires, elles ont permis à l'équipe de proposer un mécanisme.

A titre d'exemple, il a été vérifié que ce mécanisme ne fait pas intervenir une ouverture puis une fermeture de cycle de l'aziridine à partir du substrat **69** (**Schéma 53**). En effet, nous n'avons pas observé la formation de diastéréoisomères, signe qu'il n'y a pas eu d'épimérisation.

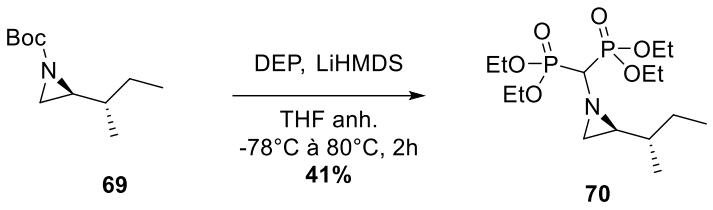


Schéma 53 - Synthèse de l'AsbisP **70** énantiopure à partir de l'aziridine **69**

La première étape du mécanisme consiste en l'attaque d'une première molécule d'anion diéthylphosphite pour obtenir l'aziridine *N*-carbamoylephosphonate (**Schéma 54**). Cette étape est déterminante pour la suite de la réaction et dépend à la fois de l'électrophilie du carbonyle du carbamate par rapport au carbone de l'aziridine, mais aussi du caractère nucléofuge du groupement -OR_1. Une seconde addition de diéthylphosphite sur l'intermédiaire **71** chélaté avec un ion lithium conduit à l'α-hydroxybisphosphonate correspondant. Cet intermédiaire subit un réarrangement phosphonate-phosphate de type [1,2]-Phospha-Brook[169,170,171,172,173] assisté par le contre-ion lithium pour former **72**. Enfin, une troisième molécule de diéthylphosphite substitue le groupement phosphate pour former l'AzbisP attendue. Cette attaque est probablement facilitée par le contre-ion Li^+ qui stabilise l'anion phosphate libéré.

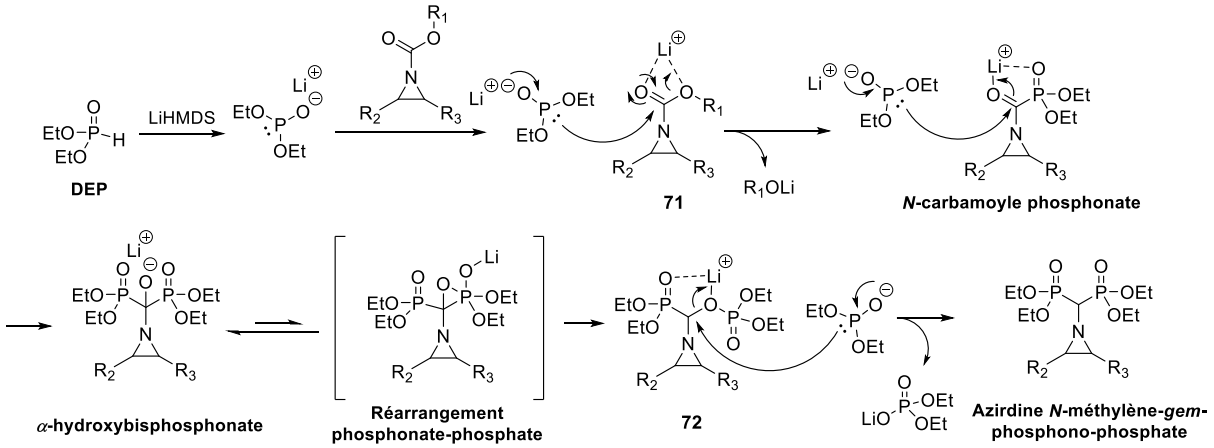


Schéma 54 - Mécanisme proposé pour la formation d'AzbisP à partir d'aziridines *N*-carbamates en présence de DEP et de LiHMDS

I.3. Objectifs

L'objectif principal de mes travaux de thèse a été d'appliquer cette réaction à la synthèse de nouveaux composés amino-*gem*-bisphosphonates qui pourraient trouver des applications biologiques, notamment en tant qu'antitumoraux ou antipaludiques.

Le premier défi est synthétique, et a concerné la modification des groupements protecteurs (R_1) du bisphosphonate (**Figure 19**) afin de déterminer les meilleures conditions de déprotection pour *in fine* obtenir les acides phosphoniques correspondants. Le second a consisté en la préparation de divers amino-*gem*-bisphosphonates fonctionnalisés par un substituant de nature variée (R_2), puis l'évaluation de leurs propriétés biologiques.

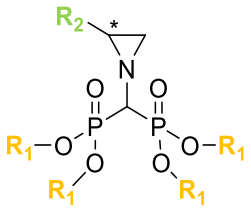


Figure 19 – Structure générique des composés cibles de ce chapitre (la nature des substituants R_1 permettant l'optimisation de la réaction et la modification du substituant R_2 devrait conduire à une nouvelle série de composés d'intérêt)

Le choix du substituant R_2 a été guidé par les motifs présents sur les N-BPs commerciaux de seconde et troisième génération (**Figure 20**), et dont l'activité biologique (traitement de maladies osseuses) est basée sur l'inhibition de la FPPS. Cette enzyme a plusieurs fois été décrite comme impliquée dans les processus biologiques de survie des cellules tumorales[174,175,176] et de parasites[177,123], ce qui en fait une potentielle cible thérapeutique intéressante pour nos N-BPs.

Le choix du substituant hexyl de l'AzbisP (**Figure 21**) est inspiré des travaux entrepris par l'équipe de Lecouvey.[109] En effet, l'équipe a récemment décrit la synthèse d'amino-bisphosphonates incluant un résidu 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole, qui présentent une activité antitumorale contre trois lignées tumorales (sein, pancréas, poumon) avec une IC_{50} de l'ordre du micro-molaire (0.75 µM – 2.4 µM). Une étude des relations structure-activité a démontré que cette activité est notamment dépendante de la longueur de la chaîne linéaire porté par le triazole. Dans cette optique, la synthèse d'une AzbisP substituée par une chaine à 6 carbones a été envisagée comme l'un de nos N-BPs cibles.

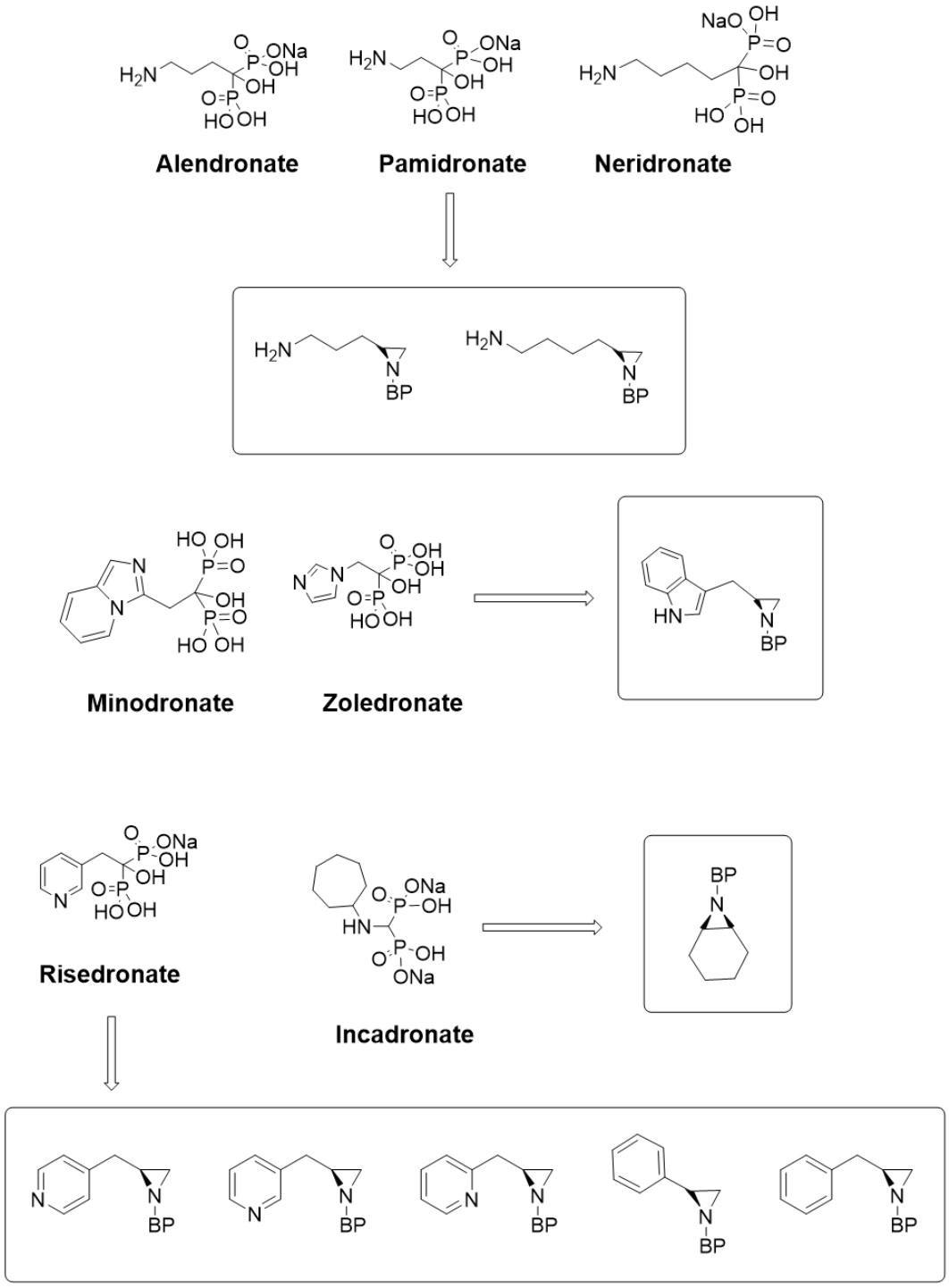


Figure 20 – AzbisPs cibles inspirés de N-BP commerciaux de seconde et troisième génération

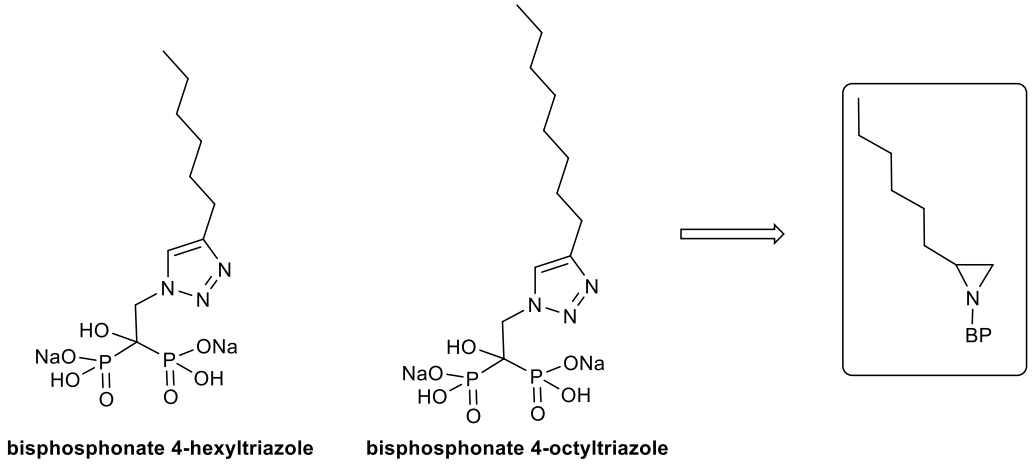


Figure 21 – AzbisP cible inspirée des N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole décrits par l'équipe de M. Lecouvey[109]

II. Modification du dialkylphosphite

Le substrat de référence pour mener cette étude est la benzyl-Z-aziridine **73**, utilisée précédemment pour l'optimisation de la réaction, elle est facilement accessible à partir de l'amino-alcool commercial, *N*-Cbz-*L*-Phenylalaninol, via une réaction de Mitsunobu (**Schéma 55**).[178]

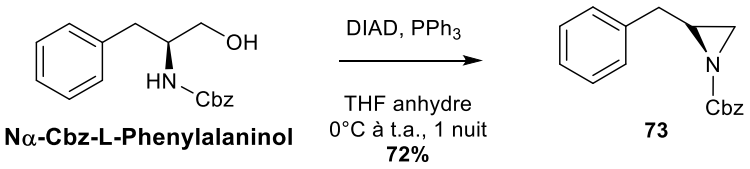


Schéma 55 - Synthèse de l'azirdine-Cbz **73** à partir du Nα-Cbz-*L*-Phenylalaninol

- **Utilisation du diéthylphosphite**

Le DEP est le seul phosphite précédemment utilisé et le bisphosphonate correspondant est obtenu avec un rendement de 53% après 16h de réaction à température ambiante (**Schéma 56**).

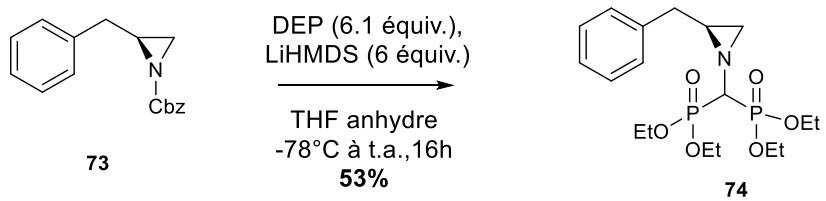


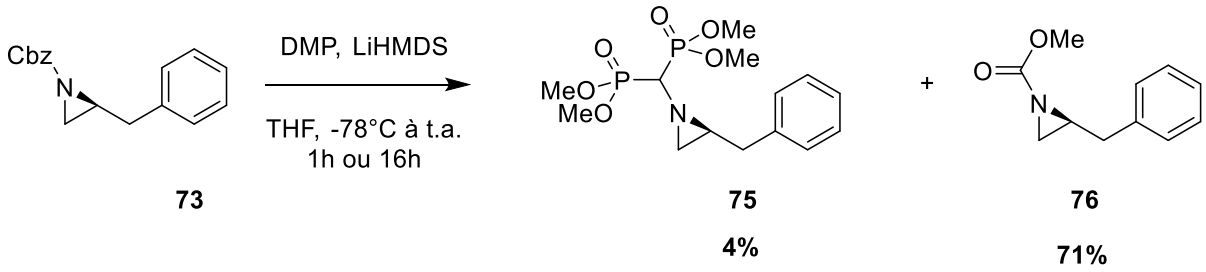
Schéma 56 - Synthèse du bisphosphonate tétra-éthyles **74** à partir de l'aziridine-*N*-Cbz **73** et du diéthylphosphite

Cette réaction de référence permettra la comparaison des résultats obtenus avec d'autres phosphites afin de choisir le meilleur candidat pour la suite de notre travail.

- **Utilisation du diméthylphosphite**

Dans les conditions de référence (**Schéma 56**) et en présence de diméthylphosphite (DMP), l'AzbisP est isolée en très faible quantité (4%) alors qu'un sous-produit **76** est majoritairement formé (rendement de 71%) (**Schéma 57**). Le même constat est fait lorsque la réaction est laissée seulement 1h à température ambiante (temps de consommation du substrat de départ).

Lorsque le la réaction est réalisée à -20°C après ajout de l'aziridine **73**, nous observons seulement la formation de l'AzbisP après 2h de réaction (suivi CCM) mais au bout de 3h **76** apparait aussi. La réaction est arrêtée, mais l'AzbisP n'a pas pu être isolée, seule l'aziridine de départ est récupérée à 96%. La formation préférentielle de l'AzbisP par rapport à celle du méthyl (*S*)-2-benzylaziridine-1-carboxylate **76** à basse température semble possible mais est très limitée dans le temps.



73 **75** **4%** **76** **71%**

Schéma 57 – Synthèse de **75** à partir de l'aziridine **73** en présence de diméthylphosphite et de LiHMDS à température ambiante

Lorsque la réaction est chauffée à 55°C directement après l'ajout de l'aziridine, la formation du composé attendu est améliorée (rendement de 24%) sans pour autant atteindre le rendement obtenu avec le DEP (53%).

En ce qui concerne le mécanisme de formation de **76**, nous faisons l'hypothèse qu'il y aurait une compétition entre l'attaque de l'anion phosphite pour la formation du N-carbamoyle phosphonate et de l'alcoolate MeOLi. Cette attaque ne s'observerait pas en présence d'autres phosphite puisque que le méthylate présente un plus faible encombrement stérique que tous les autres alcoolates générés *in situ* (**Schéma 58**).

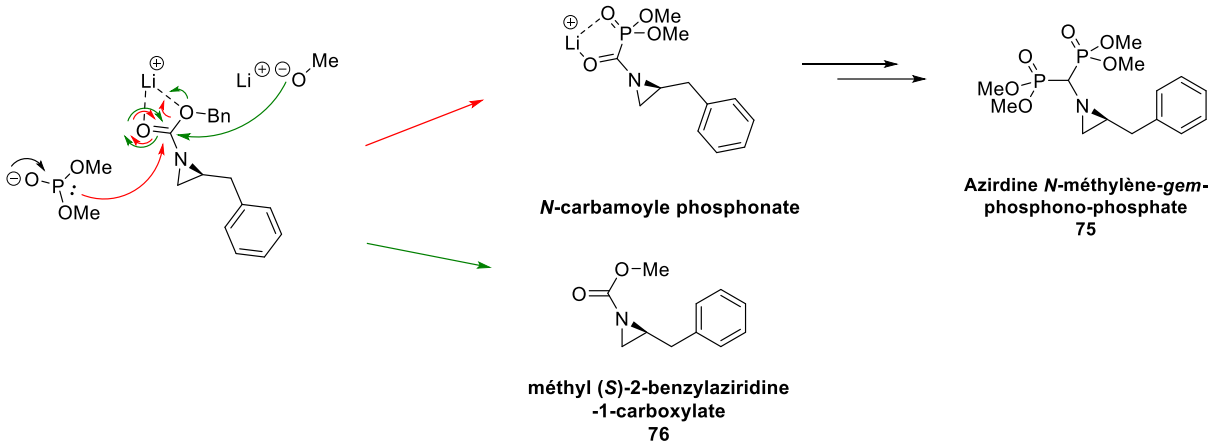
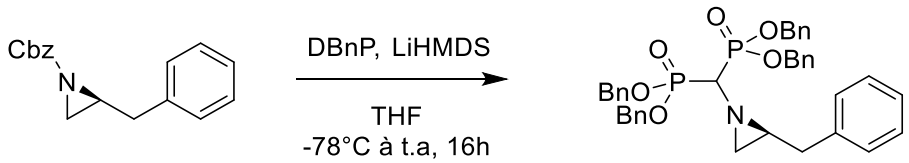


Schéma 58 – Différents produits obtenus en fonction de la nature du nucléophile qui attaque sur l'aziridine *N*-carbamoyle phosphonate

Les résultats obtenus avec le diméthylphosphite sont donc moins satisfaisants que ceux obtenus avec le diéthylphosphite. De plus, il a été observé que l'AzBP **75** se dégrade après quelques jours de conservation à 4°C. Le diméthylphosphite ne sera donc pas utilisé pour la suite de nos travaux.

- **Utilisation du dibenzylphosphite**

La substitution du DEP par le dibenzylphosphite (DBnP) dans les conditions de référence (**Schéma 56**) mène à la formation de l'AzbisP et du β-aminophosphonate correspondant observés lors de l'analyse RMN ^{31}P du brut réactionnel. L'AzbisP **77** est isolée avec un rendement de 32% (**Schéma 59**).



73 **32%** **77**

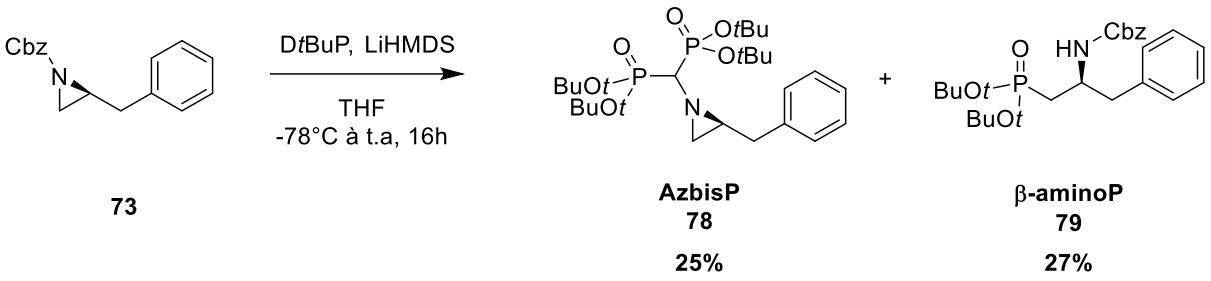
Schéma 59 - Synthèse de l'AzBisP **77** en présence du DBnP dans les conditions de référence

La réaction est alors laissée 1h30 à température ambiante avant d'être chauffée à 55°C pendant 2h et l'AzbisP **77** est isolée avec un rendement de 50%. En revanche, si la réaction est chauffée directement à 55°C le produit attendu est isolé avec un rendement de 13% et le produit d'ouverture est également présent (8%).

La réactivité du DBnP est similaire à celle du DEP, il sera donc utilisé pour des essais de déprotection de bisphosphonates.

- **Utilisation du di-*tert*-butylphosphite**

Dans les conditions de référence et en présence de di-*tert*-butylphosphite (D*t*BuP), le produit désiré est obtenu en mélange avec le β-aminophosphonate. Le rendement estimé par RMN ^{31}P est respectivement de 25% pour **78** et de 27% pour **79** (**Schéma 60**).



73

AzbisP
78
25%

β-aminoP
79
27%

Schéma 60 - Synthèse de l'AzbisP à partir du di-*tert*-butylphosphite dans les conditions de référence

Au vu de ce résultat, nous n'avons pas envisagé de poursuivre les investigations avec ce réactif.

- **Utilisation du diphénylphosphite**

Dans les conditions de référence et en présence du diphénylphosphite (DPP), la formation du produit attendu n'est pas observée. Le suivi CCM montre que l'aziridine n'est pas consommée dans le temps, mais on note tout de même l'apparition d'un produit phosphoré. Ce produit, majoritaire en RMN ^{31}P du brut, a été isolé et identifié comme étant le triphénylphosphite ($P(OPh)_3$). Lorsque la réaction est laissée à -78°C pendant 2h30, nous avons fait le même constat.

La formation du phosphite triester à partir de DPP en présence d'une base (pyridine et triéthylamine) a été décrite par Kers *et al*.[179] Dans la littérature, il avait déjà été reporté que lors de la transestérification du DPP avec des alcools dans la pyridine, les contaminants correspondants au triphénylphosphite (0-5%) et au phényle-H-phosphonate monoester (5-10%) été observés.[180] Ces produits se forment en conditions anhydres et résultent de la dismutation du DPP assisté par une base. Deux mécanismes conduisant à la formation du triphénylphosphite ont été proposés et pourraient expliquer nos observations (**Schéma 61**).

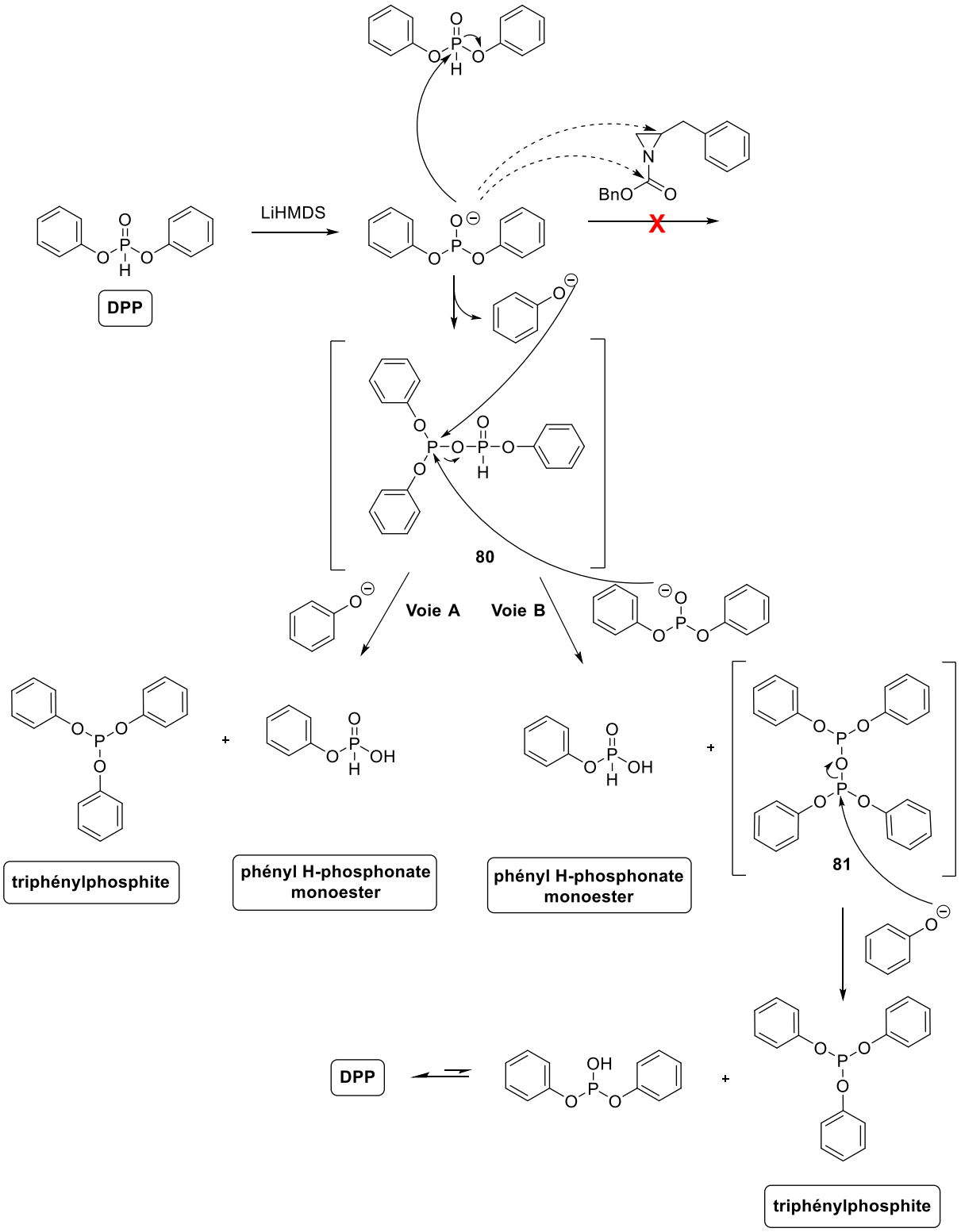


Schéma 61 - Mécanisme de formation du triphénylphosphite proposé sur la base des données de la littérature[179]

La première étape est la déprotonation du DPP par le LiHMDS. L'anion formé vient alors attaquer le phosphore d'une seconde molécule de DPP pour former l'intermédiaire **80**. Le phénol libéré pourrait alors attaquer le phosphore tricoordiné et ainsi former du $P(OPh)_3$ et du phényl H-phosphonate monoester (**Schéma 61**, Voie **A**). Une autre voie envisagée serait que l'anion du DPP, en excès dans le milieu, vienne attaquer l'intermédiaire **80** pour former le phényl H-phosphonate et le tétraphényl pyrophosphite **81**. Ce dernier peut alors réagir avec le phénol présent dans le milieu pour former le phosphite triester et du DPP de départ (**Schéma 61**, Voie **B**).

Le DPhP et le phényl H-phosphonate monoester n'ont cependant pas été observés dans le brut réactionnel post-traitement ni caractérisés ; seul le triphénylphosphite est isolé. L'hypothèse serait qu'ils passent en phase aqueuse lors du traitement.

La différence de réactivité du DPP par rapport à celles des autres phosphites utilisés peut trouver son explication dans ses caractéristiques structurales et chimiques. En effet, les groupements phényles électroattracteurs rendent l'atome de phosphore particulièrement électrophile et donc plus sujet aux attaques nucléophiles. De plus, ils génèrent un certain encombrement stérique qui pourrait empêcher l'accès du phosphite aux différents sites électrophiles de l'aziridine. Le DPP réagirait donc préférentiellement sur lui-même plutôt que sur l'aziridine pour former l'AzbisP attendu.

Le DPP n'est donc pas un phosphite utilisable pour la suite de notre étude.

- **Utilisation du bis-pinacolphosphite**

La réaction avec le bis-pinacolphosphite ne conduit pas l'AzbisP correspondant. L'aziridine de départ est récupérée et seule la dégradation du réactif phosphoré est observée (**Schéma 62**).

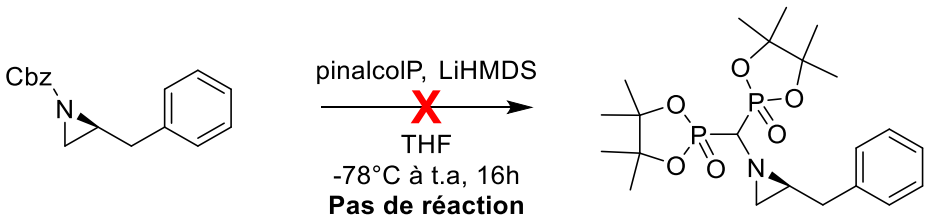


Schéma 62 - Conditions de référence en présence de bis-pinacolphosphite

En conclusion, seuls deux phosphites (DEP et DBnP) donnent des résultats prometteurs, à savoir des rendements similaires et une facilité de purification des produits attendus. Les différents tests d'élimination des groupements protecteurs afin d'obtenir les acides phosphoniques correspondants ont donc été menés sur les composés **74** et **77**, et sont décrits dans la sous-partie suivante.

III. Déprotection en acides bisphosphoniques

La méthode conventionnelle pour la déprotection des bisphosphonates tétra-benzylés est l'hydrogénolyse en présence de Pd/C, développée par l'équipe de Mioskowski.[181] La même équipe a aussi décrit la réaction en présence de 1,4-diazabicyclo[2.2. 2]octane (DABCO) dans le toluène anhydre à reflux, mais la faible réactivité de l'amine conduit à la mono-déprotection sélective des ester benzyliques.[182]

En ce qui concerne la déprotection des bisphosphonates tétra-éthylés, deux méthodes sont généralement décrites dans la littérature. La première met en jeu une hydrolyse en milieu acide avec de l'acide chlorhydrique (HCl) à reflux, mais il est évident que cette dernière ne peut s'appliquer à des substrats sensibles aux acides comme les aziridines. La seconde méthode, plus intéressante pour notre cas, est la réaction développée par McKenna[183,184], qui met en jeu le bromure de triméthylsilyle (TMSBr) et la formation des bis(triméthylsilyl)phospho- esters, suivi d'une étape d'hydrolyse (H_2O, MeOH, EtOH, acétone) pour obtenir l'acide bisphosphonique attendu, après évaporation des solvants et sous-produits, voire d'une précipitation dans l'acétone[109].

Plusieurs méthodes sont décrites pour l'obtention des sels de sodium à partir de l'acide bisphosphonique. La première consiste en l'ajout d'une solution diluée d'hydroxyde de sodium (NaOH) jusqu'à un pH d'environ 4.5.[185,54,186] La seconde consiste à faire passer le produit sur une résine échangeuse d'ions de type Dowex Na^+.[187,188] Enfin, la trituration de l'acide phosphonique dans une solution aqueuse de bicarbonate de soude ($NaHCO_3$) est également rapportée.[189]

III.1. Déprotection du composé tétrabenzylé

La débenzylation de **77** (**Schéma 63**) se fait par hydrogénolyse dans les conditions décrites par Page *et al.* à partir d'un oxirane-bisphosphonate[190]. Le suivi de la réaction par CCM montre une forte dégradation du milieu réactionnel.

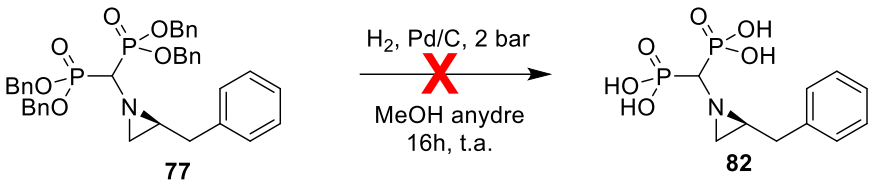


Schéma 63 - Conditions de débenzylation du phosphonate en acide phosphonique

La difficulté de mise en œuvre de la réaction de déprotection (montage utilisant l'hydrogène), associé à la dégradation du produit, font que l'utilisation du bisphosphonate-$(OBn)_4$ ne sera pas la voie de synthèse privilégiée pour obtenir la série d'acides bisphosphoniques visés.

III.2. Déprotection du composé tétraéthylé

Des premiers essais d'obtention du composé **82** ont précédemment été effectués au laboratoire en utilisant du TMSBr dans le DMF, suivi d'un méthanolyse (**Schéma 64**). Le sel sodé de l'acide bisphosphonique impur a été isolé après percolation sur résine échangeuse Dowex Na^+. La mise au point de cette étape et plus particulièrement des conditions de traitement nécessitait donc un développement plus approfondi.

Dans un premier temps, ces conditions réactionnelles ont été optimisées, en terme de nature du solvant et du nombre d'équivalents de réactifs. Le DMF étant peu volatile, il a été remplacé par de l'acétonitrile. Le milieu réactionnel est thermorégulé à 35°C pour s'assurer de la bonne reproductibilité des conditions réactionnelles. De plus, la quantité de TMSBr a été augmentée de 20 à 40 équivalents, afin d'accélérer la cinétique de réaction et donc de diminuer le temps de consommation totale du substrat. Enfin, nous avons observé que les aziridines sont particulièrement instables en milieu acide puisque très sensibles à la réaction d'ouverture. C'est pourquoi, 2 équivalents de Et_3N sont introduits en début de réaction pour s'assurer que la libération éventuelle d'HBr associée à la présence d'humidité n'engendre pas l'ouverture de l'hétérocycle durant la réaction.

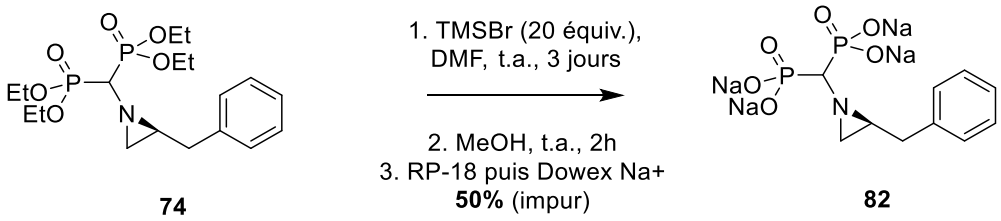


Schéma 64 - Conditions de déprotection de **74** en acide bisphosphonique tétra-sodés **82**

Ces conditions sont appliquées à la déprotection de **74** (**Schéma 65**) et conduisent à la consommation totale du substrat de départ et des formes mono-, di- et tri-déprotégés qui se forment au cours de la réaction (suivi CCM).

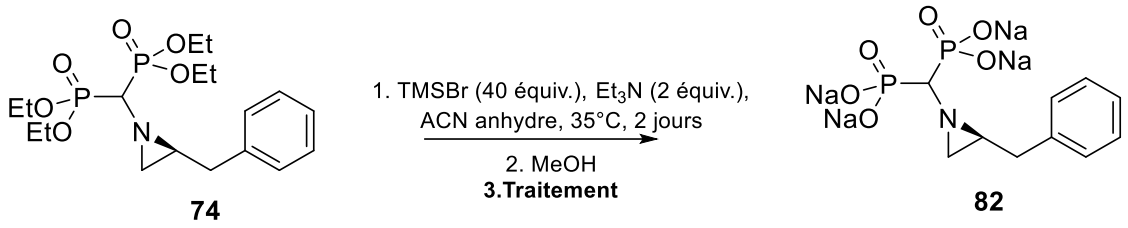


Schéma 65 - Conditions de déprotection optimales

Nous nous sommes ensuite penchés sur le traitement du milieu réactionnel afin d'isoler les formes sodées.

III.2.A. Tentatives d'obtention des formes sodées

- **Traitement par percolation sur résine Dowex Na^+**

Dans un premier temps, les conditions de traitement choisies sont celles usuellement utilisées au laboratoire, à savoir une purification du milieu réactionnel après évaporation des volatiles par chromatographie en phase inverse sur une colonne RP18 afin d'isoler l'acide bisphosphonique, suivie d'une percolation sur résine échangeuse d'ions (Dowex Na^+) pour isoler le produit sous forme sodée.

A la suite de la purification sur phase inverse, le spectre RMN ^{31}P de l'acide bisphosphonique sous forme Et_3NH^+ présente un unique pic (**Figure 22.A**.). Mais, après percolation sur Dowex Na^+, le spectre RMN ^{31}P montre la présence de plusieurs pics (**Figure 22.B.**). L'hypothèse est faite que l'acide bisphosphonique co-existe avec plusieurs de ses formes sodées, signe d'un échange partiel.

Pour s'assurer que la nature du contre-ion n'est pas à l'origine de diverses formes observées, différents contre-ions ont été testés (Li^+, K^+). Tous donnent le même résultat à savoir la formation de diverses formes ionisées du phosphonate donnant une multiplicité de pics en RMN ^{31}P. La nature du contre-ion n'importe donc pas sur le nombre de contre-ions.

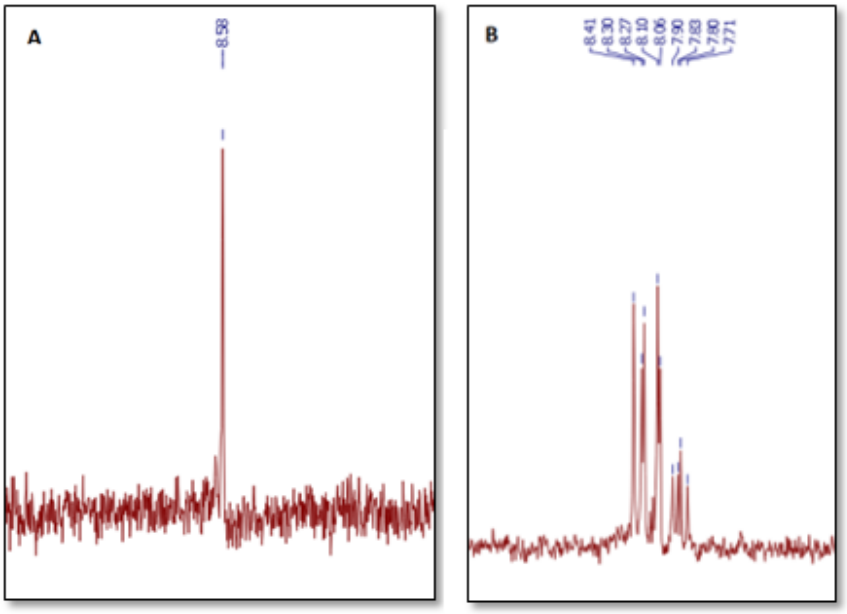


Figure 22 – **A**. Spectre RMN ^{31}P de **82** sous forme Et_3N **B**. Spectre RMN ^{31}P de **82** après percolation sur Dowex Na^+

Ainsi, la percolation sur résine échangeuse d'ions de type Dowex Na^+ présente plusieurs problèmes, à savoir la perte partielle de produit, sûrement par précipitation de la forme acide dans l'eau, mais surtout un échange partiel à l'origine de la coexistence de diverses formes ionisées conduisant à des spectres RMN ^{31}P et ^{1}H très mal résolus. La RMN ne nous a donc pas permis de nous assurer de la pureté du produit, mais surtout de déterminer précisément le nombre de contre-ions présents et donc la masse molaire associée.

C'est la raison pour laquelle d'autres protocoles ont été testés.

- **Utilisation d'une solution de NaOH (0.2M)**

Récemment l'équipe de Lecouvey[109] a décrit l'obtention de bisphosphonates sodés **83a-83d, 84a**-**84d** et **85**, dérivés de triazole, grâce à l'addition d'une solution aqueuse de NaOH (0.2M), après l'étape de méthanolyse, sur une solution aqueuse d'acide phosphonique (0.07 M) jusqu'à pH ≈ 4.5 (**Schéma 66**).

Appliquée à notre substrat, cette méthode n'est pas concluante puisque la formation de plusieurs produits phosphorés est observée par RMN ^{31}P.

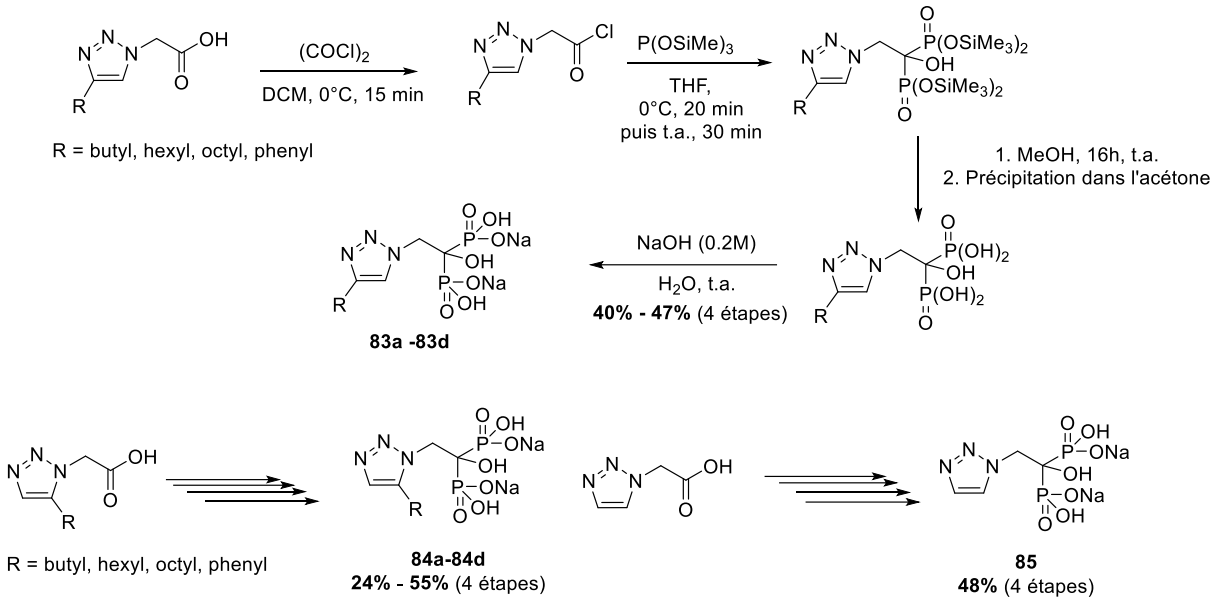


Schéma 66 – Obtention d'acides bisphosphoniques sodés décrite par l'équipe de Lecouvey

- **Tentative de précipitation par le perchlorate de sodium ($NaClO_4$)**

Une autre approche pour l'introduction de contre-ion sodium décrite par Wang *et al.*[191] à partir de polyphosphates, consiste en la précipitation de l'espèce polyphosphorée par ajout d'une solution de $NaClO_4$ dans l'acétone (0.5M) (**Schéma 67**).

Appliquée à notre substrat, cette méthode n'est pas concluante puisque non seulement elle génère des sels (Et_3NHO_4Cl) nécessitant une purification ultérieure, et le produit est à nouveau obtenu sous différentes formes salines observables par RMN ^{31}P.

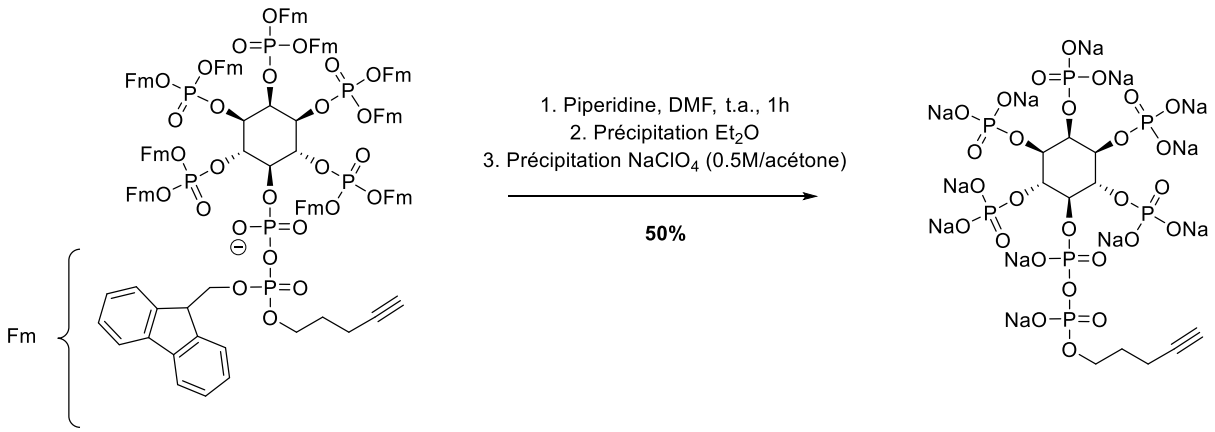


Schéma 67 – Obtention d'un dérivé osidique polyphosphorylé sous forme sodée décrite par Wang *et al.*[191]

- **Utilisation de la méthode « batch »**

Lors de nos multiples essais, nous avons observé qu'en présence d'un fort excès de Et_3N (9 équivalents), le spectre de **82** présente un unique quadruplet, hypothétiquement l'unique forme tétra-triéthylamonium. L'idée est alors de saturer les sites acides par passage sur résine échangeuse d'ion Dowex sous forme Et_3N^+, après purification sur RP18, puis de refaire passer le produit sur résine échangeuse d'ion Dowex sous forme Na^+ afin d'isoler le bisphosphonate sous forme sodée. La méthode n'est pas plus concluante puisque le produit est observé sous différentes formes salines, incluant une partie sous forme triéthylammonium.

III.2.B. Tentatives d'obtention des formes triéthylammonium

Les différents essais réalisés pour obtenir les AzbisPs sous forme sodée n'étant pas concluants, nous avons décidé de tenter d'isoler les produits sous forme triéthylammonium. Pour cela, deux techniques ont été envisagées :

- La première consiste en l'introduction d'un excès de Et_3N (5 équivalents) après RP18, suivi d'une co-évaporation à l'eau pour éliminer l'excès. La méthode est peu efficace puisque le produit se trouve à nouveau sous différentes formes salines.
- La seconde méthode consiste en l'ajout de TEAB à 0.1M suivi de co-évaporations. La méthode n'est pas plus concluante.

III.2.C. Conclusions

Les conditions utilisées (TMSBr, Et_3N) pour déprotéger les AzbisPs tétraéthylés semblent idéales puisque le substrat de départ est entièrement consommé (suivi CCM). Cependant, une problématique majeure apparait quant au traitement afin d'isoler l'acide bisphosphonique sous forme sodée.

Deux phénomènes peuvent être à l'origine des difficultés rencontrées : le caractère amphotère du composé lié à la différence de pKa des diverses positions (acide et basique) du bisphosphonate et l'absence de symétrie dans la molécule. En effet, les bisphosphonates adoptent divers états de protonation en fonction du pH (**Figure 23**). Ainsi, à pH neutre, l'azote de l'aziridine est protonée et il est fort probable que les formes di et tri-anioniques du bisphosphonate coexistent, rendant ainsi la sodation des trois positions accessibles à ce pH, difficile. Ce constat est appuyé par le fait qu'en présence d'un excès de Et_3N, donc à pH basique, la RMN ^{31}P de **82** montre l'unique présence de deux doublets, signe qu'une seule

forme est présente (forme tétra-anionique du bisphosphonate et aziridine sous forme neutre). De plus, la mono-substitution des différents substrats synthétisés est à l'origine d'une asymétrie de la molécule, et donc d'une inéquivalence des phosphores. Ainsi, il est imaginable que le passage d'un contre-ion Na^+ d'une position à une autre, multiplie encore les différentes formes du phosphonate observées en RMN ^{31}P.

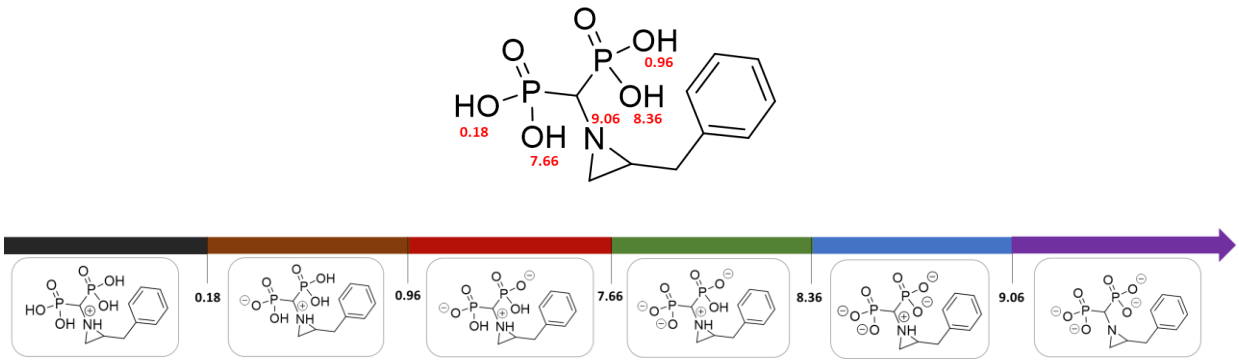


Figure 23 - Etat de protonation des phosphonates de **82** en fonction du pH (pKa calculés par MarvinSketch)

En conclusion, plusieurs conditions de traitement des acides bisphosphoniques après déprotection par TMSBr ont été testées, mais aucune n'est optimale pour l'obtention de la forme saline pour cet acide bisphosphonique.

Certaines conditions ont été appliquées aux différentes AzbisP synthétisées en parallèle de cette étude, et trois bisphosphonates ont pu être isolés sous forme sodée, la description de ce travail sera présentée dans le paragraphe IV.3.

IV. Synthèses d'aziridines *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonates

En parallèle des essais de déprotection, nous avons réalisé la synthèse d'une série d'aziridines *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonates dont la variabilité dépend du substituant porté par l'aziridine. Les différentes structures envisagées sont inspirées de motifs déjà commercialisés (**Figure 20**) et dont l'activité biologique n'est plus à prouver, mais aussi de structures prometteuses[109] (**Figure 21**) décrites dans la littérature. Nous allons donc aborder successivement la synthèse des aziridines *N*-Cbz, la mise en œuvre de la réaction développée au laboratoire pour la synthèse d'AzbisPs et enfin les essais de déprotection des bisphosphonates tétraéthylés en acides bisphosphoniques.

IV.1. Synthèse d'aziridines *N*-Cbz

La première étape du projet consistait en la synthèse des aziridines *N*-Cbz suivantes (**Figure 24**).

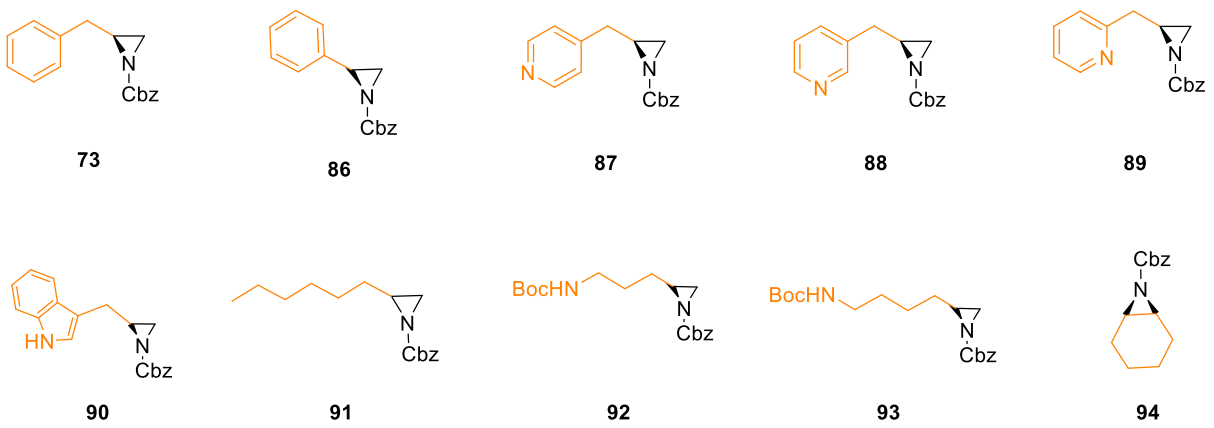


Figure 24 - Ensemble des aziridines *N*-Cbz cibles

La stratégie de synthèse de ces composés est similaire à celle précédemment utilisée par l'équipe pour l'exemplification de la réaction développée au laboratoire (**Schéma 68**).[110] Elle permet d'obtenir l'aziridine désirée de manière stéréosélective, en un minimum d'étapes et avec de bons rendements à partir d'un amino-alcool *N*-Cbz disponible commercialement à faible coût ou synthétisé au laboratoire.

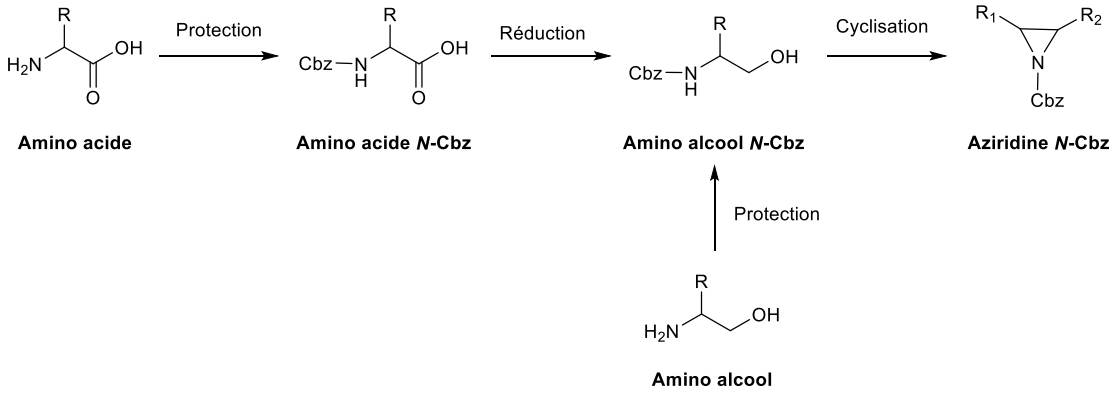


Schéma 68 – Stratégie de synthèse générale pour l'obtention d'aziridines *N*-Cbz

A l'exception du *N*-Cbz L-phénylalanilol **73**, les amino-alcools *N*-Cbz (**Schéma 69**, composés **86b**, **90b**, **91c**, **92b**, **93b**, **94b**), ont été obtenus à partir du phénylglycinol **86a**, du Nα-Carbobenzyloxy-L-tryptophane **90a**, du D,L-acide α-aminooctanoïque **91a**, de la Nα-Z-Nε-Boc-L-Ornithine **92a**, de la Nα-Z-Nε-Boc-L-Lysine **93a**, , ou du chlorhydrate de (1*R*,2*R*)- trans-2-

aminocyclohexanol **94a**, via une étape de réduction et/ou l'introduction d'un groupement carbamate.

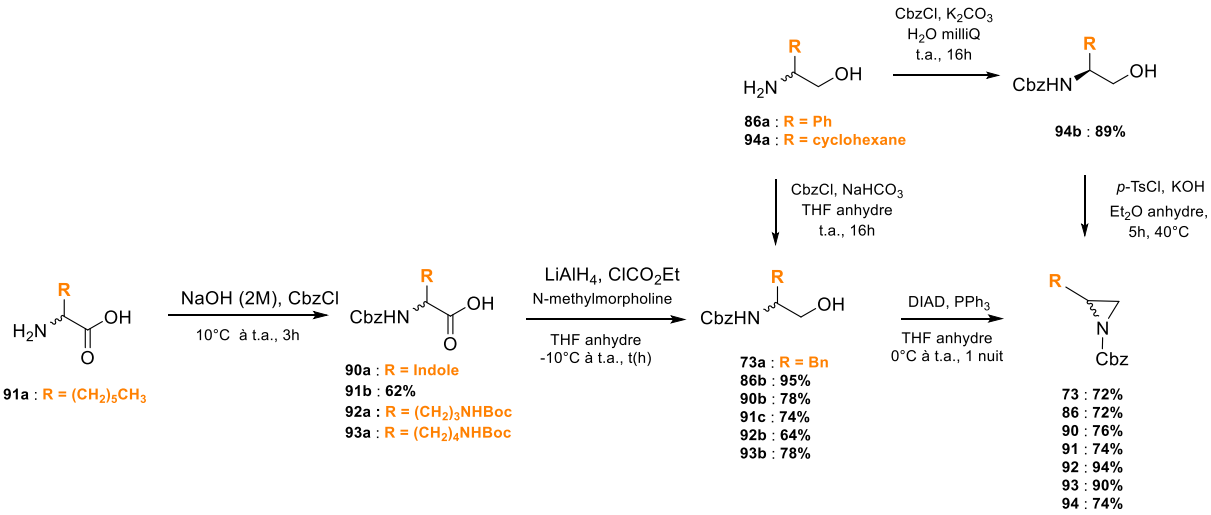


Schéma 69 - Voies de synthèse des aziridines cibles à partir d'amino-alcools ou amino-acides commerciaux

IV.1.A. Introduction d'un groupement Cbz sur des amino-alcools ou amino-acides commerciaux

Comme évoqué dans l'introduction de ce chapitre, les aziridines *N*-Cbz ont généralement une réactivité supérieure à celle des aziridines *N*-Boc. Par conséquent, nous avons décidé de ne synthétiser que des aziridines *N*-Cbz. Les fonctions amines du D,L-acide α-aminooctanoïque **91a** et des amino-alcools phénylglycinol **86a** et chlorhydrate de (1*R*,2*R*)- trans-2-aminocyclohexanol **94a**, commerciaux sont protégées par du chloroformiate de benzyle en présence d'une base (NaOH[192], K_2CO_3[193] ou $NaHCO_3$[194]). L'amino-acide *N*-Cbz **91b** est obtenu avec un rendement de 62% et les amino-alcools *N*-Cbz **86b** et **94b** sont obtenus avec des rendements respectifs de 95% et 89%.

IV.1.B. Réduction des amino-acides *N*-Cbz

Les amino-acides *N*-Cbz commerciaux **90a**, **92a** et **93a** ainsi que l'amino-acide N-Cbz **91b** précédemment obtenu sont réduits avec le $LiAlH_4$ en présence de *N*-méthylmorpholine et de chloroformiate d'éthyle.[110] Les amino-alcools correspondants **90b**, **91c**, **92b**, **93b**, sont isolés avec des rendements respectifs de 64% à 78%.

IV.1.C. Obtention des aziridines *N*-Cbz par cyclisation intramoléculaire d'amino-alcools

Deux voies de synthèse ont été utilisées pour former les aziridines *N*-carbamates à partir des différents amino-alcools commerciaux ou *N*-Cbz synthétisés au laboratoire. L'aziridine-Cbz **94** est obtenue par cyclisation intramoléculaire de **94b** en présence de chlorure de tosyle et de KOH avec un rendement de 74%. Cependant, l'équipe a précédemment démontré que cette méthode n'est pas adaptée à tous les substrats probablement du fait des interactions entre le groupement tosyle et le groupement benzyloxycarbamate (π-stacking, gêne stérique, interactions hydrophobes, etc) qui nuisent à la substitution intramoléculaire. La réaction de Mitsunobu[178], réalisée en présence de DIAD et de PPh_3, a donc été donc privilégiée pour la majorité des amino-alcools synthétisés. Les aziridines **73**, **86**, et **86**-**94** sont obtenues avec des rendements de 72% à 94%.

Cependant ces conditions réactionnelles appliquées à des amino-alcools incluant un motif pyridine se sont révélées inadaptées à ce type de substrat. La voie de synthèse empruntée en réponse aux problématiques rencontrées fait l'objet du paragraphe suivant.

IV.1.D. Voie de synthèse alternative pour l'obtention d'aziridines incluant un motif pyridine

Comme pour les substrats précédemment décrits, plusieurs conditions ont été testées afin d'introduire un groupement Cbz sur la 2-pyridinyl-L-alanine commerciale (**Schéma 70**). Cette réaction n'ayant jamais été décrite sur ce substrat.

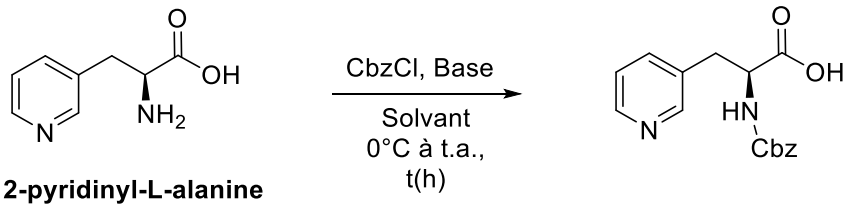


Schéma 70 - Voie de synthèse envisagée pour l'introduction d'un groupement Cbz sur la 2-pyridinyl-L-alanine

Nous avons donc testé différentes conditions (base et solvant) ainsi que des conditions décrites pour l'introduction du groupement Boc sur le substrat considéré (**Tableau 5**).[195]

Tableau 5 – Différentes conditions testées pour la synthèse de la *N*-Cbz-2-pyridinyl-L-alanine

Entrée	Base	Solvant(s)	Temps de réaction (h)
1	K_2CO_3	H_2O milliQ	64 h
2	NaOH (4M)	H_2O/Dioxane (50/50)	64 h
3	$NaHCO_3$	THF anhydre	64 h

L'utilisation de K_2CO_3 dans l'eau milliQ (**Tableau 5**, Entrée **1**) n'est pas concluante puisque le substrat n'est que très peu consommé (suivi CCM). L'hypothèse est faite que le CbzCl s'hydrolyse plus rapidement qu'il ne réagit avec le substrat. Cette hypothèse est supportée par la chute drastique du pH lors de l'ajout de CbzCl (passant de pH ≈ 9 à 3) ainsi que la formation d'HCl et d'alcool benzylique. Les mêmes observations ont été faites lors de l'utilisation d'une solution aqueuse de soude ou de $NaHCO_3$ (**Tableau 5**, Entrée **2** et **3**). De plus, les conditions de traitement du brut réactionnel ne sont pas adaptées au produit formé, le rendement isolé (6% dans les conditions de l'Entrée **1**) après la purification n'est donc pas caractéristique de l'efficacité de la réaction. En effet, les différents pKa de la molécule conduisent à de multiples formes ionisées (**Figure 25**). Le traitement se fait à pH ≈ 4 où la molécule est sous forme zwitterion et donc particulièrement polaire.

La réaction a également été tentée en condition anhydre (**Tableau 5**, Entrée **3**), mais le substrat étant insoluble dans les solvants organiques (THF, DCM, AcOEt, acétone), elle n'a pas permis d'aboutir à des résultats concluants.

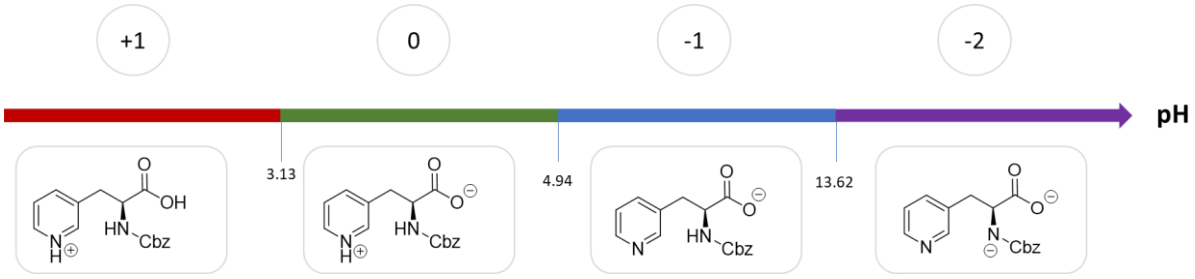


Figure 25 - Etat d'ionisation de la *N*-Cbz-2-pyridinyl-L-alanine en fonction du pH

L'introduction du groupement Cbz ne pouvant donc se faire ni dans l'eau (hydrolyse du Cbz) ni dans un solvant organique (insolubilité du substrat), il a été décidé d'utiliser l'intermédiaire

amino-ester (soluble en milieu organique) pour ensuite introduire le groupement carboxybenzyle sur la fonction amine.

IV.1.D.1. Synthèse des esters méthylique de la *L*-(pyridinyl)alanine

La *N*-Boc-3-(3-pyridinyl)-*L*-alanine est convertie en **88a** selon les conditions décrites par Chen *et al.*[196] avec un rendement de 93%. **87a** est obtenu dans les mêmes conditions à partir de la *N*-Boc-3-(2-pyridinyl)-*L*-alanine avec un rendement de 96% (**Schéma 71**). La réaction permet l'estérification des substrats ainsi que la perte concomitante du groupement Boc.

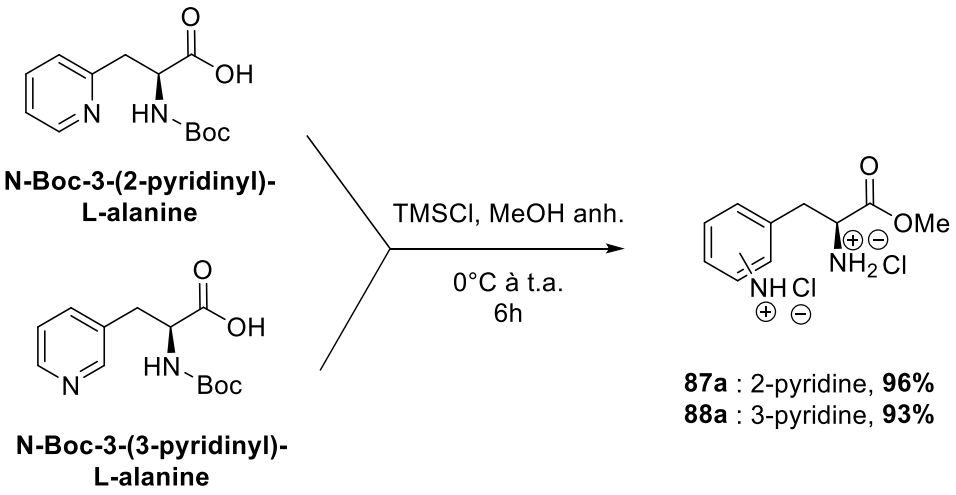


Schéma 71 - Synthèse des amino-esters **87a** et **88a** à partir des amino-acides *N*-Boc correspondants

89a est obtenu par estérification de la 3-(4-pyridinyl-*L*)-alanine dans le MeOH en présence de $SOCl_2$ selon les conditions décrites par Fernandez Diaz-Rullo *et al.*[197] avec un rendement de 93% (**Schéma 72**).

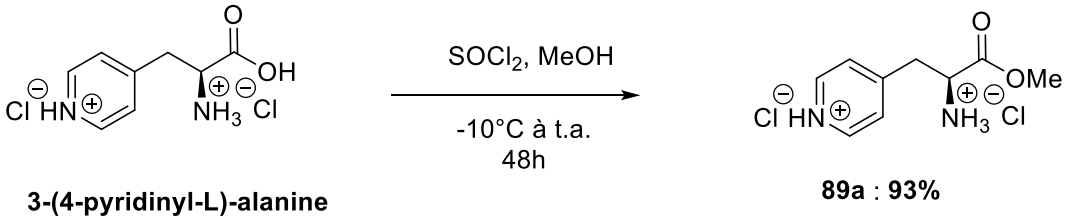
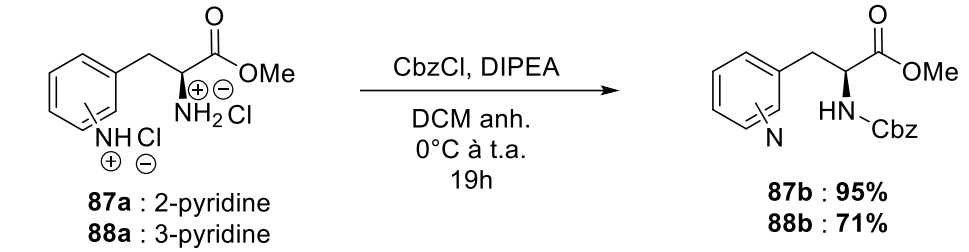


Schéma 72 - Synthèse de l'amino-ester **89a** à partir de l'amino-acide correspondant

IV.1.D.2. Introduction du groupement Cbz à partir de 96a-98a

Les amino-ester **87a-89a** sont ensuite traités par du CbzCl dans le dichlorométhane en présence d'une base organique. Pour les substrats **87a** et **88a**, la réaction s'est faite en

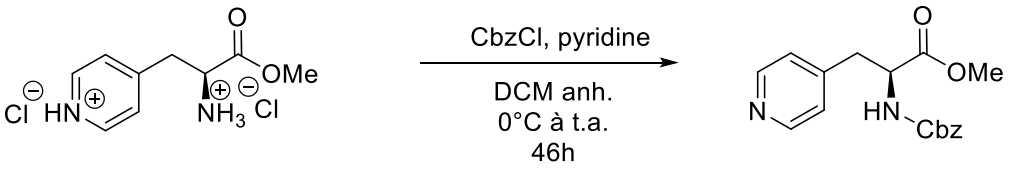
présence de DIPEA[198] (**Schéma 73**) tandis que pour le substrat **89a**, le meilleur rendement est obtenu en utilisant la pyridine (**Schéma 74**).[199]



87a : 2-pyridine
88a : 3-pyridine

87b : **95%**
88b : **71%**

Schéma 73 - Introduction d'un groupement Cbz en présence de DIPEA



89a : 4-pyridine

89b : **66%**

Schéma 74 - Introduction d'un groupement Cbz en présence de pyridine

IV.1.D.3. Réduction des amino-esters 87b-89b

La réduction de **89b** avec le $LiAlH_4$, dans les conditions précédemment décrites pour réduire les amino-acides *N*-Cbz **90a**, **91b**, **92b** et **93b** (**Schéma 69**), conduit à une rapide dégradation du substrat observable par CCM. Le produit **89c** est alors isolé avec un faible rendement de 5%.

L'utilisation de $LiBH_4$ mène majoritairement à la déprotection de l'amine (55%) (**Schéma 75**). Comme discuté dans le chapitre introductif, le lithium est un acide de Lewis oxophile. Si cette caractéristique est particulièrement intéressante pour la réduction de l'ester, elle peut aussi accroitre l'électrophilie du carbone du carbamate, rendant la position sensible à une attaque nucléophile et donc à une élimination prématurée du groupement Cbz.

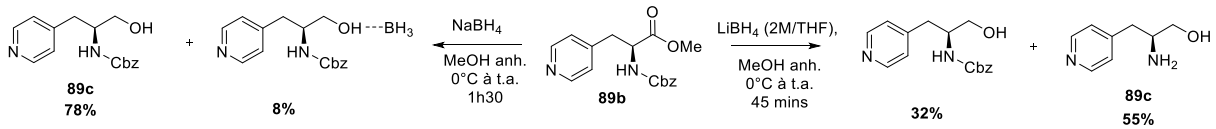
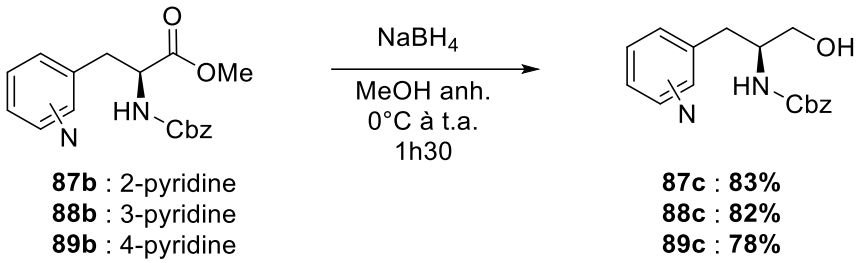


Schéma 75 - Comparaison des produits obtenus par réduction de **89b** en présence de $NaBH_4$ ou de $LiBH_4$

L'utilisation de $NaBH_4$ comme réducteur s'est avérée plus adaptée au substrat **89b**, puisque le sodium est suffisamment chélatant pour activer l'électrophilie de l'ester et permettre la formation de l'alcool, mais pas suffisamment pour activer l'électrophilie du carbamate. Notons qu'un sous-produit de chélation est observé (8%) (**Schéma 75**).

Les esters **87b**, **88b** et **89b** sont réduits en présence de $NaBH_4$ dans le MeOH pour obtenir les amino-alcools *N*-Cbz **87c**-**89c** avec des rendements respectifs de 78%-83% (**Schéma 76**).



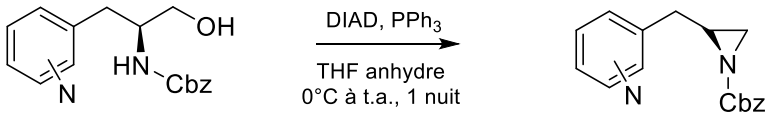
87b : 2-pyridine
88b : 3-pyridine
89b : 4-pyridine

87c : **83%**
88c : **82%**
89c : **78%**

Schéma 76 - Réduction des amino-esters en amino-alcools en présence de $NaBH_4$

IV.1.D.4. Synthèse des aziridines *N*-Cbz par cyclisation intramoléculaire des amino-alcools

Les aziridines **87**-**89** sont obtenues dans les conditions de la réaction de Mitsunobu décrites précédemment (**Schéma 69**), avec des rendements de 59%-96% (**Schéma 77**).



87c : 2-pyridine
88c : 3-pyridine
89c : 4-pyridine

87 : **73%**
88 : **59%**
89 : **96%**

Schéma 77 – Synthèse des aziridines **87**-**89** dans les conditions de Mitsunobu

IV.2. Obtention des aziridines N-méthylène-gem-bisphosphonates

Les aziridines *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonates sont obtenues selon les conditions décrites au laboratoire à partir des différentes aziridines *N*-Cbz synthétisées au préalable (**Schéma 78**). Le protocole consiste en la formation de l'anion phosphoré par traitement du DEP par le LiHMDS à -78°C auquel l'aziridine est ajoutée. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est éventuellement chauffé. L'avancement de la réaction est suivi par CCM jusqu'à la disparation totale du substrat. Après traitement, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice afin d'isoler les différents AzbisPs désirés (**Tableau 6**).

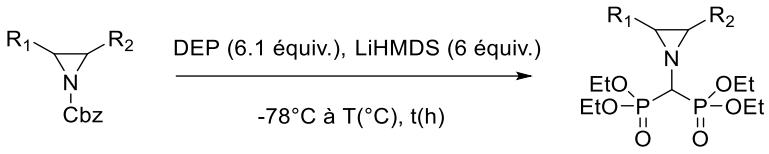


Schéma 78 – Synthèse des aziridines *N*-méthylène-*gem*-bisphosphonates

Tableau 6 - Conditions de temps et de température pour la synthèse des AzbisP

Aziridines *N*-Cbz	R_1	R_2	T(°C)	t(h)	AzbisP	Rendement
73	Bn	H	t.a.	16h	**74**	53%
86	Ph	H	t.a.	1h	**95**	47%
87	2-pyridine	H	t.a.	2h	**96**	32%
88	3-pyridine	H	t.a.	1h	**97**	36%
89	4-pyridine	H	-	-	**-**	-
90	Indole	H	t.a.	16h	**98**	38%
91	$(CH_2)_5CH_3$	H	t.a	3h	**99**	47%
92	$(CH_2)_3NHBoc$	H	t.a.	3h	**100**	19%
93	$(CH_2)_4NHBoc$	H	t.a.	16h	**101**	31%
94	cyclohexane	cyclohexane	55°C	2h	**102**	47%

Les AzbisPs sont obtenues avec des rendements de 19% à 53%. Les aziridines porteuses d'un cycle aromatique (**73** et **86**) mènent aux AzbisPs correspondantes avec des rendements proches (**47%** et **53%**). De façon surprenante, l'aziridine **94**, porteuse d'un substituant particulièrement encombrant, donne l'un des meilleurs rendements. En revanche, les aziridines **92** et **93**, portant des fonctions amines sur la chaine latérale donnent globalement de faibles rendements, et cela pourrait s'expliquer par une ouverture partielle du cycle menant à la formation du β-amino-bisphosphonate, comme observé lors de l'étude de la réaction.[110] De la même façon, les aziridines **87** et **88** incluant un motif pyridine conduisent à de faibles rendements, et il serait envisageable qu'une chélation entre l'azote de la pyridine et l'ion lithium, impacte la réactivité de l'aziridine. Le seul substrat ne donnant pas le produit désiré est **89** (ni à t.a. ni à 55°C). La RMN ^{31}P du brut ne montre la formation d'aucun produit phosphoré et le substrat de départ est entièrement récupéré après purification.

IV.3. Déprotection en acides bisphosphoniques

Les AzbisPs sont déprotégées en présence de TMSBr, et de Et_3N dans l'acétonitrile, suivi d'une méthanolyse (**Schéma 79**).

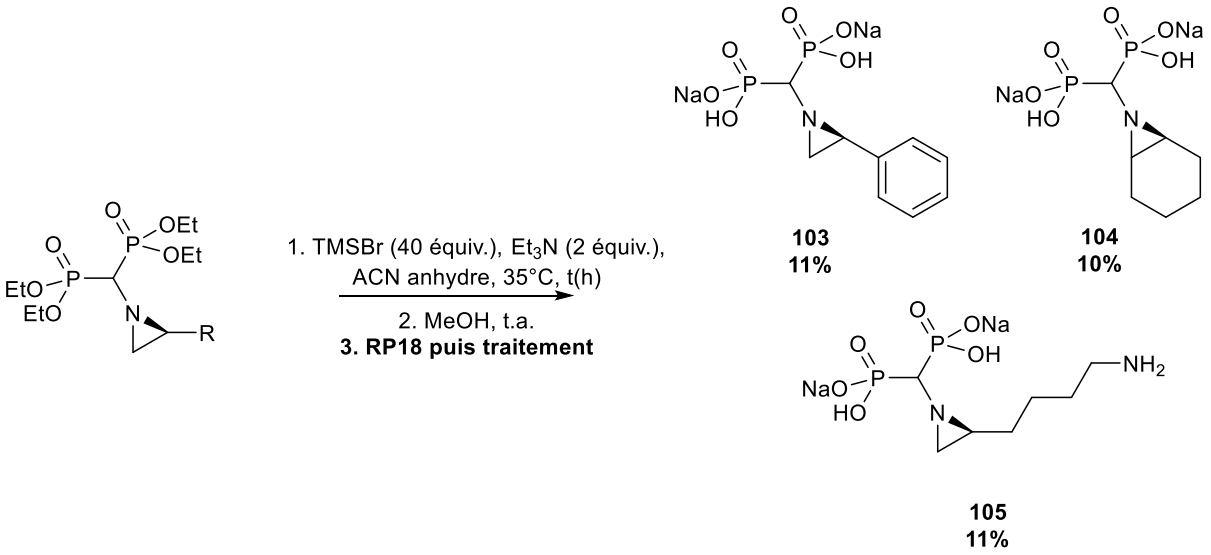


Schéma 79 - Conditions de déprotection des AzbisP en acides bisphosphoniques

Les AzbisP sodées **103** et **105** ont été obtenues la méthode batch suivi d'une Dowex Na^+ avec des rendements de 11%. Pour cela, l'acide bisphosphonique est solubilisé dans un minimum d'eau et agité en présence de résine échange d'ions de type Dowex Et_3NH^+ puis en présence de résine échange d'ions de type Dowex Na^+. Il est a noté que des fractions complémentaires ont été obtenues toutefois elles contiennent encore des traces de Et_3N. Ces rendements sont donc sous-estimés.

L'acide bisphosponique sodé **104** est obtenu, après déprotection en présence de TMSBr, par précipitation dans une solution de $NaClO_4$ (0.5M/acétone) suivi d'une Dowex Et_3NH^+ et d'une Dowex Na^+ (**Schéma 80**).

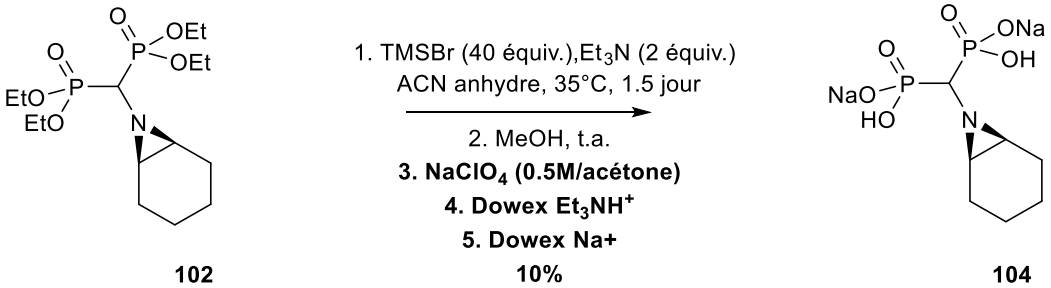


Schéma 80 - Déprotection de **102** selon les conditions optimisées suivie d'une précipitation dans une solution de $NaClO_4$ (0.5M/acétone), d'une Dowex Et_3NH^+ et d'une Dowex Na^+

La précipitation dans une solution de $NaClO_4$ (0.5M/acétone) présente deux désavantages majeurs, à savoir la perte de produit partiellement soluble dans l'acétone, mais surtout la formation de sels de Et_3NHO_4Cl, nécessitant une purification. L'utilisation d'une SPE (colonne Discovery DSC-18) ou d'une RP18 s'est avérée peu efficace puisque la majorité des sels sont récupérés avec le produit. Nous avons alors converti l'acide bisphosphonique sous forme Et_3NH^+ afin de bénéficier d'une paire d'ions qui devrait augmenter son temps de rétention en phase inverse. La méthode est particulièrement efficace puisqu'elle permet d'obtenir le produit sans sels. Le bisphosphonate est ensuite passé sur Dowex Na^+ en méthode batch. Le faible rendement est associé à la succession des différents essais de purification.

Une hypothèse serait que ce n'est pas tant la méthode par précipitation dans $NaClO_4$ qui permet d'obtenir **104**, mais sa symétrie rendant les deux phosphores équivalents, et donc la formation d'une seule forme sodée possible. En effet, le produit sous forme sodée, comme le démontre l'expérience, aurait très bien pu être obtenu par simple passage sur Dowex Na^+.

Tous les spectres RMN ^{31}P obtenus pour **104**, qu'il soit en présence de contre-ions Et_3NH^+ ou Na^+ montre la présence d'un signal bien défini (doublet ou un quadruplet). Il en est de même avec les spectres RMN ^1H, qui correspondent à un unique produit. Ce constat est donc en faveur de l'hypothèse émise plus tôt, c'est à dire que la symétrie du bisphosphonate est primordiale pour l'observation de spectres RMN exploitables. De plus, il faut noter que les pKa du composé **104** (**Figure 26**) sont tels qu'à pH > 7, les 4 positions sont accessibles pour les différents contre-ions.

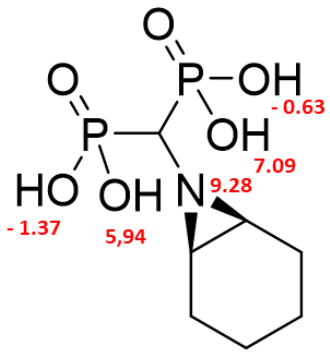


Figure 26 - pKa de **104**

Malheureusement et malgré de nombreuses tentatives, la conversion des autres AzbisP en leur forme sodée n'a pas été concluante.

V. Evaluation biologique *in vitro*

Le potentiel de **103**, **104**, et de **105** a été évalué *in vitro* sur des cultures d'érythrocytes infectés par *Plasmodium Falciparum* (*Pf*) au sein du LPHI (Université de Montpellier, UMR 5235) par le Dr Sharon Wein. **103**, **104** et **105** présentent des valeurs d'$IC_{50\ de}$ supérieures à la centaine de µM, significatives d'un manque d'activité.

Le potentiel antitumoral de **103**, **104**, et de **105** a été évalué *in vitro* sur des cultures de cellules tumorales humaines de lignées MIA PaCa-2 (pancréas), MDA-MB-231 (sein) et A549 (poumon) au sein du CRCL (INSERM Lyon, UMR 5286) par le Dr Lars Petter Jordheim (Equipe Anticorps-Anticancer). Aucun des composés étudiés ne présentent une activité significative contre ces lignées cellulaires.

VI. Modélisation moléculaire *in silico* de bisphosphonates commerciaux et des structures synthétisées

La modélisation moléculaire est une étape importante dans le processus de découverte et de conception de molécules à visée biologique.[200,201,202] L'une des méthodologies couramment utilisée est le docking (ou amarrage) moléculaire, une méthode empirique basée sur une fonction de score qui prend en compte les interactions intermoléculaires (telles que les liaisons hydrogène, les forces de Van der Waals et les interactions électrostatiques) pour comprendre et évaluer l'interaction d'un ligand avec sa cible biologique (protéines, enzymes, etc.) d'un point de vue atomique.[203,204,205,206] En amont de la synthèse de nouvelles molécules, elle permet de prédire les possibles affinités d'une grande série de molécules avec le site actif, et ainsi de sélectionner les structures a *priori* les plus intéressantes. A posteriori, elle permet d'aider à la compréhension du mécanisme d'action d'un ligand en simulant ses interactions moléculaires avec le site actif. Cette méthode est particulièrement intéressante pour comparer l'efficacité d'un ligand par rapport à un autre, et éventuellement modifier des groupements d'atomes afin de créer des interactions favorables avec les résidus du site actif.[206]

Le docking moléculaire présente cependant certaines limites qui n'en font pas une science exacte.[207] La limite majeure est le manque de fiabilité du score d'énergie de liaisons donné par le logiciel de docking. En effet, certaines interactions intermoléculaires pourtant significatives (telles que la liaison halogène), ne sont pas prises en compte pour le calcul du score. De même, le docking ne prend pas en compte le phénomène de solvatation, difficilement prévisible, et ignore donc l'interaction de molécules d'eau avec la protéine et éventuellement la formation de liaisons hydrogènes avec le ligand. De plus, les méthodes moléculaires actuellement utilisées ne permettent pas de connaitre précisément le nombre de molécules d'eau remplacées par le ligand.[207] Une dernière limite, qui peut être vu comme le défi majeur en docking moléculaire, est la rigidité de la protéine.[208] Alors qu'une protéine peut naturellement adopter plusieurs conformations d'énergies similaires en fonction du ligand, le docking ne prend en compte qu'une conformation unique de la macromolécule. Enfin, plus un ligand possède de degrés de liberté, plus son espace conformationnel augmente et donc plus les interactions visualisées sont approximatives.[203]

Il est donc important de comprendre que la modélisation seule ne rend pas toujours compte de la réalité, et ne doit être utilisée qu'à des fins prédictives ou explicatives, en association avec d'autres résultats. Ainsi, la cristallisation de la molécule au sein du site actif de la protéine est essentielle pour s'assurer des interactions prédites par le docking moléculaire, et les évaluations biologiques *in vitro* et/ou *in vivo* demeurent un prérequis pour valider une potentielle activité.

Dans cette partie, les interactions de bisphosphonates commerciaux avec le site actif de la farnésyl pyrophosphate synthase humaine (*h*FPPS) seront explorées. Plus particulièrement, c'est le rôle du groupement hydroxylé (zoledronate, risedronate, alendronate et pamidronate) ou de l'amine (incadronate) en α du groupement bisphosphonate qui sera étudié. Les modèles moléculaires seront ensuite comparés aux résultats de modélisation *in silico* des AzbisPs synthétisés. Notre objectif est ici d'évaluer l'influence de la présence du cycle aziridine sur les interactions avec le site actif, tout en étudiant les interactions des différents substituants qui pourrait justifier d'une possible activité.

Les données de cristallisation du zoledronate, introduit dans le premier chapitre de ce manuscrit, dans le site actif de la *h*FPPs ont été extraites de la PDB (code PDB : 4P0V) (**Figure 27**).[209]

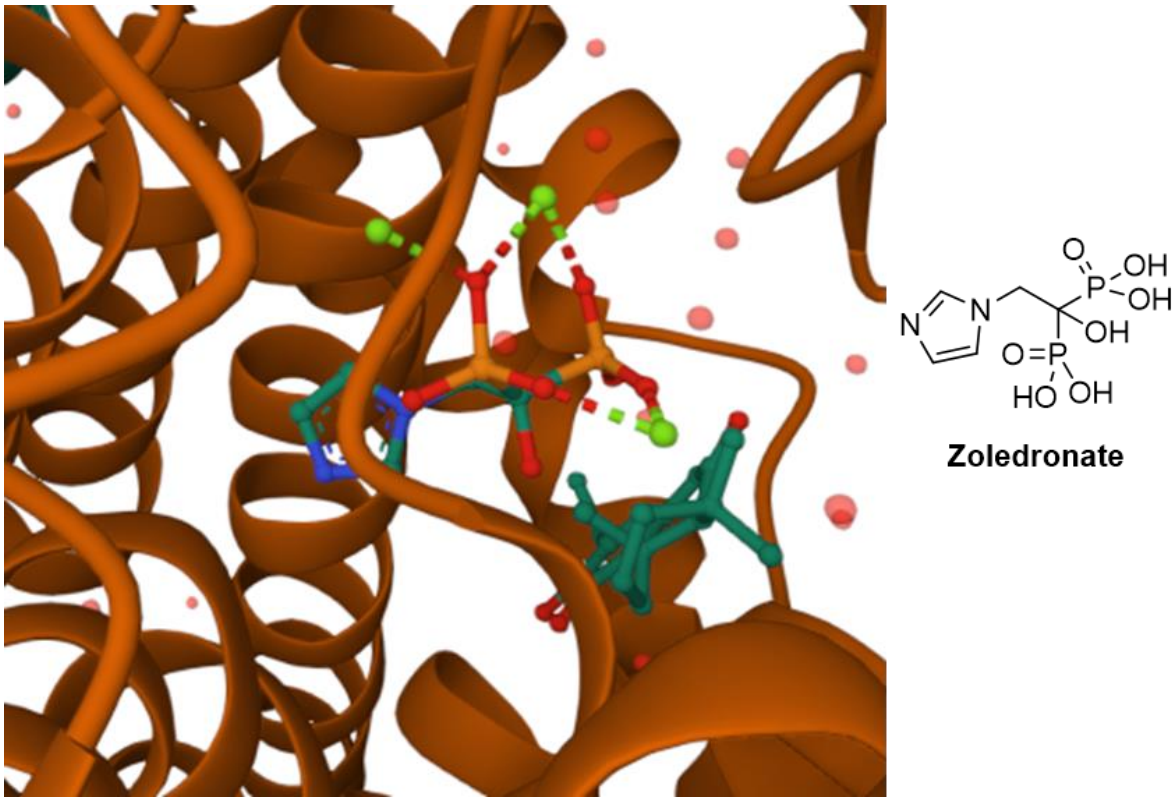


Figure 27 – Structure cristalline de la *h*FPPS en complexe avec le zoledronate et le taxodione (code PDB : 4P0V)

La modélisation 3D du site actif montre qu'il se compose majoritairement de résidus à chaînes secondaires polaires, formant ainsi une couronne au centre de laquelle se positionnent les ions magnésiums en interaction avec les oxygènes du bisphosphonate.

VI.1. Protocole de docking moléculaire

De manière générale, le docking moléculaire nécessite la manipulation de plusieurs logiciels, d'édition de structures chimiques en 2D et 3D (Marvin Sketch), de Docking (Autodock et Vina) et de visualisation de modélisation 3D des ligands dans leur site d'affinité (PYMOL).

La première étape consiste en la définition des coordonnées tridimensionnelles (x, y, z) de la boite de docking, de telle sorte que le site actif d'intérêt y soit contenu. Pour cela, les coordonnées de la *h*FPPs cristallisée avec le zoledronate (code PDB : 4P0V) sont téléchargées depuis la Protein Data Bank (PDB). Le logiciel Visual Molécular Dynamics (VDM) permet alors de retirer le ligand de telle façon à obtenir la protéine vide. En parallèle, le zoledronate seul est édité sous sa forme 3D à l'aide de Marvin Sketch. Le logiciel de docking Autodock 1.5.6 permet ensuite d'obtenir les structures de la protéine vide et du ligand en format pdbqt, qui prend alors en compte les charges partielles. C'est grâce à ce même logiciel que l'espace

tridimensionnel contenant le site actif est défini, et dans lequel les calculs d'affinité seront réalisés (**Figure 28**). La seconde étape consiste à docker les différents ligands dans la protéine vide. Pour cela, les substrats sont édités avec le logiciel Marvin Sketch et convertis en 3D. Le logiciel de docking Autodock Vina[210] positionne alors chaque molécule dans différentes positions au sein de la boîte tout en minimisant l'énergie du système. Cinq solutions de docking sont alors proposées et classées selon leur énergie d'interaction ; la première correspondant à la plus favorable énergétiquement. La dernière étape consiste à visualiser les différentes interactions des substrats avec le site actif via le logiciel Pymol (**Figure 29**). La position choisie pour observer les interactions doit être de basse énergie tout en alignant la partie bisphosphonate avec celle du zoledronate (telle qu'elle est positionnée dans la structure cristalline de la protéine).

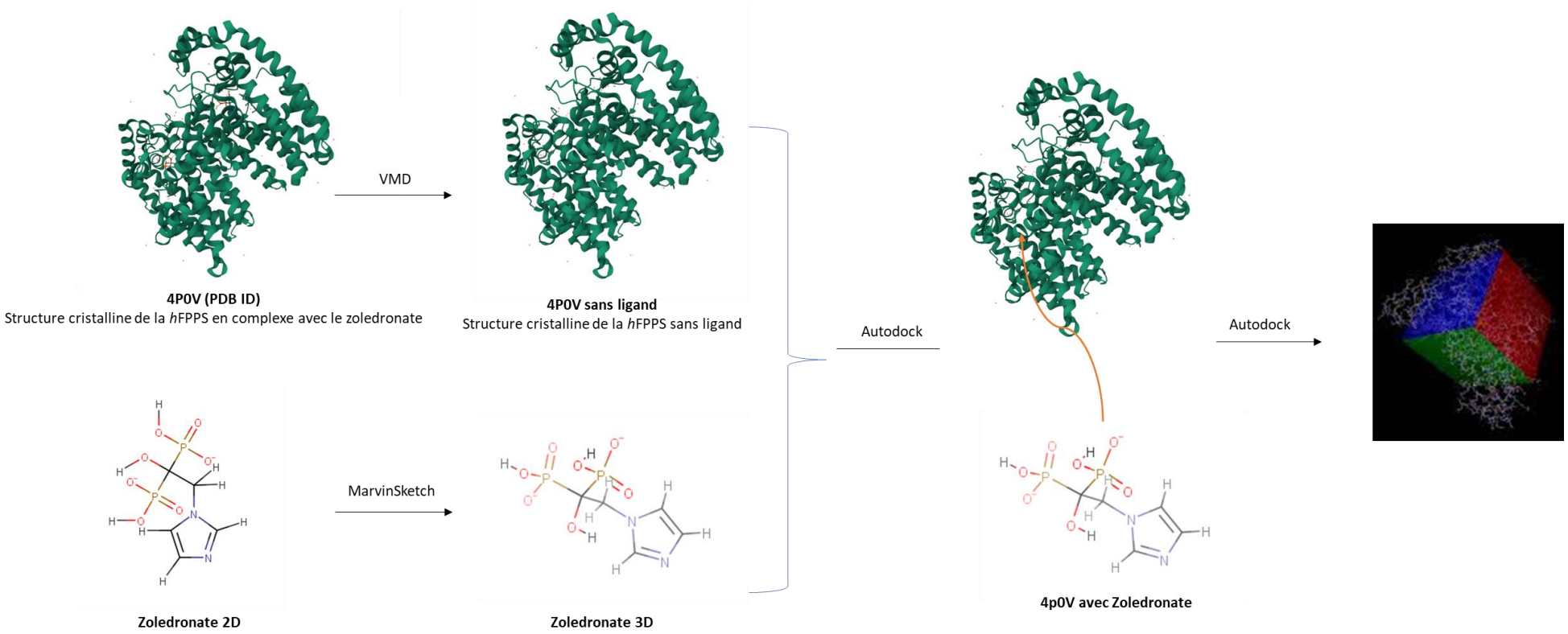


Figure 28 - Protocole de définition de la boîte tridimensionnelle

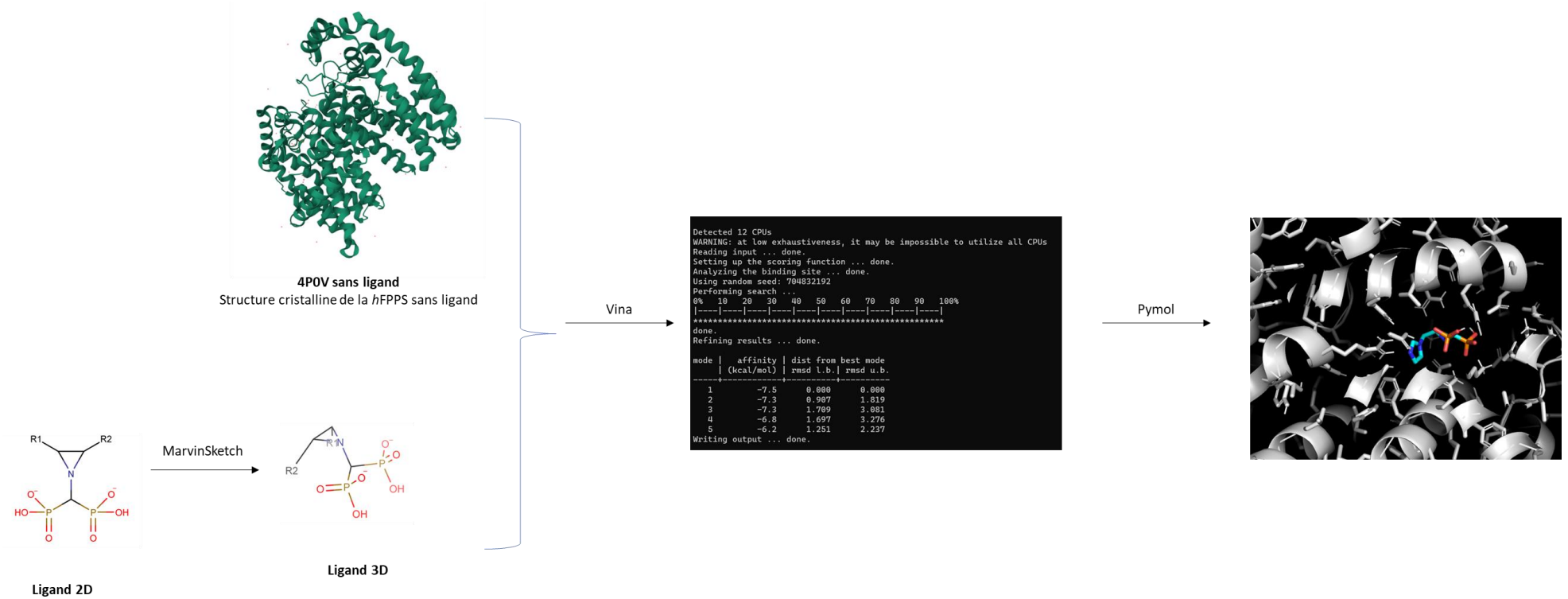


Figure 29 - Protocole de docking et visualisation des bisphosphonates commerciaux et synthétisés

De manière générale, les hydroxy-bisphosphonates commerciaux ne possèdent pas de centre de chiralité. En revanche, l'incadronate et nos différents AzbisP d'intérêt (la présence respective d'une amine secondaire et d'un cycle aziridine possédant au moins un substituant) sont des composés chiraux. Ainsi, les deux énantiomères de l'incadronate, ainsi que les 4 diastéréoisomères de chaque AzbisP ont été dockés de façon individuelle (**Figure 30**). La conformation préférentielle de l'azote de l'aziridine est définie par MarvinSketch. Les molécules sont éditées telles qu'elles le seraient à pH physiologique : les bisphosphonates sont sous forme di-anionique et les éventuelles charges des substituants sont également prises en compte.

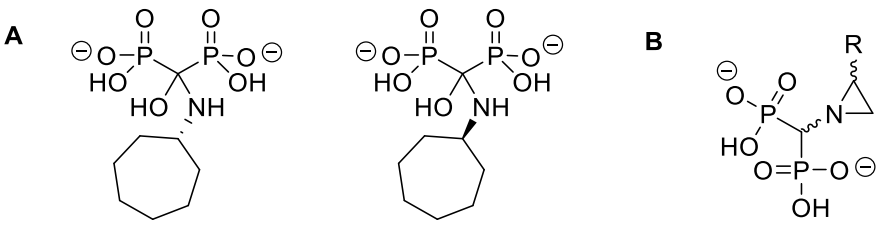


Figure 30 – **A**. Les deux énantiomères de l'incadronate **B**. Structure générique des AzbisPs

A titre d'exemple, la **Figure 31** présente les 4 diastéréoisomères possibles pour le composé **112** à pH physiologique. L'azote des deux premières représentations, de conformation (*S*) est définit par MarvinSketch, tandis que l'azote des deux dernières est de conformation imposée (*R*).

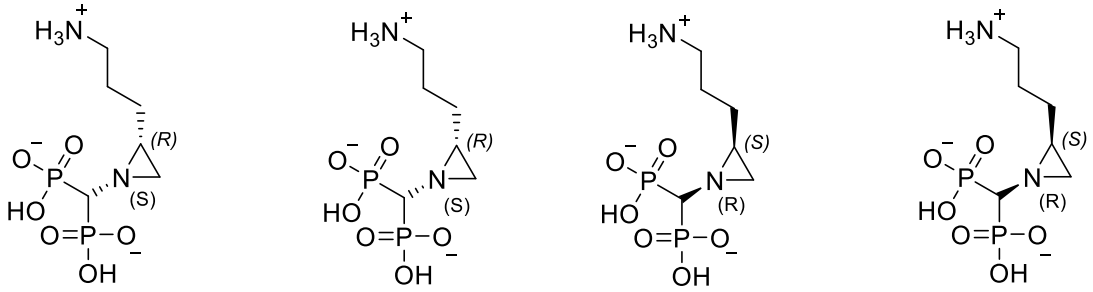


Figure 31 – Représentation des 4 diastéréoisomères possibles de **112** à pH physiologique

VI.2. Résultats de modélisation in silico de bisphosphonates commerciaux et structures synthétisées

Les différents bisphosphonates commerciaux de seconde et troisième générations, les N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole décrits par Lecouvey comme ayant une activité anti-

prolifératives[109] et les AzbisPs étudiées ont été modélisées (**Figure 32**). Les **Tableau 7** et **Tableau 8** recensent les scores d'affinités des ligands avec le site actif de la *h*FPPS.

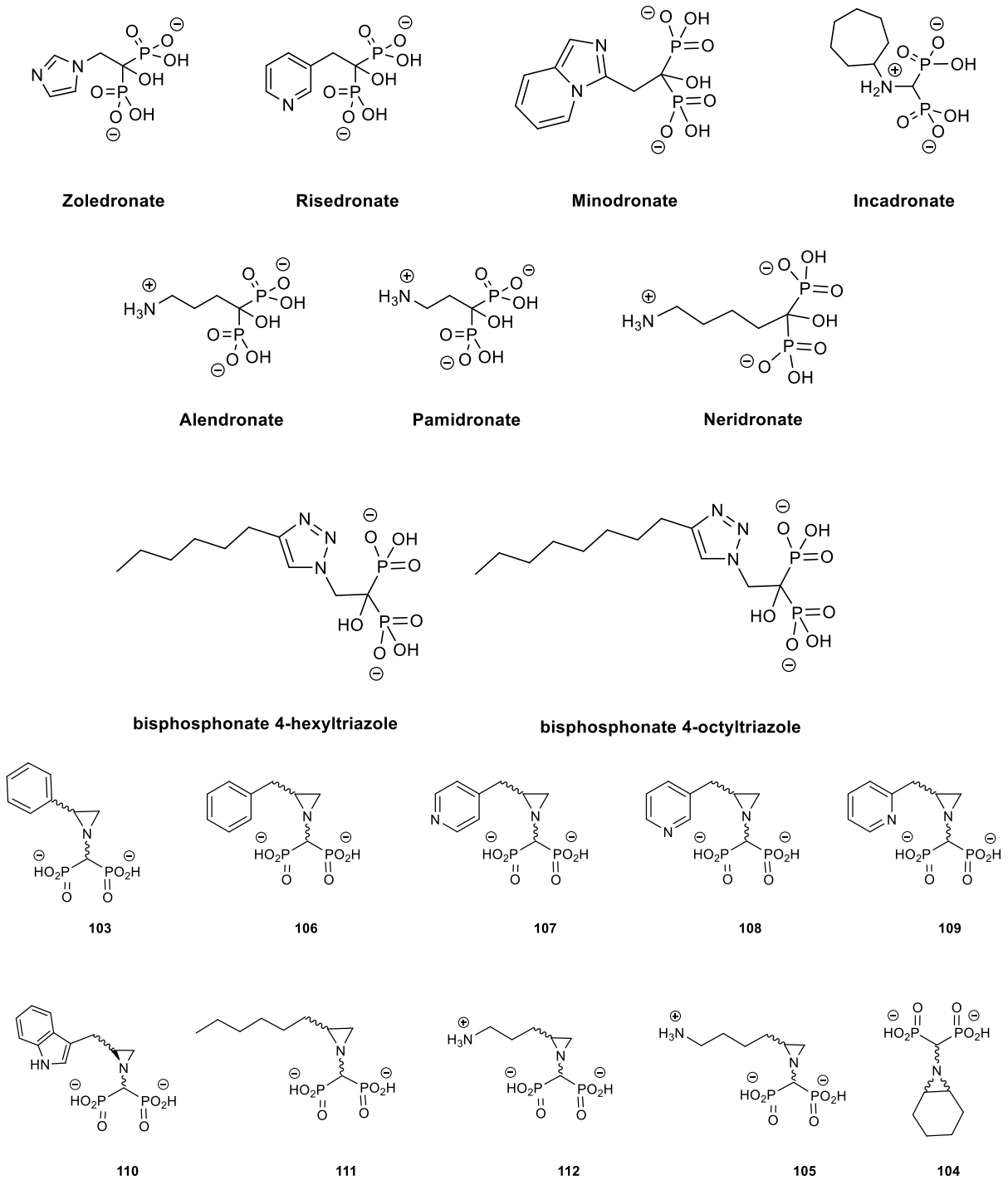


Figure 32 – Structures des BPs étudiés par modélisation

Tableau 7 - Score d'affinité (en kcal/mol) des N-BPs commerciaux ou étudiés par l'équipe de M. Lecouvey

Pamidronate	**Alendronate**	**Neridronate**	**N-BP 4-octyltriazole**
-7.0	-7.2	-7.2	-7.7
(*R*)- Incadronate	**Risedronate**	**(*S*)-Incadronate**	**N-BP 4-hexyltriazole**
-7.8	-7.9	-7.9	-8.0
Zoledronate		**Minodronate**	
-8.7		-8.8	

Tableau 8 - Score d'affinité (en kcal/mol) des AzbisP cibles modélisés

(*Configuration du substituant*),(*Configuration de l'azote de l'aziridine*)-**AzbisP**										
	103	**104**	**105**	**106**	**107**	**108**	**109**	**110**	**111**	**112**
(*R*),(*R*)	-8.6	-7.9	-7.1	-8.2	-8.2	-8.4	-8.0	-8.6	-7.1	-7.3
(*R*),(*S*)	-8.6	-7.7	-7.2	-8.7	-8.2	-8.2	-8.5	-8.0	-7.3	-7.1
(S),(*S*)	-8.0	-	-7.3	-8.6	-8.5	-8.7	-8.5	-8.7	-7.4	-7.3
(S),(*R*)	-8.1	-	-7.5	-8.5	-8.2	-8.8	-8.7	-9.0	-7.3	-7.3

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la description des interactions du zoledronate avec son site actif. Des interactions avec les trois groupements constitutifs de la molécule sont observées (la fonction hydroxyle, le bisphosphonate et le substituant, ici le noyau imidazole) (**Figure 33**). L'hydroxyle forme une liaison hydrogène avec l'oxygène de l'amide du résidu **Asp243**, les oxygènes des phosphonates interagissent avec l'**Asp243**, l'**Asp107**, la **Lys200**, la **Lys257**, l'**Arg112**, tandis que l'azote sp^2 de l'imidazole interagit avec la **Thr201**.

Afin de vérifier que l'hydroxyle des BPs-OH se positionne de la même façon, nous avons comparé le positionnement du zoledronate avec les autres HO-BPs commerciaux (**Figure 34**). De façon surprenante, alors que les deux groupements phosphorés s'orientent dans la même

position, les fonctions hydroxyles sont diamétralement opposées. Pour le risedronate, l'hydroxyle interagit avec l'**Asp103** et l'azote de la pyridine interagit avec l'**Arg60** et la **Gln96**.

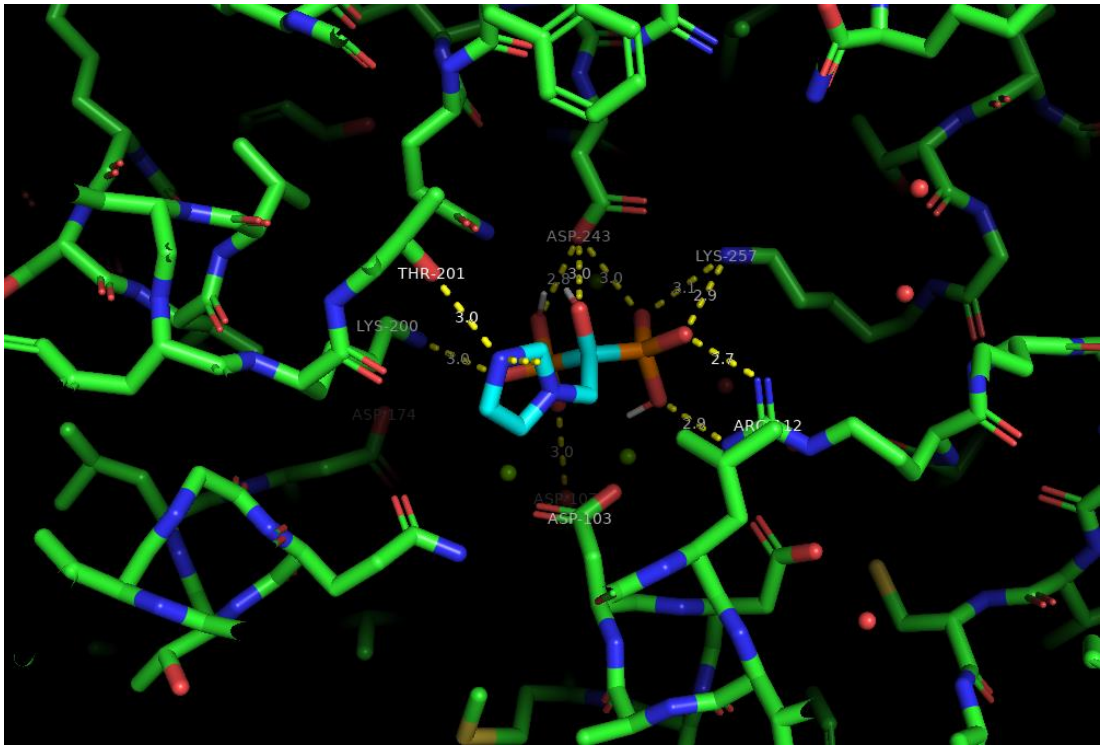


Figure 33 - Interactions du zoledronate dans le site actif de la FPPS humaine

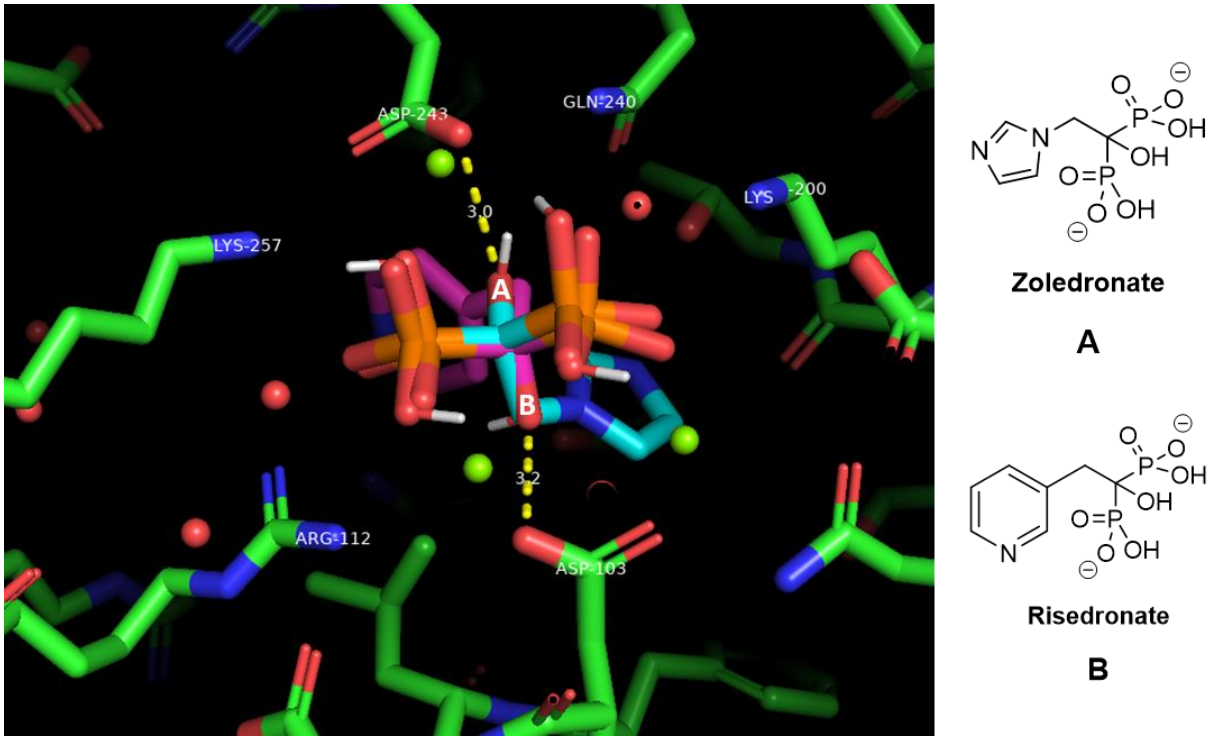


Figure 34 - Superposition du zoledronate et du risedronate : l'hydroxyle **A** du zoledronate interagit avec l'**Asp243** alors que l'hydroxyle **B** du risedronate interagit avec l'**Asp103**

Le minodronate adopte le même comportement que le risedronate, à savoir un alignement des phosphores avec ceux du zoledronate, mais une interaction du groupement hydroxyle avec l'**Asp103**.

Le pamidronate (-$(CH_2)_2$NH) et l'alendronate (-$(CH_2)_3$NH) (**Figure 20**) sont aussi dockés dans le site actif de la *h*FPPS. De la même façon que le zoledronate, les hydroxyles respectifs forment des liaisons hydrogènes avec l'oxygène de l'amide du résidu **Asp243** et le phosphonate interagit avec la **Lys257**, la **Lys112**, **l'Arg112**. Les amines terminales interagissent toutes deux avec la **Thr201**. Si elles possèdent les mêmes interactions, l'alendronate possède un carbone de plus sur la chaîne secondaire, mais cette chaine parvient à se positionner correctement dans l'espace de la cavité. Le néridronate, un analogue de l'alendronate et du pamidronate, dont la chaîne secondaire est plus longue (-$(CH_2)_5$NH), s'oriente plutôt comme le risedronate en formant une liaison hydrogène entre le groupement hydroxyle et l'**Asp103**. L'amine terminale interagit avec la **Gln171**.

L'incadronate est l'un des seuls amino-bisphosphonates commerciaux qui n'est pas hydroxylé mais présente une fonction amine secondaire (**Figure 20**) et nous avons observé que cette dernière se positionne de façon à interagir avec l'**Asp103**, de la même façon que l'hydroxyle en α du risedronate.

Une étude de modélisation moléculaire menée par Lecouvey a démontré que leurs N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole (ayant une activité antitumorale) pouvaient inhiber la géranyl pyrophosphate synthase humaine (*h*GPPS). Pour notre part, nous avons modélisé les deux composés dans le site actif de la *h*FPPS. Le groupement hydroxyle de chaque N-BP s'oriente de façon diamétralement opposée, sans interagir avec le site actif. De plus, alors que les deux groupements du bisphosphonate de tous les N-BPs commerciaux modélisés se positionnent de la même façon dans le site actif, les interactions diffèrent pour les N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole (**Figure 35**). Ainsi, les oxygènes chargés négativement et portés par les bisphosphonates interagissent avec l'**Asp103**, la **Gln240** et l'**Asp243**, ainsi que la **Thr201**. Le noyau triazole interagit avec la **Tyr204** et la **Gln96**.

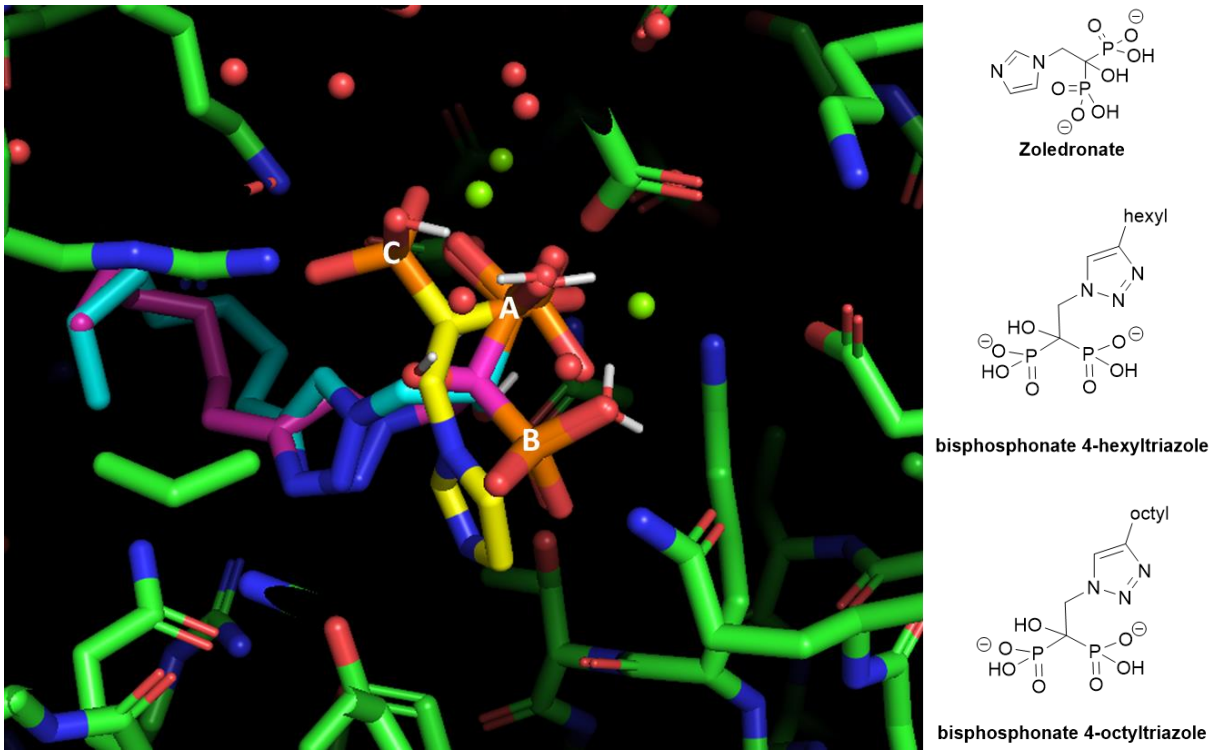


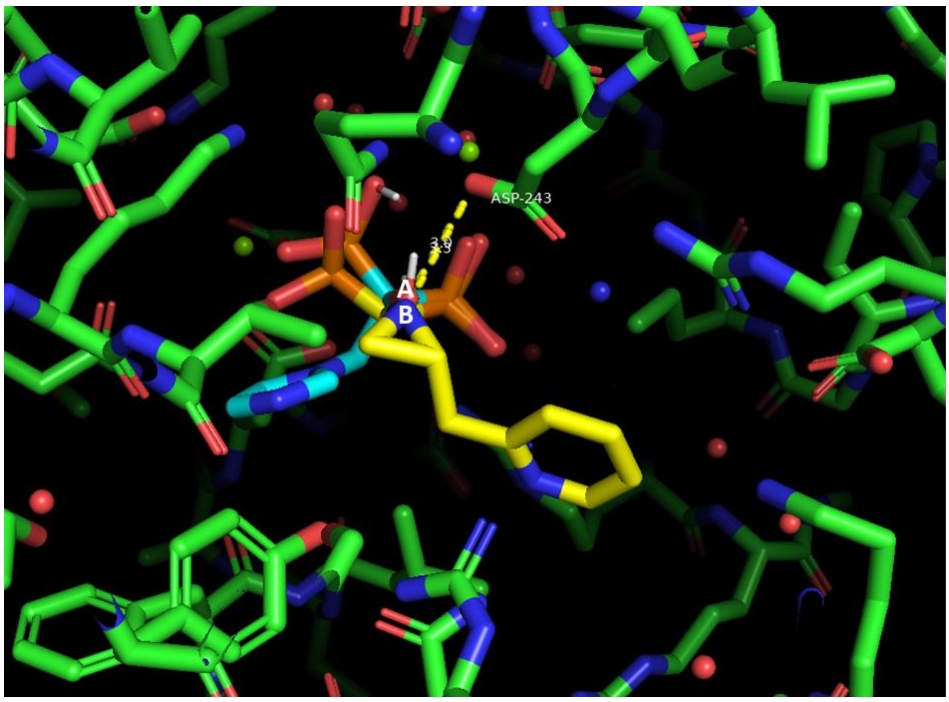
Figure 35 - Superposition des N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole avec le zoledronate : les phosphonates se superposent en position **A** mais le second phosphonate des N-BPs 4-hexyltriazole et 4-octyltriazole s'oriente en position **B** et celui du zoledronate s'oriente en position **C**

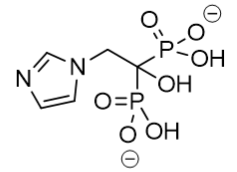
Une fois les N-BPs de référence dockés, nous avons comparé ces résultats avec ceux obtenus lors du docking de nos AzbisPs. Ainsi, les 4 conformations de l'AzbisP **110** substituée par un résidu indole (analogue du minodronate et du zoledronate) sont dockés. L'azote de l'aziridine n'interagit avec le site dans aucun cas, mais une interaction entre l'azote de l'indole et l'**Asp243** (observée avec l'hydroxyle du zoledronate) est observée pour deux des 4 conformations, différente de l'interaction entre l'imidazopyridine du minodronate et la **Gln96** ou celle entre l'imidazole du zoledronate et de la **Thr201**. L'indole ne s'oriente donc pas comme pour le minodronate ou le substituant imidazole du zoledronate, mais peut s'orienter comme l'hydroxyle du zoledronate.

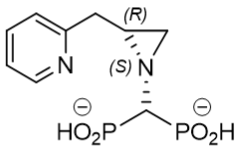
Les AzbisP **107**, **108**, **109** analogues du risedronate ont été étudiés. De façon surprenante, pour les AzbisPs 2-pyridine **107** et 3-pyridine **108** lorsqu'une interaction entre l'aziridine et le site actif est observée, elle se fait avec **l'Asp243,** comme observée avec l'hydroxyle du zoledronate (**Figure 36**), et non pas avec l'**Asp103** comme observé pour l'hydroxyle du risedronate (**Figure 34**). En revanche, l'azote sp^2 de la pyridine interagit bien avec le **Gln60** comme observé pour le risedronate et peut aussi interagir avec la **Lys257**. Pour les AzbisPs

incluant un cycle (4-pyridine), aucune interaction entre l'aziridine et le site actif n'est observée et la pyridine interagit soit avec la **Gln97** et **Arg112** soit avec l'**Asp243** et la **Lys257**, donc différemment du risedronate.

Les AzbisP **103** et **106** peuvent aussi être considérées comme des analogues du risedronate, mais aucune interaction entre l'aziridine et le site actif n'a été observée, bien que le cycle aromatique tende à s'orienter vers la **Phe239**. Nos analogues du risedronate ne se dockent donc pas de la même façon que le risedronate, mis à part pour les groupements phosphonates, et dans certains cas l'azote sp^2 de la pyridine.







(*R*),(*S*)-**109**

Figure 36 - Superposition du zoledronate et de l'AzbisP 2-pyridine (*R*),(*S*)-**109** : l'hydroxyle **A** du zoledronate et l'azote **B** de l'aziridine interagissent avec l'**Asp243**

L'étude des différentes formes des AzbisP **105** et **112** a montré que le cycle aziridine de **112** n'interagit pas avec le site actif, mais les oxygènes des bisphosphonate interagissent avec les mêmes résidus que les N-BPs commerciaux dont ils sont analogues. L'amine terminale de la chaine carbonée interagit soit avec la **Thr201** (comme le pamidronate et l'alendronate) et la **Tyr204** (carbone *R*) soit avec l'**Asp243** (carbone *S*). Cette dernière interaction est intéressante puisque l'hydroxyle du pamidronate et de l'alendronate interagissent avec l'**Asp243**. L'analogue AzbisP **105** avec un carbone supplémentaire dans la chaine carbonée a aussi été

dockée dans ses 4 conformations. L'une d'elles présente une capacité de repliement intéressante puisque l'aziridine et l'amine terminale interagissent avec le même résidu, à savoir l'**Asp243**. Alors que les 3 autres ne présentent aucune interaction entre l'aziridine et le site actif, bien que l'amine terminale soit capable d'interagir avec l'**Asp243**, ou la **Thr201**, et la **Tyr204** comme observé pour les analogues AzbisP du pamidronate.

En ce qui concerne les deux diastéréoisomères du composé **104** incluant un cyclohexyle, aucune interaction entre l'aziridine ou le cycle et la protéine, ne sont observées, seuls les oxygènes des phosphonate interagissent avec l'**Arg112**, la **Lys200**, et l'**Asp243**. Ce manque d'interaction peut expliquer l'absence d'activité observée lors des tests biologiques.

Enfin, les diastéréoisomères de **111** incluant la chaine octyle ne s'orientent pas comme les N-BPs 5-hexyltriazole et 4-octyltriazole dont ils sont inspirés mais de la même façon que les N-BPs commerciaux et les AzbisP précédemment modélisées. On notera qu'une interaction entre l'azote de l'aziridine et l'**AsP243** est observée, comme pour l'hydroxyle du zoledronate.

VI.3. Conclusion

De façon générale, les bisphosphonates commerciaux dockés interagissent avec la cible via leurs trois unités constitutives que sont le groupement bisphosphonate, la fonction hydroxyle ou amino, et enfin le substituant. Pour chacun des nouveaux composés modélisés, le meilleur score d'affinité est obtenu quand le groupement bisphosphonate s'oriente dans la même position que celle du zoledronate. Comme attendu, l'orientation des molécules dans le site actif semble être guidée par l'interaction des oxygènes du bisphosphonate avec la cible. Les fonctions hydroxyle ou amine des différents BPs commerciaux interagissent avec l'**Asp243** ou avec l'**Asp103**. Ces interactions sont aussi observées entre l'aziridine des AzbisP et la cible, quand une interaction est observée. Dans le cas où aucune interaction n'est observée, cela signifie que l'aziridine n'induit pas de gêne stérique pour le positionnement du composé au sein de la protéine, et les interactions restent alors possibles avec la partie phosphonate et le substituant. L'idéal serait de trouver des BPs dont les substituants interagissent fortement avec la cible, et il serait intéressant de réfléchir à des AzbisPs disubsituées pour maximiser ces interactions.

Mis en corrélation avec les résultats biologiques, la modélisation peut expliquer le manque d'activité de nos composés testés. Cependant, il faut rappeler que la modélisation reste une méthode qui présente des limitations, et l'absence d'activité peut être multifactorielle.

VII. Conclusions et perspectives associées à ces travaux

Ce chapitre présente les travaux visant à appliquer une nouvelle voie de synthèse d'AzbisPs à partir d'aziridines *N*-carbamates, précédemment développée au laboratoire, à l'obtention de composés phosphorés potentiellement bio-actifs. Les composés synthétisés s'inspirent de bisphosphonates commerciaux dont l'activité a été décrite dans la littérature. Ils ont été obtenus à partir d'amino-alcool *N*-Cbz commerciaux ou synthétisés au laboratoire. La majeure partie du travail s'est focalisée sur l'optimisation des conditions de déprotection des AzbisPs tétraéthylées en acide bisphosphonique, et les différents essais de traitement pour obtenir les molécules sous forme sodée. Par la suite, il serait intéressant de synthétiser des AzbisPs portant deux substituants identiques, puisque l'acide bisphosphonique sodé **105** a facilement été obtenu.

A la suite de ce travail, trois bisphosphonates **104**, **105** et **106** ont été obtenus et leur potentiel en tant qu'agent antipaludique et/ou anticancéreux a été évalué. Cependant, aucune de ces molécules n'a présenté d'activité intéressante.

La modélisation *in silico* des divers bisphosphonates commerciaux et des composés synthétisés a permis d'étudier et de comparer leurs interactions avec le site actif de la FPPS humaine. Dans tous les cas, l'orientation des composés dans la cible semble être guidée par la position du groupement bisphosphonate. Le cycle de l'aziridine des AzbisP ne génère que très peu d'interactions avec les résidus du site actif, signe qu'elle n'induit pas de gêne pour l'insertion des substrats dans ce dernier. Les interactions doivent donc se faire via le substituant de l'aziridine.

Il serait aussi intéressant de réaliser la modélisation de nos composés dans le site actif de la GPPS, et éventuellement de concevoir et obtenir des composés incluant de longues chaines grasses capables de se positionner dans la poche hydrophobe de l'enzyme. A titre d'exemple, la synthèse d'aziridine à partir du farnésol (**Schéma 81**) ou du géraniol (**Schéma 82**) a été initiée mais non finalisée par manque de temps.

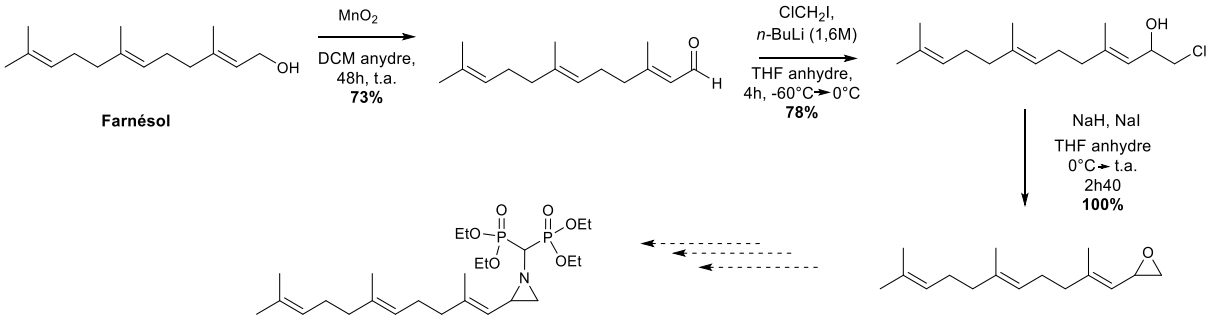


Schéma 81 - Travaux préliminaires de synthèse pour l'obtention de l'AzbisP à partir du farnésol

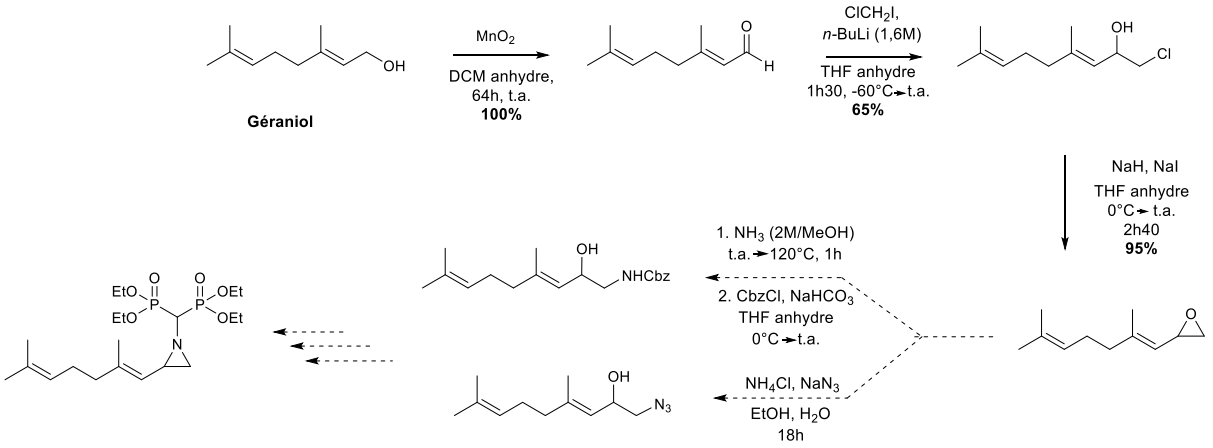


Schéma 82 - Travaux préliminaires de synthèse pour l'obtention de l'AzbisP à partir du géraniol

Partie Expérimentale du Chapitre II

- **Solvants et réactifs**

Les réactifs utilisés proviennent des fournisseurs suivants : Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Acros ou TCI. L'eau distillée (MilliQ pour analyses ou MilliRo) est produite au laboratoire grâce à des systèmes automatisés Millipore (Merck). Les solvants non anhydres (DCM, AcOEt, $CHCl_3$, éther de pétrole, Et_2O, hexane, MeOH, EtOH, isopropanol) sont commerciaux et proviennent de Carlo Erba, VWR ou Fischer. Les solvants anhydres (en flacons scellés et sur tamis moléculaire) proviennent de chez Sigma-Aldrich (ACN, MeOH, DCM, THF, DMF). Les acides et bases utilisés (NH_4OH, acide acétique, triéthylamine) proviennent de chez Analytic Lab. Le diéthylphosphite (Acros) est distillé au préalable sur KOH sous pression réduite et conservé à l'abri de la lumière dans un ballon scellé, sous argon.

- **Matériels et instruments**

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice 60 F254 (Merck, Art. 5554) et les composés sont révélés par irradiation sous UV (254 nm) ainsi qu'à l'aide de révélateurs colorés :

- « Ninhydrine » : 300 mg de ninhydrine dissoute dans 100 mL d'éthanol
- « Bleu de molybdène » : mélange (1/1, v/v) de solution A (80.5 g d'oxyde de molybdène dans 2 L d'acide sulfurique 25N, porté à ébullition douce) et de solution B (1.78 g de molybdène dans 500mL de solution A, porté à ébullition puis refroidi et séparé de la phase verdâtre se formant) puis dilué avec deux volumes d'eau
- « Permanganate de potassium » : 1.5 g de permanganate de potassium, 10 g de carbonate de potassium et 1.25 mL de d'hydroxyde de sodium (10% m/v) dans 200 mL d'eau

Les chromatographies sur gel de silice ont été réalisées sur le système automatisé Biotage® Isolera™ Four (quatre voies et détecteur à deux longueurs d'onde UV) avec des cartouches de silice (Buchi Flashpure Silica, Interchim Puriflash® ou Biotage® ZIP Si Cartridge) de tailles variables (12g, 30g, 45g, 80g, 120g, 330g). Les chromatographies sur colonne ouverte en verre ont été réalisées à l'aide de silice Merck 60 H (Art. 9385).

Les chromatographies flash en phase inverse (RP18) ont été réalisées sur le système automatisé *Puriflash* 430 d'Interchim, avec une colonne de silice C18 (PF C18-AQ de 40g, 30µm de marque Interchim Puriflash®).

Les chromatographies échangeuses d'ions sont réalisées avec des résines Dowex 50WX8-200 (Sigma-Aldrich). Elles sont converties sous forme sodée par percolation successives d'une solution d'HCl 1N, d'eau distillée jusqu'à retour à pH neutre, puis de NaOH 1M et enfin d'eau distillée jusqu'à retour à pH neutre. Elles sont converties sous forme triéthylammonium par percolation successives d'une une solution d'HCl 1N, d'eau distillée jusqu'à retour à pH neutre, puis de Et_3N et enfin d'eau distillée jusqu'à retour à pH neutre.

Les lyophilisations ont été effectuées sur le système Christ Alpha 2-4 LD_{plus} (Bioblock Scientific).

Les calculs de pKa ont été réalisés avec le logiciel MarvinSketch (ChemAxon, version 22.13.00) à partir de la structure moléculaire des composés.

- **Résonance magnétique nucléaire**

Les expériences RMN ont été effectuées au Laboratoire de Mesures Physiques de l'Université de Montpellier, sur des spectromètres Brüker Avance (300, 400, 500 ou 600 MHz en RMN ^{1}H ; 101 ou 126 MHz en RMN ^{13}C, et 162 ou 202 MHz en RMN ^{31}P découplée ^{1}H), à 20°C sauf indication contraire. Les déplacements chimiques (δ) sont notés en ppm (parties par million) par rapport au pic du solvant utilisé comme référence interne, et relatifs au déplacement du signal du triméthylsilyle (TSM), et à une référence externe en RMN du ^{31}P. Les solvants utilisés sont $CDCl_3$, D_2O, MeOD-d_4, DSMO-d_6 (Sigma-Aldrich). Des analyses COSY (^{1}H 2D), HSQC ^{1}H-^{13}C (couplage proton-carbone ^{1}J), HMBC ^{1}H-^{13}C (couplage proton-carbone longue distance) ont été réalisées afin d'attribuer les spectres ^{1}H et ^{13}C. Les couplages sont reportés en Hertz (Hz). La multiplicité des signaux est indiquée par des lettres : s (singulet), br (signal élargi), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), dd (doublet dédoublé) etc. Les spectres ont été retraités avec le logiciel MestRenova.

- **Spectrométrie de masse**

Les spectres de masse haute résolution ont été obtenus au Laboratoire de Mesures Physiques de l'Université de Montpellier, par la méthode d'ionisation ESI (électrospray) en mode positif

ou négatif, sur un spectromètre Q-TOF Synapt-G2-S. Les spectres de masse basse résolution ont été obtenus par la méthode d'ionisation ESI (électrospray) en mode positif ou négatif, sur un spectromètre MicroTof QII.

I. Conditions expérimentales pour l'évaluation biologique des AzbisPs

- **Evaluation des activités *in vitro* sur des cultures d'érythrocytes infectés par *Pf* 3D7**

La viabilité des parasites (et l'activité des AzbisP testées) est exprimée par une valeur d'IC_{50}, la concentration de drogue nécessaire pour inhiber 50% de la croissance du parasite. Ces activités *in vitro* des AzbisP sont évaluées sur des cultures d'érythrocytes infectés par *Pf* 3D7 (souche nigérienne), dans des plaques microtitres (50 µL de RPMI 1640 + 10% de sérum humain AB avec ou sans (contrôle), la drogue évaluée (préalablement dissoute dans du RPMI), 150 µL d'une suspension d'érythrocytes infectés à 1,5% d'hématocrite et 0,6% de parasitémie), d'après le protocole de Desjardins *et al.*[211] Après 48h d'incubation (un cycle de reproduction) à 37°C, 30 µL de RPMI 1640 (+10% de sérum humain AB et 0,6 μC_i d'hypoxanthine tritiée) sont ajoutées à chaque puit. Après 18h à 37°C, les cellules sont lysées et les acides nucléiques radioactifs (ayant incorporé l'hypoxanthine tritié) sont isolés par filtration. Après ajout de 30 µL d'une solution de scintillation, la radioactivité est comptabilisée par spectrométrie à scintillation. A ces mesures est retranché « le bruit de fond » de radioactivité mesuré sur des érythrocytes non infectés.

- **Evaluation de l'activité *in vitro* sur des lignées cellulaires tumorales**

La viabilité des cellules tumorales (et l'activité des AzbisPs testées) est exprimée par une valeur d'IC_{50}, la concentration de drogue nécessaire pour inhiber 50% de la croissance des cellules. Cette évaluation se fait via le test MTT, un test colorimétrique permettant de mesurer le métabolisme et donc la viabilité cellulaire. Le réactif utilisé est le sel de tétrazolim MTT (bromure de 3-(4,5-diméthyltriazol-2-yl)-2,5-diphényl tetrazolium). L'anneau de tétrazolium qu'il contient est réduit par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes. Cette réaction produit du formozan, qui est un précipité violet retrouvé dans la mitochondrie. La quantité est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes. Un simple dosage de la densité optique à 560 nm par spectroscopie permet de connaitre la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement.

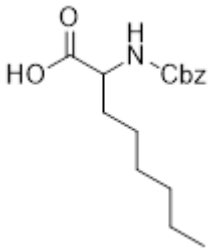
Les cellules (3000 par puits en triplicata) sont ensemencées dans des plaques de 96 puits, adhérées pendant 24 heures, puis incubées avec différentes concentrations de la drogue évaluée. Les plaques sont incubées à 37°C et 5% de CO_2 pendant 72 heures. Le réactif MTT (Sigma) est ajouté (1 µg/ puits), et après une incubation à 37°C et 5% de CO2 pendant 1 à 2 heures, le milieu est remplacé par 100 µL d'isopropanol/H_2O/HCl 90/9/1 (v/v/v). Les plaques sont ensuite incubées pendant 15 minutes à température ambiante, et l'absorbance de tous les puits est mesurée à 560 nm à l'aide du photomètre de microplaque de table Multiskan ® EX (Thermofisher) et du logiciel Ascent pour le photomètre. Les valeurs d'IC_{50} sont calculées à l'aide de Compusyn version 1.0 (ComboSyn, Inc.).

II. Protocoles opératoires et descriptions des caractérisations

Protocole A L'amino-acide est dissout dans du THF anhydre (11.1 mL/mmol) sous argon, de la *N*-méthylmorpholine (1 équiv.) et du chloroformate d'éthyle (1 équiv.) sont ajoutés à -10°C et le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à -10°C. Du $LiAlH_4$ (1M/THF, 2,01 équiv.) est ajouté au goutte à goutte, puis le milieu réactionnel est laissé revenir à température ambiante et agité jusqu'à consommation totale du réactif de départ (suivi CCM). La réaction est arrêtée par l'addition lente d'une solution aqueuse de $KHSO_4$ (1M) à 0°C. Après 1h30 d'agitation, le mélange est filtré sur un fritté, rincé avec de l'acétate d'éthyle et le filtrat est transvasé dans une ampoule à décanter. Les phases sont décantées, la phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée deux fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. Les solvants sont éliminés *in vacuo* puis le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice.

Protocole B L'amino-alcool *N*-Cbz (1 équiv.) est dissout sous argon dans du THF anhydre (13.2 mL/mmol) à 0°C, puis de la triphénylphosphine (1.5 équiv.) est ajoutée en une fois, suivi du diisopropylazodicarboxylate (1.64 équiv.) au goutte à goutte, à 0°C. Le mélange est laissé revenir à température ambiante et agité jusqu'à consommation complète du produit de départ (suivi CCM). Les solvants sont évaporés *in vacuo*, et le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice.

Protocole C Le diéthylphosphite (6.1 équiv.) est dissout dans du THF anhydre (0.5 mL/mmol de diéthylphosphite) sous argon. Le mélange est refroidi à -78°C, puis le LiHMDS (1M/THF, 6 équiv.) est ajouté et le milieu réactionnel est agité pendant 30 minutes à -78°C. L'aziridine (1 équiv.), préalablement solubilisée dans du THF anhydre (2.8 mL/mmol d'aziridine), est ajoutée au goutte à goutte. Le mélange est laissé revenir à température ambiante, et agité à une température T jusqu'à consommation totale du substrat (suivi CCM). La réaction est arrêtée par addition d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl jusqu'à dissolution des sels formés. La solution résultante est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées *in vacuo* puis le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice



Acide 2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)octanoïque – 91b

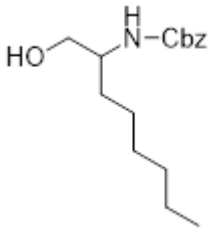
L'acide α-aminooctanoïque (1 équiv., 3 g, 18.869 mmol) commercial est dissout dans de la soude (2M) (0.5 mL/mmol) à 10°C, puis le CbzCl (1.8 équiv.) est ajouté au goutte à goutte à 10°C. Un précipité blanc se forme et de la soude (2M) (1.79 mL/mmol) est rajoutée. Le mélange réactionnel est agité 3h à température ambiante. Le milieu est neutralisé avec une solution d'HCl (5N) ajoutée au goutte à goutte. De l'acétate d'éthyle est ajouté, les phases décantées et la phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (isocratique 95/5/0.5 dichlorométhane/acétate d'éthyle/acide acétique) pour obtenir le composé **91b** (3.41 g, 11.698 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 62%.

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.33 (ddd, *J* = 12.4, 9.0, 4.0 Hz, 5H, CH_{Ar}), 5.26 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H, NH), 5.12 (q, *J* = 12.2 Hz, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.40 (td, *J* = 7.9, 5.2 Hz, 1H, NHCH), 2.00 – 1.77 (m, 1H, CH_2CHNH), 1.68 (dt, *J* = 14.2, 8.5 Hz, 1H, CH_2CHNH), 1.49 – 1.11 (m, 8H, CH_2), 0.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 177.8 (s, CHCOOH), 156.2 (s, CO_{Cbz}), 136.2 (s, C_{Ar}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.3 (s, CH_{Ar}), 128.1 (s, CH_{Ar}), 67.3 (s, $CH_{2,Cbz}$), 53.9 (s, NHCH), 32.5 (s, CH_2CHNH), 31.7 (s, CH_2), 28.9 (s, CH_2), 25.2 (s, CH_2), 22.7 (s, CH_2), 14.2 (s, CH_3).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 294.1714, Calculée pour $C_{17}H_{20}N_5$: 294.1713 $(M+H)^+$.

Rf DCM/AcOEt/Acide acétique 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.52



Benzyl (1-hydroxyoctan-2-yl)carbamate – 91c

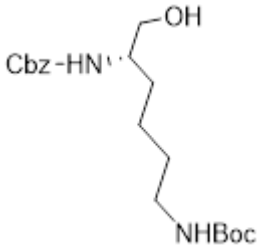
Le composé **91c** (2.46 g, 8.812 mmol) a été obtenu avec un rendement de 74% à partir du composé **91b** (3.5 g, 11.945 mmol), sous la forme d'un solide blanc, en suivant le protocole A, après une nuit (16h) de réaction à température ambiante et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient acétate d'éthyle/éther de pétrole, 10/90 à 100%).

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31 – 7.18 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.01 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.84 (s, 1H, NH), 3.59 (s, 2H, $\underline{CH_2}OH$, $\underline{CH}NH$), 3.46 (s, 1H, CH_2OH), 2.45 (s, 1H, OH), 1.42 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H, CH_2), 1.32 (m, 1H, CH_2), 1.19 (m, 8H, CH_2), 0.78 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 157.05 (s, CO), 136.52 (s, C_{Ar}), 128.72 (s, CH_{Ar}), 128.34 (s, CH_{Ar}), 128.28 (s, CH_{Ar}), 67.04 (s, $CH_{2,Cbz}$), 65.75 (s, CH_2OH), 53.48 (s, 1H, CHNH), 31.85 (s, CH_2), 31.57 (s, CH_2), 29.30 (s, CH_2), 26.10 (s, CH_2), 22.74 (s, CH_2), 14.24 (s, CH_3).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 280.1908, Calculée pour $C_{16}H_{26}NO_3$: 280.1907 $(M+H)^+$.

Rf Ether de pétrole/AcOEt 6/4 (v/v) : 0.65

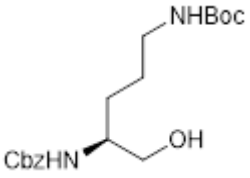


Benzyl *tert*-butyl (5-hydroxypentane-1,4-diyl)-(*S*)-dicarbamate – 93b

Le composé **93b** (831 mg, 2.268 mmol) est obtenu sous la forme d'un solide blanc, avec un rendement de 78%, en suivant le protocole A, à partir de la Nα-Z-Nε-Boc-L-Lysine (1.1 g, 2.891 mmol), après 1h30 à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/éthanol : 98/2 à 90/10). Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[212]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 – 7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.16 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, NH), 5.08 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.79 (s, 1H, NH), 4.63 (s, 1H, OH), 3.65 – 3.50 (m, 3H, $NH\underline{CH}$, $C\underline{H_2}OH$), 3.10 (ddd, *J* = 25.4, 12.8, 6.3 Hz, 2H, $C\underline{H_2}NH$), 1.54 – 1.26 (m, 13H, $CH_{3,Boc}$, CH_2).

Rf DCM/EtOH 95/5 (v/v) : 0.44



Benzyl *tert*-butyl (5-hydroxypentane-1,4-diyl)-(*S*)-dicarbamate – 92b

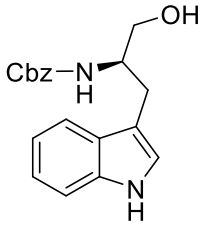
Le composé **92b** (1.11 g, 3.153 mmol) est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 64%, en suivant le protocole A, à partir de la Nα-Z-Nε-Boc-L-Ornithine (1.82 g, 4.967 mmol), après 1h30 à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient d'une solution 60/40 hexane/(acétate d'éthyle/isopropanol) : 100% à 50/50).

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.41 – 7.27 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.09 (s, 3H, $CH_{2,Cbz}$, NH-Cbz), 4.63 (s, 1H, NH-Boc), 3.76 – 3.62 (m, 2H, CH_2OH), 3.62 – 3.52 (m, 1H, CHNH), 3.11 (s, 2H, CH_2NH), 1.62 – 1.45 (m, 5H, CH_2, OH), 1.43 (s, 9H, $(CH_3)_3$).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 156.8 (s, CO_{Cbz}), 156.3 (s, CO_{Boc}), 136.6 (s, C_{Ar}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.3 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 79.4 (s, C_{Boc}), 67.0 (s, $CH_{2,Cbz}$), 65.2 (s, CHNH), 53.1 (s, CH_2OH), 40.4 (s, CH_2NH), 29.0 – 27.9 (m, CH_3, CH_2), 26.9 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 353.2077, Calculée pour $C_{18}H_{29}N_2O_5$: 353.2071 $(M+H)^+$.

Rf Hexane/AcOEt/IPA 6/3/1 (v/v/v) : 0.49

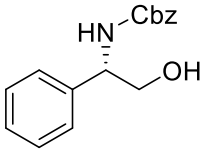


Benzyl (*S*)-(1-hydroxy-3-(1H-indol-3-yl)propan-2-yl)carbamate – 90b

Le composé **90b** (748 mg, 2.309 mmol) est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 78%, en suivant le protocole A, à partir du Nα-Carboxybenzyloxy-L-tryptophane (1 g, 2.955 mmol), après 1h, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/éthanol : 98/2 à 90/10). Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[213]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (s, 1H, NH), 7.66 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.43 – 7.28 (m, 6H, CH_{Ar}), 7.21 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.13 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.02 (s, 1H, CH_{Ar}), 5.09 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 5.05 (s, 1H, NH), 4.18 – 3.96 (m, 1H, CH), 3.63 (dd, *J* = 10.7, 5.4 Hz, 2H, CCH_2CH), 3.02 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH_2OH).

Rf 95/5 DCM/EtOH (v/v) : 0.44

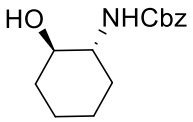


Benzyl (*R*)-(2-hydroxy-1-phenylethyl)carbamate – 86b

Le protocole est adapté des travaux de Sultane *et al*.[194] Le (*S*)-phénylglycinol (1 équiv., 1 g, 7.290 mmol) commercial est dissous dans du THF anhydre (2.7 ml/mmol), puis du $NaHCO_3$ (2 équiv.) est ajouté, suivi de CbzCl (1.2 équiv.) au goutte à goutte à 0°C. Un précipité blanc se forme et le mélange réactionnel est agité une nuit (16h) à température ambiante. Le milieu est concentré *in vacuo*, puis le solide résiduel est dissout dans un mélange eau milliQ/acétate d'éthyle (50/50, v/v) et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle (2 fois). La phase organique est lavée avec une solution d'HCl 1N (2 fois) puis avec de la saumure (2 fois), séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle 80/20 à 100%) pour obtenir le composé **86b** (1.88 g, 6.937 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 95%. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[194]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.53 – 7.16 (m, 10H, CH_{Ar}), 5.48 (s, 1H, NH), 5.11 (dd, *J* = 4.0, 20.0 Hz, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.93 – 4.80 (m, 1H, CH), 3.90 (m, 2H, CH_2OH), 2.04 (s, 1H, OH)

Rf Ether de pétrole/AcOEt 6/4 (v/v) : 0.44



Benzyl ((1R,2R)-2-hydroxycyclopentyl)carbamate – 94b

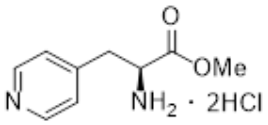
Le protocole est adapté des travaux de Luna et al.[193] Le chlorhydrate de (1*R*,2*R*)- trans-2-aminocyclohexanol (1 équiv., 2 g, 19.968 mmol) commercial est dissout dans de l'eau distillée (MilliQ) (1.7 mL/mmol), puis du K_2CO_3 (1.2 équiv.) est ajouté, suivi de CbzCl (1.2 équiv.) au goutte à goutte à 0°C. Un précipité blanc se forme et le mélange réactionnel est agité une nuit à température ambiante (16h). Du dichlorométhane est ajouté au milieu, les phases sont décantées et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 fois). Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées in vacuo. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir le composé **94b** (3.20 g, 11.747 mmol)

sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 89%. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[193]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.47 – 7.26 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.22 – 5.00 (m, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.79 (s, 1H, NH), 3.50 – 3.16 (m, 2H, CH_2), 2.92 (s, 1H, OH), 2.23 – 1.92 (m, 2H, CH_2), 1.79 – 1.60 (m, 2H, CH_2), 1.43 – 0.97 (m, 4H)

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 250.1437, Calculée pour $C_{14}H_{20}NO_3$: 250.1438 $(M+H)^+$.

Rf Ether de pétrole/AcOEt 5/5 (v/v) : 0.41

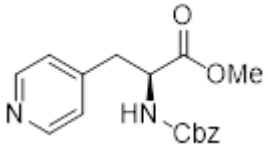


Dihydrochlorure de méthyl (*S*)-2-amino-3-(pyridin-4-yl)propanoate – 89a

Le protocole est adapté de travaux de Fernandez Diaz-Rullo *et al*.[197] Le dichlorure de 3-(4-pyridinyl-L-alanine) (1 équiv., 1.15g, 4.810 mmol) est mis en suspension dans le méthanol anhydre (8 mL/mmol) sous argon puis du $SOCl_2$ (3 équiv.) est ajouté au goutte à goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 48h à température ambiante. Le milieu est concentré, dilué dans un minimum de méthanol (2 mL/mmol) et précipité dans du diéthyléther (6 mL/mmol). Le solide est filtré sur fritté (porosité 3), rincé au diéthyléther (2x15mL) et le filtrat est concentré *in vacuo* pour obtenir le composé **89a** (1.14 g, 4.504 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 93%. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[197]

RMN ^{1}H (400 MHz, D_2O) δ 8.79 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_{Ar}), 8.07 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH_{Ar}), 4.70 (dd, *J* = 8.0, 6.6 Hz, 1H, CH), 3.81 (s, 3H, CH_3), 3.75 – 3.54 (m, 2H, CH_2).

Rf DCM/MeOH 9/1 (v/v) : 0.55



Méthyl (*S*)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(pyridin-3-yl)propanoate – 89b

89a (1 équiv., 1.09 g, 4.306 mmol) est mis en suspension dans de la pyridine anhydre (3 mL/mmol) et le milieu est agité 1h à température ambiante. Du CbzCl (5 équiv.) est ajouté au goutte à goutte à 0°C, puis le milieu réactionnel est agité 2 jours à température ambiante. Le milieu est concentré *in vacuo* et co-évaporé 3 fois au toluène. Le

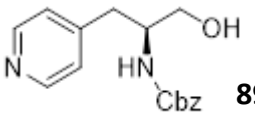
résidu est solubilisé dans un mélange d'une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$ et de diéthyl éther, un dégagement gazeux est observé et le pH augmente à 9. Les phases sont séparées puis la phase aqueuse est extraite 3 fois au diéthyl éther. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir le composé **89b** (893 mg, 2.841 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 66%.

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.48 (dd, *J* = 4.5, 1.5 Hz, 2H, $2CH_{pyr}$), 7.44 – 7.31 (m, 5H, $5CH_{Ar}$), 7.03 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, $2CH_{pyr}$), 5.35 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH), 5.09 (q, *J* = 12.2 Hz, 2H, OCH_2), 4.70 (dd, *J* = 13.7, 6.3 Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, CH_3), 3.11 (ddd, *J* = 75.4, 13.9, 6.0 Hz, 2H, CH_2)

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 171.5 (s,COOMe), 155.7 (s, CO_{Cbz}), 150.0 (s, $2CH_{pyr}$), 145.1 (s, C_{pyr}), 136.2 (s, C_{Cbz}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.5 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 124.7 (s, $2CH_{pyr}$), 67.3 (s, OCH_2), 54.2 (s, CH), 52.7 (s, OCH_3), 37.8 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 315.1343, Calculée pour : $C_{17}H_{19}N_2O_4$: 315.1339 $(M+H)^+$.

Rf IPA/H_2O/NH_4OH 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.79



Benzyl (S)-(1-hydroxy-3-(pyridin-3-yl)propan-2-yl)carbamate – 89c

89c (1 équiv., 100 mg, 0.318 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (2.5 mL/mmol) et du $NaBH_4$ (5 équiv.) est ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 30 minutes à 0°C, puis 1h à température ambiante. La réaction est arrêtée par addition lente, à 0°C, d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl jusqu'à la fin de l'effervescence. Le milieu réactionnel est agité 1h30 à 0°C. Le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle (3 fois), la phase organique est lavée à la saumure, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10) pour obtenir le composé **89b** (71 mg, 0.248 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 78%.

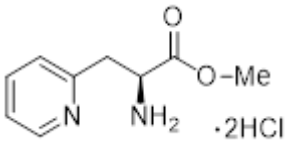
RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.47 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH_{pyr}), 7.41 – 7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.14 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H, CH_{pyr}), 5.13 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH), 5.06 (s, 2H, CH_2OH), 3.98 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H,

CHNH), 3.63 (ddd, *J* = 62.2, 10.8, 3.6 Hz, 2H, CH_2OH), 2.89 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH_2), 1.82 (s, 1H, OH).

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 156.3 (s, CO_{Cbz}), 150.0 (s, $2CH_{pyr}$), 147.3 (s, C_{pyr}), 136.4 (s, C_{Cbz}), 128.7 (s, CH_{pyr}), 128.4 (s, CH_{pyr}), 128.2 (s, CH_{pyr}), 124.8 (s, CH_{pyr}), 67.1 (s, $OCH_{2,Cbz}$), 63.6 (s, CH_2OH), 53.4 (s, CHNH), 36.9 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 287.1398, Calculée pour : $C_{16}H_{19}N_2O_3$: 287.1396 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.40



Méthyl (S)-2-amino-3-(pyridin-2-yl)propanoate – 87a

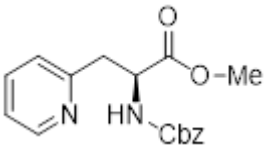
Le protocole est adapté des travaux de Chen *et al*.[196] Le *N*-Boc-3-(2-pyridinyl)-L-alanine (1 équiv., 200 mg, 0.751 mmol) est solubilisé dans le méthanol anhydre (8.5 mL/mmol) sous argon, du TMSCl (4.7 équiv.) est ajouté à 0°C sur 30 minutes. Le bain froid est retiré et le milieu réactionnel est agité 6h à température ambiante. De l'éther diéthylique anhydre est ajouté et la suspension est agitée 30 minutes puis filtrée. Le précipité est lavé 2 fois à l'éther diéthylique anhydre puis séché *in vacuo* pour obtenir **87a** (182 mg, 0.719 mmol) sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 96%.

RMN ^{1}H (500 MHz, DMSO) δ 9.03 (s, 3H, NH_3), 8.77 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, CH_{pyr}), 8.38 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.95 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.82 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H, CH_{pyr}), 4.67 (s, 1H, CH), 3.73 – 3.58 (m, *J* = 4.6 Hz, 2H, CH_2, CH_3).

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO) δ 168.5 (s, CO), 151.8 (s, C_{IV}), 144.0 (s, CH_{pyr}), 143.4 (s, CH_{pyr}), 127.32 (s, CH_{pyr}), 125.1 (s, CH_{pyr}), 53.1 (s, CH_3), 51.2 (s, CH), 33.8 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 181.0974, Calculée pour $C_9H_{13}N_2O_2$: 181.0972 $(M+H)^+$.

Rf IPA/H_2O/NH_4OH 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.79



Méthyl (S)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(pyridin-2-yl)propanoate – 87b

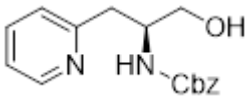
87a (1 équiv., 1.80 g, 7.111 mmol) est mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (6.7 mL/mmol) sous argon et de la DIPEA (3 équiv.) est ajoutée. Le milieu réactionnel est agité 1h à température ambiante, puis du CbzCl (1.2 équiv.) est ajouté au goutte à goutte à 0°C. Le mélange réactionnel est agité 17h à température ambiante puis concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/acétate d'éthyle : 100% à 50/50) pour obtenir le composé **87b** (2.11 g, 6.712 mmol) sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 95%.

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.47 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.60 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.37 – 7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.19 – 7.06 (m, 2H, CH_{pyr}), 6.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.10 (q, 2H, OCH_2), 4.83 – 4.69 (m, *J* = 8.4, 5.3 Hz, 1H, CH), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 3.33 (ddd, *J* = 19.5, 14.9, 5.2 Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 172.19 (s, COOMe), 157.0 (s, C_{pyr}), 156.2 (d, *J* = 101.2 Hz, CO_{Cbz}), 149.12 1s, CH_{pyr}), 136.9 (s, 4H, CHpyr), 136.5 (s, C_{Cbz}), 128.6 (s, CH_{Ar}), 128.3 (d, *J* = 46.0 Hz, CH_{Ar}), 123.9 (s, $2CH_{pyr}$), 122.1 (s, $2CH_{pyr}$), 67.0 (s, OCH_2), 53.5 (s, CH), 52.5 (s, OCH_3), 38.9 (s, 6H, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 315.1334, Calculée pour $C_{17}H_{19}N_2O_4$: 315.1339 $(M+H)^+$.

Rf DCM/AcOEt 8/2 (v/v) : 0.68



Benzyl (*S*)-(1-hydroxy-3-(pyridin-2-yl)propan-2-yl)carbamate – 87c

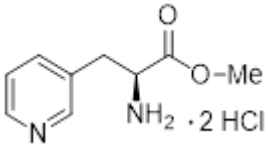
87b (1 équiv.) est solubilisé dans du méthanol anhydre (2.5 mL/mmol) sous argon puis du $NaBH_4$ (5 équiv.) est ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 30 minutes à 0°C puis 1h à température ambiante. La réaction est arrêtée par addition lente d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl jusqu'à la fin de l'effervescence. Le mélange est agité 1h30 puis concentré *in vacuo*. Le résidu est solubilisé dans de l'acétate d'éthyle et la phase organique est lavée à la saumure, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10) pour obtenir **87c** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 83%.

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.48 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.63 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.42 – 7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.26 – 7.10 (m, 2H, CH_{pyr}), 5.63 (s, 1H, NH), 5.07 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.08 (td, *J* = 8.0, 5.0 Hz, 1H, CH), 3.65 (ddd, *J* = 50.8, 11.6, 3.9 Hz, 2H, CH_2OH), 3.15 (ddd, *J* = 18.8, 13.9, 6.2 Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 157.9 (s, C_{pyr}), 156.3 (s, CO_{Cbz}), 148.8 (s, CH_{pyr}), 137.4 (s, CH_{pyr}), 136.6 (s, C_{Cbz}), 128.64 6 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 124.7 (s, CH_{pyr}), 122.0 (s, CH_{pyr}), 66.8 (s, $CH_{2,Cbz}$), 64.5 (s, CH_2OH), 52.4 (s, CH), 39.8 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 287.1396, Calculée pour $C_{16}H_{19}N_2O_3$: 287.1390 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 96/4 : 0.51



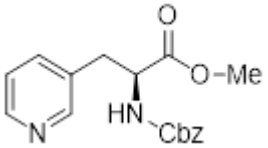
Méthyl (S)-2-amino-3-(pyridin-3-yl)propanoate dihydrochloride – 88a

Le protocole est adapté des travaux de Chen *et al*.[196] Le *N*-Boc-3-(2-pyridinyl)-L-alanine (1 équiv., 2.2 g, 8.261 mmol) est solubilisé dans le méthanol anhydre (1.2 mL/mmol) sous argon, du TMSCl (4.7 équiv.) est ajouté à 0°C sur 30 minutes. Le bain froid est retiré et le milieu réactionnel est agité 22h30 à température ambiante. De l'éther diéthylique anhydre (6.6 mL/mg) est ajouté et la suspension est agitée 30 minutes puis filtrée. Le précipité est lavé 2 fois à l'éther diéthylique anhydre puis séché *in vacuo* pour obtenir **88a** (1.95 g, 7.704 mmol) sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 93%.

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[196]

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO) δ 8.9 (d, *J* = 1.4 Hz, 3H, CH_{pyr}, NH_2), 8.8 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, CH_{pyr}), 8.5 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, CH_{pyr}), 8.0 (dd, *J* = 8.0, 5.7 Hz, 1H, CH_{pyr}), 4.5 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH), 3.7 (s, 1H, CH_3), 3.6 – 3.4 (m, 2H, CH_2)

Rf IPA/H_2O/NH_4 8/2/0.5 (v/v/v) : 0.63



Méthyl (*S*)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(pyridin-3-yl)propanoate – 88b

88a (1 equiv., 1.32 g, 8.498 mmol) est mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (6.7 mL/mmol) sous argon et de la DIPEA (3 équiv.) est ajoutée. Le

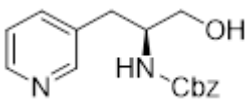
milieu réactionnel est agité 1h à température ambiante, puis du CbzCl (1.2 équiv.) est ajouté au goutte à goutte à 0°C. Le mélange réactionnel est agité 17h à température ambiante puis concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir le composé **88b** (1.84 g, 5.853 mmol) sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 71%.

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.49 (dd, *J* = 4.7, 1.5 Hz, 1H, CH_{pyr}), 8.37 (s, 1H, CH_{pyr}), 7.45 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.35 (dt, *J* = 16.7, 4.3 Hz, 5H, CH_{Ar}), 7.22 – 7.18 (m, 1H, CH_{pyr}), 5.35 (s, 1H, NH), 5.09 (s, 2H, CH_2Ph), 4.68 (dd, *J* = 13.4, 6.0 Hz, 1H, CH), 3.73 (s, 3H, CH_3), 3.13 (ddd, *J* = 62.7, 14.0, 5.5 Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C δ 171.54 (s, COOMe), 155.7 (s, COCbz), 150.4 (d, *J* = 11.9 Hz, CH_{pyr}), 148.6 (d, *J* = 11.4 Hz, CH_{pyr}), 137.1 (d, *J* = 12.7 Hz, CH_{pyr}), 136.2 (s, CCbz), 131.7 (s, C_{pyr}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.3 (s, CH_{Ar}), 123.6 (s, CH_{pyr}), 67.3 (s, CH_2Ph), 54.6 (s, CH), 52.7 (s, CH_3), 35.7 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 315.1335, Calculée pour $C_{17}H_{19}N_2O_4$: 315.1339 $(M+H)^+$.

Rf DCM/AcOEt 5/5 (v/v) : 0.51



Benzyl (*S*)-(1-hydroxy-3-(pyridin-3-yl)propan-2-yl)carbamate – 88c

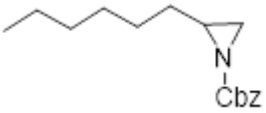
88b (1 équiv., 2.24g, 7.123 mmol) est dissout dans du méthanol anhydre (2.5 mL/mmol), puis du $NaBH_4$ (5 équiv.) est ajouté à 0°C. Le milieu réactionnel est agité 30 minutes à 0°C, puis 1h à température ambiante. La réaction est arrêtée par addition lente à 0°C d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl jusqu'à la fin de l'effervescence. Le milieu réactionnel est agité 1h30 à 0°C et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle (3 fois), la phase organique est lavée à la saumure, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. Le résidu est purifié sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10) pour obtenir le composé **88c** (2.04 g, 5.832 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 82%.

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.44 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, CH_{pyr}), 7.59 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.38 – 7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.23 (dd, *J* = 7.2, 5.1 Hz, 1H, CH_{pyr}), 5.28 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH), 5.06 (s, 2H, CH_2Ph), 3.99 – 3.85 (m, 1H, CH), 3.62 (ddd, *J* = 50.6, 10.9, 4.0 Hz, 2H, CH_2OH), 2.96 – 2.82 (m, 2H, CH_2)

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 156.4 (s, $C_{O,Cbz}$), 150.3 (s, CH_{pyr}), 147.8 (s, CH_{pyr}), 137.3 (s, CH_{pyr}), 136.4 (s, C_{Ar}), 133.8 (s, C_{pyr}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 123.8 (s, CH_{pyr}), 67.0 (s, $CH_{2,Cbz}$), 63.2 (s, CH_2OH), 53.8 (s, CH), 34.5 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 269.1290, Calculée pour $C_{16}H_{17}N_2O_2$: 269.1285 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.36



Benzyl 2-hexylaziridine-1-carboxylate – 91

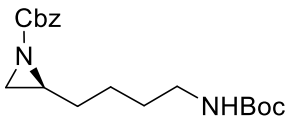
Le composé **91** (373 mg, 1.428 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile rose avec un rendement de 74%, en suivant le protocole C, à partir du composé **91c** (540 mg, 1.935 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/éther diéthylique : 100% à 50/50).

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H, CH_{Ar}), 7.32 (m, 1H, CH_{Ar}), 5.13 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 2.44 (m, 1H, CH_{Az}), 2.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.98 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.51 – 1.40 (m, 4H, $\underline{CH_2}CH$, CH_2), 1.39 – 1.31 (m, 2H, CH_2), 1.31 – 1.21 (m, 4H, $2CH_2$), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH_3)

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 163.7 (s, COOH), 136.2 (s, C_{Ar}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 68.2 (s, $CH_{2,Cbz}$), 38.6 (s, CH_{Az}), 32.3 (s, CH_2), 32.0 (s, $CH_{2,Az}$), 31.9 (s, CH_2), 29.0 (s, CH_2), 26.9 (s, CH_2), 22.7 (s, $\underline{CH_2}CH_3$), 14.2 (s, CH_3)

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 262.1801, Calculée pour $C_{16}H_{24}NO_2$: 262.1802 $(M+H)^+$.

Rf Ether de pétrole/Et_2O 9/1 (v/v) : 0.53



Benzyl (*S*)-2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)butyl)aziridine-1-carboxylate– 93

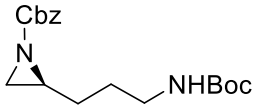
Le composé **93** (506 mg, 1.514 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 90%, en suivant le protocole B, à partir du composé **93b** (605 mg, 1.719 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante et une

purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/éthanol : 100% à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35 (s, 5H, CH_{Ar}), 5.11 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.51 (s, 1H, NH), 3.08 (s, 2H, $\underline{CH_2}NH$), 2.42 (s, 1H, CH_{Az}), 2.33 (s, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.98 (s, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.50 (s, 6H, CH_2), 1.43 (s, 9H, $CH_{3,Boc}$).

Rf Ether de pétrole/AcOEt 8/2 (v/v) : 0.36



Benzyl (*S*)-2-(3-((tert-butoxycarbonyl)amino)propyl)aziridine-1-carboxylate – 92

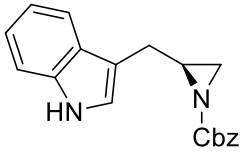
Le composé **92** (701 mg, 2.0.14 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 94%, en suivant le protocole B, à partir du composé **92b** (1.0 g, 2.251 mmol), après une nuit (16h) et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/isopropanol : 98/2 à 90/10)**.**

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 – 7.29 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.12 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 4.58 (s, 1H, NH), 3.24 – 3.06 (m, 2H, $\underline{CH_2}NH$), 2.48 – 2.41 (m, 1H, CH_{Az}), 2.35 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.99 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.73 – 1.62 (m, *J* = 14.4, 7.2 Hz, 2H, CH_2), 1.57 (m, 1H, $C\underline{H_2}CH_{Az}$), 1.53 – 1.39 (m, 10H, $C\underline{H_2}CH_{Az}$, $C(CH_3)_3$).

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 163.5 (s, CO_{Cbz}), 156.1 (s, CO_{Boc}), 136.0 (s, CAr), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.5 (s, CH_{Ar}), 128.3 (s, CH_{Ar}), 79.3 (s, C_{Boc}), 68.3 (s, $CH_{2,Cbz}$), 40.0 (s, $\underline{CH_2}NH$), 38 (s, CH_{Az}), 31.9 (s, $CH_{2,Az}$), 29.5 (s, $\underline{CH_2}CH_{Az}$), 28.6 (s, $(CH_3)_3$), 27.5 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 335.1964, Calculée pour $C_{18}H_{27}N_2O_4$: 335.1965 $(M+H)^+$

Rf Ether de pétrole/AcOEt 8/2 (v/v) : 0.29



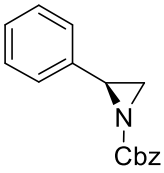
Benzyl (*S*)-2-((1H-indol-3-yl)méthyl)aziridine-1-carboxylate – 90

Le composé **90** (215 mg, 0.703 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile orange avec un rendement de 76%, en suivant le protocole C, à

partir du composé **90b** (300 mg, 0.925 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 90/10 à 100%). Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03 (s, 1H, NH), 7.58 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, C=CH), 7.40 – 7.27 (m, 6H, CH_{Ar}), 7.23 – 7.16 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.12 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.13 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 3.09 (dd, *J* = 15.2, 5.9 Hz, 1H, CHCH_2), 2.90 (dd, *J* = 15.3, 5.8 Hz, 1H, CHCH_2C), 2.82 (qd, *J* = 5.9, 3.7 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.40 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.14 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$).

Rf Ether de pétrole/AcOEt 7/3 (v/v) : 0.63



Benzyl (*S*)-2-phenylaziridine-1-carboxylate - 86

Le composé **86** (1.0 g, 3.948 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 72%, en suivant le protocole B, à partir du composé **86b** (1.48 g, 5.455 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 100% à 50/50).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.42 – 7.26 (m, 10H, CH_{Ar}), 5.16 (m, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 3.51 (dd, *J* = 6.3, 3.6 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.72 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.31 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$)

Rf Ether de pétrole/AcOEt 8/2 (v/v) : 0.56



Benzyl (1*R*,6*S*)-6-azabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate – 94

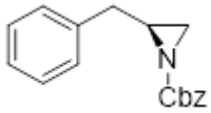
94b (3.6 g, 18.823 mmol) est dissout sous argon dans de l'éther diéthylique anhydre (15 mL/mmol) à température ambiante puis du chlorure de *para*-toluènesulfonyle (*p*-TsCl) (2.2 équiv.) est ajouté, suivi de l'addition de pastilles de KOH pilées (9 équiv.). Le réfrigérant est scellé par une garde à chlorure ($CaCl_2$) et le milieu est chauffé à 40°C et agité pendant 5h. Les solvants sont évaporés *in vacuo*, et le résidu est repris dans de l'acétate d'éthyle. Les sels sont filtrés et le filtrat concentré *in vacuo.* Le résidu est purifié par

chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 100% à 50/50) pour obtenir le composé **94** (3.0 g, 8.548 mmol) sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 74%.

Les données spectrales sont en accords avec la littérature.[214]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.46 – 7.26 (m, 5H, CH_{Ar}), 5.11 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 2.72 – 2.53 (m, 2H, $2CH_{Az}$), 2.01 – 1.88 (m, 2H, CH_2), 1.79 (dtdd, *J* = 8.8, 7.3, 5.0, 1.2 Hz, 2H, CH_2), 1.48 – 1.34 (m, 2H, CH_2), 1.31 – 1.17 (m, 2H, CH_2).

Rf Ether de pétrole/AcOEt 9/1 (v/v) : 0.43



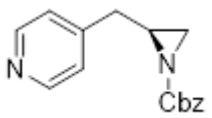
Benzyl (*S*)-2-benzylaziridine-1-carboxylate - 73

Le composé **73** (1.0 g, 3.989 mmol) a été obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 72%, en suivant la protocole B, à partir du *N*-Cbz L-phénylalanilol (1.5 g, 5.257 mmol), après une nuit (16h), et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther de pétrole/éther diéthylique : 100% à 50/50).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[215]

RMN ^{1}H δ 7.49 – 7.07 (m, 10H, CH_{Ar}), 5.12 (s, 2H, $\underline{CH_{2,Cbz}}$), 3.09 – 2.91 (m, 1H, CH_{Az}), 2.82 – 2.60 (m, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 2.49 – 2.33 (m, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.10 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$).

Rf Ether de pétrole/Et_2O 9/1 (v/v) : 0.45



Benzyl (*S*)-2-(pyridin-4-ylméthyl)aziridine-1-carboxylate - 89

Le composé **89** (496 mg, 1.849 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile noire avec un rendement de 96%, à partir du composé **89c** (554 mg, 1.935 mmol), en suivant le protocole C, après une nuit (16h) de réaction et une purification sur gel de silice par chromatographie flash (gradient chloroforme/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%).

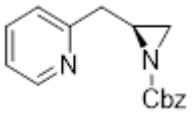
RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.50 (dd, *J* = 4.5, 1.5 Hz, 2H, CH_{pyr}), 7.40 – 7.32 (m, 3H, CH_{Ar}), 7.31 – 7.28 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.26 – 7.23 (m, 2H, CH_{pyr}), 5.21 – 5.00 (m, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 2.88 – 2.77 (m, 2H,

$CH_{2,Az}$), 2.72 (ddd, *J* = 10.3, 7.8, 4.6 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.44 (dd, *J* = 6.0, 0.9 Hz, 1H, CH_2), 2.10 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, CH_2)

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 163.2 (s, CO), 150.0 (s, CH_{pyr}), 146.9 (s, C_{pyr}), 135.7 (s, C_{Ar}), 128.8 (s, CH_{Ar}), 128.6 (s, CH_{Ar}), 128.3 (s, CH_{Ar}), 124.3 (s, CH_{pyr}), 68.5 (s, $CH_{2,Cbz}$), 37.7 (s, $CH_{2,Az}$), 37.3 (s, CH_{Az}), 31.5 (s, CH_2).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 269.1287, Calculée pour : $C_{16}H_{17}N_2O_3$: 269.1290 $(M+H)^+$.

Rf $CHCl_3$/AcOEt 6/4 (v/v) : 0.53



Benzyl (*S*)-2-(pyridin-2-ylméthyl)aziridine-1-carboxylate - 87

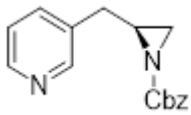
Le composé **87** (67 mg, 0.250 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile brune avec un rendement de 73%, en suivant le protocole B, à partir de **87c** (100 mg, 0.349 mmol), après une nuit, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther diéthylique/acétate d'éthyle : 100% à 50/50).

RMN ^{1}H (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.55 – 8.48 (m, 1H, CH_{pyr}), 7.59 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.37 – 7.30 (m, 4H, CH_{Ar}), 7.30 – 7.25 (m, 2H, CH_{Ar}, CH_{pyr}), 7.17 – 7.11 (m, 1H, CH_{pyr}), 5.09 (s, 2H, $CH_{2,Cbz}$), 3.00 (ddd, *J* = 20.2, 14.7, 6.1 Hz, 2H, CH_2), 2.89 (ddd, *J* = 6.0, 4.3, 2.4 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.44 (dd, *J* = 6.1, 1.1 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.19 – 2.10 (m, 1H, $CH_{2,Az}$).

RMN ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 163.3 (s, CO_{Az}), 158.1 (s, C_{pyr}), 149.5 (s, CH_{pyr}), 136.6 (s, C_{Ar}), 135.82 (s, CH_{pyr}), 128.6 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 123.5 (s, CH_{pyr}), 121.8 (s, CH_{pyr}), 68.2 (s, $CH_{2,Cbz}$), 40.9 (s, CH_2), 37.56 (s, CH_{Az}), 31.8 (s, $CH_{2,Az}$).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 269.1398, Calculée pour $C_{16}H_{17}N_2O_2$: 269.1390 $(M+H)^+$.

Rf Ether diéthylique/acétate d'éthyle 8/2 (v/v) : 0.61



Benzyl (*S*)-2-(pyridin-3-ylméthyl)aziridine-1-carboxylate – 88

Le composé **88** (50 mg, 0.1 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 59%, en suivant le protocole B, à partir de **88c** (90 mg, 0.314

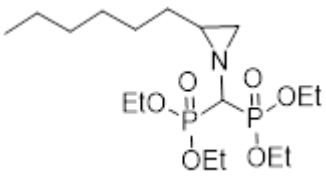
mmol), après 17h à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient chloroforme/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%).

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.55 – 8.41 (m, 2H, CH_{pyr}), 7.67 (ddd, *J* = 7.8, 2.2, 1.7 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.41 – 7.32 (m, 3H, CH_{Ar}), 7.30 – 7.27 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.21 (ddd, *J* = 7.8, 4.8, 0.7 Hz, 1H, CH_{pyr}), 5.15 – 5.05 (m, 2H, OCH_2), 2.83 (dd, *J* = 5.9, 3.0 Hz, 2H, CH_2), 2.75 – 2.65 (m, 1H, CH_{Az}), 2.41 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.09 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$)

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 163.2 (s, CO), 150.3 (s, CH_{pyr}), 148.3 (s), 136.6 (s, CH_{pyr}), 135.7 (s, CH_{pyr}), 133.2 (s, C_{pyr}), 128.7 (s, C_{Cbz}), 128.5 (s, CH_{Ar}), 128.2 (s, CH_{Ar}), 123.5 (s, CH_{Ar}), 68.4 (s, OCH_2), 38.0 (s, CH_{Az}), 35.5 (s, CH_2), 31.5 (s, $CH_{2,Az}$)

HMRS Q-TOF ESI+ Mesurée : 269.1293, Calculée pour $C_{16}H_{17}N_2O_2$: 269.1285 $(M+H)^+$.

Rf $CHCl_3$/AcOEt 7/3 (v/v) : 0.27



Tétraéthyl ((2-hexylaziridin-1-yl)méthylène)bis(phosphonate) – 99

Le composé **99** (282 mg, 0.682 mmol) a été obtenu avec un rendement de 47%, en suivant le protocole C, à partir du composé **91** (375 mg, 1.436 mmol), sous la forme d'une huile jaune, après 3h à température ambiante et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 100% à 90/10).

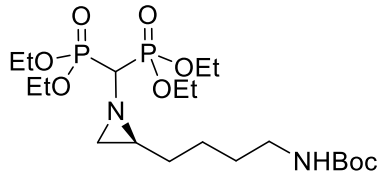
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.32 – 4.08 (m, 8H, $CH_{2,Cbz}$), 2.34 (t, *J* = 18.2 Hz, 1H, PCHP), 1.88 – 1.79 (m, 1H, CH_2), 1.80 – 1.72 (m, 2H, CH_{Az}, $CH_{2,Az}$), 1.64 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.35 (m, 12H, CH_3), 1.24 (qdd, *J* = 7.9, 6.6, 4.3 Hz, 6H, CH_2, $\underline{CH_2}CH_3$), 1.20 – 1.08 (m, 1H, CH_2), 0.85 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 65.1 (t, *J* = 150.5 Hz, PCHP), 63.4 – 62.7 (m, $4CH_3$), 42.47 (d, *J* = 14.5 Hz, $CH_{,Az}$), 36.6 (d, *J* = 15.0 Hz, $CH_{2,Az}$), 32.7 (s, CH_2), 31.9 (s, CH_2), 29.3 (s, CH_2), 26.7 (s, CH_2), 22.7 (s, $\underline{CH_2}CH_3$), 16.7 – 16.5 (m, CH_3, CH_2), 14.2 (s, $\underline{CH_3}(CH_2)_5$).

RMN ^{31}P (202 MHz, $CDCl_3$) δ 18.2 (dd, *J* = 51.2, 4.3 Hz, 2P).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 414.2168, Calculée pour $C_{17}H_{38}NO_6P2$: 414.2169 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 98/2 (v/v): 0.27



***tert*-butyl (*S*)-(4-(1-(bis(diethoxyphosphoryl)methyl)aziridin-2-yl)butyl)carbamate – 101**

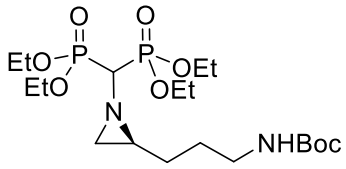
Le composé **101** (131 mg, 0.270 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 31%, en suivant le protocole C, à partir du composé **93** (300 mg, 0.862 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante et une purification sur gel de silice par chromatographie flash (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.72 (s, 1H, NH), 4.36 – 4.10 (m, 8H, $\underline{CH_2}CH_3$), 3.11 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, $NH\underline{CH_2}$), 2.34 (t, *J* = 18.2 Hz, 1H, PCHP), 1.86 – 1.80 (m, 1H, CH_{Az}), 1.79 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.66 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.55 – 1.45 (m, 4H, $2CH_2$), 1.43 (s, 9H, $CH_{3,Boc}$), 1.36 (dd, *J* = 13.2, 6.8 Hz, 12H, $CH_2\underline{CH_3}$).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.0 (dd, *J* = 25.6, 3.0 Hz, 2P).

Rf 95/5 DCM/EtOH (v/v) : 0.57



***tert*-butyl (*S*)-(3-(1-(bis(diethoxyphosphoryl)methyl)aziridin-2-yl)propyl)carbamate - 100**

Le composé **100** (600 mg, 1.281 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 19%, en suivant le protocole C, à partir du composé **92** (550 mg, 1.645 mmol), après une 3h à température ambiante et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10)**.**

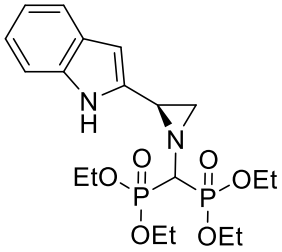
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 4.69 (s, 1H, NH), 4.35 – 4.10 (m, 8H, $\underline{CH_2}CH_3$), 3.12 (q, *J* = 12.8, 6.5 Hz, 2H, $\underline{CH_2}NH$), 2.34 (t, *J* = 18.2 Hz, 1H, PCHP), 1.86 – 1.70 (m, 4H, CH_{Az}, $CH_{2,Az}$, $\underline{CH_2}CH$), 1.67 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.59 (s, 2H, $NHCH_2\underline{CH_2}$), 1.42 (s, 9H, $CH_{3,Boc}$), 1.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 12H, $CH_2\underline{CH_3}$)

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 156.1 (s, CO_{Boc}), 79.1 (s, C_{Boc}), 65.0 (t, 1C, PCHP), 63.3 (t, OCH_2), 63.1 (d, OCH_2) 41.7 (d, 1C, CH_{Az}), 40.5 (s, 1C, CH_2NH), 36.5 (d, 1C, $CH_{2,Az}$), 30.0 (s, 1C, $\underline{CH_2}CH$), 28.5 (s, $CH_{3,Boc}$), 27.0 (s, $NHCH_2\underline{CH_2}$), 16.6 (t, CH_2CH_3)

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.2 (d, *J* = 8.1 Hz, 2P)

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 487.2340, Calculée pour $C_{19}H_{41}N_2O_8P_2$: 487.2346 $(M+H)^+$

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.43



Tétraéthyl ((2-((1H-indol-3-yl)méthyl)aziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) – 98

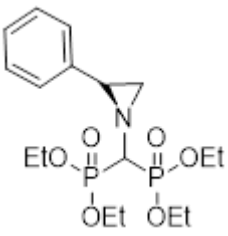
Le composé **98** (910 mg, 2.974 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 38%, en suivant le protocole C, à partir du composé **90** (1.31 g, 4.044 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/éthanol : 98/2 à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.16 (s, 1H, NH), 7.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.36 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.18 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.04 (s, 1H, $NH\underline{CH_{Ar}}C$), 4.37 – 4.11 (m, 8H, $\underline{CH_2}CH_3$), 3.51 (dd, *J* = 14.8, 3.2 Hz, 1H, CH_2), 2.52 (dd, *J* = 14.8, 8.8 Hz, 1H, CH_2), 2.43 (t, *J* = 18.2 Hz, 1H, PCHP), 2.16 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, CH_{Az}), 1.96 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.73 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.36 (dt, *J* = 7.1, 5.2 Hz, 12H, $CH_2\underline{CH_3}$)

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.3 (s, 2P)

Rf Dichlorométhane/IPA 95/5 (v/v) : 0.43



Tétraéthyl ((2-phenylaziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) - 95

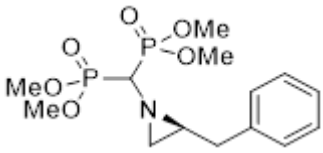
Le composé **95** (750 mg, 1.850 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 47%, en suivant le protocole C, à partir du composé **86** (985 mg, 3.889 mmol), après 1h à température ambiante

et une purification sur gel de silice par chromatographie flash (gradient dichlorométhane/isopropanol : 98/2 à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.28 (m, 4H, CH_{Ar}), 7.24 – 7.18 (m, 1H, CH_{Ar}), 4.30 (m, 4H, $\underline{CH_2}CH_3$), 4.21 – 4.11 (m, 1H, $\underline{CH_2}CH_3$), 4.09 – 3.98 (m, 3H, $\underline{CH_2}CH_3$), 2.84 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.60 (t, *J* = 18.0 Hz, 1H, PCHP), 2.19 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.14 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.39 (td, *J* = 7.1, 4.2 Hz, 6H, $CH_2\underline{CH_3}$), 1.24 – 1.11 (m, 6H, $CH_2\underline{CH_3}$)

Rf Dichlorométhane/IPA 95/5 (v/v) : 0.45



Tétraméthyl ((2-benzylaziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) - 75

Le composé **75** (66 mg, 0.182 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 24%, en suivant le protocole C, à partir du composé **73** (200 mg, 0.749 mmol), après 1h à 55°C, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol 100% à 90/10).

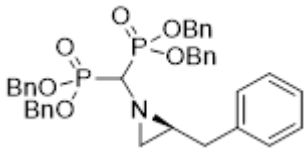
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 – 7.09 (m, 5H, CH_{Ar}), 3.96 – 3.74 (m, 12H, OCH_3), 3.25 (dd, *J* = 14.2, 4.0 Hz, 1H, CH_2), 2.51 – 2.37 (m, 2H, PCHP, CH_2), 2.09 – 2.01 (m, 1H, CH_{Az}), 1.95 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.72 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$).

RMN ^{13}C ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 138.7 (s, C_{Ar}), 129.1 (s, CH_{Ar}), 128.5 (s, CH_{Ar}), 126.5 (s, CH_{Ar}), 64.2 (t, *J* = 151.0 Hz, PCHP), 53.8 (dt, *J* = 13.6, 6.6 Hz, OCH_3), 43.3 (d, *J* = 13.7 Hz, CH_{Az}), 38.9 (s, CH_2), 36.5 (d, *J* = 14.1 Hz, $CH_{2,Az}$).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 20.2 (q, *J* = 4.1 Hz, 2P).

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 364.1086, Calculée pour $C_{14}H_{24}NO_6P2$: 364.1079 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 98/2 (v/v): 0.27



Tétrabenzyl ((2-benzylaziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) - 30

Le composé **30** (220 mg, 0.330 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 50%, en suivant le protocole C, à partir du composé **73** (200 mg, 0.749 mmol), après 1h30 à température ambiante puis 2h à 55°C, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10).

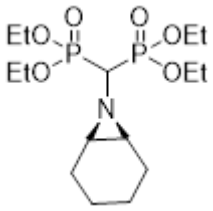
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.38 – 7.24 (m, *J* = 50.4 Hz, 20H, H_{Ar}), 7.21 – 7.10 (m, *J* = 46.9 Hz, 3H, H_{Ar}), 6.99 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H, H_{Ar}), 4.99 (s, 8H, $O\underline{CH_2}CH_3$), 3.14 (dd, *J* = 14.0 Hz, 3.5 Hz, 1H, CH_2Ph), 2.53 (t, *J* = 18.1 Hz, 1H PCHP), 2.31 (dd, *J* = 14.0 Hz, 8.6 Hz, 1H, CH_2Ph), 2.00 – 1.93 (m, ILG-1H, CH_{Az}), 1.84 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.63 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ = 157.4 (s, C_{Ar}) 137.2 (s, C_{Ar}), 131.55 (s, CH_{Ar}), 129.79 (s, CH_{Ar}), 128.60 (s, CH_{Ar}), 127.94 (s, CH_{Ar}), 127.48 (s, CH_{Ar}), 114.80 (s, CH_{Ar}), 68.7 (m, 4C, OCH_2), 65.6 (t, *J* = 150.3 Hz, 1C, PCHP), 43.2 (d, *J* = 15.0 Hz, CH_{Az}), 38.8 (s, CH_2Ph), 36.5 (d, *J*=15.4 Hz, $CH_{2,Az}$).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.6 (dd, *J* = 11.4, 4.3 Hz)

HRMS Q-TOF ESI + Mesurée : 668.2328, Calculée pour $C_{39}H_{36}N_5O_2P_2$: 668.2339 $(M+H)^+$.

Rf Ether de pétrole/AcOEt 6/4 (v/v) : 0.35



Tétraéthyl (((1R,6S)-6-azabicyclo[3.1.0]hexan-6-yl)méthylène)bis(phosphonate) - 102

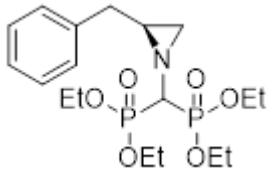
Le composé **102** (750 mg, 1.850 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 47%, en suivant le protocole C, à partir du composé **94** (985 mg, 3.889 mmol), après 2h à 55°C, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400MHz, CDCl3) δ 4.36 – 4.10 (m, 8H, CH_2CH_3), 2.39 (t, *J* = 18.0 Hz, 1H, PCHP), 1.87 – 1.93 (m, 4H, CH_2, CH_{Az}), 1.67 – 1.80 (m, 3H, CH_2, CH_2), 1.35 (q, *J* = 11.6, 6.9 Hz, 13H, $CH_2\underline{CH_3}$, CH_2), 1.22 – 1.08 (m, 2H, $2CH_2$).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.35 (s, 2P)

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.58



Tétraéthyl ((2-benzylaziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) - 74

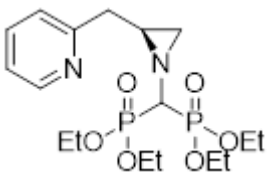
Le composé **74** (133 mg, 0.317 mmol) a été obtenu sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 53%, en suivant la protocole C, à partir du composé **73** (200 mg, 0.749 mmol), après une nuit (16h) à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol 98/2 à 90/10).

Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[110]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31 – 7.16 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.35 – 4.12 (m, 8H, $\underline{CH_2}CH_3$), 3.32 (dd, *J* = 14.1, 3.5 Hz, 1H, CH_2Ph), 2.49 – 2.26 (m, 2H, PCHP, CH_2Ph), 2.10 – 1.99 (m, 1H, CH_{Az}), 1.92 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.70 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 1.44 – 1.28 (m, 12H, $CH_2\underline{CH_3}$).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.0 (q, *J* = 3.8 Hz, 2P).

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v): 0.28



Tétraéthyl ((2-(pyridin-2-ylméthyl)aziridin-1-yl)méthylène)(*S*)-bis(phosphonate) - 96

Le composé **96** (44 mg, 0.106 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 32%, en suivant le protocole C, à partir de **87** (88 mg, 0.328 mmol), après 2h à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient dichlorométhane/méthanol : 98/2 à 90/10).

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.52 (ddd, *J* = 4.9, 1.8, 0.9 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.59 (td, *J* = 7.7, 1.9 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.20 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.15 – 7.10 (m, 1H, CH_{pyr}), 4.34 – 4.07 (m, 8H, CH_2CH_3),

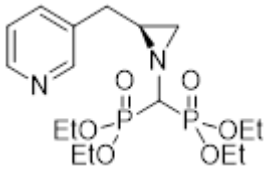
3.46 (dd, *J* = 14.3, 3.9 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.63 (dd, *J* = 14.3, 8.3 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.42 (t, *J* = 18.1 Hz, 1H, PCHP), 2.28 – 2.12 (m, 1H, CH_{Az}), 1.97 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, CH_2), 1.77 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H, CH_2), 1.42 – 1.29 (m, 13H, $CH_2\underline{CH_3}$).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 159.0 (s, C_{pyr}), 149.4 (s, CH_{pyr}), 136.7 (s, CH_{pyr}), 123.7 (s, CH_{pyr}), 121.6 (s, CH_{pyr}), 64.9 (t, *J* = 150.5 Hz, PCHP), 63.3 (t, *J* = 7.2 Hz, $\underline{CH_2}CH_3$), 63.1 (d, *J* = 6.3 Hz, $\underline{CH_2}CH_3$), 41.7 (d, *J* = 14.4 Hz, $CH_{2,Az}$), 41.2 (s, CH_{Az}), 36.4 (d, *J* = 14.4 Hz, CH_2), 16.7 (s, CH_3), 16.6 (s, CH_3).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.1 (dd, *J* = 8.3, 3.8 Hz, PCHP)

HRMS Q-TOF ESI+ Mesurée : 421.1645, Calculée pour $C_{17}H_{31}N_2O_2P_2$: 421.1652 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.30



Tétraéthyl ((2-(pyridin-3-ylméthyl)aziridin-1-yl)methylene)(*S*)-bis(phosphonate) - **97**

Le composé **97** (56 mg, 0.133 mmol) est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 36%, en suivant le protocole C, à partir de **88** (100 mg, 0.373 mmol), après 1h à température ambiante, et une purification par chromatographie flash sur gel de silice (gradient éther diéthylique/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%).

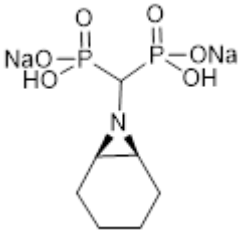
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.54 – 8.38 (m, 2H, CH_{pyr}), 7.56 (dt, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H, CH_{pyr}), 7.21 (ddd, *J* = 7.8, 4.8, 0.8 Hz, 1H, CH_{pyr}), 4.38 – 4.05 (m, 8H, CH_2Ph), 3.23 (dd, *J* = 14.4, 4.0 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.53 (dd, *J* = 14.4, 7.8 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.40 (t, *J* = 18.1 Hz, 1H, PCHP), 2.12 – 2.02 (m, 1H, CH_{Az}), 1.88 (s, *J* = 3.8 Hz, 1H, CH_2), 1.72 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH_2), 1.44 – 1.31 (m, 12H, CH_3).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 150.4 (s, CH_{pyr}), 148.0 (s, CH_{pyr}), 136.8 (s, CH_{pyr}), 134.0 (s, C_{pyr}), 123.4 (s, CH_{pyr}), 64.7 (t, *J* = 150.7 Hz, PCHP), 63.4 (dd, *J* = 11.4, 6.7 Hz, CH_2), 63.1 (t, *J* = 5.7 Hz, CH_2), 42.2 (d, *J* = 14.9 Hz, CH_{Az}), 35.9 (s, $CH_{2,Az}$), 35.8 (s, $CH_{2,Az}$), 19.3 – 14.8 (m, CH_3).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 18.0 (d, *J* = 30.0 Hz, 2P).

HMRS Q-TOF ESI+ Mesurée : 421.1641, Calculée pour $C_{17}H_{31}N_2O_2P_2$: 421.1652 $(M+H)^+$.

Rf DCM/MeOH 95/5 (v/v) : 0.30



Sodium-(((1*R*,6*S*)-7-azabicyclo[4.1.0]heptan-7-yl)méthylène) bis(hydrogen phosphonate) – 104

Le composé **102** (1 equiv., 150 mg, 0.391 mmol) est solubilisé dans de l'acétonitrile anhydre (1.5 mL/50 mg) à température ambiante puis du TMSBr (40 équiv.) est ajouté au goutte à goutte, suivi de la Et_3N (2 équiv.). Le ballon de réaction est scellé par une garde à chlorure ($CaCl_2$) et le milieu réactionnel est agité dans un bain thermostaté à 35°C pendant 2 jours. La réaction est arrêtée par ajout de MeOH et agitée pendant 35 minutes à température ambiante. Le milieu est co-évaporé trois fois à l'acétonitrile puis concentré *in vacuo*. Le résidu est mis en suspension dans une solution de $NaClO_4$ (0.5M/acétone) (4 équiv.) puis agité 30 minutes à température ambiante. La suspension est centrifugée (1 minute à 1100 tours/minute), le surnageant retiré et le précipité mis au lyophilisateur. Le précipité est purifié sur phase inverse (RP18) dans un gradient H_2O milliQ/MeOH (100% H_2O à 100% MeOH), les fractions sont rassemblées puis lyophilisées. Le lyophilisat est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échangeuse d'ion Dowex Et_3NH^+ puis agité 1h, filtré et lyophilisé. Le résidu est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échange d'ions Dowex Na^+, agité 1h puis filtré et le filtrat est lyophilisé. Le composé **104** (19 mg, 0.053 mmol) est obtenu sous la forme d'un lyophilisat blanc avec un rendement de 10%

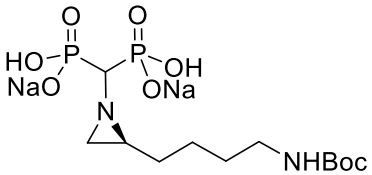
RMN ^{1}H (500 MHz, D_2O) δ 3.70 (m, 2H, CH_{Az}, PCHP), 3.37 (td, *J* = 11.8, 4.0 Hz, 1H, CH_{Az}), 2.31 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H, CHC$\underline{H_2}$), 2.09 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CHC$\underline{H_2}$), 1.82 (dd, *J* = 34.4, 7.6 Hz, 2H, CH_2), 1.54 – 1.20 (m, 4H, CHC$\underline{H_2}$, CH_2).

RMN ^{13}C (126 MHz, D_2O) δ 70.6 (s, CH_{Az}), 65.4 (s, CH_{Az}), 52.9 (t, *J* = 121.7 Hz, PCHP), 33.4 (s, $\underline{C}HCH_2$), 26.4 (s, $\underline{C}HCH_2$), 23.6 (s, CH_2), 23.3 (s, CH_2).

RMN ^{31}P (202 MHz, D_2O) δ 7.1 (d, *J* = 99.0 Hz, 2P)

HRMS Q-TOF ESI- Mesurée : 270.0305, Calculée pour $C_7H_{14}NO_6P_2$: 270.0302 $(M-H)^-$.

Rf IPA/H_2O/NH_4OH 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.05



Sodium (*R*)-((2-(4-aminobutyl)aziridin-1-yl)méthylène) bis(hydrogen phosphonate) - 105

Le composé **101** (1 équiv., 124 mg, 0.255 mmol) est solubilisé dans de l'acétonitrile anhydre (1.5 mL/50 mg) à température ambiante. Le TMSBr (40 équiv.) est ajouté au goutte à goutte suivi de Et_3N (2 équiv.). Le ballon de réaction est scellé par une garde à chlorure ($CaCl_2$) et le milieu réactionnel est agité dans un bain thermostaté à 35°C pendant 2 jours. La réaction est arrêtée par ajout de MeOH et agitée pendant 35 minutes à température ambiante. Le milieu est co-évaporé trois fois à l'acétonitrile puis concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié sur phase inverse (RP18) dans un gradient H_2OmilliQ/MeOH (100% H_2O à 100% MeOH) et lyophilisé. Le lyophilisat est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échange d'ions Dowex Et_3NH^+ puis agité 1h, filtré, et le filtrat est lyophilisé. Le résidu est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échangeuse d'ion Dowex Na^+, filtré et le filtrat est lyophilisé. Le composé **105** (12 mg, 0.029 mmol) est obtenu sous la forme d'un lyophilisat blanc avec un rendement de 11%.

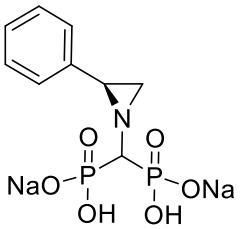
RMN ^{1}H (500 MHz, D_2O) δ 4.31 (s, 1H, CH_{Az}), 3.95 – 3.74 (m, 1H, $CH_{2,Az}$), 3.62 – 3.48 (m, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.92 (s, 2H, CH_2), 1.89 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, CH_2), 1.70 – 1.56 (m, 4H, CH_2, PCHP), 1.47 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (126 MHz, D_2O) δ 53.4 (s, $CH_{2,Az}$), 49.6 (s, CH_{Az}), 39.0 (d, *J* = 18.1 Hz, CH_2), 34.6 (s, CH_2), 31.0 (t, *J* = 278.1 Hz, PCHP), 25.8 (s, CH_2), 23.3 (s, CH_2).

RMN ^{31}P (202 MHz, D_2O) δ 7.4 (s, 2P).

HMRS Q-TOF ESI- Mesurée : 287.0564, Calculée pour $C_7H_{17}N2O_6P_2$: 287.0562 $(M-H)^-$.

Rf IPA/H_2O/NH_4OH 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.05



Sodium (*S*)-((2-phenylaziridin-1-yl)methylène)bis(hydrogen phosphonate) – 103

Le composé **95** (1 équiv., 215 mg, 0.530) est solubilisé dans de l'acétonitrile anhydre (1.5 mL/50 mg) à température ambiante. Le TMSBr (40 équiv.) est ajouté au goutte à gouttes suivi de Et_3N (2 équiv.). Le ballon de réaction est scellé par une garde à chlorure ($CaCl_2$) et le milieu réactionnel est agité dans un bain thermostaté à 35°C pendant 2 jours. La réaction est arrêtée par ajout de MeOH et agitée

pendant 35 minutes à température ambiante. Le milieu est co-évaporé trois fois à l'acétonitrile puis concentré *in vacuo*. Le résidu est purifié sur phase inverse (RP18) dans un gradient H_2OmilliQ/MeOH (100% H_2O à 100% MeOH) et lyophilisé. Le lyophilisat est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échange d'ions Dowex Et_3NH^+ puis agité 1h, filtré, et le filtrat est lyophilisé. Le résidu est solubilisé dans de l'H_2O milliQ en présence de résine échangeuse d'ion Dowex Na^+, filtré et le filtrat est lyophilisé. Le composé **103** (18 mg, 0.053 mmol) est obtenu sous la forme d'un lyophilisat blanc avec un rendement de 11%.

RMN ^{1}H (500 MHz, D_2O) δ 7.49 – 7.19 (m, 5H, CH_{Ar}), 4.98 (dd, *J* = 10.0, 3.1 Hz, 1H, CH_{Az}), 3.60 (dd, *J* = 12.8, 3.2 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 3.42 (dd, *J* = 12.6, 10.2 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 3.30 (t, *J* = 17.0 Hz, 1H, PCHP).

RMN ^{13}C (126 MHz, D_2O) δ 139.2 (s, C_{Ar}), 128.9 (s, CH_{Ar}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 126.0 (s, CH_{Ar}), 68.7 (s, CH_{Az}), 55.4 (s, $CH_{2,Az}$), 54.5 (t, *J* = 115.9 Hz, PCHP).

RMN ^{31}P (202 MHz, D_2O) δ 6.9 (d, *J* = 17.9 Hz, 2P)

HMRS Q-TOF ESI- Mesurée : 292.0140, Calculée pour $C_9H_{12}NO_6P_2$: 421292.0140 $(M-H)^-$.

Rf IPA/H_2O/NH_4OH 9/1/0.5 (v/v/v) : 0.05

Chapitre III

-

Synthèse d’aziridines N-méthylène phosphonates

Chapitre III : Synthèse d'aziridines N-méthylène phosphonates

I. Introduction

Comme introduit dans le chapitre précédent, la synthèse d'aziridine-2-phosphonates[166,216] est particulièrement intéressante puisque leur ouverture permet notamment l'obtention d'α- ou β-amino-phosphonates comme analogues d'acides aminés (**Figure 37**).[217] En revanche, la synthèse d'aziridine α-amino-méthylène-phosphonates, objet de ce chapitre, a uniquement été décrite par Stevens *et al.*[218] via une cyclisation intramoléculaire de γ-halogèno-β-amino-phosphonates (**Schéma 83**). Sheika *et al.*[219] ont ensuite étendu cette approche à l'obtention d'une série d'acyclo-nucléosides phosphonates (ANPs) en tant que potentiels antiviraux.

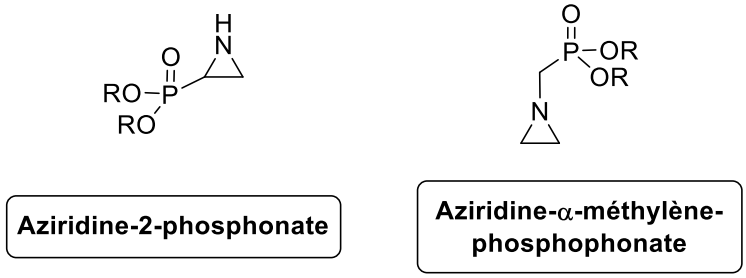


Figure 37 – Structure générale des aziridines mono-phosphophonate

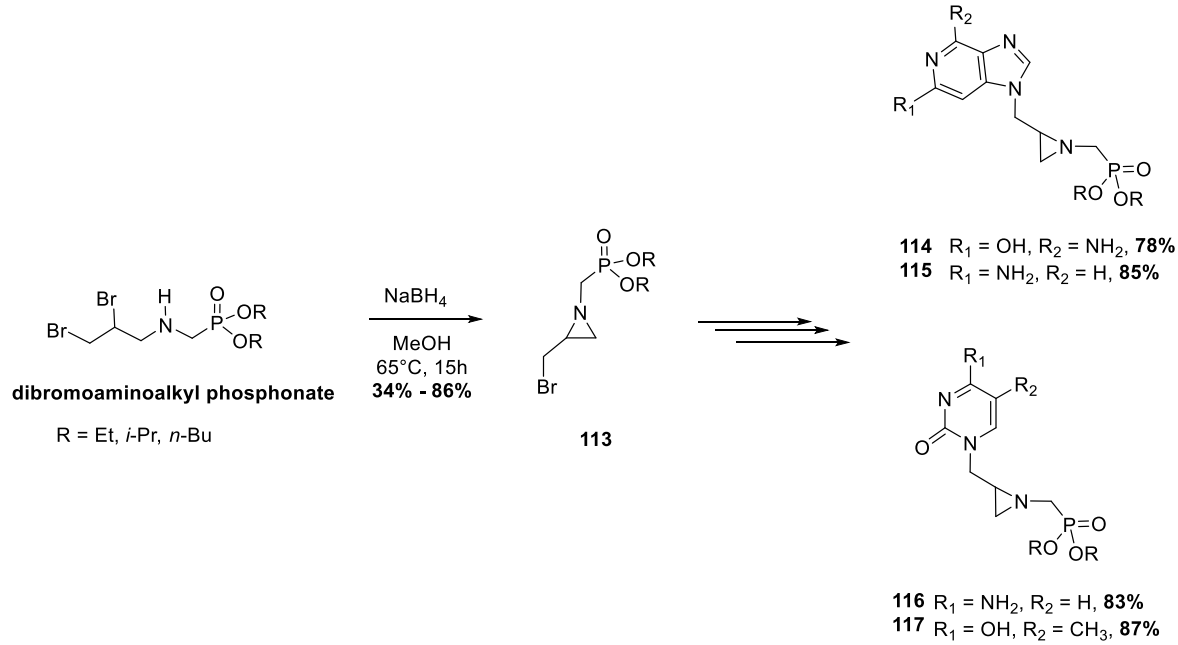


Schéma 83 - Synthèse de l'aziridine α-amino-méthylène-phosphonates **113**[218] suivi de sa fonctionnalisation pour la synthèse des ANPs **114-117**[219]

Dans le cadre de la thèse du Dr. Thomas Cheviet, nous avons décrit une nouvelle réaction pour la synthèse d'aziridines α-méthylène-*gem*-bisphosphonates à partir d'aziridines *N*-carbamates en présence de DEP et de LiHMDS.[110,168] De façon fortuite, nous avons observé que le remplacement du LiHMDs par du *n*-Butyllithium (*n*-BuLi) conduit à la formation d'un autre produit, identifié comme une aziridine *N*-méthylène phosphonate (AzmonoP) (**Schéma 84**).

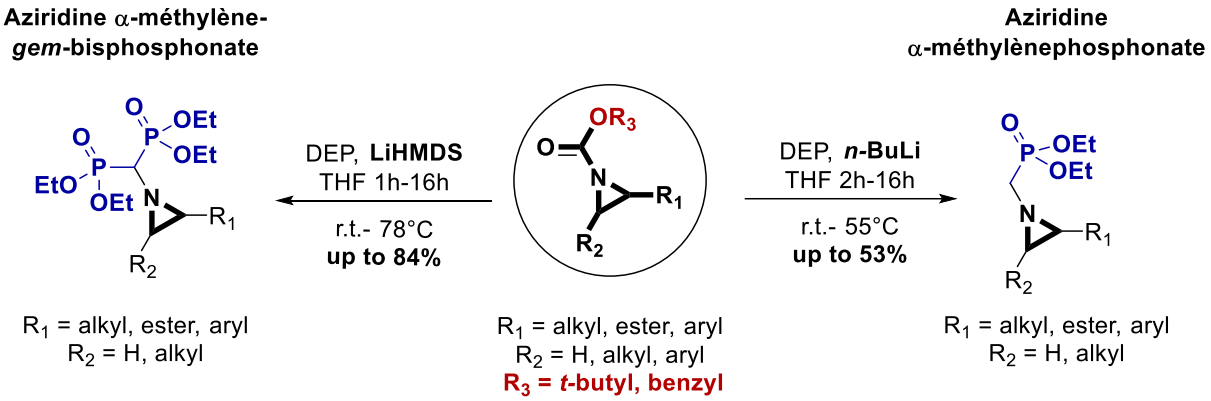


Schéma 84 – Obtention d'aziridines α-méthylène-*gem*-bisphosphonates ou d'aziridines α-méthylène-*gem*-bisphosphonates en fonction de la base lithiée utilisée

L'étude du scope de la réaction, le suivi réactionnel par RMN ^{31}P ainsi que l'isolement et la caractérisation de produits secondaires nous ont permis de proposer un mécanisme réactionnel. Les résultats présentés dans ce chapitre rassemblent les travaux initiés par le Dr. Thomas Cheviet[168] et ceux que j'ai entrepris au cours de ma thèse pour apporter de nouveaux éléments de réponses. L'ensemble de ces données a fait l'objet d'une publication en 2022.[220]

II. Caractérisation RMN

L'AzmonoP **118** a été identifié et caractérisé par RMN (^{1}H, ^{13}C, ^{31}P, COSY ^{1}H -^{1}H, HSQC ^{1}H-^{13}C, HMBC ^{1}H-^{13}C) et HRMS. La RMN ^{31}P du produit est caractérisée par un unique singulet à 17 ppm, différent du doublet observé pour les AzbisPs significative de la présence d'un unique phosphore. En RMN ^{1}H, le groupement CH_2 séparant l'azote de l'aziridine et le phosphonate apparait sous la forme de deux signaux de multiplicité (un triplet et un doublet de dédoublet) et de valeurs de constantes de couplage différentes, indiquant la non-équivalence des deux protons (**Figure 38**, **A**). Ce qui est confirmé par COSY ^{1}H-^{1}H, puisque l'analyse démontre que les deux protons ne couplent qu'entre eux. En RMN ^{13}C, le carbone du CH_2 apparait sous la forme d'un doublet, et non d'un triplet comme observé pour les AzbisPs, avec une forte

constante de couplage (≈ 160 Hz) du fait de la présence du phosphore adjacent. La corrélation entre les protons et le carbone du CH_2 est confirmée par HSQC ^{1}H-^{13}C (**Figure 38**, **B**).

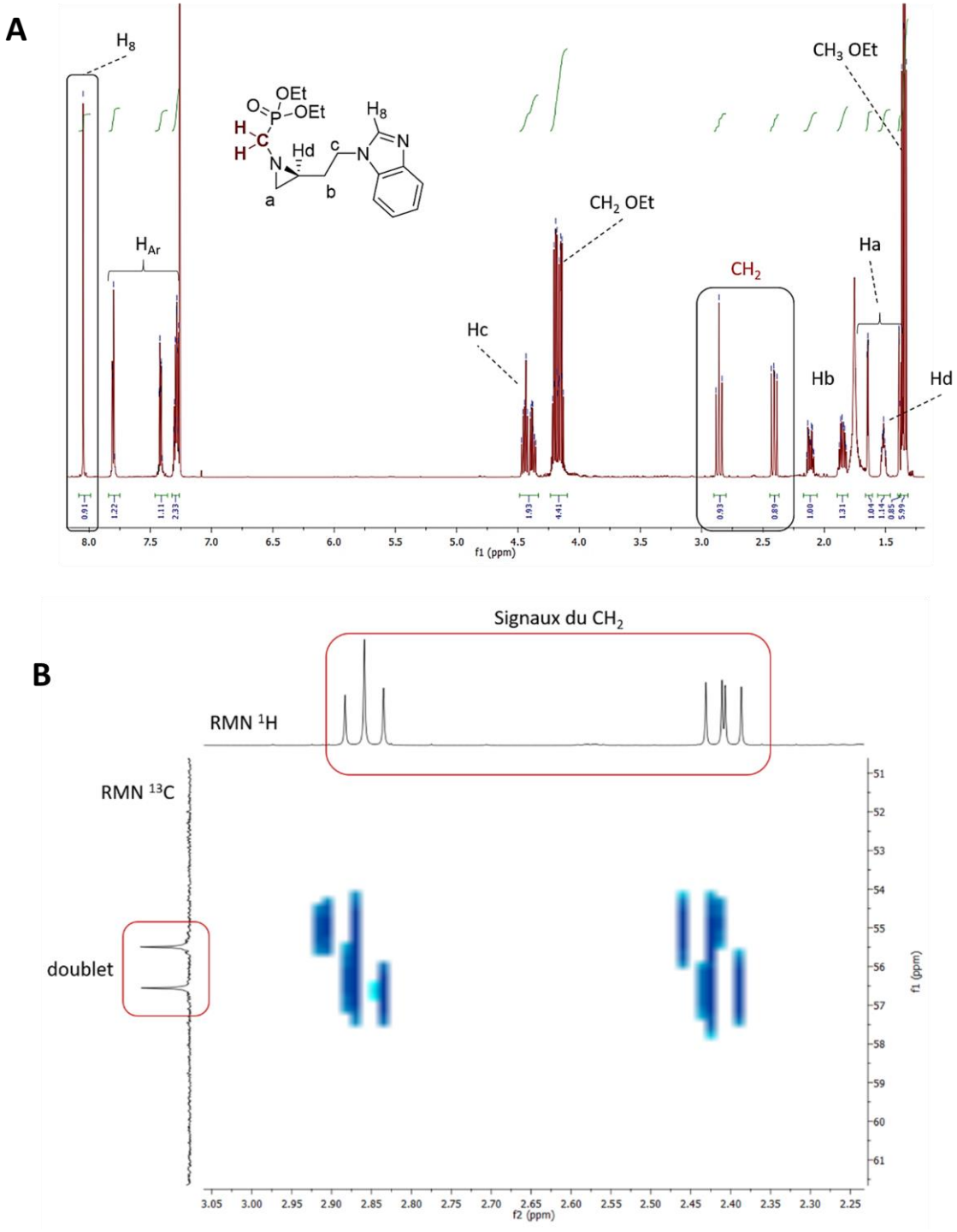


Figure 38 - **A**. Spectre RMN ^{1}H de**118 B**. Spectre RMN HSQC ^{1}H-^{13}C de **118**

Il est à noter que les valeurs de constante de couplage $^{2}J_{gem}$ H-H et $^{2}J_{gem}$ P-H peuvent varier d'un AzmonoP à l'autre, ce qui s'exprime par l'observation de multiplicités différentes

(doublet de dédoublet ou triplet). Puisque chacun des protons voit non seulement son proton voisin, mais aussi l'atome de phosphore adjacent, nous devrions donc, en théorie, observer deux doublets de dédoublet. En réalité, un doublet de dédoublet est uniquement observé dans le cas où les deux constantes de couplage diffèrent ($^2J_{gem}$ H-H ≠ $^2J_{gem}$ P-H). Mais, si les deux constantes de couplages sont équivalentes, les deux signaux se confondent et prennent l'apparence d'un triplet. C'est le cas pour **118**, pour lequel nous observons deux signaux, attribuable à chacun des protons, de multiplicités différentes puisque $^2J_{gem}$ H_1-H_2 = $^2J_{gem}$ P-H_1 (triplet), et $^2J_{gem}$ H_1-H_2 ≠ $^2J_{gem}$ P-H_2 (doublet de dédoublet) (**Figure 39**).

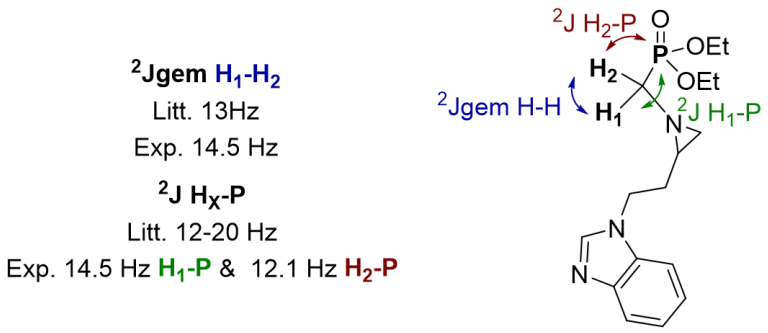


Figure 39 - Corrélations et constantes de couplage observées pour le méthylène de **118**

III. Influences des conditions expérimentales

Dans l'optique de déterminer les paramètres optimaux de la réaction, l'influence de la nature du carbamate, de la température, de la nature du phosphite et de la présence ou non d'une aziridine ont été étudiées.

Le protocole général de la réaction est le même que celui décrit avec le LiHMDS pour l'obtention d'AzbisPs. Brièvement, le diéthylphosphite et le *n*-butyllithium sont d'abord dissous dans le THF anhydre à -78°C pendant 30 minutes, puis l'aziridine solubilisée dans du THF est ajoutée à la même température et le milieu réactionnel est chauffé à la température étudiée **T** (**Schéma 85**). La réaction est arrêtée à un temps **t** par ajout d'une solution de NH_4Cl saturée dès disparition du produit de départ en CCM, sauf à partir de l'aziridine N-Cbz **119** dont la réaction est incomplète après 16h à température ambiante (**Tableau 9**, Entrée **1**).

Les différents rendements présentés dans le **Tableau 9** sont des rendements calculés par RMN ^1H du fait de la difficulté de séparation du composé et des produits secondaires. La formation

de l'aziridine *N*-méthylènephosphonate **121** est quant à elle observée par analyse RMN ^{31}P du brut réactionnel.

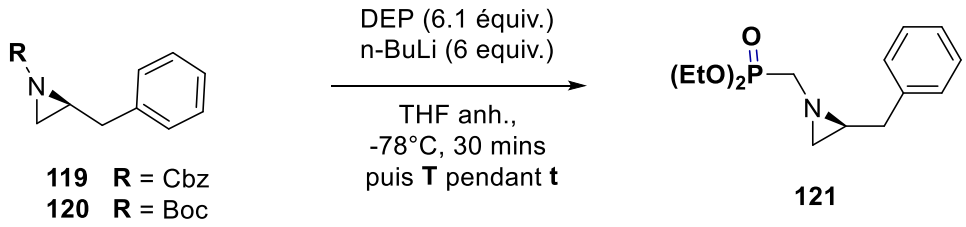
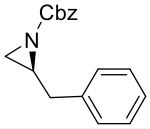
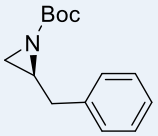


Schéma 85 - Conditions réactionnelles générales pour l'étude de la synthèse de l'AzmonoP **121** à partir de l'aziridine carbamate *N*-Cbz **119** ou *N*-Boc **120**

Tableau 9 - Conditions de température T et de temps t pour l'étude de la synthèse de l'AzmonoP **121** à partir de l'aziridine carbamate *N*-Cbz **119** ou *N*-Boc **120**
[a] : calculé par RMN ^{31}P du brut réactionnel, [b] : calculé par RMN ^{1}H

Entrée	Aziridine	T (°C)	t (h)	Conversion
1	**119** 	t.a.	16	**Traces**[a]
2		55	3	**51%**[b]
3	**120** 	t.a.	5h	**45%**[b]
4		55	2h	**43%**[b]

Comme observé pour la formation des aziridines α-amino-*gem*-bisphosphonates, la nature du groupement carbamate semble impacter la réactivité de l'aziridine. En effet, à température ambiante, l'aziridine *N*-Boc **120** est complétement consommée au bout de 5h de réaction (suivi CCM) contrairement à l'aziridine *N*-Cbz **119** encore présente après 16h de réaction (**Tableau 9**, Entrée **1** *vs* Entrée **3**). La température a aussi un impact sur la réaction puisque qu'à 55°C, l'AzmonoP se forme à partir de l'aziridine *N*-Cbz mais est non observée à température ambiante (**Tableau 9**, Entrée **1** *vs* Entrée **2**).

La réaction a également été faite à partir de l'aziridine *N*-Cbz **119** en présence de dibenzylphosphite ou de diisopropylphosphite. Dans les deux cas, le milieu réactionnel se dégrade, après 6h de réaction à 55°C, et la RMN ^{31}P du brut montre la formation d'un mélange

complexe de produits phosphorés. Les aziridines *N*-méthylène phosphonates désirées sont uniquement observées en traces.

Ces conditions ont été appliquées à des amines primaires *N*-Cbz (t.a pendant 16h à partir de **122** et 55°C pendant 16h à partir de Cbz-L-phénylalaninol), et le suivi RMN ^{31}P ne montre pas la formation des aziridines *N*-méthylènephosphonates attendues, mais d'un mélange de produits de dégradation du DEP en présence de *n*-BuLi (observés en RMN ^{31}P et en RMN ^{1}H) (**Schéma 86**).



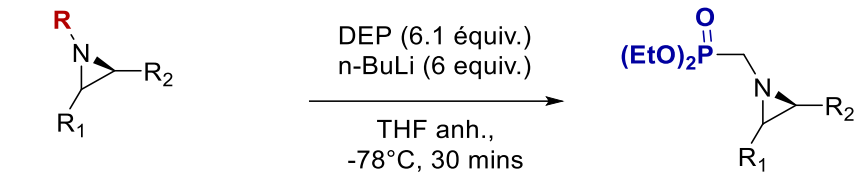
122 **Cbz-L-phénylalanilol**

Schéma 86 – Essais d'obtention d'AzmonoPs à partir d'amines non-cycliques

L'expérience montre donc que la présence du cycle aziridine est à nouveau primordiale pour l'obtention d'AzmonoPs dans les conditions de la réaction.

IV. Exemplification de la réaction

La réaction a ensuite été étendue à la synthèse de nouvelles aziridines *N*-méthylène phosphonates à partir d'aziridines *N*-Cbz et/ou *N*-Boc (**Schéma 87**). La diversité des AzmonoPs synthétisées repose sur la variété des substituants présents sur l'aziridine (aliphatiques, aromatiques, hétérocycles, cycles contraints, etc). Du fait de la présence de produits secondaires, la purification des AzmonoPs a parfois été difficile. Sauf mention contraire, les rendements présentés sont les rendements isolés après purification (**Tableau 10**).



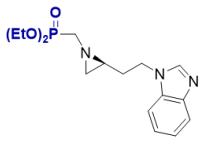
R = Cbz ou Boc

8 exemples
jusqu'à 53%

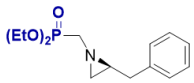
Schéma 87 - Conditions réactionnelles générales pour l'obtention des AzmonoPs

Tableau 10 – Exemplification de la réaction à des aziridines *N*-Cbz ou *N*-Boc

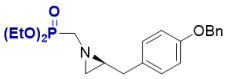
[a] : rendement calculé par RMN ^{1}H, [b] : traces observées en RMN ^{31}P, ***** : expériences réalisées au cours de ma thèse



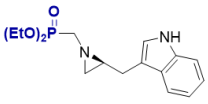
130



131

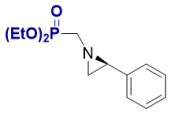


132

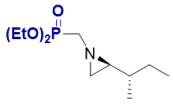


133

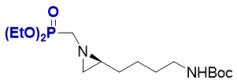
Aziridine	123		124		73		125	126	127	
R	Boc		Boc		Cbz		Boc	Cbz	Cbz	
Entrée	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T	t.a.	55°C	t.a.	55°C	t.a.	55°C	55°C	55°C	t.a.	55°C
t	16h	16h	16h	2h	5h	2h	4h	4h	3h	2h
Rdt	**44%**	**54%**	**Trcs**	**51%**	**45%**	**43%**	**52%**	**38%***	**<10%**	**28%**



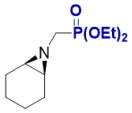
134



135



136



137

Aziridine	86		128	129	93	95	
R	Cbz		Boc	Cbz	Cbz	Cbz	
Entrée	11	12	13	14	15	16	17
T	t.a.	55°C	55°C	55°C	55°C	t.a.	55°C
t	3h	4h	2h	4h	4h	2h	4h
Rdt	**Trcs**	**Trcs***	**53%**	**25%***	**45%**	**0%**	**47%***

Comme observé précédemment pour la formation de l'AzmonoP **121**, la réaction semble plus efficace lorsqu'elle est effectuée à 55°C (**Tableau 10,** Entrée **1** *vs* **2**, Entrée **3** *vs* **4**, Entrée **9** *vs* **10**, Entrée **16** *vs* **17**).

Surprenamment, et en opposition avec les résultats obtenus lors de la synthèse d'aziridines α-amino-*gem*-bisphosphonates, les aziridines *N*-Boc donnent de meilleurs résultats que les aziridines *N*-Cbz.

L'AzmonoP **134** est uniquement observée sous forme de traces en RMN ^{31}P du brut réactionnel, malgré la consommation totale de l'aziridine de départ, que la réaction soit faite à température ambiante ou 55°C (**Tableau 10**, Entrées **11** et **12**). Ce résultat peut s'expliquer par les effets électroniques et stériques du cycle phényle. Un mélange de sous-produits de dégradation est observé en RMN ^{31}P.

Comme observé en présence de LiHMDS et en raison de son cycle très contraint, l'aziridine **138** traitée avec du DEP/*n*-BuLi, ne donne pas l'AzmonoP désirée, mais l'aziridine déprotégée **139** (**Schéma 88**).

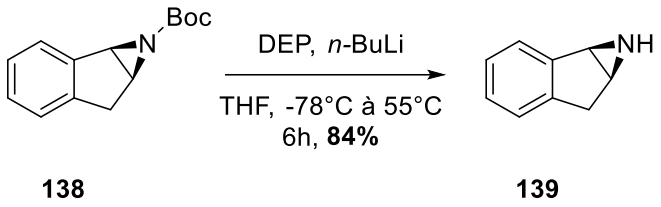


Schéma 88 - Obtention de l'aziridine réduite **139** à partir de l'aziridine *N*-Boc **138**

La réaction effectuée à température ambiante à partir de l'aziridine *N*-Cbz **140** ne donne pas l'AzmonoP attendue, mais le β-(*N*-méthylène-*gem*-bisphosphonate)-aminophosphonate **141** , produit d'ouverture de l'AzbisP, avec un rendement de 23% (**Figure 40**). Cette observation suppose que la formation de l'AzmonoP pourrait faire intervenir la formation de l'AzbisP comme intermédiaire réactionnel. L'hypothèse est soutenue par la présence d'AzbisP observée sur le spectre RMN ^{31}P du brut réactionnel obtenu à partir de **130** (**Tableau 10**, Entrée **9**). De plus, l'AzmonoP **131** obtenu à partir de l'aziridine *N*-Cbz **130**, après 2h de réaction à 55°C, contient, après purification, des traces de l'AzbisP observables en RMN ^{31}P (**Tableau 10**, Entrée **10**). L'ensemble de ces résultats, nous a conduit à émettre l'hypothèse que la formation de l'AzmonoP (en présence de *n*-BuLi) impliquerait un mécanisme similaire à celui proposé pour l'obtention de l'AzbisP (en présence de LiHMDS). En revanche, à 55°C, l'aziridine **95** mène à l'AzmonoP attendu avec un rendement de 47% (**Tableau 10**, Entrée **17**), ce qui suppose que la formation de l'AzmonoP par rapport à l'AzbisP est température dépendante.

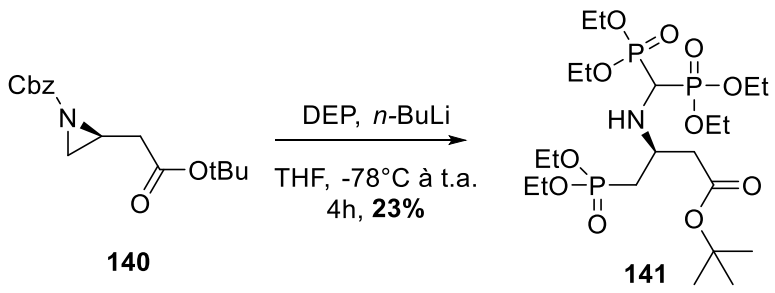
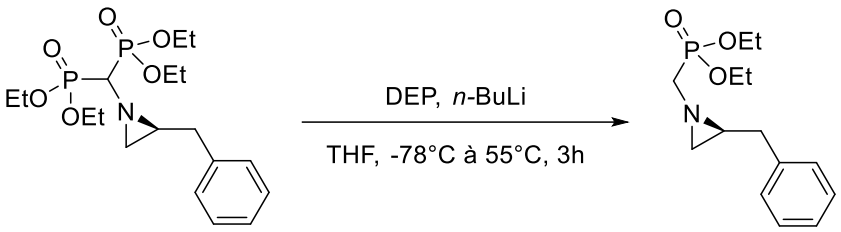


Figure 40 - Produit formé à partir de l'aziridine **140**

V. Identification de produits secondaires et proposition d'un mécanisme

L'observation d'AzbisPs dans certains bruts réactionnels suggère que le mécanisme de formation des AzmonoPs implique la formation des AzbisPs correspondants comme intermédiaire de synthèse ou encore comme sous-produits. Pour confirmer cette hypothèse, l'AzbisP **75** est traitée par un mélange de DEP (1.1 équiv.) et de *n*-Buli (1 équiv.), et la réaction est suivie par RMN ^{31}P (**Schéma 89**). Après 3h de réaction à 55°C, le spectre RMN ^{31}P du milieu réactionnel montre la présence de l'AzbisP en mélange avec l'AzmonoP désirée, mais aussi de signaux à 57.7, 49.2 et 33.3 ppm correspondants à des produits secondaires issus de la dégradation du DEP (**Figure 41**). Pour confirmer ce résultat, la réaction est réitérée à température ambiante avec 3 équivalents de DEP et de *n*-BuLi. La RMN ^{31}P du brut réactionnel après 16h d'agitation montre la conversion totale de l'AzbisP en AzmonoP. L'hypothèse émise est donc validée, le mécanisme de formation de l'AzmonoP implique un l'intermédiaire de type AzbisP. La première partie du mécanisme réactionnel est donc similaire à celle de la formation de l'AzbisP.



75 **126**

Schéma 89 – Conditions réactionnelles pour le suivi RMN ^{31}P de la conversation de l'AzbisP **75** en AzmonoP **126**

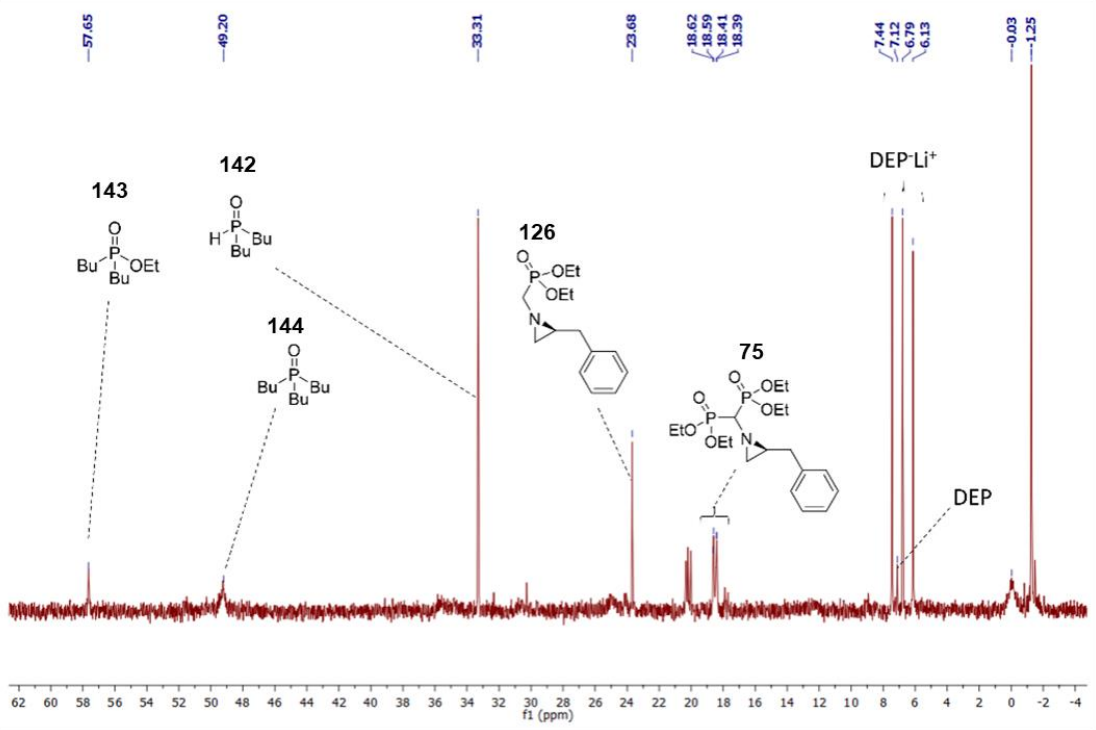


Figure 41 – Spectre RMN ^{31}P du milieu réactionnel de après 3h à 55°C

Pour élucider la suite du mécanisme, les produits secondaires observés lors du suivi réactionnel ont été isolés et identifiés (RMN et spectroscopie de masse) au terme de plusieurs étapes de purification des divers AzmonoPs (**142**, **143** et **144**).

L'oxyde de dibutylphosphine $HP(O)(Bu)_2$ **142** pourrait provenir de la double attaque nucléophile du carbanion butyle sur l'atome de phosphore du diéthylphosphite lithié (**Schéma 90**). La formation de ce produit secondaire implique la consommation du DEP nécessaire à la réaction de formation d'AzbisPs, ce qui peux en partie expliquer les rendements plus faibles observés lors de l'obtention d'AzmonoPs.

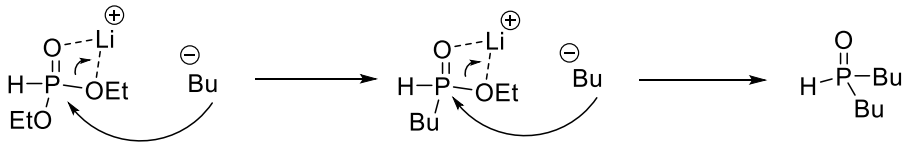


Schéma 90 - Mécanisme proposé pour la formation de l'oxyde de dibutylphosphine à partir de DEP en présence de *n*-BuLi

Le dibutylphosphinate d'éthyle $EtOP(O)Bu_2$ **143** et l'oxyde de tributylphosphine $OPBu_3$ **144** pourraient se former via un mécanisme similaire et suppose la formation préliminaire de

diéthyl butylphosphonate dans le milieu par attaque nucléophile de l'anion butyle sur l'un des atomes de phosphore du groupement bisphosphonate de l'AzbisP intermédiaire. Cette hypothèse est appuyée par les travaux de Burgada *et al.*[221] qui a décrit la méthanolyse d'un α-amino-méthylène-gem-bisphosphonate et la formation de l'analogue monophosphonate correspondant (**Schéma 91**). Les sous-produits **143** et **144** sont ensuite obtenus par simple ou double attaque nucléophile de l'anion butyle.

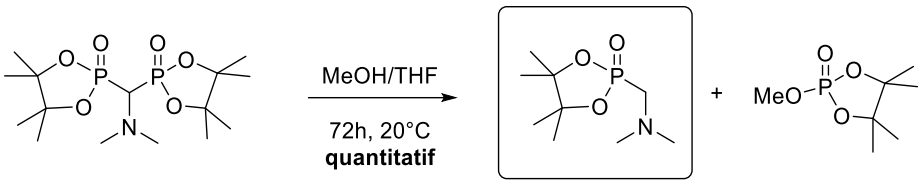


Schéma 91 - Méthanolyse d'un motif bisphosphonate observée par Burgada *et al.*[221]

La formation de ces sous-produits, non observés en présence d'autres bases (LiHMDS, NaHMDS, NaH, *t*-BuOK), est associée à la nucléophilie du *n*-BuLi.

La caractérisation des divers produits secondaires, en association avec l'observation de la formation de l'aziridine α-amino-méthylène-gem-bisphosphonate, nous a permis de proposer un mécanisme réactionnel (**Schéma 92**). La formation du l'AzbisP **I** suit le même mécanisme que celui décrit dans le chapitre avec LiHMDS. La chélation des deux oxygènes du bisphosphonate par un lithium permet ensuite l'attaque nucléophile d'un anion butyle pour la formation du carbanion **II** stabilisé par un contre-ion lithium. L'AzmonoP **III** est générée après protonation lors du traitement par une solution aqueuse de $KHSO_4$ (1M).

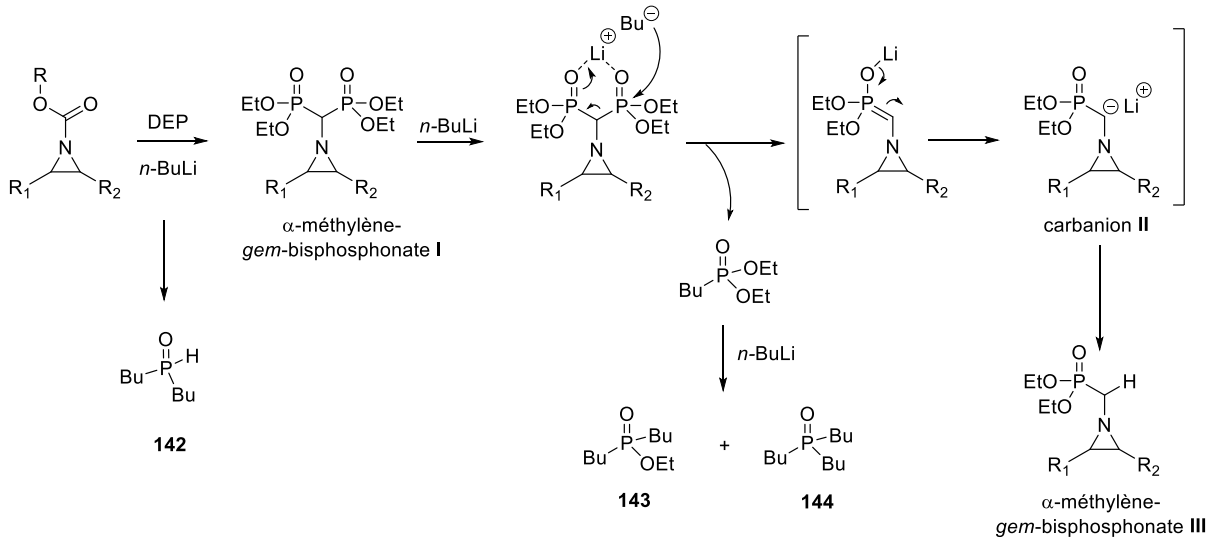


Schéma 92 - Mécanisme proposé pour la formation d'AzmonoPs à partir d'aziridine *N*-carbamates en présence de *n*-BuLi et les sous-produits formés

VI. Conclusions et perspectives

Nous avons montré que la réaction développée au laboratoire à partir d'aziridine *N*-carbamates mène à l'obtention soit de l'aziridine-méthylène-*gem*-bisphosphonate, soit de l'aziridine méthylène-phosphonate selon la base lithié utilisée.

L'exemplification de la réaction a permis de démontrer que les aziridines *N*-Boc sont globalement plus réactives que les aziridines *N*-Cbz pour l'obtention de l'aziridine méthylène-phosphonate désirée. De la même façon, chauffer la réaction à 55°C favorise l'obtention de l'AzmonoP. La formation d'AzbisP à température ambiante démontre que sa conversion en aziridine méthylène-phosphonate nécessite plus d'énergie que la formation d'AzbisP et les huit AzmonoPs synthétisées ont été obtenues avec des rendements de faibles à moyens.

L'isolement et la caractérisation de trois produits secondaires formés en présence de *n*-BuLi nous ont permis de proposer un mécanisme réactionnel faisant intervenir l'aziridine *gem*-bisphosphonate comme intermédiaire réactionnel. Comme précédemment, ce mécanisme nécessite la présence d'un ion lithium, d'une base forte nucléophile et d'un cycle aziridine pour former l'aziridine *N*-méthylène-phosphonate.

A l'avenir, il serait intéressant de mettre à profit cette réaction pour le développement de nouveaux ANPs possédant un motif aziridine, dans la lignée de ce qui a été décrit par Sheika *et al.* (cf. **Schéma 83**). [219]

Partie expérimentale du Chapitre III

Toutes les spécifications techniques des appareillages, réactifs, méthodes et solvants sont décrites dans la partie expérimentale du Chapitre II.

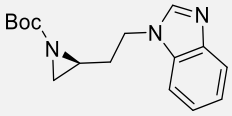
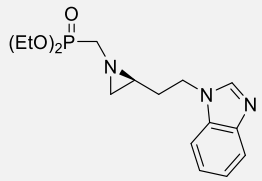
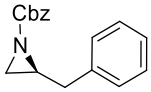
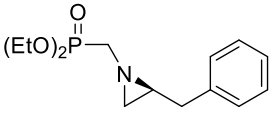
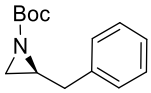
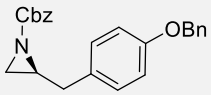
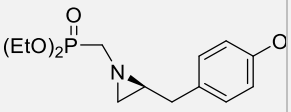
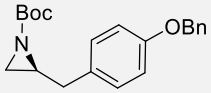
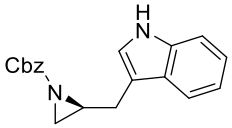
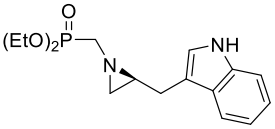
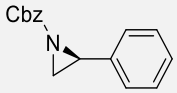
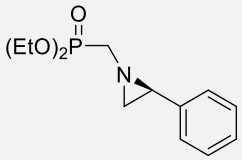
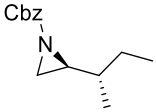
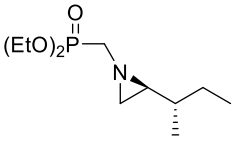
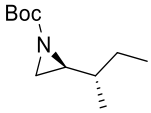
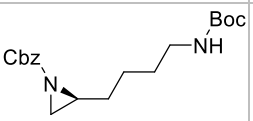
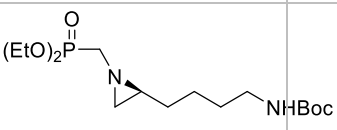
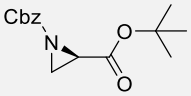
Les protocoles opératoires et caractérisations des aziridines *N*-carbamates sont identiques à ceux décrits dans la publication de Cheviet *et al.*[110] de 2021 concernant la synthèse d'aziridines N-méthylène-gem-bisphosphonates ou dans la publication de Cheviet *et al.*[220] de 2022 concernant la synthèse d'aziridines *N*-méthylène-phosphonates.

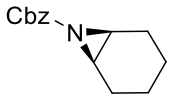
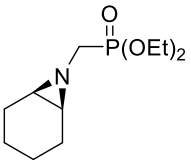
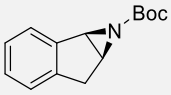
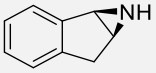
Les aziridines *N*-méthylène-phosphonates ont été obtenues à partir du protocole général suivant :

Le diéthylphosphite (6,1 équiv.) est dissout dans du THF anhydre (0.5 mL/mmol de diéthylphosphite) sous argon. Le mélange est refroidi à -78°C, puis le *n*-BuLi (2.5 M dans le THF, 6 éq.) est ajouté goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité pendant 30 minutes à -78°C. L'aziridine *N*-carbamate (1 équiv.), préalablement solubilisée dans le THF anhydre (2.8 mL/mmol d'aziridine), est ajoutée goutte à goutte au mélange, qui est laissé revenir à température ambiante. La réaction est agitée à une temperature **T** jusqu'à consommation totale du réactif (suivi CCM). La réaction est quenchée par addition d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl jusqu'à dissolution des sels formés. La phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées *in vacuo* et le brut purifié sur gel de silice par chromatographie flash (gradient DCM/MeOH) pour obtenir le produit désiré sous la forme d'une huile.

Le **Tableau 11** reporte les différentes aziridines *N*-carbamates et les aziridines *N*-méthylène-phosphonate synthétisées et la numérotation correspondante dans les articles dans lesquelles elles ont été décrites.

Tableau 11 – Aziridines *N*-carbamate et *N*-méthylène-phosphonates synthétisées et décrites dans l'article publié dans [a]JOC en 2021[110] ou dans [b]New J. Chem en 2022[220] (Ce dernier est fourni en annexe) *Molécules synthétisées au cours de ma thèse pour ce chapitre

Aziridine *N*-carbamate		Numérotation correspondante	Aziridines N-méthylène-phosphonate		Numérotation correspondante
123		**1a[a]**	**130**		**2a[b]**
73		**2a[a]***	**131**		**2b[b]***
124		**2b[a]**			
126		**1e[b]***	**132**		**2d[b]***
125		**2e[a]**			
127		**2d[a]**	**133**		**2f[b]**
86		**2a[a]***	**134**		**-**
129		**1i[b]***	**135**		**2h[b]***
130		**2g[a]**			
93		**2j[a]**	**136**		**2j[b]**
140		**2h[a]**	**-**	-	**-**

95		**2k[a]***	**137**		**2l[b]***
138		**2m[a]**	**139**		**3l[a]**

Chapitre IV

-

Etude préliminaire d'hydrophospho(i)nylation d'alcynes par photochimie

Chapitre IV : Etude préliminaire d'hydrophospho(i)nylation d'alcynes par photochimie

I. Hydrophosphonylation d'alcynes

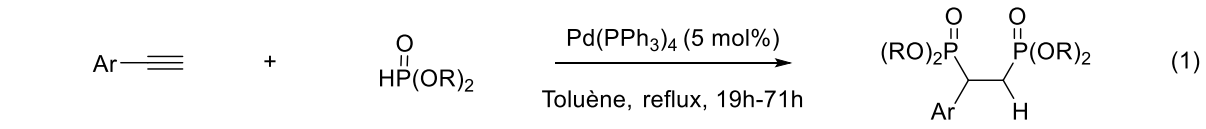
I.1. Rappels bibliographiques

I.1.A. Bis-hydrophosphonylation d'alcynes

Comme explicité dans le chapitre I, les bisphosphonates sont une catégorie de molécules trouvant de multiples applications que ce soit dans l'industrie, en tant qu'agent d'imagerie ou bien dans le traitement de maladies osseuses. Ces applications en font des molécules de grand intérêt et donc le développement de nouvelles voies d'accès un vaste sujet d'étude en chimie organique.

L'une des nombreuses voies d'accès explorée est la double hydrophosphonylation d'alcynes (**Schéma 93**). La première réaction de bis-hydrophosphonylation d'une triple liaison met en jeu une catalyse au palladium et a été décrite en 2000 par l'équipe de Lin.[222] Ces travaux concernent la synthèse de bisphosphonates vicinaux à partir d'alcynes terminaux et de dialkylphosphites, en présence de $Pd(PPh_3)_4$ avec des rendements de 41% à 90% (**Schéma 93**, eq. (1)). En 2008, l'équipe de Shimada, décrit la double phosphonylation déshydrogénative d'alcynes en présence de divers catalyseurs au palladium et d'H-phosphonate pinacolique (**Schéma 93**, eq. (2)).[223] Le produit de réaction majoritairement observé est le (Z)-bisphoryl-1-alcène, un bisphosphonate allylique parfois utilisé en tant que précurseur d'antibiotiques. L'alcane-bisphosphonate est aussi observé mais en trop faible quantité pour que la méthode soit considérée comme une voie de synthèse appropriée à son obtention.

Plus tard, l'équipe de Starikova décrit la synthèse sous activation micro-ondes de bisphosphonates vicinaux en présence du catalyseur $Ni(acac)_2$ et d'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAL), sans solvant ni ligand (**Schéma 93**, eq. (3)).[224] La force de cette voie de synthèse réside dans la possibilité de former spécifiquement le mono-phosphonate ou le bisphosphonate vicinal en fonction de la quantité de catalyseur utilisée et du ratio alcyne/H-phosphonate engagé.

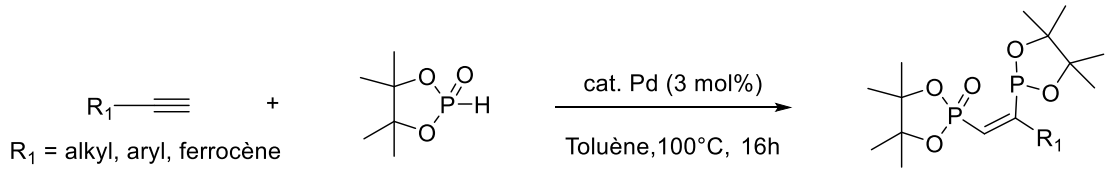


(1)

Lin - 2000

R = Et, *i*-Pr

10 exemples
41% - 90%

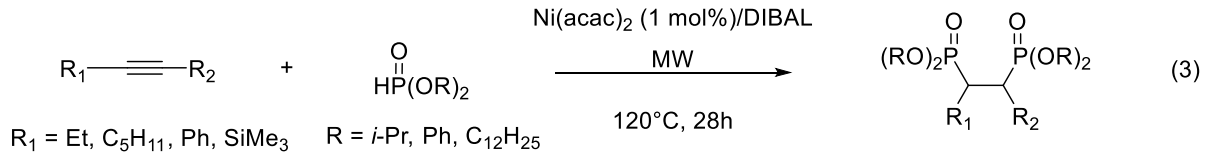


(2)

R_1 = alkyl, aryl, ferrocène

Shimada - 2008

11 exemples
46% - 75%



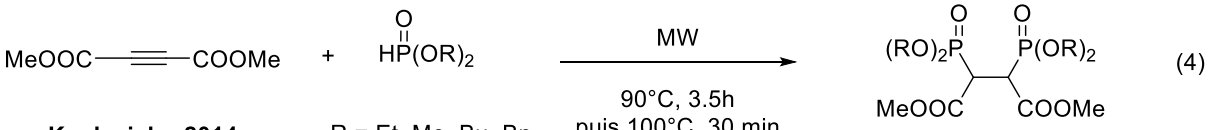
(3)

R_1 = Et, C_5H_{11}, Ph, $SiMe_3$
R_2 = Me, Et, Ph, H

R = *i*-Pr, Ph, $C_{12}H_{25}$

Starikova - 2014

6 exemples,
72% - 99%

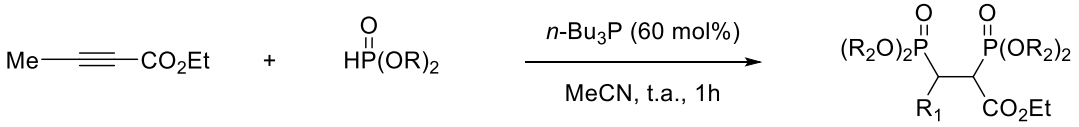


(4)

Keglevich - 2014

R = Et, Me, Bu, Bn

4 exemples
81% - 96%

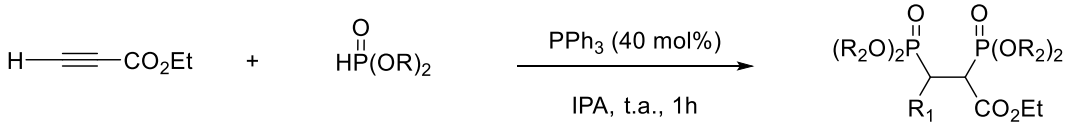


(5)

Fayzullin - 2019

R = Et, Me, Bn

3 exemples
61% - 83%



(6)

Fayzullin - 2019

R = Et, Me, Bn, *i*-Bu

4 exemples
58% - 82%

Schéma 93 - Travaux précédents sur la bis-addition de H-phosphonate di-esters sur des alcènes

Dans la même idée, l'équipe de Keglevich a développé une méthode par activation micro-ondes permettant l'accès à des bisphosphonates vicinaux, sans catalyseur ni solvant, à partir de l'éthynedicarboxylate de diméthyle (DMAD) (**Schéma 93**, eq. (4)).[225] La sélectivité de la formation du monophosphate ou du bisphosphonate est alors fonction du ratio DMAD/H-phosphonate mis en jeu. Plus tard, Swamy *et al.*[226] décrivent l'hydrophosphonylation d'alcynes catalysée par la tributylphosphine (*n*-Bu_3P), mais le produit de bis-addition vicinal est minoritaire et en mélange avec les vinylphosphonates associés. Ces travaux sont alors repris par l'équipe de Fayzullin qui optimise la méthode (**Schéma 93**, eq. (5)).[227] Le tétrolate d'éthyle mis en réaction avec du dialkylphosphite en présence de *n*-Bu_3P (60%) donne le bisphosphonate vicinal avec des rendements de 61% à 83%. En revanche, les auteurs démontrent que l'utilisation de *n*-Bu_3P pour catalyser la phosphonylation du propriolate de méthyle, favorise l'oligomérisation du substrat. L'utilisation de la triphénylphosphine (PPh_3), bien moins nucléophile, dans l'isopropanol (IPA) permet d'améliorer la sélectivité de la réaction (**Schéma 93**, eq. (6)). Cependant, une augmentation de la concentration de PPh_3 favorise encore une fois les réactions secondaires.

Bien que certaines de ces méthodes permettent la bis-hydrophosphonylation d'alcynes, de façon simple, rapide et en conditions douces, il est à remarquer qu'aucune ne fait intervenir la photochimie, de plus l'observation du bisphosphonate géminal n'est jamais mentionnée.

La voie d'accès proposée par l'équipe de Montchamp présente la synthèse de bisphosphinates géminaux par voie radicalaire, à partir d'un alcyne terminal en présence de trialkylborane (R_3B) et d'air, suivi d'une ozonolyse pour accéder à l'acide bisphosphonique géminal correspondant (**Schéma 94**).[117] Outre le fait qu'elle permet un accès direct à l'acide phosphonique sodé sans nécessiter l'hydrolyse préalable des fonctions alkyl phosphonates, cette méthode permet également la préparation du bisphosphonate géminal.

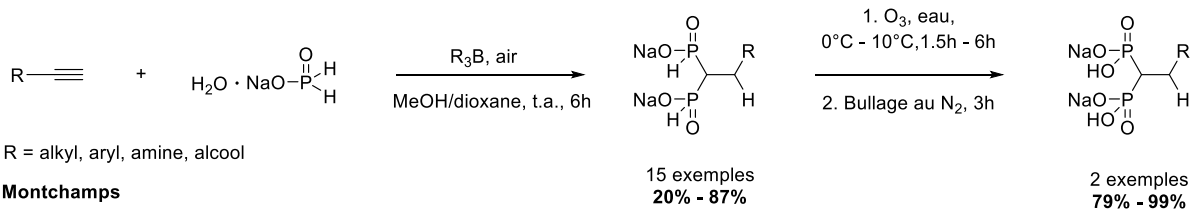


Schéma 94 – Obtention d'un bisphosphonate géminal à partir du bisphosphinate obtenu par hydrophosphinylation d'un alcyne

I.1.B. Hydrophosphonylation d'alcènes et d'alcynes par photochimie

En 2016, notre équipe a étendu les travaux de Dondoni *et al*. concernant l'hydrophosphonylation radicalaire de divers saccharides incorporant un alcène[228], un alcyne, ou encore la cystéine allylé[229,230] à divers alcènes et alcynes (**Schéma 95**).[231] Cette méthodologie de synthèse, caractérisée par l'addition d'un composé phosphoré sur une double ou une triple liaison carbone-carbone se distingue par son économie d'atome et l'absence de métaux. Elle se présente donc comme une alternative plus éco-responsable aux méthodes classiques de synthèse de dérivés phosphonates (e.g. réaction de Michaelis-Arbuzov). Parmi les nombreuses autres méthodes alternatives décrites dans la littérature, de nombreuses impliquent la chimie radicalaire et font intervenir des peroxydes, l'azobisisobutyronitrile (AIBN), des catalyseurs métalliques comme $Mn(OAc)_2$ ou encore le titanocène/époxyde, toutes nécessitent une activation thermique et ne peuvent donc pas être utilisées avec des substrats sensibles. La méthodologie décrite par Dondoni *et al.*, puis par notre équipe, se révèle particulièrement intéressante puisqu'elle conduit, en conditions douces, sans métaux, à température ambiante et en un temps de réaction raisonnable, à l'alkyl phosphonate ou au vinylphosphonate d'intérêt.

Ainsi, notre équipe a appliqué cette réaction à divers substrats dont des alcènes et alcynes activés, inactivés ou di-substitués, en présence de diméthylphosphite, de telle façon à obtenir les phosphonates correspondants avec des rendements allant de 30% à 99% (**Schéma 95**). Nous avons également montré que les alcènes terminaux donnent lieu au produit d'addition de type Markovnikov, tandis que les alcènes internes donnent lieu à la formation des deux régio-isomères.

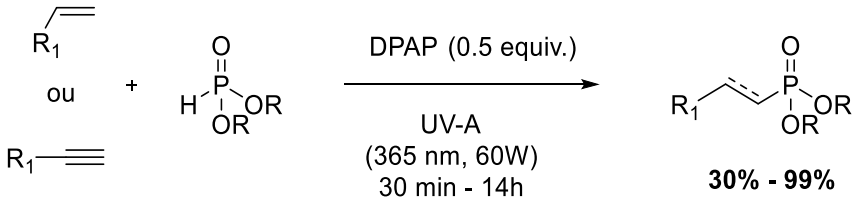
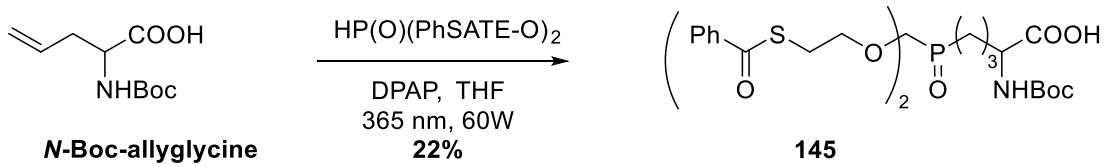


Schéma 95 - Hydrophosphonylation radicalaire d'alcènes ou d'alcynes par photochimie

Le substrat le plus réactif en présence de diméthylphosphite est le cyclohexylacétylène (99% de rendement), il est donc utilisé pour étudier la réactivité de divers H-phosphonates. Les diéthyl-, dibenzyl-, bis(phényl)*S*-acyl-2-thioethyl (SATE)-, H-phosphonates et le dérivé pinacol conduisent aux vinylphosphonates correspondants avec des rendements respectifs de 93%,

44%, 32%, 72. Les conditions de réactions sont ensuite appliquées à l'H-phosphonylation de la *N*-Boc-allyglycine en présence de bis(phényl)SATE H-phosphonate pour donner le bis(phénylSATE)phosphonate, un potentiel substrat d'intérêt biologique, avec un rendement de 22% (**Schéma 96**). L'objectif était ici de démontrer la capacité de la réaction à être appliqué à la synthèse de biomolécules d'intérêt.



***N*-Boc-allyglycine** **22%** **145**

Schéma 96 – H-phosphonylation de la *N*-Boc-allyglycine par le bis(phényl)SATE H-phosphonate

Mon objectif était donc d'approfondir les travaux précédemment menés par l'équipe, en vue d'appliquer cette réaction à la synthèse de bisphosphonates à partir d'alcynes en conditions radicalaires et sous activation photochimique. Nous avons donc mené une étude préliminaire afin de répondre à diverses interrogations, à savoir :

- La formation du bisphosphonate est-elle possible ?
- Si tel est le cas, quelle est la sélectivité de la réaction ?
- Quelles sont les conditions optimales afin d'obtenir la meilleure conversion possible ?

I.2. Résultats

La première partie de l'étude s'est faite à partir des vinylphosphonates (E)-**146** et (Z)-**147** dont la synthèse a déjà été décrite par l'équipe. La seconde partie a portée sur l'étude de la réaction « one-pot » directement à partir de l'alcyne. Comme précédemment, le substrat choisi est le cyclohexylacétylène, un substrat a partir duquel nous avons précédemment démontré la formation des vinylphosphonates correspondants rapidement et avec une conversion totale.[231]

I.2.A. Etude de la formation des bisphosphonates à partir du vinylphosphonate correspondant

Les isomères (E)-**146** et (Z)-**147** sont obtenus à partir du cyclohexylacétylène en présence de 100 équivalents de diméthylphosphite (DMP) et 0.5 équivalent de 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (DPAP) après 30 minutes de réaction sous irradiation UV (lampe 365 nm, 60W). Ces isomères sont isolés avec un rendement de 83% dans un rapport E/Z de 51/49

(**Schéma 97**). Il est à noter que l'utilisation de 50 équivalents de DMP, réactif jouant aussi le rôle de solvant, provoque une chute du rendement, qui passe de 83% à 55%. La quantité de DMP, bien que particulièrement importante, n'est donc pas un paramètre modifiable, dans ces conditions de temps, pour la synthèse des vinylphosphonates.

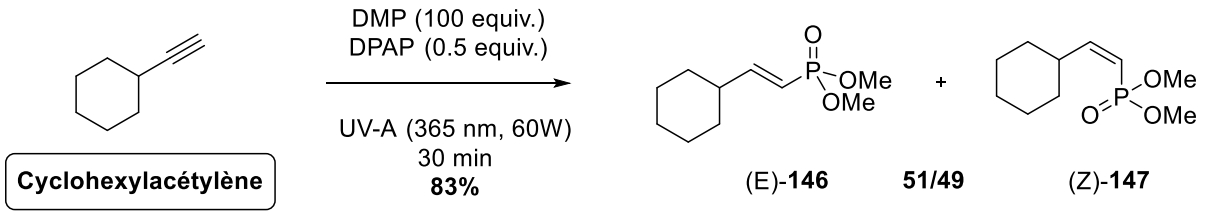


Schéma 97 - Synthèse des vinylphosphonates (E)-**146** et (Z)-**147** à partir du cyclohexylacétylène

Les vinylphosphonates ont ensuite été isolés et mis en réaction pour tenter d'obtenir le(s) bisphosphonate(s) correspondant(s). Afin d'étudier leur différence de réactivité, l'étude se fait de façon concomitante sur les deux isomères (E)-**146** et (Z)-**147** (**Schéma 98**). Pour l'ensemble de l'étude, les conversions sont évaluées à partir du vinylphosphonate résiduel par intégration du spectre RMN ^{31}P du brut réactionnel (obtenu après dilution du milieu réactionnel dans de l'acétate d'éthyle et lavage avec une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$ afin d'éliminer la majeure partie du DMP en excès.).

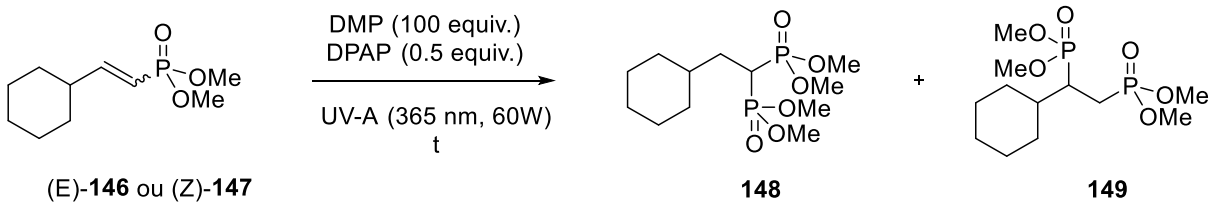


Schéma 98 - Synthèse des bisphosphonates géminal **148** et vicinal **149** à partir du vinylphosphonates (E)-**146** ou (Z)-**147**

Le premier essai reprend les conditions décrites pour la synthèse des vinylphosphonates à savoir 100 équivalents de DMP et 0.5 équivalent de DPAP sur une échelle de 0.25 mmol ; seul le temps de réaction est augmenté, passant de 30 minutes à 2h (**Tableau 12**, Entrées **1** et **4**). La RMN ^{31}P du brut réactionnel de ces réactions, montre certes la présence des vinylphosphonates résiduels (δ = 22.8 ppm), preuve que la réaction n'est pas totale, mais surtout la présence de deux nouveaux produits phosphorés (**Figure 42**). Le singulet à 27.0 ppm

correspond au bisphosphonate géminal **148**. La RMN ^{1}H associée montre un triplet détriplet pour PCHP car le proton couple non seulement avec les deux protons du CH_2 adjacent mais aussi avec les deux phosphores équivalents portés par le même carbone ($^{1}J_{H1-P}$ = 24.2 Hz, $^{1}J_{H1-H2}$ = 6.3 Hz). La RMN ^{13}C montre un triplet ($^{1}J_{C-P}$ = 153.1 Hz) puis que le carbone du PCHP couple avec les deux phosphores. L'attribution est confirmée en HSQC ^{1}H-^{13}C puisqu'une corrélation est observée (**Figure 43**). Les deux doublets à 33.7 ppm correspondent au bisphosphonate vicinal **149**. En effet, les deux phosphores sont portés par des carbones adjacents, ils ont donc un environnement atomiques différents, et couplent entre eux (constantes de couplage). Sa caractérisation RMN ^{1}H est plus difficile, puisque les groupements CH et CH_2P sont moins déblindés que le PCHP du bisphosphonate géminal, et se confondent avec les autres signaux en RMN ^{1}H. En théorie, nous devrions observer deux doublets en ^{13}C, correspondant au deux C-P avec une assez grande constante de couplage.

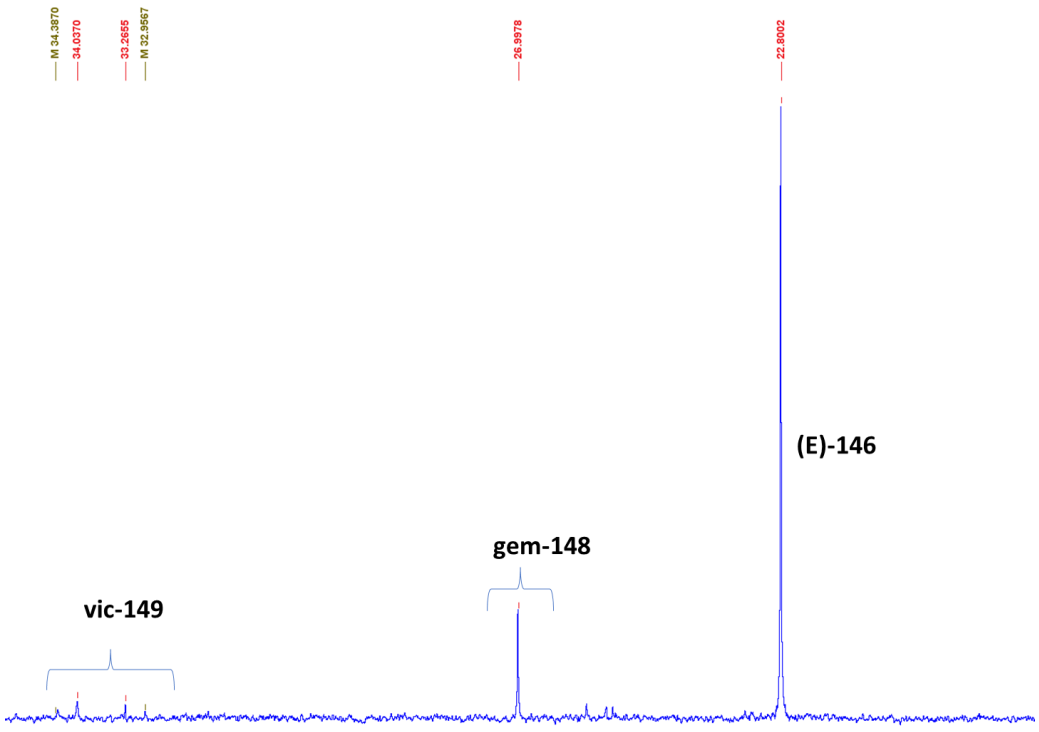


Figure 42 - Spectre RMN ^{31}P du brut réactionnel de l'H-phosphonylation de (E)-**146** après 2h de réaction (**Tableau 12**, Entrée **1**)

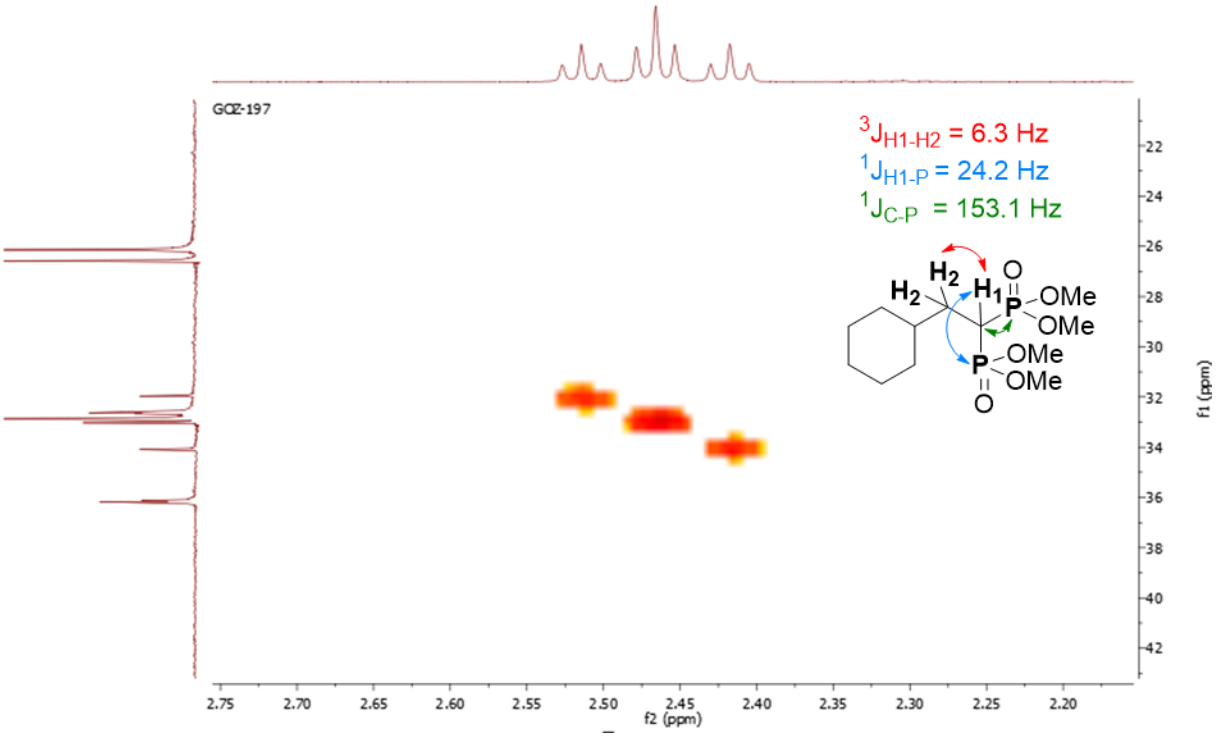


Figure 43 - RMN HSQC ^{1}H-^{13}C du PCHP du *gem*-bisphosphonate **148** et constante de couplages associées

Plusieurs remarques se dégagent des différents essais :

- La conversion est d'autant plus grande que le temps de réaction est long (2h vs 6h), et ce à la fois à partir de l'isomère (E) et de l'isomère (Z) (**Tableau 12**, Entrée **1** *vs* **3** et Entrée **4** *vs* **6**).

- Le temps réactionnel semble avoir un effet sur l'isomère (Z) plus prononcé que l'isomère (E) (**Tableau 12**, Entrée **3** *vs* **6**), très sûrement du fait de la gêne stérique amoindrie.

- L'ajout de 0.5 équivalent de DPAP à mi-réaction, n'a pas la même conséquence sur les deux isomères. Alors que la conversion de l'isomère (E) semble améliorée (**Tableau 12**, Entrée **1** vs **2**), ce n'est pas le cas de l'isomère (Z), (**Tableau 12**, Entrée **5** vs **4**), l'ajout menant même à une conversion plus faible que sans addition supplémentaire lorsque la réaction est laissée 6h (**Tableau 12**, Entrée **6** vs **7**).

Tableau 12 - Etude de la conversion des vinylphosphonates (E)-**146** et (Z)-**147** en bisphosphonates géminal **148** et vicinal **149**

Entrée	Isomère	Temps	DPAP départ	DPAP ajout (t_{ajout})	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)
1	E	2h	0.5 équiv.	-	36%
2	E	2h	0.5 équiv.	0.5 équiv. (1h)	41%
3	E	6h	0.5 équiv.	-	43%
4	Z	2h	0.5 équiv.	-	31%
5	Z	2h	0.5 équiv.	0.5 équiv. (1h)	32%
6	Z	6h	0.5 équiv	-	69%
7	Z	6h	0.5 équiv.	0.5 équiv. (3h)	61%

Cette première étude à partir des vinylphosphonates nous a donc permis de démontrer la faisabilité de la réaction, mais surtout, et de façon surprenante en comparaison avec les données de la littérature, la formation majoritaire du bisphosphonate géminal. Le temps de réaction, la quantité de DPAP (initiale et ajoutée) et sa fréquence d'ajout semblent être des paramètres clés pour l'obtention des bisphosphonates.

A la suite de ces résultats encourageants, nous avons décidé de tenter la réaction en « one-pot », à partir du cyclohexylacétylène, et de travailler sur l'optimisation des conditions de réaction non seulement pour obtenir la meilleure conversion, mais aussi pour favoriser, si possible, la formation du bisphosphonate géminal.

I.2.B. Etude de la formation des bisphosphonates à partir du cyclohexylacétylène correspondant

Comme précédemment, l'optimisation de la méthode se base sur le calcul de la conversion des vinylphosphonates Z et E en bisphosphonates géminal et vicinal, à partir du spectre RMN ^{31}P du brut après traitement. Puisque notre équipe à précédemment démontré que le cyclohexylacétylène est totalement consommé après 30 minutes[231], pour cette étude, nous avons admis que la conversion de l'alcyne en vinylphosphonate est totale. (**Schéma 99**).

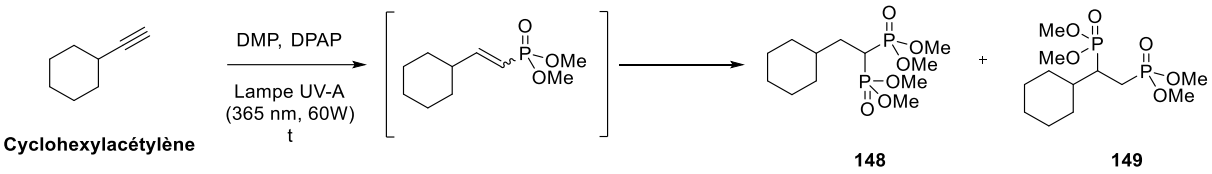


Schéma 99 - Schéma réactionnel général de la formation des bisphosphonates **148** et **149** à partir du cyclohexylacétylène

Pour commencer cette seconde étude, nous avons sélectionné les conditions ayant données la meilleure conversion à partir des vinylphosphonates (cf. **Tableau 13**, Entrée **6**). A partir du cyclohexylacétylène (**Tableau 13**, Entrée **1**), la conversion est plus faible mais il faut tenir compte de la succession de 2 étapes. Précédemment, deux paramètres ont été étudiés : la durée de la réaction et l'influence de l'ajout de DPAP au cours de la réaction. L'influence de ces mêmes paramètres a été étudiée ici :

1) Influence de l'ajout de DPAP sur la réaction : pour rappel, l'étude précédente a montré que l'ajout de DPAP en milieu de réaction était bénéfique pour la conversion de l'isomère (E). A partir du cyclohexylacétylène (**Tableau 13**, Entrée **2**), les résultats montre qu'un ajout à mi-réaction (sur une réaction de 6h) permet une augmentation du pourcentage de conversion (**Tableau 13**, Entrée **2** *vs* **1**).
2) Influence de la durée de la réaction : pour rappel, l'étude précédente a démontré que le temps réactionnel a un impact important sur la conversion de l'isomère (Z). A partir du cyclohexylacétylène :

- Plus le temps de la réaction est long, meilleure est la conversion (**Tableau 13**, Entrée **1** *vs* **3** *vs* 4).
- Un temps de réaction plus court mais avec un ajout de DPAP (**Tableau 13**, Entrée **2** *vs* **3**) donne une même conversion qu'un temps de réaction plus long mais sans ajout.

Les résultats montrent donc que la conversion est influencée par le temps de réaction et par l'ajout de DPAP, alors que le ratio du bisphosphonate géminal par rapport au vicinal n'est pas impacté par ces paramètres.

Tableau 13 - Etude préliminaire de formation des bisphosphonates à partir du cyclohexylacétylène

Entrée	Temps (t)	DPAP départ	DPAP ajouté (t_{ajout})	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	6h	0.5 équiv.	-	30%	64/36
2	6h	0.5 équiv.	0.5 équiv. (3h)	41%	61/39
3	8h	0.5 équiv.	-	41%	65/35
4	16h	0.5 équiv.	-	48%	65/35

Nous avons alors fait varier la quantité de DPAP engagée au départ et son impact sur la conversion mais aussi sur le ratio géminal/vicinal des bisphosphonates formés (**Tableau 14**). Le temps de réaction a été fixé à 8h, un compromis entre temps de réaction et conversion (**Tableau 13**, Entrée **3**).

Tout d'abord, il est à remarquer que plus la quantité de DPAP introduite au départ est faible, plus la conversion est importante (**Tableau 14**, Entrées **4** à **8**). C'est du moins le cas jusqu'à 0.05 équivalent (**Tableau 14**, Entrée **8**), quantité à laquelle la conversion observée est la meilleure, à savoir 79%. En deçà de 0.05 équivalent, la conversion diminue jusqu'à atteindre 32% pour 0.015 équivalent de DPAP (**Tableau 14**, Entrée **10**). A l'inverse, la conversion diminue si l'on augmente la quantité de DPAP (**Tableau 14**, Entrées **4** vs **1** à **3**). Il serait imaginable qu'une grande quantité de DPAP mènerait à des réactions de terminaisons rapides délétères à la réaction, et au contraire qu'une trop faible quantité ne serait pas suffisante pour correctement amorcer la réaction. La conversion se ferait alors moins facilement ou plus lentement.

La seconde observation est que la quantité de DPAP influe sur le ratio bisphosphonate géminal/vicinal. En effet, nous observons que ce ratio augmente de façon concomitante avec la diminution de la quantité de DPAP de départ, jusqu'à atteindre un palier d'environ 80/20 à partir de 0.15 équivalent (**Tableau 14,** Entrée **6** à **10**), qui ne semble plus évoluer lorsqu'une quantité de DPAP plus faible est utilisée. En revanche, bien que la quantité de DPAP oriente la réaction vers la formation d'un régio-isomère ou l'autre, l'obtention majoritaire du

bisphosphonate vicinal n'est que très peu intéressante ici car obtenu avec un faible rendement (**Tableau 14**, Entrée **1**) à moins de rallonger la durée de réaction. Ce paramètre reste toute de même extrêmement intéressant car il démontre la possibilité d'orienter la réaction vers la synthèse du bisphosphonate géminal, phénomène encore jamais décrit à partir d'un alcyne.

Tableau 14 - Influence de la quantité de DPAP de départ sur la conversion en bisphosphonates et le ratio géminal/vicinal après 8h de réaction

Entrée	DPAP départ	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	5 équiv.	18%	16/84
2	2 équiv.	23%	35/65
3	1 équiv.	31%	52/48
4	**0.5 équiv.**	**41%**	**65/35**
5	0.25 équiv.	51%	71/29
6	0.15 équiv.	54%	83/17
7	0.10 équiv.	68%	80/20
8	0.05 équiv.	79%	74/26
9	0.025 équiv.	55%	86/14
10	0.015 équiv.	32%	81/19

L'étude préliminaire menée à partir du cyclohexylacétylène montrait que l'ajout de DPAP en cours de réaction était bénéfique (cf. Tableau **13**, Entrée **2**). Le second paramètre étudié est donc l'influence du temps $t_{(ajout)}$ auquel du DPAP supplémentaire est ajouté. Les résultats du **Tableau 15** montrent les conversions et ratios obtenus après 6h de réaction avec des $t_{(ajout)}$ de DPAP (0.15 équiv.) allant de 30 min à 4h. Il montre que l'ajout de DPAP avant 2h de réaction est délétère puisque la conversion chute par rapport à celui de la réaction sans ajout (**Tableau 15**, Entrées **2**, **3** et **4** *vs* **1**). En revanche, à partir de 2h de réaction, l'ajout de DPAP semble bénéfique puisque la conversion est supérieure à celui de la réaction sans ajout, et augmente jusqu'à atteindre un plateau à 3h de réaction (**Tableau 15**, entrées **5**, **6** et **7**). Ce constat mène à penser que l'ajout de DPAP trop proche du début de la réaction conduit à des réactions

radicalaires secondaires interférant avec la réaction désirée et empêchant la bonne conversion des vinylphosphonates en bisphosphonates. L'ajout de DPAP est donc nécessaire et doit se faire au moins 3h après le début de la réaction. Pour l'expérience suivante, il sera choisi de faire l'ajout à 4h de réaction puisque cela correspond à la moitié du temps de réaction si ce dernier est fixé à 8h de réaction (cf.**Tableau 13**, Entrée **3**).

Tableau 15 - Influence du $t_{(ajout)}$ DPAP sur la conversion après 6h de réaction

Entrée	DPAP départ	DPAP ajouté ($t_{(ajout)}$)	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	0.15	-	50%	79/21
2	0.15	0.15 (30 min)	48%	74/26
3	0.15	0.15 (1h)	43%	80/20
4	0.15	0.15 (1h30)	25%	69/31
5	0.15	0.15 (2h)	57%	76/24
6	**0.15**	**0.15 (3h)**	**63%**	**76/24**
7	**0.15**	**0.15 (4h)**	**62%**	**76/24**

Comme précédemment, pour une même quantité de DPAP de départ, le ratio bisphosphonate géminal/vicinal n'est que peu influencé par l'ajout ou non de DPAP, ni du temps auquel cet ajout est réalisé.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la quantité de DPAP à ajouter en cours de réaction pour obtenir la meilleure conversion possible. Si les résultats préliminaires montrent que l'ajout d'une quantité de DPAP de départ trop important est délétère, la question est donc de savoir si c'est aussi le cas lorsque la quantité de DPAP est ajoutée en cours de réaction.

Le premier constat est que l'ajout, à 4h de réaction, d'une même quantité de DPAP est bénéfique pour la conversion quand la quantité de départ est supérieure ou égale 0.15 équiv. (**Tableau 16**, Entrée **1** *vs* **2**, Entrée **4** *vs* **5**), mais semble moins impacter quand la quantité est inférieure ou égale à 0.10 équiv. (**Tableau 16**, Entrée **6** *vs* **7**, Entrée **8** *vs* **9**) puisque les pourcentages de conversions sont similaires avec ou sans ajout de DPAP. La seconde remarque est que plus la quantité de DPAP ajoutée est faible, meilleure est la conversion. En

effet, dans le cas où la quantité de DPAP initiale est de 0.25 équivalent, un ajout de 0.10 équivalent de DPAP donne une meilleure conversion qu'un ajout de 0.25 équivalent (**Tableau 16**, Entrée **2** *vs* **3**). De la même façon, avec une quantité de DPAP de départ de 0.05 équivalent, un ajout de 0.05 équivalent de DPAP mène à une meilleure conversion qu'un ajout de 0.10 équivalent (**Tableau 16**, Entrée **9** *vs* **10**).

Tableau 16 - Influence de la quantité de DPAP ajouté en cours de réaction après 8h de réaction

Entrée	DPAP départ	DPAP ajouté ($t_{(ajout)}$)	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	0.25	-	51%	71/29
2	0.25	0.25 (4h)	58%	72/28
3	0.25	0.10 (4h)	61%	73/27
4	0.15	-	54%	83/17
5	0.15	0.15 (4h)	61%	78/22
6	0.10	-	68%	80/20
7	0.10	0.10 (4h)	65%	81/19
8	0.05	-	79%	74/26
9	**0.05**	**0.05 (4h)**	**82%**	**75/25**
10	0.05	0.10 (4h)	75%	83/17

La conclusion de cette étude est que la conversion est d'autant meilleure que la quantité de départ de DPAP ajoutée est faible. De même que l'ajout rapide de DPAP pourrait mener à des réactions secondaires indésirables, une quantité trop importante de DPAP pourrait avoir le même effet et conduire à une moins bonne conversion. En revanche, le ratio bisphosphonate géminal/vicinal semble peu impacté par l'ajout de DPAP au cours de la réaction.

Pour finaliser l'optimisation de la réaction, l'influence du nombre d'ajouts de DPAP et du temps de réaction sur la conversion sont étudiés (**Tableau 17**) à partir du meilleur résultat précédemment obtenu (**Tableau 16**, Entrée **9**).

Tableau 17 - Influence de la fréquence d'ajout du DPAP, du temps de réaction et du $t_{(ajout)}$

Entrée	Temps	DPAP départ	DPAP ajouté ($t_{(ajout)}$)	Conversion (Calculé par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	8h	0.05	0.05 (4h)	82%	75/25
2	8h	0.05	0.05 (3h, 6h)	79%	81/19
3	8h	0.05	0.10 (4h)	75%	83/17
4	8h	0.05	0.10 (3h, 6h)	74%	77/23
5	**12h**	**0.05**	**0.05 (8h)**	**87%**	**73/27**
6	12h	0.05	0.05 (4h, 8h)	86%	81/19
7	12h	0.10	0.10 (4h, 8h)	84%	75/25

Ainsi, pour 8h de réaction, deux ajouts de la même quantité de DPAP que celle de départ à 3h et 6h donne une conversion similaire à celle observée lors d'un unique ajout à 4h de réaction (**Tableau 17**, Entrée **1** *vs* **2** et Entrée **3** *vs* **4**). En corrélation avec les résultats précédents, l'ajout d'une plus grande quantité de DPAP mène à une légère baisse du pourcentage de conversion (**Tableau 17**, Entrée **1** *vs* **3**). Pour 8h de réaction, les meilleures conditions semblent donc être trouvées (**Tableau 17**, Entrée **1**). La réaction est alors laissée plus longtemps, à savoir 12h, et du DPAP est ajouté une ou deux fois (**Tableau 17**, Entrée **5**, **6**, **7**). De la même façon qu'un plateau semblait être atteint pour 8h de réaction, peu importe le nombre d'ajout de DPAP, le pourcentage de conversion après 12h de réaction est similaire qu'un ou deux ajouts soit fait au cours de la réaction (**Tableau 17**, Entrée **5**, **6** et **7**). De plus, le pourcentage de conversion à 12h est plus important qu'à 8h, confirmant bien que la durée de réaction est un facteur important pour l'avancement de la réaction. Il est probable que le temps de réaction ne soit pas le seul facteur à l'origine de l'augmentation, mais que l'espacement des ajouts de DPAP soit aussi important. L'utilisation d'une plus grande quantité initiale de DPAP ne joue pas particulièrement de rôle ici, mais nous préférerons toujours l'utilisation de la plus faible quantité d'initiateur possible (**Tableau 17**, Entrée **6** *vs* **7**).

Enfin, la réaction est reproduite avec 50 équivalents de diméthylphosphite mais, comme observé pour la formation des vinylphosphonates, la conversion chute grandement (**Tableau 18**, Entrée **1** *vs* **2**). Le ratio géminal/ vicinal n'est pas impacté par la concentration en DMP.

Tableau 18 - Etude de l'influence de la quantité initiale de diméthylphosphite après 8h de réaction

Entrée	DMP	DPAP départ	DPAP ajouté ($t_{(ajout)}$)	Conversion (Calculée par RMN ^{31}P)	Ratio géminal/vicinal
1	100 équiv.	0.05	0.10 (4h)	75%	83/17
2	50 équiv.	0.05	0.10 (4h)	51%	76/23

Les conditions optimisées à partir du cyclohexylacétylène, à savoir 12h d'irradiation avec 0.05 équiv. de DPAP initial et un ajout de 0.05 équiv. à 8h, ont été retenus. Le spectre RMN ^{31}P du brut réactionnel après traitement est montré dans la **Figure 44**. Comparé au spectre ^{31}P des premiers essais réalisés à partir des vinylphosphonates (**Figure 42**), il est très remarquable que la quantité de bisphosphonate formée est accrue ; les pics majoritaires correspondant non plus aux isomères (Z) et (E) mais aux bisphosphonates géminaux et vicinaux.

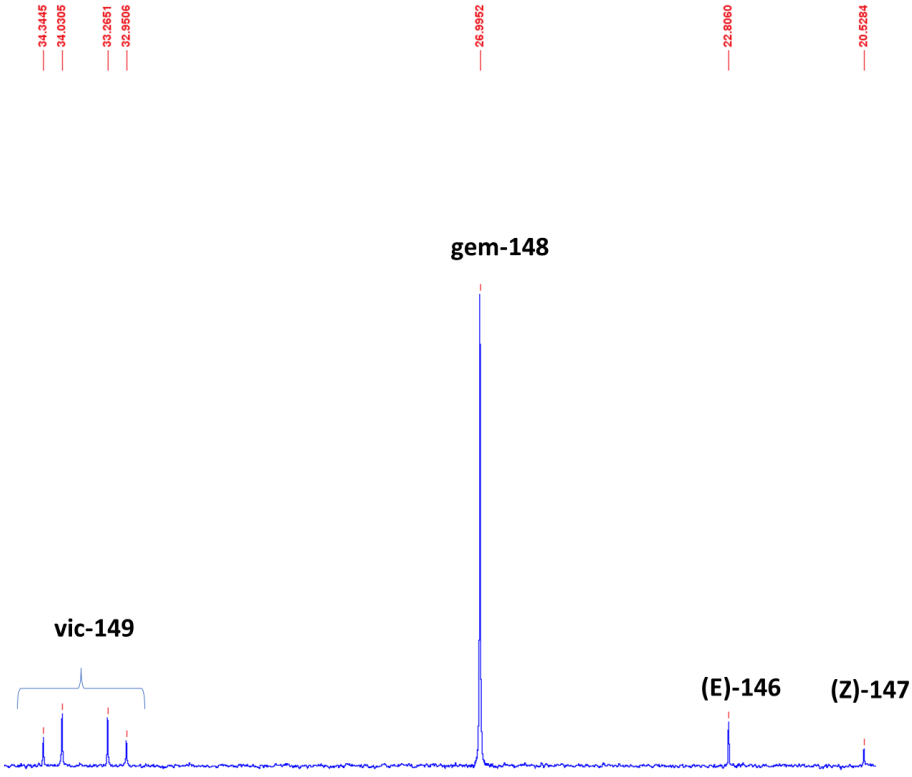


Figure 44 - Spectre RMN ^{31}P du brut réactionnel de l'H-phosphonylation du cyclohexylacétylène dans les conditions optimisées de la réaction (**Tableau 17**, Entrée 5)

Une fois les conditions optimales déterminées, nous nous sommes attachés à exemplifier la réaction à divers substrats d'une part, pour comparer leur différence de réactivité, d'autre part pour déterminer la sélectivité de la réaction vers l'un ou l'autre des bisphosphonates.

I.3. Exemplification

I.3.A. Analyse des bruts réactionnels

Dans un premier temps et pour vérifier la faisabilité de la réaction sur d'autres substrats à chaînes carbonées, la réaction est étendue à l'heptyne (**Schéma 100**). La RMN ^{31}P du brut montre la consommation totale des vinylphosphonates (Z) et (E). Ce résultat est en accord avec les hypothèses déjà émises, à savoir que la réaction fonctionne sur des alcynes terminaux substitués pas une chaine alkyle, et qu'elle est d'autant plus efficace que le substrat est peu encombré, ce qui est le cas de l'heptyne, moins encombré que le cyclohexylacétylène mais au dépend du ratio géminal/vicinal.

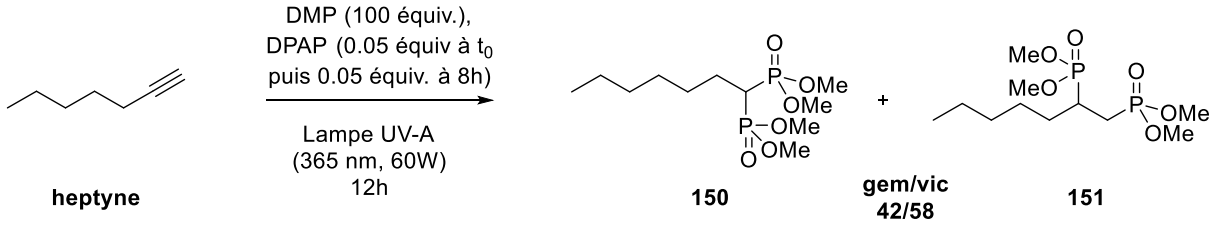


Schéma 100 - H-phosphonylation de l'heptyne dans les conditions optimisées de la réaction

En utilisant ces mêmes conditions (**Tableau 17**, Entrée **5**), la réaction est testée sur les substrats aromatiques **152-155** (**Figure 45**), mais la conversion s'est avérée particulièrement faible. La RMN ^{31}P du brut montre une conversion à hauteur de 9% des vinylphosphonates en bisphosphonates géminaux. Un travail d'optimisation est donc à prévoir à partir de ces vinylphosphonates isolés pour tenter de pousser leur conversion en bisphosphonates. Le composé **156** porteur d'un ester conjugué à l'alcyne est aussi testé mais le bisphosphonate n'est pas observé en RMN ^{31}P du brut.

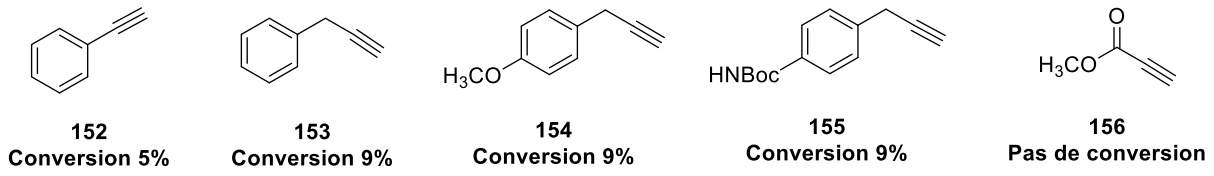


Figure 45 – Substrats aromatiques utilisées dans la réaction de di-hydrophosphonylation

I.3.B. Traitement et purification

Lors du travail d'optimisation, les différents bruts réactionnels ont été obtenus par dilution du milieu réactionnel dans de l'acétate d'éthyle suivi de lavage répétés (6 fois) par une solution aqueuse de $NaHCO_3$ saturée pour éliminer le large excès de diméthylphosphite. La masse de brut obtenue était cependant inférieure à la masse théorique. L'hypothèse était donc qu'une majorité de bisphosphonates formées passe en phase organique. L'hypothèse a été vérifiée par réextraction de la phase aqueuse. Le traitement par extraction telle qu'il était appliqué lors de la phase d'optimisation n'est donc pas compatible pour l'isolement des bisphosphonates formés ; il sera d'autant moins adapté aux substrats fonctionnalisés plus polaires et donc plus affins pour la phase aqueuse que les bisphosphonates cyclohexylés. De plus, une expérience RMN ^{31}P du brut sans traitement révèle la formation de sous-produits phosphorés, jamais observés lors de la phase d'optimisation puisque solubles en phase aqueuse.

Ainsi, la solubilité partielle des bisphosphonates en phase aqueuse, associée à la formation de sous-produits phosphorés pourraient expliquer la faible masse du brut après traitement.

Nous avons alors fait le choix d'isoler les bisphosphonates sans traitement préalable. La purification sur gel de silice en chromatographie flash des milieux réactionnels permet de séparer les bisphosphonates des vinylphosphonates (Z) et (E) (lorsque la conversion n'est pas totale), mais ne permet pas de totalement séparer le géminal du vicinal, leur polarité étant très similaire.

Les bisphosphonates obtenus à partir du cyclohexylacétylène sont obtenus avec un rendement de 57%, tandis qu'à partir de l'heptyne, les bisphosphonates sont isolés avec un rendement de 65%. Les rendements isolés sont plus faibles que les taux de conversion observés par RMN ^{31}P et pourraient s'expliquer par une perte de produit lors de la purification (pas de chromophore UV et détection difficile par CCM). Une seconde hypothèse serait qu'une partie du produit co-élue avec le DMP.

Bien que la méthode permette d'isoler les bisphosphonates obtenus à partir d'alcynes substitués par des chaînes alcanes, l'étape de purification est pour l'instant inadaptée aux autres substrats fonctionnalisés. En effet, aucun des bisphosphonates obtenus à partir d'alcynes fonctionnalisé (**Figure 45**) n'est isolé, si tant est qu'ils se soient formés. En effet, bien

que les fractions isolées présentent des spectres RMN ^{31}P possédants des pics dans des plages de déplacements chimiques correspondants à ce qui est attendu, les produits n'ayant pas été isolés et caractérisés, il n'est pas sûr que les bisphosphonates se soient formés.

Par la suite, il sera nécessaire de passer par une étape de traitement, non seulement pour éliminer le diméthylphosphite en excès et éviter son éventuelle co-élution avec le bisphosphonate, mais aussi pour tenter d'éliminer les sous-produits phosphorés possiblement solubles en phase aqueuse. Un travail d'optimisation est donc à prévoir.

I.4. Pistes en vue de l'élucidation du mécanisme

Si l'observation de la formation du bisphosphonate géminal par hydrophosphonylation d'un alcyne est particulièrement intéressante, elle interroge sur le mécanisme associé.

La première étape du mécanisme proposé (**Figure 46**) consiste en l'addition 1,2-régiosélective du radical phosphonate sur la triple liaison pour donner le produit d'addition anti-Markonikov.[232] Pour rappel, la règle de Markonikov permet de prédire la régiosélectivité de l'addition électrophile d'un acide protique HX (comme HBr) sur un alcène ou un alcyne asymétrique. Cette règle est régie par la formation du carbocation le plus stable lors de l'ajout de l'hydrogène, or plus un carbocation est substitué plus il est stable par effets d'induction ou d'hyperconjugaison. Un produit anti-Markonikov se forme, par définition, dans le cas où la règle Markonikov n'est pas respectée.[233,234]
Son mécanisme implique la formation de radicaux et sa formation est régi par la formation du radical le plus stable.

Dans notre cas, la réaction s'effectue via un mécanisme radicalaire. L'initiateur de la réaction est le DPAP qui, irradié aux UV-A, se décompose en deux radicaux **A** et **B**, qui provoque une rupture homolytique sur le diméthylphosphite pour donner le radical **C**. C'est l'étape d'amorçage. Lors de l'étape de propagation, le radical **C** s'additionne sur l'alcyne pour donner **D**, le radical le plus stable. Le radical créé ne rupture homolytique sur une seconde molécule de diméthylphosphite pour donner les vinylphosphonates **E** (**Figure 46**).

La seconde étape du mécanisme proposé conduit à la formation des deux bisphosphonates régio-isomères. Le mécanisme proposé est similaire à celui de la formation des vinylphosphonates. L'étape d'amorçage initiée lors de la formation des vinylphosphonates libère le radical phosphite **C** qui réagit avec le vinylphosphonate formé lors de la première

étape. L'un, l'autre ou les deux radicaux **F** et **G** se forment, et réagissent avec une molécule de diméthylphosphite pour donner respectivement less bisphosphonate géminal **H** et le bisphosphonate vicinal **I**.

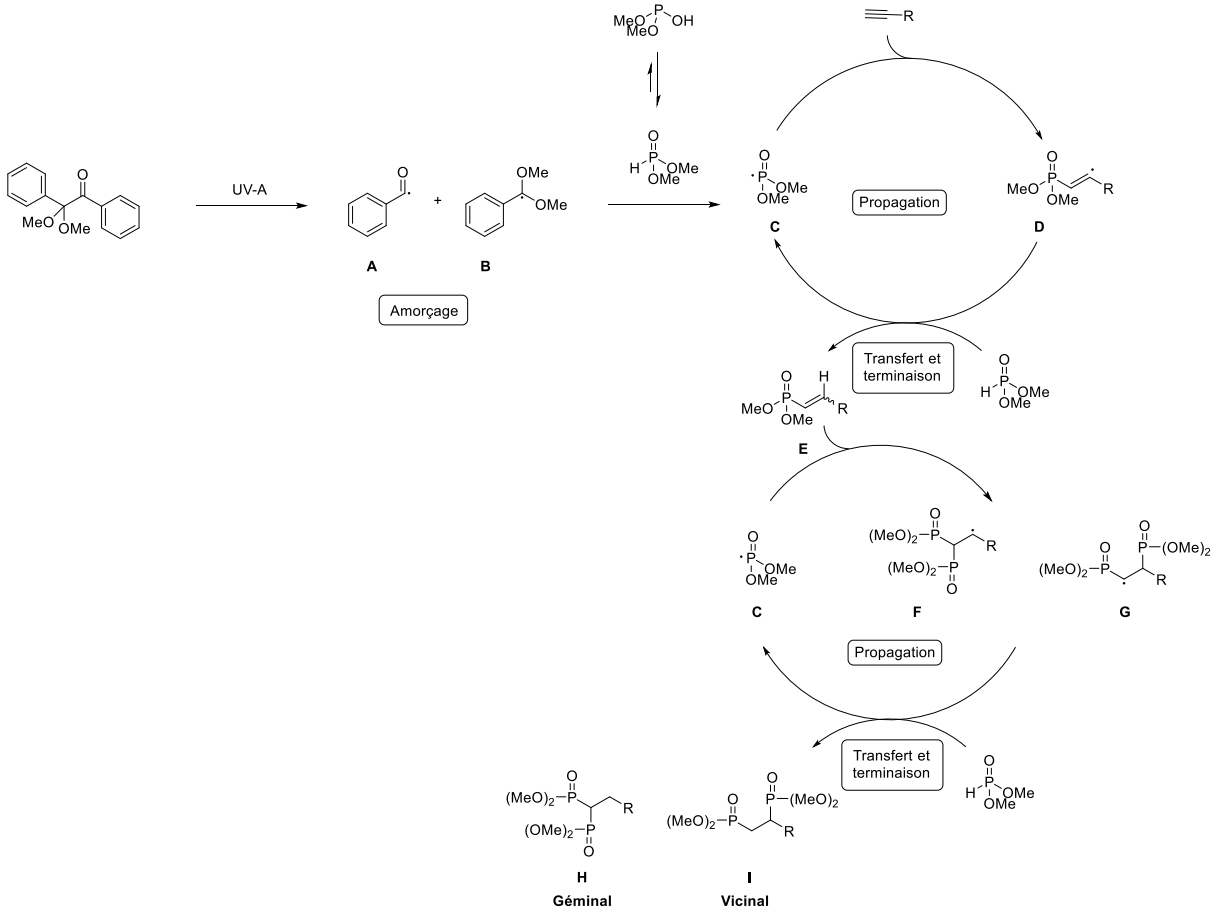


Figure 46 - Mécanisme proposé

Pour comprendre l'influence de la quantité de DPAP sur le taux de conversion, plusieurs hypothèses pourraient être émises :

1) Les radicaux **A** et **B** issus du DPAP conduisent à des réactions de terminaison prématurées en réagissant avec les radicaux **C**, **D**, **F**, **G** par recombinaison (les deux radicaux forment une liaison covalente). Ainsi, pour favoriser l'étape de propagation, il est nécessaire que la cinétique de celle-ci soit plus importante que celle de l'étape de terminaison afin d'avoir une réaction plus efficace. La concentration des radicaux initiateurs **A** et **B** dans le milieu, et donc la quantité de DPAP, doit donc être faible, tout en étant tout de même suffisamment importante pour initier la réaction. Cette hypothèse pourrait être validée ou infirmée par l'isolement de produits phosphorés secondaires. En revanche, le radical **C** issu du DMP doit persister et être en

concentration élevée. Cette hypothèse est supportée par le fait qu'une diminution du nombre d'équivalents de DMP de 100 à 50 conduit à une chute notable du rendement.

2) Les composés issus de la dégradation du DPAP possède un effet « écran » par décomposition sous irradiation-UV (**Schéma 101**).[235,236] Ces composés sont susceptibles d'absorber la lumière UV à la longueur d'onde définie et donc d'absorber l'énergie nécessaire à la réaction, à l'origine d'une diminution de son efficacité, d'où la nécessité d'avoir une lampe puissante.

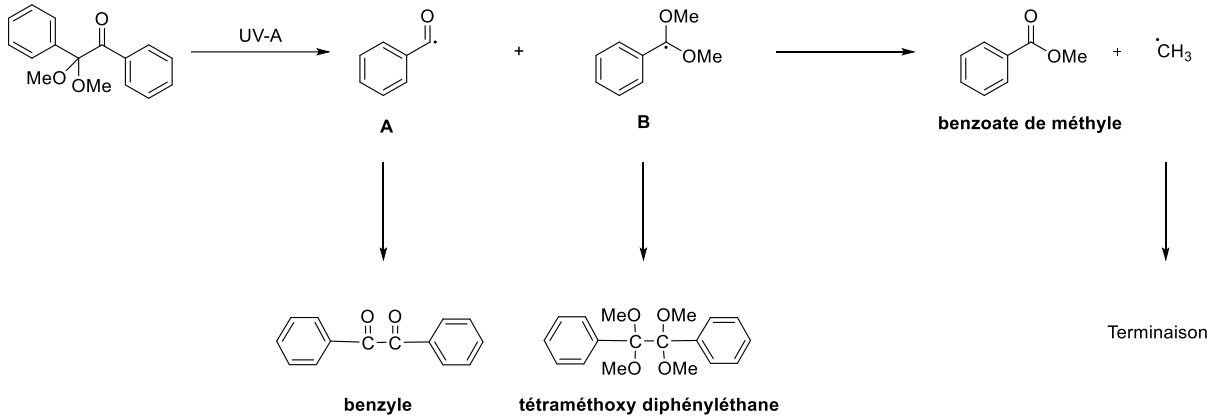


Schéma 101 – Mécanisme de photolyse du DPAP sous irradiation UV

Une étude RPE, voire de spin trapping dans le cas où les espèces radicalaires ont une durée de vie trop faible, serait particulièrement intéressante pour élucider le mécanisme de la réaction.

I.5 Conclusions et Perspectives

Les travaux préliminaires reportés ici se veulent une application directe de la réaction d'addition radicalaire d'H-phosphonate sur des alcènes, décrite dans l'équipe, à la synthèse de bisphosphonates. La méthodologie développée est particulièrement novatrice puisqu'elle s'inscrit comme l'alternative photochimique aux méthodes déjà existantes. De plus, et c'est le point le plus intéressant, elle permet l'accès aux bisphosphonates géminaux dont la synthèse à partir d'alcyne n'a été décrite qu'une seule fois. Ces travaux s'inscrivent donc dans le développement de nouvelles réactions qui se veulent plus respectueuses de l'environnement.

Bien que la réaction ait déjà été décrite pour la synthèse de vinylphosphonates, un important travail d'optimisation a été réalisé pour l'appliquer à la synthèse de bisphosphonates.

L'étude a montré l'influence du DPAP sur la réaction. Ainsi, l'utilisation d'une très faible quantité d'initiateur pour amorcer la réaction est primordiale à la fois pour favoriser la

conversion des vinylphosphonates en bisphosphonates mais aussi pour favoriser le ratio de bisphosphonates géminaux *vs* vicinaux. Si seule la quantité de DPAP initiatrice à une influence sur ce ratio, la conversion peut être améliorée par l'ajout de DPAP en cours de réaction. Cet ajout doit cependant être contrôlé puisque s'il se fait trop tôt ou en trop grande quantité, son effet est au contraire délétère. Enfin, la durée de réaction est aussi un paramètre important, puisqu'une réaction plus longue donne de meilleurs pourcentages de conversion.

Ces résultats plus qu'encourageants demeurent préliminaires et un travail substantiel reste à mener notamment pour isoler les bisphosphonates. Ainsi, la purification du milieu réactionnel sans traitement ne s'est pas avérée concluante pour les substrats mis en jeu, à court terme, il sera primordial d'identifier les conditions de traitement à utiliser. L'objectif à est de trouver la balance entre l'élimination en phase aqueuse du diméthylphosphite introduit en excès, et favoriser le passage du ou des bisphosphonate(s) formé(s), en phase organique. Une fois cette étape optimisée, la réaction pourra être appliquée à une diversité de substrats et des conclusions pourront être tirées quant à leur réactivité.

A ce jour, l'utilisation de substrats aromatiques conduit à une faible conversion, et l'optimisation de la réaction sera nécessaire et pourra se faire à partir des vinylphosphonates correspondants.

Enfin, des études mécanistiques pourront être menées afin de comprendre la régiosélectivité de la réaction, notamment son lien avec la quantité de DPAP de départ introduit.

Pour conclure, une nouvelle méthode d'hydrophosphonylation d'alcynes a été proposée. Cette méthodologie, décrite en conditions radicalaires par photo-activation, ouvre la voie au développement de nouvelles approches écoresponsables. A plus long terme, la réaction pourrait être appliquée à la synthèse de molécules complexes qui trouveraient notamment leur application dans le domaine pharmaceutique.

II. Hydrophosphinylation d'alcynes par photochimie

II.1. Rappels bibliographiques

A ce jour, seules deux équipes ont décrit la synthèse de dérivés bisphosphinates par hydrophosphinylation d'alcynes. La réaction a été décrite pour la première fois en 1984 par Nifant'ev et al. en conditions radicalaires et met en jeu l'hydrophosphinylation de divers alcènes par l'acide hypophosphoreux (**Schéma 102**, eq. (1)). La réaction est amorcée par du

peroxyde en condition thermique et donne majoritairement les vinylphosphonates (Z) et (E), bien que l'acide 1,2-bis-*H*-phosphinique, produit de la double addition, soit aussi observé.

20 ans plus tard, l'équipe de Montchamp a décrit cette même réaction dans des conditions plus douces grâce à l'utilisation de trialkylborane (R_3B) en présence d'air et à température ambiante (**Schéma 102**, eq. (2)).[117] Elle met en jeu l'hypophosphite de sodium qui conduit au 1,1-bis-H-phosphinate disodé.

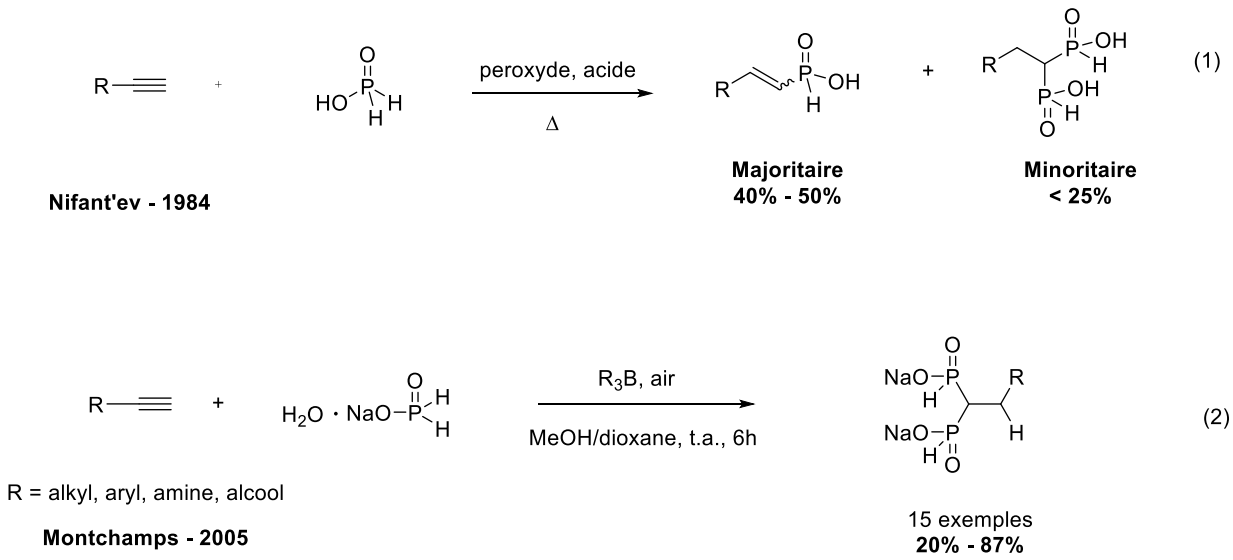


Schéma 102 – Réactions de bis-addition de phosphinates sur des alcynes décrites dans la littérature

Dans le prolongement de leurs travaux sur la réaction d'addition d'H-phosphonates sur des liaisons carbone-carbone insaturées, notre équipe s'est également intéressée à l'exploration de la réaction pour former des dérivés phosphinates (**Schéma 103**).[237] Lors de l'optimisation, plusieurs paramètres ont été étudiés, tels que : l'influence de la quantité de H-phosphinate, la quantité de DPAP, la durée, la source lumineuse et la présence ou non d'un solvant. Ainsi, les conditions optimales pour la réaction d'H-phosphonylation du cyclohexylacétylène font intervenir 5 équivalents d'éthylphénylphosphinate pendant 1h en présence de 0.5 équivalent de DPAP sous activation UV, le tout sans solvant. La réaction a ensuite été exemplifiée à partir de divers alcènes, d'alcynes et de réactifs organophosphorés incluant un H-phosphinate, un oxyde de dialkylphosphine et un acide alkylphosphonique.

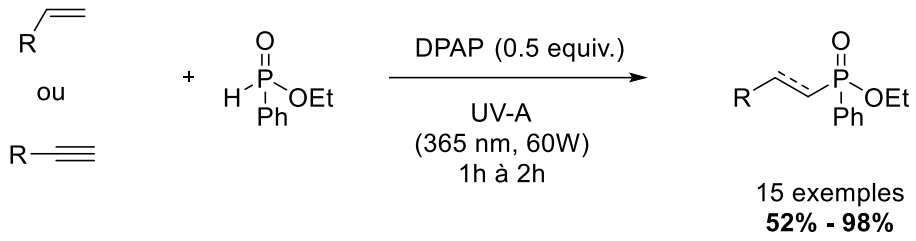


Schéma 103 - Hydrophosphinylation radicalaire d'alcènes et d'alcynes par photochimie

A la vue de ces résultats, nous avons donc envisagé d'appliquer cette réaction à la synthèse de bisphosphinates à partir d'alcynes en conditions radicalaires.

II.2. Résultats

Le substrat choisit pour réaliser cette étude est le cyclohexylacétylène, un substrat dont on sait que la synthèse des vinylphosphonates correspondants est rapide et totale.

- A partir de l'éthylphénylphosphinate

Les isomères (E)-**157** et (Z)-**158** sont synthétisés dans les conditions décrites pour l'H-phosphinylation d'alcènes (**Schéma 104**). La RMN ^{31}P du brut montre la présence des deux produits (ratio RMN ^{1}H, Z/E 52/48) ainsi que d'un produit secondaire à 19.02 ppm, minoritaire, à ce stade non isolé. La purification sur gel de silicice permet d'isoler (Z)-**157** et d'obtenir (E)-**158** en mélange avec le produit inconnu, identifié comme étant le diéthylphénylphosphinate après analyse en spectroscopie de masse.

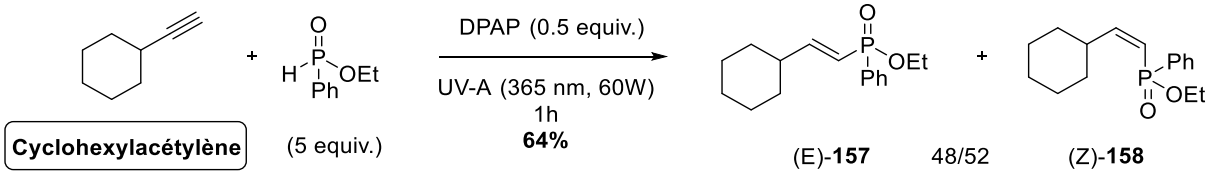
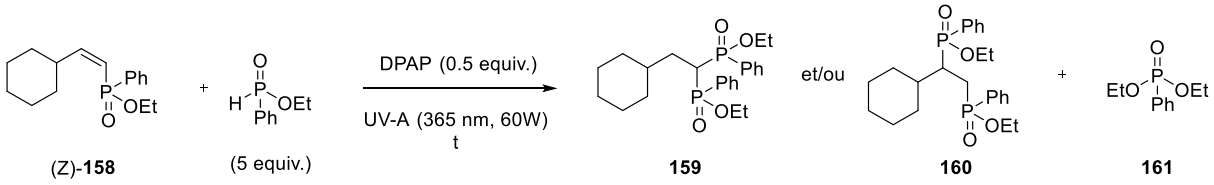


Schéma 104 - Synthèse des vinylphosphinates (E)-**157** et (Z)-**158** à partir du cyclohexylacétylène

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons observé la synthèse de bisphosphonates à partir des vinylphosphonates (E)-**157** et (Z)-**158**, la conversion se faisait plus rapidement sur le substrat (Z) que sur le substrat (E), très sûrement du fait de la gêne stérique amoindrie. Cette hypothèse a été extrapolée ici et nous avons fait le choix de faire des essais uniquement sur l'isomère (Z) ; d'autant que c'est le seul composé isolé pur.

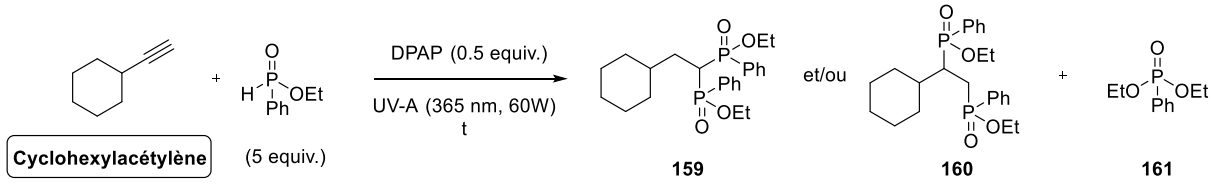
L'isomère (Z) est alors mis en réaction dans les mêmes conditions que précédemment en vue d'obtenir le(s) bisphosphonate(s) géminal et/ou vicinal (**Schéma 105**). Après 1h de réaction, la RMN ^{31}P du brut montre la présence majoritaire du vinylphosphinate de départ, de diéthylphénylphosphonate précédemment observé, ainsi qu'un ensemble de pics mal résolus entre 39.9 et 39.8 ppm. Après 4h de réaction, la RMN ^{31}P du brut confirme la formation de produits phosphonylés avec une augmentation de l'intensité des pics dans la zone à 39.5 ppm, ainsi que l'apparition d'un massif à 45.6 ppm. Une analyse par spectroscopie de masse du brut réactionnel après 6h de réaction montre la présence d'un produit de même masse que le bisphosphonate attendu. L'hypothèse serait donc que le massif entre 39.9 ppm et 39.8 ppm correspond à l'un des bisphosphinates attendus, et que le pic à 45.6 ppm soit le second.



(Z)-**158** (5 equiv.) **159** **160** **161**

Schéma 105 - Synthèse des bisphosphonates à partir du vinylphosphinate (Z)-**158**

La réaction est alors tentée en « one-pot » à partir du cyclohexylacétylène (**Schéma 106**). Un contrôle par la RMN ^{31}P du brut, après 1h de réaction, montre comme attendu la formation des deux vinylphosphinates (E)-**157** et (Z)-**158**, ainsi que le diéthylphénylphosphinate **161**. Après 4h, le même massif est présent et si la réaction est poursuivie 6h, le pic à 43.9 ppm apparaît également. En conclusion, les observations faites par RMN ^{31}P lors de l'hydrophosphonylation du vinylphosphonate (Z) sont les mêmes qu'à partir du cyclohexylacétylène, à savoir, l'apparition de produits pouvant correspondre aux bisphosphinates et la présence du diéthylphénylphosphonate.



(5 equiv.) **159** **160** **161**

Schéma 106 - Synthèse des bisphosphinates à partir du cyclohexylacétylène

La faible réactivité de l'éthylphénylphosphinate que ce soit sur le vinylphosphinate ou le cyclohexylacétylène peut s'expliquer par une quantité moindre de réactifs (5 équiv.) et

l'encombrement stérique qui gênerait la seconde addition sur la liaison C=C, favorisant l'arrêt de la réaction au vinylphosphinate.

En revanche, l'observation d'un produit en spectroscopie de masse d'un signal correspondant au(x) bisphosphinate(s) attendu(s) ainsi que la présence de pics en RMN ^{31}P dans la gamme de déplacements chimiques correspondants est encourageante. Les différents facteurs influençant la réaction devront être optimisés, (quantité de DPAP et durée de réaction), de façon à favoriser la formation du ou des bisphosphonate(s), et de façon à pouvoir les isoler puis les caractériser.

En parallèle, cette réaction a été réalisée à partir du vinylphosphonate (Z)-**147** (**Schéma 107**) dans l'objectif de synthétiser des phospho-phosphinates. La RMN ^{31}P du milieu réactionnel après 1h de réaction montre la présence majoritaire du vinylphosphonate (Z), du diéthylphenylphosphinate **161**, la présence d'un doublet dédoublé à 27.0 ppm, ainsi que deux nouveaux signaux à 34.0 ppm et 39.1 ppm. Après 4h de réaction, ces mêmes signaux sont observés ainsi qu'un quadruplet à 45.8 ppm. Le milieu réactionnel est analysé par spectroscopie de masse et un signal particulièrement intense, correspondant au composé résultant de la double addition est observé. L'application de cette réaction pour la synthèse de phospho-phosphinates semble donc possible, mais nécessitera bien sûr d'optimiser les conditions réactionnelles.

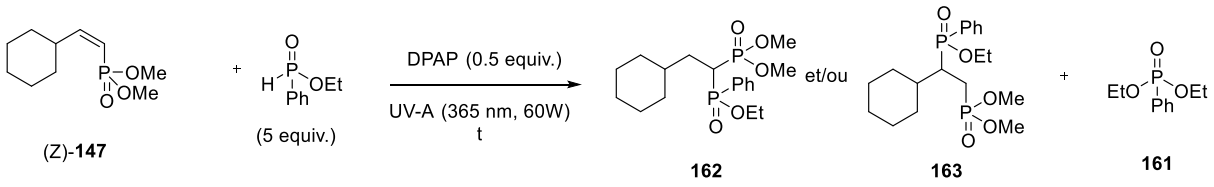


Schéma 107 - Hydrophosphonylation du vinylphosphonate par l'éthylphénylphosphinate

De façon générale, les observations RMN ^{31}P faites pour l'hydrophosphinylation à partir du vinylphosphonate Z sont les mêmes qu'à partir du cyclohexylacétylène, à savoir la présence résiduelle du produit de départ, le diméthylphosphinate et le ou les produits de double addition. Cependant, la réaction semble plus efficace sur le vinylphosphonate (Z)-**147** que sur le vinylphosphinate (Z)-**158** plus encombré. Cela confirme alors que l'encombrement stérique joue un rôle majeur lors de la seconde addition du phosphinate.

- A partir de l'hypophosphite de sodium

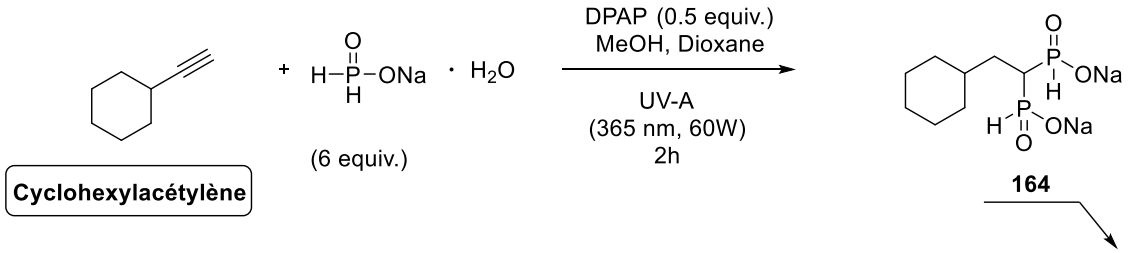


Schéma 108 – H-phosphinylation du cyclohexylacétylène et d'hypophosphite de sodium

Les conditions décrites par l'équipe de Montchamp pour la synthèse de bisphosphinates géminaux à partir d'alcynes ont été reproduites sous activation photochimique (**Schéma 108**). Bien que la durée de la réaction soit de 6h, notre premier essai n'a duré que 2h afin de vérifier, dans un premier temps, la faisabilité de la réaction. Un précipité blanc, plus tard identifié comme le bisphosphinate géminal par RMN ^{1}H, ^{31}P et spectroscopie de masse se forme, tandis que dans le filtrat se trouve l'excès d'hypophosphite de sodium. Cette méthode se révèle être particulièrement intéressante puisqu'elle permet d'isoler le bisphosphinate par simple précipitation.

L'hypophosphite de sodium semble donc être le H-phosphinate le plus prometteur pour l'hydrophosphinylation d'alcynes sous activation photochimique. Les pistes d'optimisation envisageables sont nombreuses. Dans un premier temps, il serait intéressant de faire la réaction sur un temps plus long pour favoriser la formation du bisphosphinate. Travailler sur plus grande échelle et éventuellement en milieu plus concentré permettrait de favoriser la précipitation et donc *in fine* la conversion et le rendement. Dans un second temps, il serait intéressant de remplacer le mélange MeOH/dioxane par un solvant plus éco-responsable. L'équipe de Montchamp avait déjà basé une partie de son optimisation sur la nature du solvant et avait démontré que non seulement l'utilisation d'un co-solvant en plus du MeOH était primordiale, mais que les meilleurs résultats étaient observés avec le dioxane. Toutefois, ils n'ont pas étudié des solvants moins conventionnels tels que méthoxycyclopentane (CPME), disponible commercialement et décrit comme une alternative éco-responsable au dioxane.[238] Enfin, et comme démontré lors de l'étude sur l'H-phosphonylation des alcynes, il faudra étudier l'influence de la quantité de DPAP sur la réaction, avec l'hypothèse qu'une baisse de DPAP favorise la conversion.

II.3. Conclusions et perspectives

Les travaux reportés ici doivent être considérés comme une étude préliminaire de la réaction d'addition radicalaire d'H-phosphinates sur des alcynes, en vue de l'obtention de bisphosphinates. Nous avons essentiellement basé celle-ci sur la nature du phosphinate utilisé.

L'éthylphénylphosphinate donne des résultats encourageants puisqu'il permet la formation du bisphosphinate désiré bien que la conversion soit faible. L'encombrement stérique risque d'être une limitation majeure à la double hydrophosphonylation, notamment sur des substrats qui seront eux-mêmes encombrés. Cependant, il sera intéressant d'optimiser la réaction (durée et quantité de DPAP), comme cela a été fait pour la synthèse de bisphosphonates. Une fois la réaction optimisée, il sera primordial d'isoler les produits afin de les caractériser.

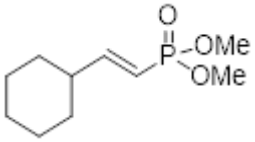
L'hypophosphite de sodium se présente comme l'H-phosphinate le plus intéressant puisqu'il permet d'accéder, par simple précipitation, au bisphosphinate géminal uniquement. La formation d'un bisphosphinate sodé est d'autant plus intéressante qu'il serait facilement convertible en bisphosphonate d'intérêt par oxydation. La réaction de H-phosphinylation mérite tout de même d'être optimisée, à la fois pour favoriser l'obtention du produit, mais aussi pour l'adapter à une chimie plus éco-responsable.

En conclusion, l'étude de divers phosphinates a donné des résultats particulièrement encourageants pour l'obtention des bisphosphinates correspondants, et de ce fait ouvre un large panel d'explorations intéressantes.

Partie expérimentale du Chapitre IV

I. Synthèse des vinylphosphonates

Le cyclohexylacétylène (1 équiv.) et le diméthylphosphite (100 équiv.) sont mis dans un tube à hémolyse (diamètre : 1 cm, épaisseur : 0.65 mm). Le DPAP (0.5 équiv.) est ajouté et le milieu réactionnel est agité sous UV (lampe UV-A, λmax = 365 nm, 4 tubes x 15 W ; vial à 2.5 cm de la lampe) pendant 30 minutes. La solution résultante est diluée avec de l'acétate d'éthyle et lavée 6 fois avec une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. L'huile résiduelle est purifiée sur gel de silice en chromatographie flash (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir les isomères (Z)-**146 et** (E)-**147** avec un rendement de 83% en proportion Z/E 49/51. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[231]

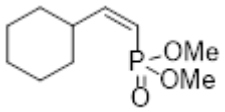


Diméthyl (*E*)-(2-cyclohexylvinyl)phosphonate - 146

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.87 – 6.67 (m, 1H, C<u>H</u>=CH-P), 5.55 (ddd, *J* = 21.1, 17.3, 1.4 Hz, 1H, CH=C<u>H</u>-P), 3.71 (d, *J* = 11.0 Hz, 6H, OCH_3), 2.24 – 2.03 (m, 1H, CH), 1.72 – 1.54 (m, 5H, CH_2), 1.42 – 1.07 (m, 5H, CH_2).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 22.8

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.27



Diméthyl (*Z*)-(2-cyclohexylvinyl)phosphonate - **147**

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.32 (ddd, *J* = 53.5, 13.0, 10.5 Hz, 1H, C<u>H</u>=CH-P), 5.42 (ddd, *J* = 19.8, 13.0, 0.6 Hz, 1H, CH=C<u>H</u>-P), 3.71 (d, *J* = 11.1 Hz, 6H, OCH_3), 2.93 (q, *J* = 10.9 Hz, 1H, CH), 1.81 – 1.64 (m, 5H, CH_2), 1.48 – 0.98 (m, 5H, CH_2).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 20.5

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.34

II. Synthèse des bisphosphonates

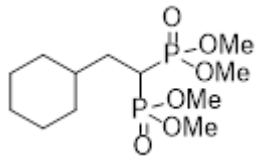
Protocole d'optimisation (A)

Le substrat (1 équiv.) et le diméthylphosphite (100 équiv.) sont mis dans un tube à hémolyse (diamètre : 1 cm, épaisseur : 0.65 mm). Le DPAP est ajouté et le milieu réactionnel est agité sous UV (lampe UV-A, λmax = 365 nm, 4 tubes x 15 W ; tube à 2.5 cm de la lampe) pendant le temps défini. La solution résultante est diluée avec de l'acétate d'éthyle et lavée 6 fois avec une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo.*

Protocole de purification (B)

L'alcyne (1 équiv.) et le diméthylphosphite (100 équiv.) sont mis dans un tube à hémolyse (diamètre : 1 cm, épaisseur : 0.65 mm). Le DPAP (0.05 équiv.) est ajouté et le milieu réactionnel est agité sous UV (lampe UV-A, λmax = 365 nm, 4 tubes x 15 W ; tube à 2.5 cm de la lampe) pendant 8h. Du DPAP (0.05 équiv.) est ajouté et le milieu réactionnel est agité 4h supplémentaires. Le milieu réactionnel est purifié sur gel de silice en chromatographie flash (dichlorométhane/acétone : 100% à 50/50).

Les composés **148** et **149** ont été obtenus à partir du cyclohexylacétylène sous la forme d'une huile jaune, en suivant le protocole **B**, avec un rendement de 57% et un ratio géminal/vicinal de 66/34.



Tétraméthyl (2-cyclohexylethane-1,1-diyl)bis(phosphonate) - 148

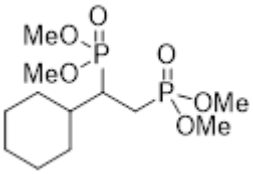
RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 2.47 (tt, J = 24.2, 6.3 Hz, 1H, PCHP), 1.73 (m, 7H, $\underline{CH_2}$PCHP, 3CH_2), 1.53 (m, 1H, CH), 1.29 – 1.06 (m, 3H, CH, CH_2), 0.85 (m, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 53.5 (s, OCH_3), 53.4 (s, OCH_3), 53.3 (s, OCH_3), 53.3 (s, OCH_3), 36.18 (s, CH), 33.0 (s, CH_2), 32.9 (t, J = 153.1 Hz, PCHP), 32.6 (s, $\underline{C}H_2$PCHP), 26.6 (s, CH_2), 26.2 (s, CH_2)

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 27.0 (s, 2P).

HRMS Q-TOF ESI$^+$ Mesurée : 329.1288, Calculée pour $C_{12}H_{27}O_6P_2$: 329.1283 $(M+H)^+$

Rf Dichlorométhane/Acétone 50/50 (v/v) : 0.34



Tétraméthyl (1-cyclohéxyléthane-1,2-diyl)bis(phosphonate) - **149**

RMN ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 2.28 – 2.07 (m, 3H, PCH_2, PCH), 2.04 – 1.57 (m, 7H, CH_2, CH) 1.42 – 1.10 (m, 4H, CH_2)

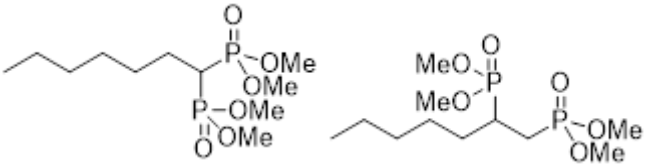
RMN ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 53.7 – 51.6 (m, OCH_3), 38.7 (s, CH), 36.6 (CH_2P), 35.5 (CHP), 30.6 (s, CH_2), 29.9 (CH_2), 26.2 (s, CH_2), 22.0 (s, CH_2), 20.9 (s, CH_2)

RMN ^{31}P (202 MHz, $CDCl_3$) δ 32.2 (d, J = 51.2 Hz, 1P), 33.2 (d, J = 50.4 Hz, 1P)

HRMS Q-TOF ESI$^+$ Mesurée : 329.1283, Calculée pour $C_{12}H_{27}O_6P_2$: 329.1277 $(M+H)^+$

Rf Dichlorométhane/Acétone 50/50 (v/v) : 0.34

Les composés **342** et **343** ont été obtenus à partir du cyclohexylacétylène sous la forme d'une huile jaune, en suivant le protocole **B**, avec un rendement de 65% et un ratio géminal/vicinal de 66/34.



Tétraméthyl heptane-1,1-diylbis(phosphonate) - 150 et Tétraméthyl heptane-1,2-diylbis(phosphonate) - 151

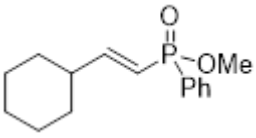
RMN ^{31}P (202 MHz, $CDCl_3$) δ 34.9 (d, J = 67.64 Hz, 1P), 32.56 (d, J = 67.6 Hz, 1P)

Rf Dichlorométhane/Acétone 50/50 (v/v) : 0.36

III. Synthèse de vinylphosphinates

Le cyclohexylacétylène et l'éthylphénylphosphinate sont mis dans un tube à hémolyse (diamètre : 1 cm, épaisseur : 0.65 mm). Le DPAP est ajouté et le milieu réactionnel est agité sous UV (lampe UV-A, λmax = 365 nm, 4 tubes x 15 W ; vial à 2.5 cm de la lampe) pendant 1

heure. La solution résultante est diluée avec de l'acétate d'éthyle et lavée 6 fois avec une solution aqueuse à 10% KOH. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée *in vacuo*. L'huile résiduelle est purifiée sur gel de silice en chromatographie flash (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir les isomères(E)-**157** et (Z)-**158** et avec un rendement de 64% en proportion Z/E 51/49. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[237]

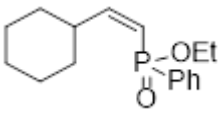


Ethyl (*E*)-(2-cyclohexylvinyl)(phényl)phosphinate - 157

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.86 – 7.74 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.61 – 7.41 (m, 3H, CH_{Ar}), 6.24 (ddd, *J* = 46.3, 12.9, 10.5 Hz, 1H, C<u>H</u>=CH-P), 5.72 (dd, *J* = 19.9, 13.0 Hz, 1H, CH=C<u>H</u>-P), 4.17 – 3.84 (m, 3H, OCH_3), 3.01 – 2.82 (m, 1H, CH), 1.84 – 1.49 (m, 5H, CH_2), 1.29 - 0.99 (m, 5H, CH_2, CH_3)

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 31.7

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.31



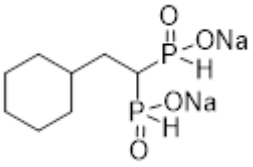
Ethyl (*Z*)-(2-cyclohexylvinyl)(phényl)phosphinate - 158

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.86 – 7.74 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.61 – 7.41 (m, 3H, CH_{Ar}), 6.24 (ddd, *J* = 46.3, 12.9, 10.5 Hz, 1H, C<u>H</u>=CH-P), 5.72 (dd, *J* = 19.9, 13.0 Hz, 1H, CH=C<u>H</u>-P), 4.17 – 3.84 (m, 2H, OCH_2), 3.01 – 2.82 (m, 1H, CH), 1.84 – 1.49 (m, 4H, CH_2), 1.45 – 1.25 (m, 5H, CH_2, CH_3), 1.23 – 0.83 (m, 4H, CH_2).

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 30.1

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.44

IV. Synthèse des bisphosphinates



Sodium (2-cyclohexyléthane-1,1-diyl)bis(phosphinate) - 164

L'hypophosphite de sodium monohydraté (6 équiv.) est mis dans un tube à hémolyse (diamètre : 1 cm, épaisseur : 0.65 mm) et solubilisé dans un mélange de méthanol/dioxane (80/20). Le cyclohexylacétylène (1 equiv.), et le DPAP (0.5 équiv) sont ajoutés et le milieu réactionnel est agité sous UV (lampe UV-A, λmax = 365

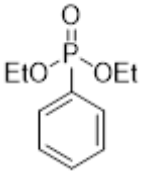
nm, 4 tubes x 15 W ; vial à 2.5 cm de la lampe) pendant 1 heure. La suspension résultante est centrifugée, le filtrat retiré et le précipité lavé 3 fois au méthanol pour obtenir le produit sous la forme d'un solide blanc. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[117]

RMN ^{31}P(162 MHz, $CDCl_3$) δ 25.9

MS Q-TOF ESI$^+$: 241.1 $(M+H)^+$

RMN ^{1}H (400 MHz, D_2O) δ 1.82 – 1.42 (m, 9H), 1.26 – 1.05 (m, 3H), 0.84 (dd, *J* = 14.5, 8.6 Hz, 2H).

V. Caractérisation d'un sous-produit de réaction



Diéthylphénylphosphonate – 161

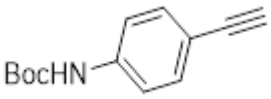
RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.54 – 7.31 (m, 5H, CH_{Ar}), 3.93 – 3.82 (m, 4H, OCH_2) 1.26 (t, *J* = 3.5 Hz, 6H, CH_3)

RMN ^{31}P (162 MHz, $CDCl_3$) δ 19.0

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.31

MS Q-TOF ESI$^+$: 215.1 $(M+H)^+$

VI. Caractérisation de la Boc-aniline comme substrat



***tert*-Butyl (4-éthynylphényl)carbamate**

Le protocole est adapté des travaux de Leiras *et al*.[239] Le di-tert-butyldicarbonate (3.1 équiv.) est solubilisé dans du THF anhydre (1 mL/mmol) puis le 4-éthylaniline (1 équiv.) est ajoutée. La solution orangée est agitée 4h à reflux. Le milieu est concentré *in vacuo* et l'huile résiduelle est purifié sur gel de silice (gradient éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20 à 100%) pour obtenir le composé sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 81%. Les données spectrales sont en accord avec la littérature.[239]

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.42 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, CH_{Ar}), 7.32 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.53 (s, 1H, NH), 3.01 (s, 1H, CH), 1.52 (s, 9H, $(CH_3)_3$).

Rf Acétate d'éthyle/Ether de pétrole 6/4 (v/v) : 0.22

Conclusion générale et perspectives

Les travaux présentés dans ce manuscrit exposent diverses voies de synthèse donnant accès à des composés phosphorés.

La première réaction étudiée dans ce manuscrit permet l'accès soit à des aziridines α-méthylène-*gem*-bisphosphonates soit à des aziridines α-méthylènephosphonates en fonction des conditions expérimentales utilisées.

La première partie du manuscrit s'intéresse à l'obtention d'aziridines aminométhylène-*gem*-bisphosphonates dont la structure s'est inspirée de N-BPs commerciaux ou dont l'activité biologique avait été décrite dans la littérature. La majeure partie du travail s'est focalisée sur l'optimisation des conditions réactionnels de déprotection des AzbisPs tétraéthylées en acide bisphosphonique, et les différents essais de traitement pour obtenir les molécules sous forme sodée. Trois composés finaux ont été obtenus, mais aucun n'a présenté une activité antipaludique et/ou antitumorale. Des études de modélisation *in silico* des bisphosphonates commerciaux ainsi que des composés synthétisés ont permis de comparer leurs interactions avec le site actif de la FPPS humaine, et nous avons observé que la présence du cycle aziridine n'induit pas de gène importante.

A l'avenir, il serait aussi intéressant de réaliser la modélisation d'AzbisPs dans le site actif de la GPPS, et éventuellement de concevoir et obtenir des composés incluant de longues chaines grasses capables de se positionner dans la poche hydrophobe de l'enzyme. Dans cet optique, un travail de synthèse a d'ailleurs été amorcé à partir du farnésol et du géraniol.

De plus, il serait intéressant d'envisager la synthèse d'AzbisP disubstituées de façon symétrique, afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle la caractérisation des acides bisphosphoniques sous leurs formes sodées est plus aisée pour ce type de composé, mais aussi éventuellement maximiser les interactions avec le site actif.

Le second chapitre décrit les expériences complémentaires (exemplification, isolement et caractérisation de produits secondaires) au travail mené par le Dr Thomas Cheviet, dans le cadre de sa thèse, afin de proposer un mécanisme réactionnel à la formation d'AzmonoPs à partir de la réaction décrite dans la première partie. Il sera intéressant à l'avenir d'utiliser cette voie de synthèse pour le développement de nouveaux ANPs.

Le dernier chapitre fait part des travaux préliminaires menés sur une réaction de double addition radicalaire d'H-phosphonate sur des alcynes. La majorité du travail s'est focalisé sur l'étude de l'influence des conditions réactionnelles (temps, quantité de DPAP) sur la conversion et le ratio des bisphosphonates géminaux et vicinaux. Un important travail de traitement de la réaction et de purification reste à fournir pour l'exemplification. Des études mécanistiques devront aussi être menées afin de comprendre la régiosélectivité de la réaction, notamment son lien avec la quantité de DPAP de départ introduite. De la même façon, des pistes ont été ouvertes pour l'application de cette réaction à la synthèse radicalaire de bisphosphinates. L'utilisation d'hypophosphite de sodium semble particulièrement prometteuse puisqu'elle permet d'isoler le bisphosphinate géminal sous forme sodée par simple précipitation.

Références bibliographiques

(1) Hassanpour, S. H.; Dehghani, M. Review of Cancer from Perspective of Molecular. *Journal of Cancer Research and Practice* **2017**, *4* (4), 127–129. https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001.
(2) Zugazagoitia, J.; Guedes, C.; Ponce, S.; Ferrer, I.; Molina-Pinelo, S.; Paz-Ares, L. Current Challenges in Cancer Treatment. *Clinical Therapeutics* **2016**, *38* (7), 1551–1566. https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026.
(3) OMS | Cancer Https://Www.Who.Int/Fr/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Cancer (Consulté Le 17 Septembre 2023).
(4) EBIS Medical, Www.Ebismedical.Com (Consulté Le 17 Septembre 2023).
(5) OMS I Paludisme Https://Www.Who.Int/Fr/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Malaria (Consulté Le 17 Septembre 2023).
(6) Alanne, A.-L.; Hyvönen, H.; Lahtinen, M.; Ylisirniö, M.; Turhanen, P.; Kolehmainen, E.; Peräniemi, S.; Vepsäläinen, J. Systematic Study of the Physicochemical Properties of a Homologous Series of Aminobisphosphonates. *Molecules* **2012**, *17* (9), 10928–10945. https://doi.org/10.3390/molecules170910928.
(7) Van Acker, H. H.; Anguille, S.; Willemen, Y.; Smits, E. L.; Van Tendeloo, V. F. Bisphosphonates for Cancer Treatment: Mechanisms of Action and Lessons from Clinical Trials. *Pharmacol. Ther.* **2016**, *158*, 24–40. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.11.008.
(8) Martin, M. B.; Grimley, J. S.; Lewis, J. C.; Heath, H. T.; Bailey, B. N.; Kendrick, H.; Yardley, V.; Caldera, A.; Lira, R.; Urbina, J. A.; Moreno, S. N. J.; Docampo, R.; Croft, S. L.; Oldfield, E. Bisphosphonates Inhibit the Growth of *Trypanosoma b Rucei* , *Trypanosoma c Ruzi* , *Leishmania d Onovani* , *Toxoplasma g Ondii* , and *Plasmodium f Alciparum* : A Potential Route to Chemotherapy. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (6), 909–916. https://doi.org/10.1021/jm0002578.
(9) Baeyer von H, Hofmann KA (1897) Acetodiphosphorige Säure. Beitr Dtsch Chem Ges 30: 1973–1978.
(10) Petroianu, G. A. Pharmacist Theodor Salzer (1833-1900) and the Discovery of Bisphosphonates. *Pharmazie* **2011**, *66* (10), 804–807.
(11) Russell, R. G. G. Bisphosphonates: The First 40 Years. *Bone* **2011**, *49* (1), 2–19. https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.04.022.
(12) C. Gandy; C. Gamma. *Dictionnaire Médical de l'Académie de Médecine*; 2023.
(13) Fleisch, H.; Russell, R. G. G.; Bisaz, S.; Casey, P. A.; Mühlbauer, R. C. The Influence of Pyrophosphate Analogues (Diphosphonates) on the Precipitation and Dissolution of Calcium Phosphate in Vitro and in Vivo. *Calc. Tis Res.* **1968**, *2* (S1), 10–10. https://doi.org/10.1007/BF02065192.
(14) Francis, M. D.; Graham, R.; Russell, G.; Fleisch, H. Diphosphonates Inhibit Formation of Calcium Phosphate Crystals in Vitro and Pathological Calcification in Vivo. *Science* **1969**, *165* (3899), 1264–1266. https://doi.org/10.1126/science.165.3899.1264.
(15) Fleisch, H.; Graham, R.; Russell, G.; Francis, M. D. Diphosphonates Inhibit Hydroxyapatite Dissolution in Vitro and Bone Resorption in Tissue Culture and in Vivo. *Science* **1969**, *165* (3899), 1262–1264. https://doi.org/10.1126/science.165.3899.1262.
(16) Akesson LS, Savarirayan R. Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. 2020 Jun 11 [updated 2023 May 11]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2023. PMID: 32525643.

(17) Smith, R.; Russell, R.; Woods, C. Myositis Ossificans Progressiva. Clinical Features of Eight Patients and Their Response to Treatment. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* **1976**, *58-B* (1), 48–57. https://doi.org/10.1302/0301-620X.58B1.818090.
(18) Watts, N. B.; Chesnut, C. H.; Genant, H. K.; Harris, S. T.; Jackson, R. D.; Licata, A. A.; Miller, P. D.; Mysiw, W. J.; Richmond, B.; Valent, D. History of Etidronate. *Bone* **2020**, *134*, 115222. https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115222.
(19) Chuiko, A. L.; Lozinsky, M. O.; Jasicka-Misiak, I.; Kafarski, P. Herbicidal Derivatives of Aminomethylenebisphosphonic Acid. Part IV. Hydroxyalkylidenebisphosphonates, Iminomethylenebisphosphonates and Ureidomethylenebisphosphonates. *J Plant Growth Regul* **1999**, *18* (4), 171–174. https://doi.org/10.1007/PL00007066.
(20) Reddy, G. V.; Jacobs, H. K.; Gopalan, A. S.; Barrans, R. E.; Dietz, M. L.; Stepinski, D. C.; Herlinger, A. W. Synthesis of Symmetrical Methylenebis(Alkyl Hydrogen Phosphonates) by Selective Cleavage of Methylenebis(Dialkyl Phosphonates) with Morpholine. *Synthetic Communications* **2004**, *34* (2), 331–344. https://doi.org/10.1081/SCC-120027271.
(21) Cremers, S.; Drake, M. T.; Ebetino, F. H.; Bilezikian, J. P.; Russell, R. G. G. Pharmacology of Bisphosphonates. *Br J Clin Pharmacol* **2019**, *85* (6), 1052–1062. https://doi.org/10.1111/bcp.13867.
(22) Fogelman, I.; Bessent, R. G.; Turner, J. G.; Citrin, D. L.; Boyle, I. T.; Greig, W. R. The Use of Whole-Body Retention of Tc-99m Diphosphonate in the Diagnosis of Metabolic Bone Disease. *J Nucl Med* **1978**, *19* (3), 270–275.
(23) Drake, M. T.; Clarke, B. L.; Khosla, S. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clinic Proceedings* **2008**, *83* (9), 1032–1045. https://doi.org/10.4065/83.9.1032.
(24) Hirabayashi, H.; Sawamoto, T.; Fujisaki, J.; Tokunaga, Y.; Kimura, S.; Hata, T. Relationship Between Physicochemical and Osteotropic Properties of Bisphosphonic Derivatives: Rational Design for Osteotropic Drug Delivery System (ODDS). *Pharm Res* **2001**, 646–651. https://doi.org/10.1023/A:1011033326980.
(25) Varenna, M.; Adami, S.; Rossini, M.; Gatti, D.; Idolazzi, L.; Zucchi, F.; Malavolta, N.; Sinigaglia, L. Treatment of Complex Regional Pain Syndrome Type I with Neridronate: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Rheumatology* **2013**, *52* (3), 534–542. https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes312.
(26) Malwal, S. R.; Chen, L.; Hicks, H.; Qu, F.; Liu, W.; Shillo, A.; Law, W. X.; Zhang, J.; Chandnani, N.; Han, X.; Zheng, Y.; Chen, C.-C.; Guo, R.-T.; AbdelKhalek, A.; Seleem, M. N.; Oldfield, E. Discovery of Lipophilic Bisphosphonates That Target Bacterial Cell Wall and Quinone Biosynthesis. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (5), 2564–2581. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01878.
(27) Agapkina, J.; Yanvarev, D.; Anisenko, A.; Korolev, S.; Vepsäläinen, J.; Kochetkov, S.; Gottikh, M. Specific Features of HIV-1 Integrase Inhibition by Bisphosphonate Derivatives. *EJMECH* **2014**, *73*, 73–82. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.11.028.
(28) Brufsky, A.; Marti, J. L. G.; Nasrazadani, A.; Lotze, M. T. Boning up: Amino-Bisphophonates as Immunostimulants and Endosomal Disruptors of Dendritic Cell in SARS-CoV-2 Infection. *J Transl Med* **2020**, *18* (1), 261. https://doi.org/10.1186/s12967-020-02433-6.
(29) Giger, E. V.; Castagner, B.; Leroux, J.-C. Biomedical Applications of Bisphosphonates. *JCR* **2013**, *167* (2), 175–188. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.01.032.

(30) Francis, M. D.; Valent, D. J. Historical Perspectives on the Clinical Development of Bisphosphonates in the Treatment of Bone Diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact* **2007**, *7* (1), 2–8.
(31) Russell, R. G. G. Bisphosphonates: From Bench to Bedside. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2006**, *1068* (1), 367–401. https://doi.org/10.1196/annals.1346.041.
(32) Dunford, J. E.; Thompson, K.; Coxon, F. P.; Luckman, S. P.; Hahn, F. M.; Poulter, C. D.; Ebetino, F. H.; Rogers, M. J. Structure-Activity Relationships for Inhibition of Farnesyl Diphosphate Synthase in Vitro and Inhibition of Bone Resorption in Vivo by Nitrogen-Containing Bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther* **2001**, *296* (2), 235–242.
(33) Fazil, M.; Baboota, S.; Sahni, J. K.; Ameeduzzafar; Ali, J. Bisphosphonates: Therapeutics Potential and Recent Advances in Drug Delivery. *Drug Delivery* **2015**, *22* (1), 1–9. https://doi.org/10.3109/10717544.2013.870259.
(34) Barbosa, J. S.; Almeida Paz, F. A.; Braga, S. S. Bisphosphonates, Old Friends of Bones and New Trends in Clinics. *J. Med. Chem.* **2021**, *64* (3), 1260–1282. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01292.
(35) Rogers, M. J.; Crockett, J. C.; Coxon, F. P.; Mönkkönen, J. Biochemical and Molecular Mechanisms of Action of Bisphosphonates. *Bone* **2011**, *49* (1), 34–41. https://doi.org/10.1016/j.bone.2010.11.008.
(36) Frith, J. C.; Mönkkönen, H.; Auriola, S.; Mönkkönen, H.; Rogers, M. J. The Molecular Mechanism of Action of the Antiresorptive and Antiinflammatory Drug Clodronate: Evidence for the Formation in Vivo of a Metabolite That Inhibits Bone Resorption and Causes Osteoclast and Macrophage Apoptosis. *Arthritis & Rheumatism* **2001**, *44* (9), 2201–2210. https://doi.org/10.1002/1529-0131(200109)44:9<2201::AID-ART374>3.0.CO;2-E.
(37) Kavanagh, K. L.; Guo, K.; Dunford, J. E.; Wu, X.; Knapp, S.; Ebetino, F. H.; Rogers, M. J.; Russell, R. G. G.; Oppermann, U. The Molecular Mechanism of Nitrogen-Containing Bisphosphonates as Antiosteoporosis Drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103* (20), 7829–7834. https://doi.org/10.1073/pnas.0601643103.
(38) Hall, A. Rho GTPases and the Actin Cytoskeleton. *Science* **1998**, *279* (5350), 509–514. https://doi.org/10.1126/science.279.5350.509.
(39) Luckman, S. P.; Hughes, D. E.; Coxon, F. P.; Russell, R. G. G.; Rogers, M. J. Nitrogen-Containing Bisphosphonates Inhibit the Mevalonate Pathway and Prevent Post-Translational Prenylation of GTP-Binding Proteins, Including Ras. *J Bone Miner Res* **1998**, *13* (4), 581–589. https://doi.org/10.1359/jbmr.1998.13.4.581.
(40) Mönkkönen, H.; Auriola, S.; Lehenkari, P.; Kellinsalmi, M.; Hassinen, I. E.; Vepsäläinen, J.; Mönkkönen, J. A New Endogenous ATP Analog (ApppI) Inhibits the Mitochondrial Adenine Nucleotide Translocase (ANT) and Is Responsible for the Apoptosis Induced by Nitrogen-Containing Bisphosphonates: A New Endogenous ATP Analog Induced by N-BPs. *British Journal of Pharmacology* **2006**, *147* (4), 437–445. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706628.
(41) Rogers, M. J.; Mönkkönen, J.; Munoz, M. A. Molecular Mechanisms of Action of Bisphosphonates and New Insights into Their Effects Outside the Skeleton. *Bone* **2020**, *139*, 115493. https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115493.
(42) Shaw, N. J. Bisphosphonate Treatment of Bone Disease. *Arch Dis Child* **2005**, *90* (5), 494–499. https://doi.org/10.1136/adc.2003.036590.

(43) Plöger, W.; Schindler, N.; Wollmann, K.; Worms, K. H. Herstellung von 1-Aminoalkan-1,1-Diphosphonsäuren. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1972**, *389* (2), 119–128. https://doi.org/10.1002/zaac.19723890203.
(44) Chmielewska, E.; Kafarski, P. Synthetic Procedures Leading towards Aminobisphosphonates. *Molecules* **2016**, *21* (11), 1474. https://doi.org/10.3390/molecules21111474.
(45) Roth, A. G.; Drescher, D.; Yang, Y.; Redmer, S.; Uhlig, S.; Arenz, C. Potent and Selective Inhibition of Acid Sphingomyelinase by Bisphosphonates. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (41), 7560–7563. https://doi.org/10.1002/anie.200903288.
(46) Worms, K.-H.; Blum, H. Amidingruppenhaltige geminale Diphosphonsäuren. *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, *1982* (2), 275–281. https://doi.org/10.1002/jlac.198219820211.
(47) Wu, M.; Chen, R.; Huang, Y. Convenient Synthesis of Analogs of Aminomethylene *Gem* -Diphosphonic Acid from Amines Without Catalyst. *Synthetic Communications* **2004**, *34* (8), 1393–1398. https://doi.org/10.1081/SCC-120030688.
(48) Blum, H. Synthese, Eigenschaften Und Struktur Neuer 1,1-Diphosphonsäuren / Synthesis, Properties and Structure of New 1,1-Diphosphonic Acids. *Zeitschrift für Naturforschung B* **1988**, *43* (1), 75–81. https://doi.org/10.1515/znb-1988-0114.
(49) Serebrennikova, G. A.; Koltsova, G. N.; Chupin, V. V.; Chuvilin, A. N.; Rozenberg, G. Ya.; Evstegneeva, R. P. *J. Gen. Chem. USSR* (Engl. Transl.) **1985**, 55, 390.
(50) Bandurina, T. A.; Konyukhov, V. N.; Ponomareva, O. A.; Barybin, A. S.; Pushkareva, Z. V. Synthesis and Antitumor Activity of Aminophosphonic Acids. *Pharm Chem J* **1978**, *12* (11), 1428–1431. https://doi.org/10.1007/BF00772638.
(51) Rao, D. V. N. S.; Dandala, R.; Lenin, R.; Sivakumaran, M.; Shivashankar, S.; Naidu, A. A Facile One Pot Synthesis of Bisphosphonic Acids and Their Sodium Salts from Nitriles. *Arkivoc* **2007**, *2007* (14), 34–38. https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0008.e05.
(52) Szajnman, S. H.; Ravaschino, E. L.; Docampo, R.; Rodriguez, J. B. Synthesis and Biological Evaluation of 1-Amino-1,1-Bisphosphonates Derived from Fatty Acids against Trypanosoma Cruzi Targeting Farnesyl Pyrophosphate Synthase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, *15* (21), 4685–4690. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.07.060.
(53) Grigorovich, M. M.; Zhadanov, B. N.; Polyakova, I. A.; Yudina, E. A.; Kalinichenko, I. I.; Rykov, S. V. *J. Gen. Chem. USSR* (Engl. Transl.) **1984**, 54, 898.
(54) Kieczykowski, G. R.; Jobson, R. B.; Melillo, D. G.; Reinhold, Donald. F.; Grenda, V. J.; Shinkai, I. Preparation of (4-Amino-1-Hydroxybutylidene)Bisphosphonic Acid Sodium Salt, MK-217 (Alendronate Sodium). An Improved Procedure for the Preparation of 1-Hydroxy-1,1-Bisphosphonic Acids. *J. Org. Chem.* **1995**, *60* (25), 8310–8312. https://doi.org/10.1021/jo00130a036.
(55) Vijay Kumar, P. M.; Trinadha Rao, Ch.; Rajamannar, T. PCT Int. Appl. WO 44,831, 2005; Chem. Abstr. 2005, 142, 463876k.
(56) De Ferra, L.; Turchetta, S.; Massardo, P.; Casellato, P. PCT Int. Appl. WO 93,282, 2003; Chem. Abstr. 2003, 139, 365070m.
(57) Despande, P. B.; Luthra, P. K. US Patent Appl. US 258,625, 2006; CAPLUS. 2006, 1204267.
(58) Wiezorek, M.; Stawinski, T.; Chrulski, K.; Eur. Patent 1,243,592, 2005; Chem. Abstr. 2002, 137, 247819y.
(59) Troev, K.; Todorov, P.; Naydenova, E.; Mitova, V.; Vassilev, N. A Study of the Reaction of Phosphorus Trichloride with Paraformaldehyde in the Presence of Carboxylic Acids.

Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements **2013**, *188* (9), 1147–1155. https://doi.org/10.1080/10426507.2012.745078.

(60) Grun, A.; Kovacs, R.; Nagy, D.; Garadnay, S.; Greiner, I.; Keglevich, G. Efficient Synthesis of Benzidronate Applying of Phosphorus Trichloride and Phosphorous Acid. *LDDD* **2014**, *12* (1), 78–84. https://doi.org/10.2174/15701808116661410010047 32.

(61) Midrier, C.; Lantsoght, M.; Volle, J.-N.; Pirat, J.-L.; Virieux, D.; Stevens, C. V. Hydrophosphonylation of Alkenes or Nitriles by Double Radical Transfer Mediated by Titanocene/Propylene Oxide. *Tetrahedron Letters* **2011**, *52* (50), 6693–6696. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.09.096.

(62) Suzuki, F.; Fujikawa, Y.; Yamamoto, S.; Mizutani, H.; Funabashi, C.; Ohya, T.; Ikai, T.; Oguchi, T. Pharmaceutical Compositions Containing Geminal Diphosphonates. US 5583122 A, 1 February 1979.

(63) Maier, L. ORGANISCHE PHOSPHORVERBINDUNGEN 75: Herstellung Und Eigenschaften von Aminomethylendiphosphinaten Und -Diphosphonaten, $RR^{1}NCH[P(O)R^{2}(OR^{3})]_{2}$ Und Derivaten. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1981**, *11* (3), 311–322. https://doi.org/10.1080/03086648108077429.

(64) Ebetino, F. H.; Jamieson, L. A. The Design and Synthesis of Bone-Active Phosphinic Acid Analogues: 1. The Pyridylaminomethane Phosphonoalkylphosphinates. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1990**, *51* (1-4), 23-26. https://doi.org/10.1080/10426509008040673.

(65) Dąbrowska, E.; Burzyńska, A.; Mucha, A.; Matczak-Jon, E.; Sawka-Dobrowolska, W.; Berlicki, Ł.; Kafarski, P. Insight into the Mechanism of Three Component Condensation Leading to Aminomethylenebisphosphonates. *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694* (23), 3806–3813. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2009.07.025.

(66) Cherkasov, R. A.; Galkin, V. I. The Kabachnik–Fields Reaction: Synthetic Potential and the Problem of the Mechanism. *Russ. Chem. Rev.* **1998**, *67* (10), 857–882. https://doi.org/10.1070/RC1998v067n10ABEH000421.

(67) Ghosh, S.; Chan, J. M. W.; Lea, C. R.; Meints, G. A.; Lewis, J. C.; Tovian, Z. S.; Flessner, R. M.; Loftus, T. C.; Bruchhaus, I.; Kendrick, H.; Croft, S. L.; Kemp, R. G.; Kobayashi, S.; Nozaki, T.; Oldfield, E. Effects of Bisphosphonates on the Growth of *Entamoeba Histolytica* and *Plasmodium* Species in Vitro and in Vivo. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (1), 175–187. https://doi.org/10.1021/jm030084x.

(68) Krutikov, V. I.; Erkin, A. V.; Pautov, P. A.; Zolotukhina, M. M. Heteryl- and Arylaminomethylenebisphosphonates: Synthesis and Biologic Activity. *Russian Journal of General Chemistry* **2003**, *73* (2), 187–191. https://doi.org/10.1023/A:1024775501781.

(69) Takeuchi, M.; Sakamoto, S.; Yoshida, M.; Abe, T.; Isomura, Y. Studies on Novel Bone Resorption Inhibitors. I. Synthesis and Pharmacological Activites of Aminomethylenebisphosphonate Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41* (4), 688–693. https://doi.org/10.1248/cpb.41.688.

(70) Soloducho, J.; Gancarz, R.; Wieczorek, P.; Korf, J.; Hafner, J.; Lejczak, B.; Kafarski, P.; Method of Obtaining Novel Derivatives of Aminomethylene Bisphosponic Acid. Patent PL 172268 B1, 1997. Chem. Abstr. 1998, 128, 61631.

(71) Kubíček, V.; Rudovský, J.; Kotek, J.; Hermann, P.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Kolar, Z. I.; Wolterbeek, H. Th.; Peters, J. A.; Lukeš, I. A Bisphosphonate Monoamide Analogue of DOTA: A Potential Agent for Bone Targeting. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (47), 16477–16485. https://doi.org/10.1021/ja054905u.

(72) Kaboudin, B.; Alipour, S. A Microwave-Assisted Solvent- and Catalyst-Free Synthesis of Aminomethylene Bisphosphonates. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50* (29), 4243–4245. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.05.016.
(73) Bálint, E.; Tajti, Á.; Dzielak, A.; Hägele, G.; Keglevich, G. Microwave-Assisted Synthesis of (Aminomethylene)Bisphosphine Oxides and (Aminomethylene)Bisphosphonates by a Three-Component Condensation. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 1493–1502. https://doi.org/10.3762/bjoc.12.146.
(74) Minaeva, L. I.; Patrikeeva, L. S.; Kabachnik, M. M.; Beletskaya, I. P.; Orlinson, B. S.; Novakov, I. A. Synthesis of Novel Aminomethylenebisphosphonates and Bisphosphonic Acids, Containing Adamantyl Fragment. *Heteroatom Chem.* **2011**, *22* (1), 55–58. https://doi.org/10.1002/hc.20656.
(75) Shaik, M. S.; Nadiveedhi, M. R.; Gundluru, M.; Katike, U.; Obulam, V. S. R.; Cirandur, S. R. Efficient Catalyst Free Green Synthesis and *in Vitro* Antimicrobial, Antioxidant and Molecular Docking Studies of *α* -Substituted Aromatic/Heteroaromatic Aminomethylene Bisphosphonates. *Synthetic Communications* **2021**, *51* (5), 747–764. https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1853778.
(76) Reddy, N. B.; Sundar, C. S.; Krishna, B. S.; Reddy, K. M. K.; Reddy, C. S. Synthesis and In-Vitro Antimicrobial Activity of Aminomethylene Bisphosphonates. *Iranian JOC* **2014**, *6* (1), 1227/1234.
(77) Kafarski, P.; Lejczak, B.; Forlani, G.; Gancarz, R.; Torreilles, C.; Grembecka, J.; Ryczek, A.; Wieczorek, P. Herbicidal Derivatives of Aminomethylenebisphosphonic Acid. Part III. Structure—Activity Relationship. *J Plant Growth Regul* **1997**, *16* (3), 153–158. https://doi.org/10.1007/PL00006990.
(78) Matczak-Jon, E.; Videnova-Adrabi?ska, V.; Burzy?ska, A.; Kafarski, P.; Lis, T. Solid-State Molecular Organization and Solution Behavior of Methane-1,1-Diphosphonic Acid Derivatives of Heterocyclic Amines: The Role of the Topochemical Ring Modification and the Intramolecular Hydrogen Bonds in Monosubstituted Piperid-1-Ylmethane-1,1-Diphosphonic Acids. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11* (8), 2357–2372. https://doi.org/10.1002/chem.200400348.
(79) Yokomatsu, T.; Yoshida, Y.; Nakabayashi, N.; Shibuya, S. Simple and Efficient Method for Preparation of Conformationally Constrained Aminomethylene Ifem-Diphosphonate Derivatives via Beckmann Rearrangement. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7562-7564. https://doi.org/10.1021/jo00103a600.
(80) Qian, D.; Zeng, X.; Shi, X.; Cao, R.; Liu, L. The Reactions of Hydridophosphorane with Vilsmeier Reagents. *Heteroatom Chem.* **1997**, *8* (6), 517–520. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1071(1997)8:6<517::AID-HC10>3.0.CO;2-U.
(81) Olive, G.; Van Genderen, M. H. P. A ^{1}H, ^{13}C, ^{31}P and ^{15}N NMR Study of (Pyrrolidine-2,2-Diyl)Bisphosphonic Acid, Tetraalkyl(Pyrrolidine-2,2-Diyl)Bisphosphonates and Acyclic Tetraethyl Bisphosphonates. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38* (5), 379–381. https://doi.org/10.1002/1097-458X(200005)38:5<379::AID-MRC638>3.0.CO;2-D.
(82) Olive, G.; Moigne, F. L.; Mercier, A.; Tordo, P. One-Step *Gem* -Diphosphorylation of Amides and Lactams. *Synth. Comm.* **2000**, *30* (4), 619–627. https://doi.org/10.1080/00397910008087363.
(83) Olive, G.; Jacques, A. Tetraethyl(Pyrrolidine-2,2-Diyl)Bisphosphonate. *Molecules* **2001**, *6* (12), M275. https://doi.org/10.3390/M275.
(84) Olive, G.; Jacques, A. Optimization, Continuation and Lack of the One-Step Diphosphorylation Reaction. Assay of Modification of the Tetraethyl(Pyrrolidine-2,2-

Diyl)Bisphosphonate. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2003**, *178* (1), 33–46. https://doi.org/10.1080/10426500307821.

(85) Chmielewska, E.; Miszczyk, P.; Kozłowska, J.; Prokopowicz, M.; Młynarz, P.; Kafarski, P. Reaction of Benzolactams with Triethyl Phosphite Prompted by Phosphoryl Chloride Affords Benzoannulated Monophosphonates Instead of Expected Bisphoshonates. *Journal of Organometallic Chemistry* **2015**, *785*, 84–91. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2015.03.005.

(86) Vatsouro, K.; Michtchenko, G. Riaactions Organiques Classées Par Auteurs; Editions Mir: Moscou, 1981.

(87) Gross, H.; Costisella, B.; Gnauk, Th.; Brennecke, L. α-Substituierte Phosphonate. XIX. Derivate der Aminomethan-bis-phosphonsäure. *J. Prakt. Chem.* **1976**, *318* (1), 116–126. https://doi.org/10.1002/prac.19763180113.

(88) Olive, G.; Rockenbauer, A.; Rozanska, X.; Jacques, A.; Peeters, D.; German, A. Synthesis of New Tetraethyl(*N* -Alkyl-1-Aminoethan-1,1-Diyl)Bisphosphona-Tes and ESR Analysis of Chemical Exchange of Derived Nitroxides of Acyclic Aminobisphosphonates. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, *182* (10), 2359–2369. https://doi.org/10.1080/10426500701441499.

(89) Yu, C.-M.; Wang, B.; Chen, Z.-W. A Novel Synthesis of Alkylamino Substituted Methylenediphosphonates Using Bis(Trichloromethyl) Carbonate and $RCONR^1R^2$. *Chin. J. Chem.* **2008**, *26* (10), 1899–1901. https://doi.org/10.1002/cjoc.200890341.

(90) Goldeman, W.; Nasulewicz-Goldeman, A. Synthesis and Biological Evaluation of Aminomethylidenebisphosphonic Derivatives of β-Arylethylamines. *Tetrahedron* **2015**, *71* (21), 3282–3289. https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.03.112.

(91) Kurzak, B.; Goldeman, W.; Szpak, M.; Matczak-Jon, E.; Kamecka, A. Synthesis of N-Methyl Alkylaminomethane-1,1-Diphosphonic Acids and Evaluation of Their Complex-Formation Abilities towards Copper(II). *Polyhedron* **2015**, *85*, 675–684. https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.09.031.

(92) Goldeman, W.; Nasulewicz-Goldeman, A. Synthesis and Antiproliferative Activity of Aromatic and Aliphatic Bis[Aminomethylidene(Bisphosphonic)] Acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24* (15), 3475–3479. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.05.071.

(93) Kaboudin, B.; Esfandiari, H.; Moradi, A.; Kazemi, F.; Aoyama, H. $ZnCl_2$ -Mediated Double Addition of Dialkylphosphite to Nitriles for the Synthesis of 1-Aminobisphosphonates. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (22), 14943–14948. https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b02298.

(94) Islas, R. E.; García, J. J. Nickel-Catalyzed Hydrophosphonylation and Hydrogenation of Aromatic Nitriles Assisted by Lewis Acid. *ChemCatChem* **2019**, *11* (4), 1337–1345. https://doi.org/10.1002/cctc.201801989.

(95) Alferiev, I. S.; Bobkov, S. Yu. Cyclic Oligophosphonic Anhydrides Stable in Aqueous Media. *Zeitschrift für Naturforschung B* **1992**, *47* (9), 1213–1224. https://doi.org/10.1515/znb-1992-0902.

(96) Kaabak, L. V.; Kuz'mina, N. E.; Khudenko, A. V.; Tomilov, A. P. Improved Synthesis of 1-Aminoethylidenediphosphonic Acid. *Russ J Gen Chem* **2006**, *76* (10), 1673–1674. https://doi.org/10.1134/S107036320610029X.

(97) Prishchenko, A. A.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I. Syntheses of N-Phenylaminomethylenediphosphonic and -Diphosphinic Acids and Their Derivatives. *Russ J Gen Chem* **2009**, *79* (9), 1936–1938. https://doi.org/10.1134/S1070363209090230.

(98) McNulty, J.; Das, P. Development of a One-Pot Method for the Homologation of Aldehydes to Carboxylic Acids. *Tetrahedron* **2009**, *65* (37), 7794–7800. https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.07.032.
(99) Prishchenko, A. A.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I.; Petrosyan, V. S. Synthesis of the New Types of N-Substituted Aminomethylenebisorganophosphorus Acids and Their Derivatives. *Heteroatom Chem.* **2009**, *20* (6), 319–324. https://doi.org/10.1002/hc.20552.
(100) Masschelein, K. G. R.; Stevens, C. V. Double Nucleophilic 1,2-Addition of Silylated Dialkyl Phosphites to 4-Phosphono-1-Aza-1,3-Dienes: Synthesis of γ-Phosphono-α-Aminobisphosphonates. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (24), 9248–9252. https://doi.org/10.1021/jo701718t.
(101) Wang, A.-E.; Chang, Z.; Sun, W.-T.; Huang, P.-Q. General and Chemoselective Bisphosphonylation of Secondary and Tertiary Amides. *Org. Lett.* **2015**, *17* (3), 732–735. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00004.
(102) Griffiths, D. V.; Hughes, J. M. The Synthesis of 1-Amino-2-Hydroxy- and 2-Amino-l-Hydroxy- Substituted Ethylene-l,l-Bisphosphonic Acids and Their N-Methylated Derivatives. *Tetrahedron* **1997**, *53* (52), 17815-17822. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)10245-9.
(103) Tanaka, K. S. E.; Dietrich, E.; Ciblat, S.; Métayer, C.; Arhin, F. F.; Sarmiento, I.; Moeck, G.; Parr, T. R.; Far, A. R. Synthesis and in Vitro Evaluation of Bisphosphonated Glycopeptide Prodrugs for the Treatment of Osteomyelitis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (4), 1355–1359. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.01.006.
(104) Olivier Cornu_Ostéomyelite Chronique.Pdf. https://oer.uclouvain.be/jspui/bitstream/20.500.12279/245/1/Olivier%20Cornu_Ost%C3%A9omyelite%20Chronique.pdf (accessed 2023-08-16).
(105) Prishchenko, A. A.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I.; Ershov, I. S.; Petrosyan, V. S. Synthesis and Reactivity of the New Trimethylsilyl Esters of Aminomethylenebisorganophosphorus Acids: Synthesis and Reactivity of the New Trimethylsilyl Esters of Aminomethylenebisorganophosphorus Acids. *Heteroatom Chem.* **2013**, *24* (5), 355–360. https://doi.org/10.1002/hc.21100.
(106) Prishchenko, A. A.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I.; Petrosyan, V. S. Synthesis of Aminomethylenediphosphonates and Their Derivatives Containing PCNH2 Fragments. *Russ J Gen Chem* **2014**, *84* (3), 608–610. https://doi.org/10.1134/S1070363214030347.
(107) Prishchenko, A. A.; Alekseyev, R. S.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I.; Petrosyan, V. S. Silicon-Assisted Synthesis of New Aminomethylenebisphosphonic Acids with Quinolines Moieties. *J. Organomet. Chem.* **2020**, *917*, 121286. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2020.121286.
(108) Prishchenko, A. A.; Livantsov, M. V.; Novikova, O. P.; Livantsova, L. I.; Ershov, I. S.; Petrosyan, V. S. Synthesis of N,N-Disubstituted Aminomethylenediphosphonates and Their Derivatives. *Russ J Gen Chem* **2012**, *82* (9), 1593–1595. https://doi.org/10.1134/S1070363212090265.
(109) Legigan, T.; Migianu-Griffoni, E.; Redouane, M. A.; Descamps, A.; Deschamp, J.; Gager, O.; Monteil, M.; Barbault, F.; Lecouvey, M. Synthesis and Preliminary Anticancer Evaluation of New Triazole Bisphosphonate-Based Isoprenoid Biosynthesis Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, *214*, 113241. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113241.

(110) Cheviet, T.; Peyrottes, S. Synthesis of Aminomethylene- *Gem* -Bisphosphonates Containing an Aziridine Motif: Studies of the Reaction Scope and Insight into the Mechanism. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (4), 3107–3119. https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02434.
(111) Du, Y.; Jung, K.-Y.; Wiemer, D. F. A One-Flask Synthesis of α,α-Bisphosphonates via Enolate Chemistry. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43* (48), 8665–8668. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)02148-2.
(112) Lecerclé, D.; Gabillet, S.; Gomis, J.-M.; Taran, F. A Facile Synthesis of Aminomethylene Bisphosphonates through Rhodium Carbenoid Mediated N–H Insertion Reaction. Application to the Preparation of Powerful Uranyl Ligands. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49* (13), 2083–2087. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.01.127.
(113) Sawicki, M.; Siaugue, J.-M.; Jacopin, C.; Moulin, C.; Bailly, T.; Burgada, R.; Meunier, S.; Baret, P.; Pierre, J.-L.; Taran, F. Discovery of Powerful Uranyl Ligands from Efficient Synthesis and Screening. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11* (12), 3689–3697. https://doi.org/10.1002/chem.200401056.
(114) Wang, L.; Yang, Z.; Gao, J.; Xu, K.; Gu, H.; Zhang, B.; Zhang, X.; Xu, B. A Biocompatible Method of Decorporation: Bisphosphonate-Modified Magnetite Nanoparticles to Remove Uranyl Ions from Blood. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (41), 13358–13359. https://doi.org/10.1021/ja0651355.
(115) Kuźnik, A.; Mazurkiewicz, R.; Grymel, M.; Zielińska, K.; Adamek, J.; Chmielewska, E.; Bochno, M.; Kubica, S. A New Method for the Synthesis of α-Aminoalkylidenebisphosphonates and Their Asymmetric Phosphonyl-Phosphinyl and Phosphonyl-Phosphinoyl Analogues. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 1418–1424. https://doi.org/10.3762/bjoc.11.153.
(116) Kuźnik, A.; Kozicka, D.; Hawranek, W.; Socha, K.; Erfurt, K. One-Pot and Catalyst-Free Transformation of N-Protected 1-Amino-1-Ethoxyalkylphosphonates into Bisphosphonic Analogs of Protein and Non-Protein α-Amino Acids. *Molecules* **2022**, *27* (11), 3571. https://doi.org/10.3390/molecules27113571.
(117) Gouault-Bironneau, S.; Deprèle, S.; Sutor, A.; Montchamp, J.-L. Radical Reaction of Sodium Hypophosphite with Terminal Alkynes: Synthesis of 1,1-Bis- *H* -Phosphinates. *Org. Lett.* **2005**, *7* (26), 5909–5912. https://doi.org/10.1021/ol052533o.
(118) Ezra, A.; Hoffman, A.; Breuer, E.; Alferiev, I. S.; Mönkkönen, J.; El Hanany-Rozen, N.; Weiss, G.; Stepensky, D.; Gati, I.; Cohen, H.; Törmälehto, S.; Amidon, G. L.; Golomb, G. A Peptide Prodrug Approach for Improving Bisphosphonate Oral Absorption. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (20), 3641–3652. https://doi.org/10.1021/jm980645y.
(119) Agyin, J. K.; Santhamma, B.; Roy, S. S. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Bone-Targeted Proteasome Inhibitors for Multiple Myeloma. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23* (23), 6455–6458. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.09.043.
(120) Morioka, M.; Kamizono, A.; Takikawa, H.; Mori, A.; Ueno, H.; Kadowaki, S.; Nakao, Y.; Kato, K.; Umezawa, K. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Estradiol–Bisphosphonate Conjugates as Bone-Specific Estrogens. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *18* (3), 1143–1148. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.12.041.
(121) Mukaya, H. E.; Mbianda, X. Y. Macromolecular Co-Conjugate of Ferrocene and Bisphosphonate: Synthesis, Characterization and Kinetic Drug Release Study. *J Inorg Organomet Polym* **2015**, *25* (3), 411–418. https://doi.org/10.1007/s10904-015-0205-6.

(122) Bonzi, G.; Salmaso, S.; Scomparin, A.; Eldar-Boock, A.; Satchi-Fainaro, R.; Caliceti, P. Novel Pullulan Bioconjugate for Selective Breast Cancer Bone Metastases Treatment. *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26* (3), 489–501. https://doi.org/10.1021/bc500614b.

(123) Branco Santos, J. C.; De Melo, J. A.; Maheshwari, S.; De Medeiros, W. M. T. Q.; De Freitas Oliveira, J. W.; Moreno, C. J.; Mario Amzel, L.; Gabelli, S. B.; Sousa Silva, M. Bisphosphonate-Based Molecules as Potential New Antiparasitic Drugs. *Molecules* **2020**, *25* (11), 2602. https://doi.org/10.3390/molecules25112602.

(124) Szajnman, S. H.; Garcı´a Liñares, G. E.; Li, Z.-H.; Jiang, C.; Galizzi, M.; Bontempi, E. J.; Ferella, M.; Moreno, S. N. J.; Docampo, R.; Rodriguez, J. B. Synthesis and Biological Evaluation of 2-Alkylaminoethyl-1,1-Bisphosphonic Acids against Trypanosoma Cruzi and Toxoplasma Gondii Targeting Farnesyl Diphosphate Synthase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16* (6), 3283–3290. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.12.010.

(125) Coppens, I.; Courtoy, P.-J. The Mevalonate Pathway in Parasitic Protozoa and Helminths. *Experimental Parasitology* **1996**, *82* (1), 76–85. https://doi.org/10.1006/expr.1996.0011.

(126) Mukherjee, S.; Basu, S.; Zhang, K. Farnesyl Pyrophosphate Synthase Is Essential for the Promastigote and Amastigote Stages in Leishmania Major. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2019**, *230*, 8–15. https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2019.03.001.

(127) Ortiz-Gómez, A.; Jiménez, C.; Estévez, A. M.; Carrero-Lérida, J.; Ruiz-Pérez, L. M.; González-Pacanowska, D. Farnesyl Diphosphate Synthase Is a Cytosolic Enzyme in *Leishmania Major* Promastigotes and Its Overexpression Confers Resistance to Risedronate. *Eukaryot Cell* **2006**, *5* (7), 1057–1064. https://doi.org/10.1128/EC.00034-06.

(128) Gabelli, S. B.; McLellan, J. S.; Montalvetti, A.; Oldfield, E.; Docampo, R.; Amzel, L. M. Structure and Mechanism of the Farnesyl Diphosphate Synthase from Trypanosoma Cruzi: Implications for Drug Design. *Proteins* **2005**, *62* (1), 80–88. https://doi.org/10.1002/prot.20754.

(129) Aripirala, S.; Szajnman, S. H.; Jakoncic, J.; Rodriguez, J. B.; Docampo, R.; Gabelli, S. B.; Amzel, L. M. Design, Synthesis, Calorimetry, and Crystallographic Analysis of 2-Alkylaminoethyl-1,1-Bisphosphonates as Inhibitors of Trypanosoma Cruzi Farnesyl Diphosphate Synthase. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (14), 6445–6454. https://doi.org/10.1021/jm300425y.

(130) Ling, Y.; Sahota, G.; Odeh, S.; Chan, J. M. W.; Araujo, F. G.; Moreno, S. N. J.; Oldfield, E. Bisphosphonate Inhibitors of *Toxoplasma g Ondi* Growth: In Vitro , QSAR, and In Vivo Investigations. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (9), 3130–3140. https://doi.org/10.1021/jm040132t.

(131) Martin, M. B.; Sanders, J. M.; Kendrick, H.; De Luca-Fradley, K.; Lewis, J. C.; Grimley, J. S.; Van Brussel, E. M.; Olsen, J. R.; Meints, G. A.; Burzynska, A.; Kafarski, P.; Croft, S. L.; Oldfield, E. Activity of Bisphosphonates against *Trypanosoma Brucei Rhodesiense*. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (14), 2904–2914. https://doi.org/10.1021/jm0102809.

(132) Galaka, T.; Ferrer Casal, M.; Storey, M.; Li, C.; Chao, M.; Szajnman, S.; Docampo, R.; Moreno, S.; Rodriguez, J. Antiparasitic Activity of Sulfur- and Fluorine-Containing Bisphosphonates against Trypanosomatids and Apicomplexan Parasites. *Molecules* **2017**, *22* (1), 82. https://doi.org/10.3390/molecules22010082.

(133) Montalvetti, A.; Bailey, B. N.; Martin, M. B.; Severin, G. W.; Oldfield, E.; Docampo, R. Bisphosphonates Are Potent Inhibitors of Trypanosoma Cruzi Farnesyl Pyrophosphate Synthase. *JBC* **2001**, *276* (36), 33930–33937. https://doi.org/10.1074/jbc.M103950200.
(134) Urbina, J. A.; Moreno, B.; Vierkotter, S.; Oldfield, E.; Payares, G.; Sanoja, C.; Bailey, B. N.; Yan, W.; Scott, D. A.; Moreno, S. N. J.; Docampo, R. Trypanosoma Cruzi Contains Major Pyrophosphate Stores, and Its Growth in Vitro and in Vivo Is Blocked by Pyrophosphate Analogs. *JBC* **1999**, *274* (47), 33609–33615. https://doi.org/10.1074/jbc.274.47.33609.
(135) Gadelha, A. P. R.; Brigagao, C. M.; Da Silva, M. B.; Rodrigues, A. B. M.; Guimarães, A. C. R.; Paiva, F.; De Souza, W.; Henriques, C. Insights about the Structure of Farnesyl Diphosphate Synthase (FPPS) and the Activity of Bisphosphonates on the Proliferation and Ultrastructure of Leishmania and Giardia. *Parasites Vectors* **2020**, *13* (1), 168. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04019-z.
(136) Rodriguez, N.; Bailey, B. N.; Martin, M. B.; Oldfield, E.; Urbina, J. A.; Docampo, R. Radical Cure of Experimental Cutaneous Leishmaniasis by the Bisphosphonate Pamidronate. *J. Infect. Dis.* **2002**, *186* (1), 138–140. https://doi.org/10.1086/341074.
(137) R.A. Sánchez-Delgado, A. Anzellotti, L. Suárez, in: H. Sigel, A. Sigel (Eds.), Metal Ions in Biological Systems, Vol. 41, Marcel Dekker, New York, 2004, Pp. 379–419.
(138) Cavalli, A.; Bolognesi, M. L. Neglected Tropical Diseases: Multi-Target-Directed Ligands in the Search for Novel Lead Candidates against *Trypanosoma* and *Leishmania*. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (23), 7339–7359. https://doi.org/10.1021/jm9004835.
(139) Demoro, B.; Caruso, F.; Rossi, M.; Benítez, D.; Gonzalez, M.; Cerecetto, H.; Parajón-Costa, B.; Castiglioni, J.; Galizzi, M.; Docampo, R.; Otero, L.; Gambino, D. Risedronate Metal Complexes Potentially Active against Chagas Disease. *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104* (12), 1252–1258. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.08.004.
(140) Demoro, B.; Rostán, S.; Moncada, M.; Li, Z.-H.; Docampo, R.; Olea Azar, C.; Maya, J. D.; Torres, J.; Gambino, D.; Otero, L. Ibandronate Metal Complexes: Solution Behavior and Antiparasitic Activity. *J Biol Inorg Chem* **2018**, *23* (2), 303–312. https://doi.org/10.1007/s00775-018-1535-y.
(141) Ikuta, K. S.; Swetschinski, L. R.; Robles Aguilar, G.; Sharara, F.; Mestrovic, T.; Davis Weaver, N.; Wool, E. E. *et al.* Global Mortality Associated with 33 Bacterial Pathogens in 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* **2022**, *400* (10369), 2221–2248. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02185-7.
(142) Quashie, P. K.; Sloan, R. D.; Wainberg, M. A. Novel Therapeutic Strategies Targeting HIV Integrase. *BMC Med* **2012**, *10* (1), 34. https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-34.
(143) Sanz, M.; Weideman, A. M. K.; Ward, A. R.; Clohosey, M. L.; Garcia-Recio, S.; Selitsky, S. R.; Mann, B. T.; Iannone, M. A.; Whitworth, C. P.; Chitrakar, A.; Garrido, C.; Kirchherr, J.; Coffey, A. R.; Tsai, Y.-H.; Samir, S.; Xu, Y.; Copertino, D.; Bosque, A.; Jones, B. R.; Parker, J. S.; Hudgens, M. G.; Goonetilleke, N.; Soriano-Sarabia, N. Aminobisphosphonates Reactivate the Latent Reservoir in People Living with HIV-1. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1219250. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1219250.
(144) Corso, A.; Ferretti, E.; Lunghi, M.; Zappasodi, P.; Mangiacavalli, S.; De Amici, M.; Rusconi, C.; Varettoni, M.; Lazzarino, M. Zoledronic Acid Down-Regulates Adhesion Molecules of Bone Marrow Stromal Cells in Multiple Myeloma: A Possible Mechanism for Its Antitumor Effect. *Cancer* **2005**, *104* (1), 118–125. https://doi.org/10.1002/cncr.21104.

(145) Mitrofan, L. M.; Pelkonen, J.; Mönkkönen, J. The Level of ATP Analog and Isopentenyl Pyrophosphate Correlates with Zoledronic Acid-Induced Apoptosis in Cancer Cells in Vitro. *Bone* **2009**, *45* (6), 1153–1160. https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.08.010.
(146) Foroni, C.; Milan, M.; Strina, C.; Cappelletti, M.; Fumarola, C.; Bonelli, M.; Bertoni, R.; Ferrero, G.; Maldotti, M.; Takano, E.; Andreis, D.; Venturini, S.; Brugnoli, G.; Petronini, P. G.; Zanoni, V.; Pritzker, L.; Pritzker, K.; Parissenti, A.; Santini, D.; Fox, S. B.; Bottini, A.; Generali, D. Pure Anti-Tumor Effect of Zoledronic Acid in Naïve Bone-Only Metastatic and Locally Advanced Breast Cancer: Proof from the "Biological Window Therapy." *Breast Cancer Res Treat* **2014**, *144* (1), 113–121. https://doi.org/10.1007/s10549-014-2840-y.
(147) Guenther, A.; Gordon, S.; Tiemann, M.; Burger, R.; Bakker, F.; Green, J. R.; Baum, W.; Roelofs, A. J.; Rogers, M. J.; Gramatzki, M. The Bisphosphonate Zoledronic Acid Has Antimyeloma Activity *in Vivo* by Inhibition of Protein Prenylation. *Int. J. Cancer* **2010**, *126* (1), 239–246. https://doi.org/10.1002/ijc.24758.
(148) Yuen, T.; Stachnik, A.; Iqbal, J.; Sgobba, M.; Gupta, Y.; Lu, P.; Colaianni, G.; Ji, Y.; Zhu, L.-L.; Kim, S.-M.; Li, J.; Liu, P.; Izadmehr, S.; Sangodkar, J.; Bailey, J.; Latif, Y.; Mujtaba, S.; Epstein, S.; Davies, T. F.; Bian, Z.; Zallone, A.; Aggarwal, A. K.; Haider, S.; New, M. I.; Sun, L.; Narla, G.; Zaidi, M. Bisphosphonates Inactivate Human EGFRs to Exert Antitumor Actions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111* (50), 17989–17994. https://doi.org/10.1073/pnas.1421410111.
(149) Stachnik, A.; Yuen, T.; Iqbal, J.; Sgobba, M.; Gupta, Y.; Lu, P.; Colaianni, G.; Ji, Y.; Zhu, L.-L.; Kim, S.-M.; Li, J.; Liu, P.; Izadmehr, S.; Sangodkar, J.; Scherer, T.; Mujtaba, S.; Galsky, M.; Gomez, J.; Epstein, S.; Buettner, C.; Bian, Z.; Zallone, A.; Aggarwal, A. K.; Haider, S.; New, M. I.; Sun, L.; Narla, G.; Zaidi, M. Repurposing of Bisphosphonates for the Prevention and Therapy of Nonsmall Cell Lung and Breast Cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111* (50), 17995–18000. https://doi.org/10.1073/pnas.1421422111.
(150) Van Zijl, F.; Krupitza, G.; Mikulits, W. Initial Steps of Metastasis: Cell Invasion and Endothelial Transmigration. *MRR* **2011**, *728* (1–2), 23–34. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.05.002.
(151) Insalaco, L.; Gaudio, F. D.; Terrasi, M.; Amodeo, V.; Caruso, S.; Corsini, L. R.; Fanale, D.; Margarese, N.; Santini, D.; Bazan, V.; Russo, A. Analysis of Molecular Mechanisms and Anti-Tumoural Effects of Zoledronic Acid in Breast Cancer Cells. *J. Cell. Mol. Med.* **2012**, *16* (9), 2186–2195. https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01527.x.
(152) Dedes, P. G.; Gialeli, Ch.; Tsonis, A. I.; Kanakis, I.; Theocharis, A. D.; Kletsas, D.; Tzanakakis, G. N.; Karamanos, N. K. Expression of Matrix Macromolecules and Functional Properties of Breast Cancer Cells Are Modulated by the Bisphosphonate Zoledronic Acid. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2012**, *1820* (12), 1926–1939. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.07.013.
(153) Tsubaki, M.; Satou, T.; Itoh, T.; Imano, M.; Ogaki, M.; Yanae, M.; Nishida, S. Reduction of Metastasis, Cell Invasion, and Adhesion in Mouse Osteosarcoma by YM529/ONO-5920-Induced Blockade of the Ras/MEK/ERK and Ras/PI3K/Akt Pathway. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *259* (3), 402–410. https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.01.024.
(154) Angelica Cortez, M.; Ivan, C.; Zhou, P.; Wu, X.; Ivan, M.; Adrian Calin, G. microRNAs in Cancer: From Bench to Bedside. In *Advances in Cancer Research* **2010**, 108, 113–157. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380888-2.00004-2.
(155) Santini, D.; Vincenzi, B.; Dicuonzo, G.; Avvisati, G.; Massacesi, C.; Battistoni, F.; Gavasci, M.; Rocci, L.; Tirindelli, M. C.; Altomare, V.; Tocchini, M.; Bonsignori, M.; Tonini, G.

Zoledronic Acid Induces Significant and Long-Lasting Modifications of Circulating Angiogenic Factors in Cancer Patients. Clin. Cancer Res. **2003**, *9* (8), 2893-2897. PMID: 12912933.

(156) Moschetta, M.; Di Pietro, G.; Ria, R.; Gnoni, A.; Mangialardi, G.; Guarini, A.; Ditonno, P.; Musto, P.; D'Auria, F.; Ricciardi, M. R.; Dammacco, F.; Ribatti, D.; Vacca, A. Bortezomib and Zoledronic Acid on Angiogenic and Vasculogenic Activities of Bone Marrow Macrophages in Patients with Multiple Myeloma. *European Journal of Cancer* **2010**, *46* (2), 420–429. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.10.019.

(157) Gober, H.-J.; Kistowska, M.; Angman, L.; Jenö, P.; Mori, L.; De Libero, G. Human T Cell Receptor γδ Cells Recognize Endogenous Mevalonate Metabolites in Tumor Cells. *The Journal of Experimental Medicine* **2003**, *197* (2), 163–168. https://doi.org/10.1084/jem.20021500.

(158) Gu, S.; Nawrocka, W.; Adams, E. J. Sensing of Pyrophosphate Metabolites by Vγ9Vδ2 T Cells. *Front. Immunol.* **2015**, *5*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00688.

(159) Abe, Y.; Muto, M.; Nieda, M.; Nakagawa, Y.; Nicol, A.; Kaneko, T.; Goto, S.; Yokokawa, K.; Suzuki, K. Clinical and Immunological Evaluation of Zoledronate-Activated Vγ9γδ T-Cell-Based Immunotherapy for Patients with Multiple Myeloma. *Experimental Hematology* **2009**, *37* (8), 956–968. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2009.04.008.

(160) Xing, L.; Ebetino, F. H.; Boeckman, R. K.; Srinivasan, V.; Tao, J.; Sawyer, T. K.; Li, J.; Yao, Z.; Boyce, B. F. Targeting Anti-Cancer Agents to Bone Using Bisphosphonates. *Bone* **2020**, *138*, 115492. https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115492.

(161) Neville-Webbe, H. L.; Rostami-Hodjegan, A.; Evans, C. A.; Coleman, R. E.; Holen, I. Sequence- and Schedule-Dependent Enhancement of Zoledronic Acid Induced Apoptosis by Doxorubicin in Breast and Prostate Cancer Cells. *Int. J. Cancer* **2005**, *113* (3), 364–371. https://doi.org/10.1002/ijc.20602.

(162) Romanenko, V. D.; Kukhar, V. P. 1-Amino-1,1-Bisphosphonates. Fundamental Syntheses and New Developments. *Arkivoc* **2012**, *2012* (4), 127–166. https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0013.411.

(163) Kaboudin, B.; Daliri, P.; Faghih, S.; Esfandiari, H. Hydroxy- and Amino-Phosphonates and -Bisphosphonates: Synthetic Methods and Their Biological Applications. *Front. Chem.* **2022**, *10*, 890696. https://doi.org/10.3389/fchem.2022.890696.

(164) Moonen, K.; Laureyn, I.; Stevens, C. V. Synthetic Methods for Azaheterocyclic Phosphonates and Their Biological Activity. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (12), 6177–6216. https://doi.org/10.1021/cr030451c.

(165) Palacios, F.; Ochoa De Retana, A. M.; Alonso, J. M. Reaction of 2 *H* -Azirine Phosphine Oxide and -Phosphonates with Nucleophiles. Stereoselective Synthesis of Functionalized Aziridines and α- and β-Aminophosphorus Derivatives. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (22), 8895–8901. https://doi.org/10.1021/jo051404i.

(166) Davis, F. A.; Wu, Y.; Yan, H.; McCoull, W.; Prasad, K. R. Asymmetric Synthesis of Aziridine 2-Phosphonates from Enantiopure Sulfinimines (N-Sulfinyl Imines). Synthesis of α-Amino Phosphonates. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (6), 2410–2419. https://doi.org/10.1021/jo020707z.

(167) Gajda, T.; Napieraj, A.; Osowska-Pacewicka, K.; Zawadzki, S.; Zwierzak, A. Synthesis of Primary Sec-Alkylamines via Nucleophilic Ring-Opening of N-Phosphorylated Aziridines. *Tetrahedron* **1997**, *53* (13), 4935–4946. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)00188-9.

(168) Thomas Cheviet, “Ciblage d’enzymes Du Métabolisme Purique Chez Plasmodium Falciparum : Conception et Étude de Molécules Bioactives”, Thèse de Doctorat En Ingénierie Bioléculaire, Sous La Direction de Suzanne Peyrottes et Isabelle Lefebvre, Montpellier, École Doctorale Sciences Chimiques, 2019.
(169) Demir, A. S.; Reis, Ö.; İğdir, A. Ç.; Esiringü, İ.; Eymur, S. Generation of Acyl Anion Equivalents from Acylphosphonates via Phosphonate−Phosphate Rearrangement: A Highly Practical Method for Cross-Benzoin Reaction. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (25), 10584–10587. https://doi.org/10.1021/jo051811u.
(170) Jackson, J. A.; Hammond, G. B.; Wiemer, D. F. Synthesis of α-Phosphono Lactones and Esters through a Vinyl Phosphate-Phosphonate Rearrangement. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (20), 4750–4754. https://doi.org/10.1021/jo00281a012.
(171) Kondoh, A.; Terada, M. Brønsted Base Catalyzed [2,3]-Wittig/Phospha-Brook Tandem Rearrangement Sequence. *Org. Lett.* **2013**, *15* (17), 4568–4571. https://doi.org/10.1021/ol402144q.
(172) Ruel, R.; Bouvier, J.-P.; Young, R. N. Single-Step Preparation of 1-Hydroxybisphosphonates via Addition of Dialkyl Phosphite Potassium Anions to Acid Chlorides. *J. Org. Chem.* **1995**, *60* (16), 5209–5213. https://doi.org/10.1021/jo00121a044.
(173) Pachamuthu, K.; Schmidt, R. R. Straightforward Synthesis of Gem-Phosphonate-Phosphate Containing Compounds via One-Pot Reaction of Thioesters with Diethyl phosphite. *Chem. Commun.* **2004**, No. 9, 1078. https://doi.org/10.1039/b401079e.
(174) Lin, L.; Li, M.; Lin, L.; Xu, X.; Jiang, G.; Wu, L. FPPS Mediates TGF-B1-Induced Non-Small Cell Lung Cancer Cell Invasion and the EMT Process via the RhoA/Rock1 Pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2018**, *496* (2), 536–541. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.01.066.
(175) Han, S.; Li, X.; Xia, Y.; Yu, Z.; Cai, N.; Malwal, S. R.; Han, X.; Oldfield, E.; Zhang, Y. Farnesyl Pyrophosphate Synthase as a Target for Drug Development: Discovery of Natural-Product-Derived Inhibitors and Their Activity in Pancreatic Cancer Cells. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (23), 10867–10896. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01405.
(176) Waller, D. D.; Park, J.; Tsantrizos, Y. S. Inhibition of Farnesyl Pyrophosphate (FPP) and/or Geranylgeranyl Pyrophosphate (GGPP) Biosynthesis and Its Implication in the Treatment of Cancers. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **2019**, *54* (1), 41–60. https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1568964.
(177) Zhang, M.; Wang, C.; Oberstaller, J.; Thomas, P.; Otto, T. D.; Casandra, D.; Boyapalle, S.; Adapa, S. R.; Xu, S.; Button-Simons, K.; Mayho, M.; Rayner, J. C.; Ferdig, M. T.; Jiang, R. H. Y.; Adams, J. H. The Apicoplast Link to Fever-Survival and Artemisinin-Resistance in the Malaria Parasite. *Nat Commun* **2021**, *12* (1), 4563. https://doi.org/10.1038/s41467-021-24814-1.
(178) Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, *1981* (01), 1–28. https://doi.org/10.1055/s-1981-29317.
(179) Kers, A.; Kers, I.; Stawiński, J.; Sobkowski, M.; Kraszewski, A. Studies on Aryl H-Phosphonates. 3. Mechanistic Investigations Related to the Disproportionation of Diphenyl H-Phosphonate under Anhydrous Basic Conditions. *Tetrahedron* **1996**, *52* (29), 9931–9944. https://doi.org/10.1016/0040-4020(96)00525-X.
(180) Cieślak, J.; Sobkowski, M.; Kraszewski, A.; Stawiński, J. Aryl H-Phosphonates. Part IV. A New Method for Internucleotide Bond Formation Based on Transesterification of Aryl

Nucleoside H-Phosphonate Diesters. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37* (26), 4561–4564. https://doi.org/10.1016/0040-4039(96)00846-5.

(181) Saady, M.; Lebeau, L.; Mioskowski, C. First Use of Benzyl Phosphites in the Michaelis-Arbuzov Reaction synthesis of mono-, Di-, and triphosphate analogs. *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78* (3), 670–678. https://doi.org/10.1002/hlca.19950780314.

(182) Saady, M.; Lebeau, L.; Mioskowski, C. Selective Monodeprotection of Phosphate, Phosphite, Phosphonate, and Phosphoramide Benzyl Esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60* (9), 2946–2947. https://doi.org/10.1021/jo00114a059.

(183) McKenna, C. E.; Higa, M. T.; Cheung, N. H.; McKenna, M.-C. The Facile Dealkylation of Phosphonic Acid Dialkyl Esters by Bromotrimethylsilane. *Tetrahedron Letters* **1977**, *18* (2), 155–158. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)92575-4.

(184) McKenna, C. E.; Schmidhuser, J. Functional Selectivity in Phosphonate Ester Dealkylation with Bromotrimethylsilane. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, No. 17, 739. https://doi.org/10.1039/c39790000739.

(185) Weinhart, M.; Gröger, D.; Enders, S.; Dernedde, J.; Haag, R. Synthesis of Dendritic Polyglycerol Anions and Their Efficiency Toward L-Selectin Inhibition. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (7), 2502–2511. https://doi.org/10.1021/bm200250f.

(186) Mizrahi, D. M.; Waner, T.; Segall, Y. α-AMINO ACID DERIVED BISPHOSPHONATES. SYNTHESIS AND ANTI-RESORFTIVE ACTIVITY. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* **2001**, *173* (1), 1–25. https://doi.org/10.1080/10426500108045257.

(187) Hutchinson, D. W.; Semple, G. Synthesis of Alkylated Methylene Bisphosphonates via Organothallium Intermediates. *Journal of Organometallic Chemistry* **1985**, *291* (2), 145–151. https://doi.org/10.1016/0022-328X(85)80161-3.

(188) Pachl, P.; Šimák, O.; Buděšínský, M.; Brynda, J.; Rosenberg, I.; Řezáčová, P. Structure-Based Optimization of Bisphosphonate Nucleoside Inhibitors of Human 5′(3′)-Deoxyribonucleotidases: Structure-Based Optimization of Bisphosphonate Nucleoside Inhibitors of Human 5′(3′)-Deoxyribonucleotidases. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018* (37), 5144–5153. https://doi.org/10.1002/ejoc.201800515.

(189) Xu, G.; Yang, C.; Liu, B.; Wu, X.; Xie, Y. Synthesis of New Potential Chelating Agents: Catechol-Bisphosphonate Conjugates for Metal Intoxication Therapy. *Heteroatom Chem.* **2004**, *15* (3), 251–257. https://doi.org/10.1002/hc.20013.

(190) Bulman Page, P. C.; McKenzie, M. J.; Gallagher, J. A. Simple Synthesis of Oxiranylidene-2,2- *Bis* (Phosphonic Acid): Tetrabenzyl Geminal Bisphosphonate Esters as Useful Intermediates. *Synthetic Communications* **2002**, *32* (2), 211–218. https://doi.org/10.1081/SCC-120002004.

(191) Wang, Z.; Jork, N.; Bittner, T.; Wang, H.; Jessen, H. J.; Shears, S. B. Rapid Stimulation of Cellular Pi Uptake by the Inositol Pyrophosphate $InsP_8$ Induced by Its Photothermal Release from Lipid Nanocarriers Using a near Infra-Red Light-Emitting Diode. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (37), 10265–10278. https://doi.org/10.1039/D0SC02144J.

(192) Khare, R. K.; Becker, J. M.; Naider, F. R. Synthesis and Anticandidal Properties of Polyoxin L Analogs Containing .Alpha.-Amino Fatty Acids. *J. Med. Chem.* **1988**, *31* (3), 650–656. https://doi.org/10.1021/jm00398a027.

(193) Luna, A.; Astorga, C.; Fülöp, F.; Gotor, V. Enzymatic Resolution of (±)-Cis-2-Aminocyclopentanol and (±)-Cis-2-Aminocyclohexanol. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9* (24), 4483–4487. https://doi.org/10.1016/S0957-4166(98)00482-0.

(194) Sultane, P. R.; Mete, T. B.; Bhat, R. G. A Convenient Protocol for the Deprotection of N-Benzyloxycarbonyl (Cbz) and Benzyl Ester Groups. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56* (16), 2067–2070. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.02.131.
(195) Yamada, K.; Shinoda, S.; Oku, H.; Komagoe, K.; Katsu, T.; Katakai, R. Synthesis of Low-Hemolytic Antimicrobial Dehydropeptides Based on Gramicidin S. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (26), 7592–7595. https://doi.org/10.1021/jm061051v.
(196) Chen, B.-C.; Skoumbourdis, A. P.; Guo, P.; Bednarz, M. S.; Kocy, O. R.; Sundeen, J. E.; Vite, G. D. A Facile Method for the Transformation of *N* -(*Tert* -Butoxycarbonyl) α-Amino Acids to *N* -Unprotected α-Amino Methyl Esters. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (25), 9294–9296. https://doi.org/10.1021/jo990311w.
(197) Fernandez Diaz-Rullo, F.; Zamberlan, F.; Mewis, R. E.; Fekete, M.; Broche, L.; Cheyne, L. A.; Dall'Angelo, S.; Duckett, S. B.; Dawson, D.; Zanda, M. Synthesis and Hyperpolarisation of eNOS Substrates for Quantification of NO Production by 1H NMR Spectroscopy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25* (10), 2730–2742. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.041.
(198) Botyanski, J. Catalano J.G., Chong P.Y., Dickson H., Jin Q., Leivers A., Maynard A., Liao X, Miller J. Shotwell J.B., Tai V. W-F., Thalji R. (2018), Compounds That Inhibit 3C and 3CL Proteases and Methods of Use Thereof (WO 2018/042343).
(199) Martin, J. S.; Mackenzie, C. J.; Gilbert, I. H. Synthesis of a Series of Diaminoindoles. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (17), 11333–11340. https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00652.
(200) Jorgensen, W. L. The Many Roles of Computation in Drug Discovery. *Science* **2004**, *303* (5665), 1813–1818. https://doi.org/10.1126/science.1096361.
(201) Langer, T.; Hoffmann, R. Virtual Screening An Effective Tool for Lead Structure Discovery. *CPD* **2001**, *7* (7), 509–527. https://doi.org/10.2174/1381612013397861.
(202) Walters, W. P.; Stahl, M. T.; Murcko, M. A. Virtual Screening—an Overview. *Drug Discovery Today* **1998**, *3* (4), 160–178. https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01163-X.
(203) Meng, X.-Y.; Zhang, H.-X.; Mezei, M.; Cui, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *CAD* **2011**, *7* (2), 146–157. https://doi.org/10.2174/157340911795677602.
(204) Gohlke, H.; Klebe, G. Approaches to the Description and Prediction of the Binding Affinity of Small-Molecule Ligands to Macromolecular Receptors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (15), 2644–2676. https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020802)41:15<2644::AID-ANIE2644>3.0.CO;2-O.
(205) Moitessier, N.; Englebienne, P.; Lee, D.; Lawandi, J.; Corbeil, C. R. Towards the Development of Universal, Fast and Highly Accurate Docking/Scoring Methods: A Long Way to Go: Docking/Scoring Methods-a Review. *British Journal of Pharmacology* **2008**, *153* (S1), S7–S26. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707515.
(206) Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J. Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Nat Rev Drug Discov* **2004**, *3* (11), 935–949. https://doi.org/10.1038/nrd1549.
(207) Sousa, S. F.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J. Protein-Ligand Docking: Current Status and Future Challenges. *Proteins* **2006**, *65* (1), 15–26. https://doi.org/10.1002/prot.21082.
(208) Spyrakis, F.; BidonChanal, A.; Barril, X.; Javier Luque, F. Protein Flexibility and Ligand Recognition: Challenges for Molecular Modeling. *CTMC* **2011**, *11* (2), 192–210. https://doi.org/10.2174/156802611794863571.

(209) Liu, Y.-L.; Lindert, S.; Zhu, W.; Wang, K.; McCammon, J. A.; Oldfield, E. Taxodione and Arenarone Inhibit Farnesyl Diphosphate Synthase by Binding to the Isopentenyl Diphosphate Site. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111* (25). https://doi.org/10.1073/pnas.1409061111.
(210) Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **2009**, 455-461. https://doi.org/10.1002/jcc.21334.
(211) Desjardins, R. E.; Canfield, C. J.; Haynes, J. D.; Chulay, J. D. Quantitative Assessment of Antimalarial Activity in Vitro by a Semiautomated Microdilution Technique. *Antimicrob Agents Chemother* **1979**, *16* (6), 710–718.
(212) Ripka, A. S.; Satyshur, K. A.; Bohacek, R. S.; Rich, D. H. Aspartic Protease Inhibitors Designed from Computer-Generated Templates Bind As Predicted. *Org. Lett.* **2001**, *3* (15), 2309–2312. https://doi.org/10.1021/ol016090+.
(213) Li, G.-X.; Qu, J. Enantioselective Friedel–Crafts Reactions between Phenols and N-Tosylaldimines Catalyzed by a Leucine-Derived Bifunctional Catalyst. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (44), 5518. https://doi.org/10.1039/c2cc31735d.
(214) Cochran, B. M.; Stenmark, T. A.; Michael, F. E. Stereoselective Synthesis of 2,5-Disubstituted Morpholines Using a Palladium-Catalyzed Hydroamination Reaction. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (60), 6800. https://doi.org/10.1039/c3cc44117b.
(215) Jamookeeah, C. E.; Beadle, C. D.; Jackson, R. F. W.; Harrity, J. P. A. Investigation of a Flexible Enantiospecific Approach to Aziridines. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (3), 1128–1130. https://doi.org/10.1021/jo7023637.
(216) Palacios, F.; Alonso, C.; De Los Santos, J. M. Synthesis of *β* -Aminophosphonates and -Phosphinates. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (3), 899–932. https://doi.org/10.1021/cr040672y.
(217) Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, Ł. Remarkable Potential of the α-Aminophosphonate/Phosphinate Structural Motif in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (17), 5955–5980. https://doi.org/10.1021/jm200587f.
(218) Stevens, C.; Verbeke, A.; De Kimpe, N. A Convenient Synthesis of Dialkyl [[2-(Bromomethyl)Aziridin-1-Yl]Methyl]Phosphonates, New Heterocyclic β-Azaphosphonates. *Synlett* **1998**, *1998* (2), 180–182. https://doi.org/10.1055/s-1998-1597.
(219) Sheikha, G. A.; La Colla, P.; Loi, A. G. A New Class of Acyclic Nucleoside Phosphonates: Synthesis and Biological Activity of 9-{[(Phosphonomethyl)Aziridin-1-Yl]Methyl}guanine (PMAMG) and Analogues. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2002**, *21* (10), 619–635. https://doi.org/10.1081/NCN-120015721.
(220) Cheviet, T.; Gonzales, I.; Peyrottes, S. Synthesis of *N* -Methylene Phosphonate Aziridines: Reaction Scope and Mechanistic Insights. *New J. Chem.* **2022**, *46* (14), 6453–6460. https://doi.org/10.1039/D2NJ00595F.
(221) Burgada, R.; Manouni, D. E.; Tromelin, A.; Fauduet, H. Synthèse et Réactivité d'un Ester Cyclique d'α-Aminodiphosphonate. *Phosphorus and Sulfur and the Related Elements* **1987**, *29* (2–4), 275–282. https://doi.org/10.1080/03086648708080513.
(222) Allen, A.; Manke, D. R.; Lin, W. Synthesis of Functional Bisphosphonates via New Palladium-Catalyzed Bis-Hydrophosphorylation Reactions. *Tetrahedron Letters* **2000**, *41* (2), 151–154. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)02042-0.
(223) Han, L.-B.; Ono, Y.; Shimada, S. Palladium-Catalyzed Dehydrogenative Cis Double Phosphorylation of Alkynes with *H* -Phosphonate Leading to (*Z*)-Bisphosphoryl-1-

Alkenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (9), 2752–2753. https://doi.org/10.1021/ja7108272.
(224) Khemchyan, L. L.; Ivanova, J. V.; Zalesskiy, S. S.; Ananikov, V. P.; Beletskaya, I. P.; Starikova, Z. A. Unprecedented Control of Selectivity in Nickel-Catalyzed Hydrophosphorylation of Alkynes: Efficient Route to Mono- and Bisphosphonates. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356* (4), 771–780. https://doi.org/10.1002/adsc.201400123.
(225) Balint, E.; Takacs, J.; Balint, M.; Keglevich, G. The Catalyst-Free Addition of Dialkyl Phosphites on the Triple Bond of Alkyl Phenylpropiolates Under Microwave Conditions. *CCAT* **2015**, *4* (1), 57–64. https://doi.org/10.2174/2211544704666150303232225.
(226) Srinivas, V.; Balaraman, E.; Sajna, K. V.; Kumara Swamy, K. C. Catalyst-Free and Catalysed Addition of P(O)-H Bonds to Allenyl/Alkynyl-Phosphonates and -Phosphane Oxides: Use of a Robust, Recoverable Dinuclear Palladium(I) Catalyst. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (22), 4222–4230. https://doi.org/10.1002/ejoc.201100197.
(227) Salin, A. V.; Il'in, A. V.; Faskhutdinov, R. I.; Fayzullin, R. R. Phosphine-Catalyzed Bishydrophosphorylation of Electron-Deficient Alkynes. *Tetrahedron* **2019**, *75* (18), 2676–2686. https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.03.042.
(228) Dondoni, A.; Staderini, S.; Marra, A. Efficiency of the Free-Radical Hydrophosphonylation of Alkenes: The Photoinduced Reaction of Dimethyl *H* -Phosphonate with Enopyranoses as an Exemplary Case: Efficiency of the Free-Radical Hydrophosphonylation of Alkenes. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (24), 5370–5375. https://doi.org/10.1002/ejoc.201300780.
(229) Dondoni, A.; Marra, A. Validating the Alkene and Alkyne Hydrophosphonylation as an Entry to Organophosphonates. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (8), 2212–2215. https://doi.org/10.1039/C4OB02501F.
(230) Staderini, S.; Dondoni, A.; Marra, A. Metal-Free Synthesis of E-Vinylphosphonates via Photoinduced Alkyne Hydrophosphonylation and Thiol Promoted Isomerization Sequence. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56* (2), 374–377. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.11.099.
(231) Geant, P.-Y.; Mohamed, B. S.; Périgaud, C.; Peyrottes, S.; Uttaro, J.-P.; Mathé, C. Probing the Reactivity of H-Phosphonate Derivatives for the Hydrophosphonylation of Various Alkenes and Alkynes under Free-Radical Conditions. *New J. Chem.* **2016**, *40* (6), 5318–5324. https://doi.org/10.1039/C6NJ00123H.
(232) Markownikoff, W. I. Ueber die Abhängigkeit der verschiedenen Vertretbarkeit des Radicalwasserstoffs in den isomeren Buttersäuren. *Ann. Chem. Pharm.* **1870**, *153* (2), 228–259. https://doi.org/10.1002/jlac.18701530204.
(233) Kharasch, M. S.; Mayo, F. R. The Peroxide Effect in the Addition of Reagents to Unsaturated Compounds. I. The Addition of Hydrogen Bromide to Allyl Bromide. *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, *55* (6), 2468–2496. https://doi.org/10.1021/ja01333a041.
(234) Kharasch, M. S.; Margolis, E. T.; Mayo, F. R. The Peroxide Effect in the Addition of Reagents to Unsaturated Compounds. XIII. the Addition of Hydrogen Bromide to Butadiene [*]. *J. Org. Chem.* **1936**, *01* (4), 393–404. https://doi.org/10.1021/jo01233a008.
(235) Mucci, V.; Vallo, C. Efficiency of 2,2-Dimethoxy-2-Phenylacetophenone for the Photopolymerization of Methacrylate Monomers in Thick Sections. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *123* (1), 418–425. https://doi.org/10.1002/app.34473.
(236) Baxter, J.; Davidson, R.; Hageman, H.; Hakvoort, G.; Overeem, T. A Study of the Photodecomposition Products of an Acylphosphine Oxide and 2,2-Dimethoxy-2-

Phenylacetophenone. *Polymer* **1988**, *29* (9), 1575–1580. https://doi.org/10.1016/0032-3861(88)90264-9.

(237) Geant, P.-Y.; Uttaro, J.-P.; Peyrottes, S.; Mathé, C. An Eco-Friendly and Efficient Photoinduced Coupling of Alkenes and Alkynes with H-Phosphinates and Other P(O)H Derivatives Under Free-Radical Conditions: An Eco-Friendly and Efficient Photoinduced Coupling of Alkenes and Alkynes with H-Phosphinates and Other P(O)H Derivatives Under Free-Radical Conditio. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (26), 3850–3855. https://doi.org/10.1002/ejoc.201700584.

(238) de Gonzalo, G.; Alcántara, A. R.; Domínguez de María, P. Cyclopentyl Methyl Ether (CPME): A Versatile Eco-Friendly Solvent for Applications in Biotechnology and Biorefineries. *ChemSusChem* **2019**, *12* (10), 2083–2097. https://doi.org/10.1002/cssc.201900079.

(239) Leiras, S.; Suárez-Picado, E.; Quiñoá, E.; Riguera, R.; Freire, F. Tuning the Helical Sense and Elongation of Polymers through the Combined Action of the Two Components of Tetraalkylammonium-Anion Salts. *Giant* **2021**, *7*, 100068. https://doi.org/10.1016/j.giant.2021.100068.

Annexes

NJC

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

PAPER

View Article Online
View Journal | View Issue

Check for updates

Cite this: *New J. Chem.*, 2022, **46**, 6453

Synthesis of *N*-methylene phosphonate aziridines: reaction scope and mechanistic insights†

Thomas Cheviet, Ilyana Gonzales and Suzanne Peyrottes *

Received 4th February 2022,
Accepted 9th March 2022

DOI: 10.1039/d2nj00595f

rsc.li/njc

A series of *N*-carbamoyl aziridines has been treated by diethyl phosphite in the presence of *n*-BuLi to afford α-methylene phosphonate aziridines in modest yields. The study of the reaction's scopes and the analysis of byproducts indicated that this transformation proceeds *via* a unique mechanism. The mechanism that produces the α-methylene phosphonate relies on the use of BuLi, where both the lithium ion and then the presence of the nucleophilic butyl is essential. In addition, the nature of the final compound, either α-methylene phosphonate or α-methylene-*gem*-bisphosphonate derivatives containing an aziridine motif, is highly dependent on the nature of the base used.

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.

Introduction

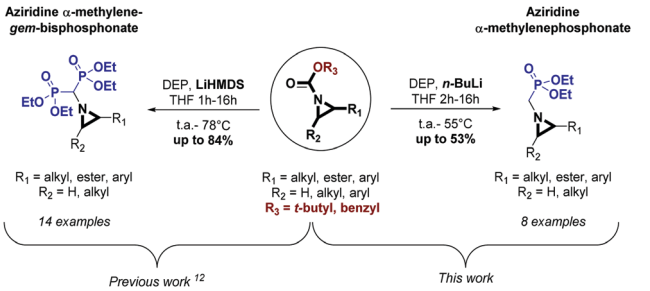
For several decades, the synthesis and the study of the reactivity of three-membered ring heterocycles, especially oxiranes and aziridines, has attracted great attention.[1–3] This is mainly associated with the ring-strain of these small-ring heterocycles, that makes them versatile intermediates in organic synthesis. Notably, aziridines are widely used as key building-blocks for the synthesis of aza-compounds (amino acids, modified sugars, natural products) and represent a valuable source of chiral centres due to their ability to endow regio- and stereoselective modifications.[4–7] Except for aziridine-2-phosphonates that lead to α- or β-aminophosphonates as analogues of amino-acids,[8,9] the combination of chiral aziridines and phosphonate groups (widely used in medicinal chemistry as bio-isosteres of organic phosphates and insensitive to enzymatic cleavage) has been less explored. To our knowledge, only two articles described in the literature α-methylene phosphonate aziridines, as potential antiviral acyclonucleoside phosphonates,[10] and they were obtained from the intramolecular cyclization of γ-halogenated-α-amino-phosphonates.[11]

In a previous study, we proposed an original synthetic route involving lithiated diethylphosphite and *N*-carbamoyl aziridines as starting materials (Scheme 1) for the preparation of α-methylene-*gem*-bisphosphonate aziridines.[12] By replacing LiHMDS with *n*-BuLi, we observed the formation of a different final product identified as an α-methylene phosphonate aziridine. To investigate the scope of the reaction, a set of 13 *N*-carbamoyl aziridines was used.[12] In addition, complementary experiments, isolation and identification of by-products supported the proposed mechanism leading to the formation of α-methylene phosphonate aziridines.

Results and discussion

We initially observed the opportunistic formation of an α-methylene phosphonate aziridine from *N*-carbamoyl aziridine **1a** when using *n*-BuLi instead of LiHMDS to deprotonate the diethyl phosphite (Scheme 2).

The identity of the resulting compound (**2a**) has been proposed on the basis of NMR and HRMS analysis. A single signal at 23 ppm was observed in $^{31}P\{^{1}H\}$ NMR. The methylene group attached to the phosphorus atom produced two different signals in ^{1}H NMR (different multiplicity and δ values) due to the non-equivalence of the two protons (Fig. 1A). The latter are coupling with the phosphorus atom and with their geminal neighbor with similar coupling constants (~12–20 Hz, Fig. 1B).

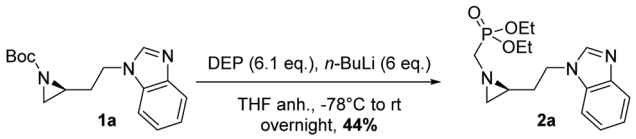


Scheme 1 The two series of compounds that may be obtained from *N*-carbamoyl aziridines.

Team Nucleosides & Phosphorylated Effectors, Institute for Biomolecules Max Mousseron (IBMM), Univ. Montpellier, CNRS, ENSCM, Pole Chimie Balard Recherche, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier, France.
E-mail: suzanne.peyrottes@umontpellier.fr

† Electronic supplementary information (ESI) available: Copies of ^{1}H, ^{13}C and eventually ^{31}P NMR spectra of all new compounds described in the experimental section, copies of ^{1}H NMR spectra for known compounds or intermediates. See DOI: 10.1039/d2nj00595f

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.



Scheme 2 Initial observation of the formation of an α-methylene phosphonate aziridine from *N*-carbamoyl aziridine **1a**.

In addition, their signals correlate in HSQC ^{1}H–^{13}C with one carbon atom (Fig. 1C), presenting a high coupling constant (~160 Hz) due to the presence of the phosphorus atom.

The scope of the reaction was examined by using *N*-carbamoyl aziridines previously prepared (**1a–d**, **1f–h**, **1j–m**)[12] or newly obtained (**1e** and **1i**). The following conditions were applied: 6.1 equivalents of diethylphosphite were treated by 6 equivalents of *n*-BuLi (2.5 M in THF) at −78 °C, and the mixture was added to 1 equivalent of the aziridine substrate, then the reaction mixture was heated at the indicated temperature until completion of the reaction (Table 1).

Impacts of the temperature, the nature of the carbamoyl protecting group (Boc *versus* Cbz), the nature of the phosphite and the presence of the aziridine ring were studied. Slightly better yields were obtained when the reaction was performed at 55 °C (**2a**, **2b** from **1b**, **2f** and **2l**), and a *tert*-butoxycarbonyl group was used (**2b** from **1b** and **1c**, **2d** from **1d** and **1e**, **2h** from **1h** and **1i**). The use of dibenzyl- or diisopropyl-phosphite instead of diethylphosphite did not lead to the formation of the expected derivatives (on the basis of **1b** as starting material)

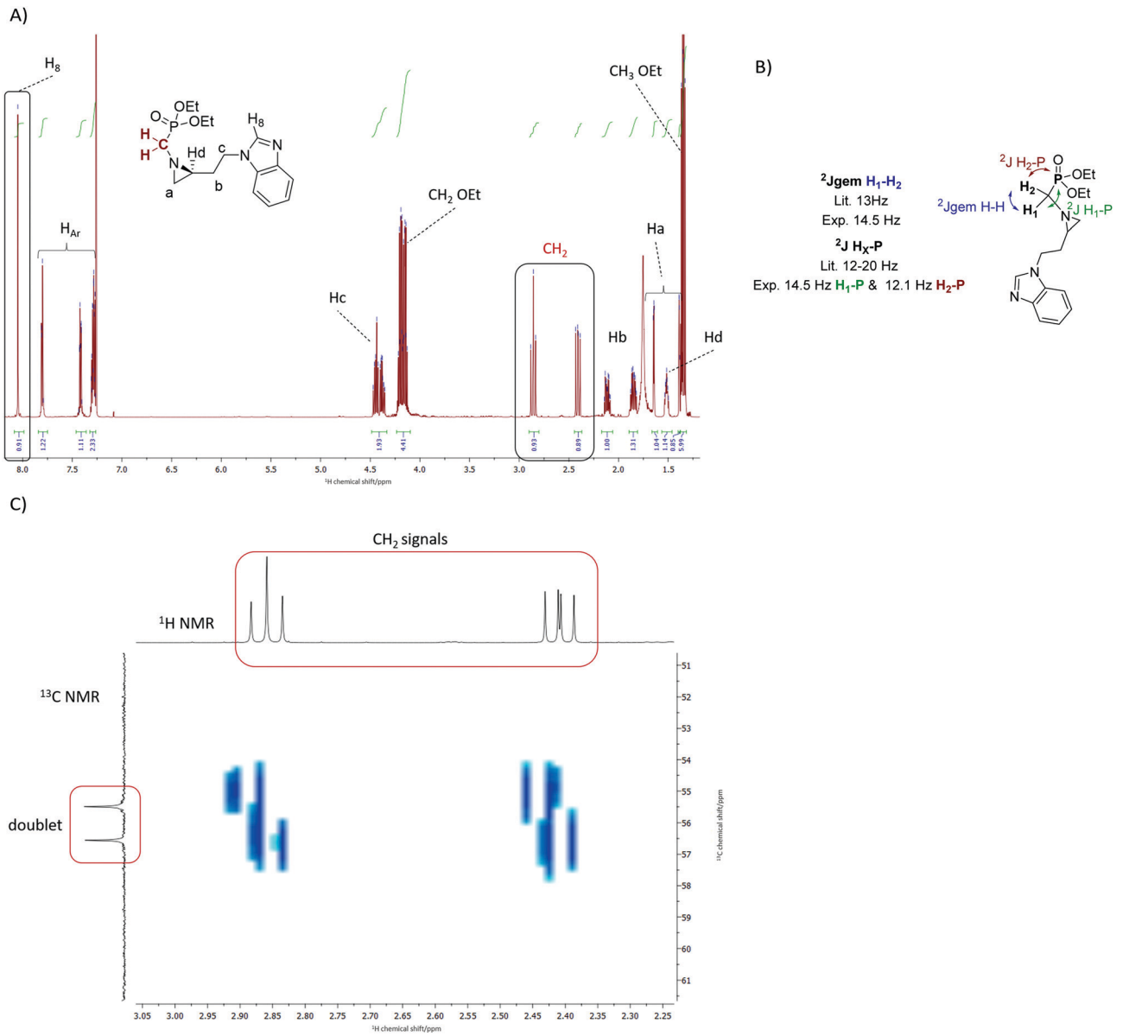
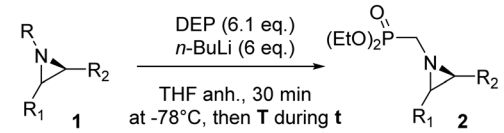


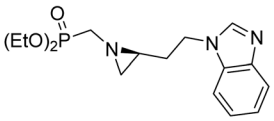
Fig. 1 NMR Studies for structural identification of compound **2a**. (A) ^{1}H NMR spectra and attribution; (B) coupling constants and relationship observed for the two protons of the *N*-methylene phosphonate motif; (C) detail of the HSQC ^{1}H–^{13}C NMR spectra.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry and the Centre National de la Recherche Scientifique 2022

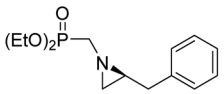
Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.

Table 1 Substrate scope for the formation of α-methylene phosphonate aziridines

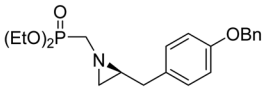




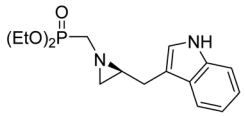
2a
R=Boc, **1a**
rt, o.n., 44%[a]
55°C, o.n., 54%[a]



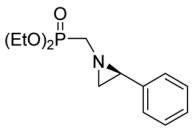
2b
R=Boc, **1b**
rt, o.n., traces[c]
55°C, 2h, 51%[a]
R=Cbz, **1c**
rt, 5h, 45%[a]
55°C, 2h, 43%[a]



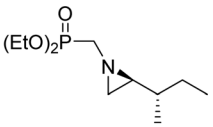
2d
R=Boc, **1d**
55°C, 4h, 52%[a]
R=Cbz, **1e**
55°C, 4h, 38%[a]



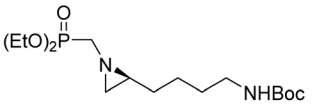
2f
R=Cbz, **1f**
rt, 3h, <10%[b]
55°C, 2h, 28%[b]



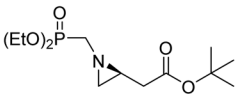
2g
R=Cbz, **1g**
rt, 3h, traces[c]
55°C, 4h, traces[c]



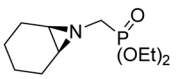
2h
R=Boc, **1h**
55°C, 2h,
53%[a]
R=Cbz, **1i**
55°C, 4h,
25%[a]



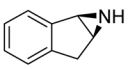
2j
R=Cbz, **1j**
55°C, 4h, 45%[a]



2k
R=Cbz, **1k**
rt, 4h, 0%[a]



2l
R=Cbz, **1l**
rt, 2h, 0%[a]
55°C, 4h, 47%[a]



2m
R=Boc, **1m**
55°C, 6h, 84%[a]

[a] Isolated yield after purification by column chromatography. [b] Yields calculated from ^{1}H NMR spectra. [c] Observed by ^{31}P NMR analysis of the crude mixture. rt means room temperature, o.n. means overnight reaction.

and very complex reaction mixtures were recovered instead. ^{31}P NMR analysis of the crude material indicated only traces of the expected α-methylene phosphonate aziridine (data not shown). In addition, when the optimized conditions were applied on Cbz-L-phenylalanilol, no traces of the desired compound was observed, thus highlighting that the presence of the aziridine motif is mandatory.

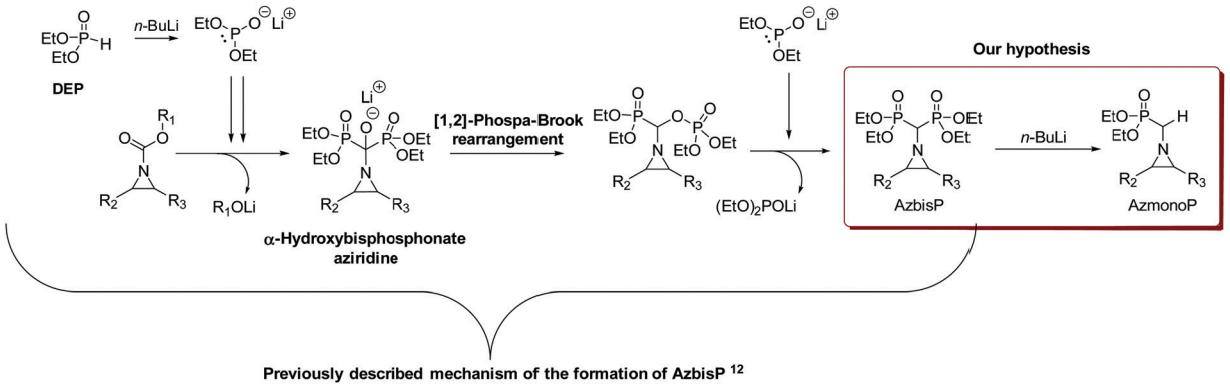
As illustrated in Table 1, 10 out of the 13 starting materials were converted into the expected α-methylene phosphonate aziridines in low to modest yields. Numerous degradation/secondary products were observed and were difficult to resolve by silica gel chromatography, thus impacting yields. For aziridine **1g**, ^{31}P NMR analysis of the reaction mixture only revealed traces of the desired compound despite consumption of the starting material and this was not improved by the modification of the temperature (from rt to 55 °C). This may be associated with the electronic and steric effects of the phenyl ring that led to the formation of a complex set of side-products.

One should note that for aziridines **1k** and **1l**, the formation of the α-methylene phosphonate aziridine was not observed when the reaction was carried out at room temperature (rt), and instead the corresponding α-methylene-*gem*-bisphosphonate derivatives were isolated in low yield (<25%), indicating that DEP/*n*-BuLi conditions may involve a reaction mechanism similar to the one proposed when using DEP/LiHMDS.[12] As previously observed,[12] no reaction occurred with compound **1m**, because of the highly constrained aziridine-ring, and the reduced product **2m** was exclusively isolated in high yield.

Mechanistic investigations

At first, the structural analogy between α-methylene phosphonate aziridine and α-methylene-*gem*-bisphosphonate derivatives, as well as the isolation of the latter in a few cases in DEP/*n*-BuLi conditions, led us to hypothesize a mechanism comparable to the one previously proposed (Scheme 3).[12] Briefly, the nucleophilic attack of the diethylphosphite anion onto the carbamoyl group affords a putative α-hydroxy-bisphosphonate intermediate, that undergoes a [1,2]-Phospha-Brook rearrangement to form a phosphate moiety, which is then substituted by DEP to afford the bis-phosphonylated aziridine (the chelation of lithium ion is mandatory for each step to occur). Furthermore, the presence of α-methylene-*gem*-bisphosphonate aziridine as side-product in several reaction

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.



Scheme 3 Initial hypothesis for the formation of α-methylene phosphonate aziridine (AzmonoP) from the corresponding α-methylene-*gem*-bisphosphonate (AzbisP) derivative, and main steps of the previously described mechanism of formation of the latter.[12]

mixtures (DEP/*n*-BuLi conditions) suggested that it may serve as intermediate in the formation of the monophosphonylated compounds (Scheme 3). The conversion of α-methylene-*gem*-bisphosphonate to α-methylene-phosphonate derivative may be explained by the significant difference of the nucleophilic character of LiHMDS and *n*-BuLi. To confirm this assumption, the behavior of the tetraethyl ((2-benzylaziridin-1-yl)methylene)(*S*)-bis(phosphonate) **3** treated with a stoichiometric amount of DEP and *n*-BuLi was followed by ^{31}P NMR analysis. After 3 h (Fig. 2), the presence of compound **2b** was observed, thus agreeing with our hypothesis. By-products **4**, **5**, and **6** were observed as well.

During the purification of **2b**, **2h** and **2l** we had the opportunity to isolate and identify by-products **4**, **5** and **6** (Scheme 4 and Fig. S1, ESI†). As we previously stated, the peculiarity of *n*-BuLi is that it can act both as a strong base ($pK_a \sim 50$) and a good nucleophile, in comparison to the previously used bases[12] (LiHMDS, NaHMDS, NaH or *t*BuOK, which are either non-nucleophilic or poorly nucleophilic), and is supposed to assist this step, because none of the other ones allowed the formation of α-methylene phosphonate aziridines. Formation of dibutyl phosphine oxide (**4**) may arise from the addition of the butyl anion on the diethylphosphite, leading to the elimination of the ethanoate chains and supports the need to use excess of both reagents. Following the same line of thought, the two other products (**5** and **6**) may result from subsequent nucleophilic attack of the butyl anion on a phosphonylated intermediate (Scheme 4).

Consequently, we proposed the mechanism presented in Scheme 4 and based on the elimination of one of the two diethyl phosphonate moieties from the α-methylene-*gem*-bisphosphonate (**I**) in presence of *n*-BuLi (with concomitant formation of by-products **5** and **6**), and leading to the formation of the carbanion **II**, that is quickly hydrolyzed to the expected α-methylene phosphonate aziridine. A similar elimination was previously proposed during the methanolysis of an α-amino bisphosphonate scaffold.[13]

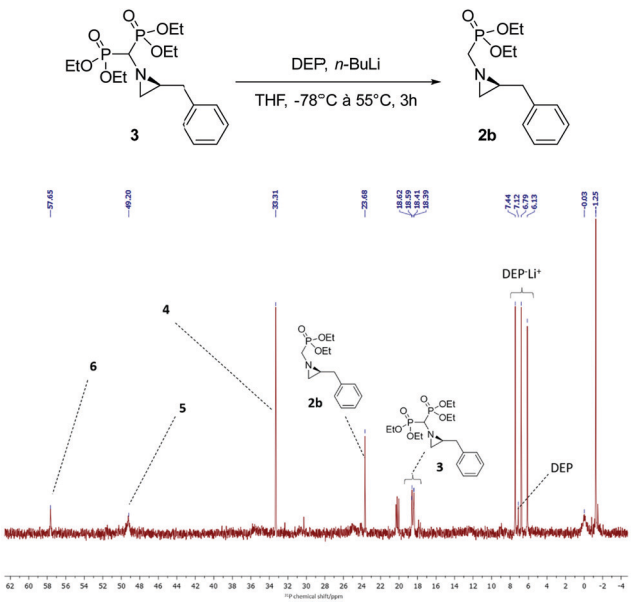


Fig. 2 31P NMR spectrum of the reaction mixture of **3** in presence of DEP/*n*-BuLi after 3 h at 55 °C.

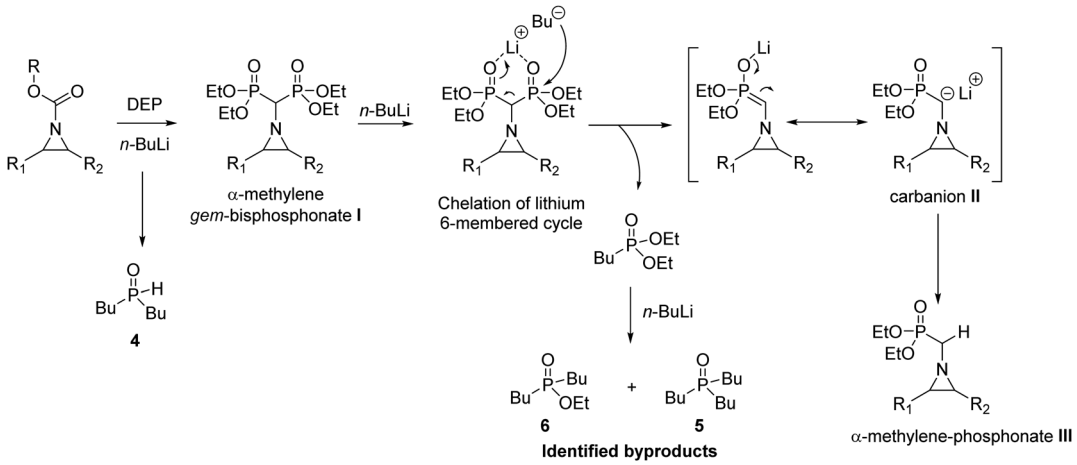
Experimental section

Materials and methods

NMR spectra were recorded in the Laboratoire de Mesures Physiques (LMP – University of Montpellier), on Brüker Avance spectrometers (400, 500 or 600 MHz for ^{1}H NMR; 101 or 126 MHz for ^{13}C NMR, and 162 or 202 MHz for ^{31}P NMR), at 20 °C. Chemical shifts were reported in ppm (parts per million), and determined according to the residual solvent peak used as internal reference and relative to the trimethylsilyl peak (TMS) for ^{1}H and ^{13}C NMR, and according to an external reference (H_3PO_4) for ^{31}P NMR. When needed COSY (^{1}H 2D), HSQC ^{1}H–^{13}C, and HMBC ^{1}H–^{13}C were obtained to interpret and confirm ^{1}H and ^{13}C NMR spectra. Coupling values are indicated in Hertz (Hz). Signal multiplicities were reported as follows: s (singlet), br (broad), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), dd (doubled doublet). Reaction monitoring using ^{31}P NMR were acquired in $CDCl_3$ (previously filtered on neutral aluminum oxide Al_2O_3), using oven-dried tubes (50 °C) and flushed with argon before use. High resolution mass spectra

 This journal is © The Royal Society of Chemistry and the Centre National de la Recherche Scientifique 2022

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.



Scheme 4 Proposed mechanism for the formation of α-methylene phosphonate aziridine from the corresponding α-methylene-*gem*-bisphosphonate in presence of *n*-BuLi.

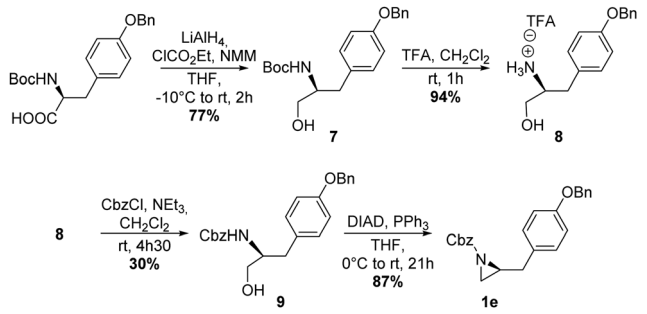
(HRMS) were obtained from LMP, by ESI ionization (electrospray) in negative or positive mode, on a Q-TOF Synapt-G2-S spectrometer. Thin-layer chromatography (TLC) was performed on precoated aluminum sheets of silica 60 F254 (Merck, Art. 5554). Visualization of products was accomplished by UV absorbance (254 nm) and/or by spraying with Hanes molybdate reagent or charring into a ninhydrin solution in ethanol. Flash chromatography on silica gel were performed on the automated system Biotage® IsoleraTM 4.

Reagents were from the following suppliers: Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Acros or TCI. Anhydrous solvents (stored on molecular sieves in sealed flasks) were from Sigma-Aldrich. Diethylphosphite (Acros) was distilled from KOH under reduced pressure and stored in a sealed round-bottom flask under argon atmosphere and in the dark.

Synthetic procedures

Synthesis and characterization of *N*-protected aziridines. *N*-Carbamoyl aziridines **1a-d**, **1f–h** and **1j–m** were obtained according to our previously reported procedures.[12]

Benzyl (*S*)-2-(4-(benzyloxy)benzyl)aziridine-1-carbamate (**1e**) was obtained as follow:



***tert*-Butyl (*S*)-(1-(4-(benzyloxy)phenyl)-3-hydroxypropan-2-yl) carbamate (7).** The Boc-*L*-Tyr(OBn)-OH (1.0 g, 2.43 mmol, 1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (2.30 mL $mmol^{-1}$) under argon atmosphere. *N*-Methyl morpholine (1 eq.) and ethyl chloroformate (1 eq.) were added at −10 °C, and the reaction mixture was stirred for 30 min at −10 °C. $LiAlH_4$ (1 M in THF, 2.01 eq.) was then slowly added dropwise, and the reaction was allowed to warm at room temperature. The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. The reaction was quenched by the slow addition of an aqueous solution of $KHSO_4$ (1 M) at 0 °C. After being stirred for 15 min, the reaction mixture was filtered on a glass filter. The filtrate was concentrated, dissolved in ethyl acetate, and washed with saturated NaCl solution. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered, and concentrated *in vacuo*. The resulting crude was purified by silica gel flash chromatography (CH_2Cl_2/EtOAc) to afford the title compound as a white solid (0.84 g, 2.34 mmol, 87% yield).

R*f* CH_2Cl_2/EtOAc (80/20, v/v): 0.44. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.44–7.31 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 2H, CH_{Ar}), 6.92 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{Ar}), 5.04 (s, 2H, CCH_2Ph), 4.72 (d, J = 5.1 Hz, 1H, NH), 3.82 (s, 1H, CHNH), 3.67 (ddd, J = 15.3, 10.2, 4.5 Hz, 2H, $CHCH_2Ph$), 2.78 (d, J = 7.1 Hz, 2H, CH_2OH), 2.36 (s, 1H, OH), 1.42 (s, 9H, 3 CH_3, Boc). Data in accordance with the literature.[14,15]

(*S*)-(1-(4-(Benzyloxy)phenyl)-3-hydroxypropan-2-yl)amine (8). The protocol was adapted from Mavridis *et al.*[16] The protected amino alcohol **7** (1.60 g, 4.48 mmol, 1 eq.) was dissolved in anhydrous CH_2Cl_2 (12.5 mL $mmol^{-1}$) under argon atmosphere. Trifluoroacetic acid (4.15 mL $mmol^{-1}$) was added and the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. After concentration *in vacuo*, the resulting crude product was purified by silica gel flash chromatography (CH_2Cl_2/MeOH) to afford the title compound as a white solid (1.57 g, 4.23 mmol, 94%).

R*f* CH_2Cl_2/MeOH (97.5/2.5 v/v): 0.25. ^{1}H NMR (400 MHz, MeOD): δ 7.46–7.26 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.19 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{Ar}), 6.98 (d, J = 8.7 Hz, 2H, CH_{Ar}), 5.08 (s, 2H, CCH_2Ph), 3.68 (dd, J = 11.6, 3.5 Hz, 1H, $CHCH_2Ph$), 3.51 (dd, J = 11.6, 6.2 Hz, 1H, $CHCH_2Ph$), 3.35–3.41 (m, 1H, $CHCH_2Ph$), 2.94–2.78 (m, 2H, CH_2OH). Data in accordance with the literature.[16]

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.

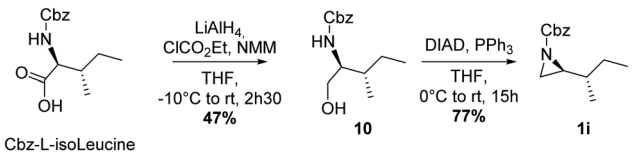
Benzyl (*S*)-(1-(4-(benzyloxy)phenyl)-3-hydroxypropan-2-yl) carbamate (9). The protocol was adapted from Veitia *et al.*[17] The amino alcohol salt **8** (0.80 g, 3.11 mmol, 1 eq.) was dissolved in CH_2Cl_2 (3.3 mL $mmol^{-1}$) at 0 °C. Et_3N (1 eq.) was added dropwise and the reaction mixture was stirred for 15 min. Benzyl chloroformate (1.2 eq.) and additional Et_3N (5 eq.) were added dropwise at 0 °C. The resulting mixture was stirred at room temperature for 4.5 h. After concentration, the resulting crude product was purified by silica gel flash chromatography (CH_2Cl_2/MeOH) to afford the title compound as a white powder (354 mg, 0.904 mmol, 29%).

R*f* CH_2Cl_2/MeOH (95/5 v/v): 0.74. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.48–7.28 (m, 10H, CH_{Ar}), 7.11 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CH_{Ar}), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 2H, CH_{Ar}), 5.08 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.04 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.97 (d, J = 7.0 Hz, 1H, NH), 3.90 (s, 1H, CHNH), 3.68 (d, J = 10.1 Hz, 1H, CCH_2Ph), 3.58 (d, J = 10.3 Hz, 1H, CCH_2Ph), 2.80 (d, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2OH), 2.17 (s, 2H, OH). Data in accordance with the literature.[17]

Benzyl (*S*)-2-(4-(benzyloxy)benzyl)aziridine-1-carbamate (1e). The *N*-Cbz-amino alcohol **9** (350 mg, 0.894 mmol, 1 eq.) was dissolved under argon atmosphere in anhydrous THF (13.2 mL $mmol^{-1}$) at 0 °C. Triphenylphosphine (1.5 eq.) was added in one portion, followed by diisopropyl azodicarboxylate (1.64 eq.) dropwise at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 21 h at room temperature. After concentration, the resulting crude product was purified by silica gel flash chromatography (petroleum ether/EtOAc) to afford the title compound as a white solid (291 mg, 779 mmol, 87%).

R*f* petroleum ether/EtOAc (9/1 v/v): 0.25. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.50–7.28 (m, 10H, CH_{Ar}), 7.20 (d, J = 8.5 Hz, 2H, CH_{Ar}), 6.92 (d, J = 8.5 Hz, 2H, CH_{Ar}), 5.12 (q, 2H, OCH_2Ph_{Cbz}), 5.04 (s, 2H, OCH_2Ph), 2.92 (dd, J = 13.6, 4.9 Hz, 1H, CH_2Ph), 2.75–2.58 (m, 2H, CH_2Ph, CH_{Az}), 2.39 (d, J = 5.6 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$), 2.09 (d, J = 3.4 Hz, 1H, $CH_{2,Az}$). ^{13}C {^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ 163.4 (s, C(O)Cbz), 157.7 (s, CO), 137.1 (s, C_{Ar}), 135.8 (s, C_{Ar}), 130.0 (s, CH_{Ar}), 128.7 (s, CH_{Ar}), 128.6 (s, CH_{Ar}), 128.4 (s, CH_{Ar}), 128.1 (s, CH_{Ar}), 128.1 (s, CH_{Ar}), 127.6 (s, CH_{Ar}), 114.9 (s, CH_{Ar}), 70.1 (OCH_2Ph), 68.2 (s, $O(O)CH_2Ph$), 38.9 (s, CH_{Az}), 37.5 (s, CH_2), 31.6 (s, CH_2Az). HRMS (ESI/Q-TOF) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{24}H_{24}NO_3$ 374.1751; found 374.1755.

Benzyl (*S*)-2-((*S*)-sec-butyl)aziridine-1-carbamate (**1i**) was obtained as follow:



Benzyl (*S*)-2-((*S*)-sec-butyl)-2-hydroxyethyl-carbamate (10). The Cbz-*L*-Isoleucine-OH (2.0 g, 7.54 mmol, 1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (2.3 mL $mmol^{-1}$) under argon atmosphere. *N*-Methyl morpholine (1 eq.) and ethyl chloroformate (1 eq.) were added at −10 °C, and the reaction mixture was stirred for 30 min at −10 °C. $LiAlH_4$ (2.01 eq.) was then slowly added dropwise, and the reaction was allowed to warm at room temperature. The reaction mixture was stirred for 2.5 h and then quenched by the slow addition of an aqueous solution of $KHSO_4$ (1 M) at 0 °C. After being stirred for 15 min, the reaction mixture was filtered on a glass filter. The filtrate was concentrated, dissolved in ethyl acetate, and washed with NaCl saturated solution. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered, and concentrated *in vacuo*. The resulting crude was purified by silica gel flash chromatography (DCM/EtOAc) to afford the title compound as an oil (0.90 g, 3.58 mmol, 47% yield).

R*f* petroleum ether/EtOAc (7/3 v/v): 0.53. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41–7.28 (m, 5H, CHAr), 5.10 (s, 2H, OCH_2Ph,Cbz), 4.93 (d, J = 7.1 Hz, 1H, NH), 3.74 (d, J = 10.6 Hz, 1H, NHCH), 3.69–3.52 (m, 2H, CH_2OH), 2.22 (s, 1H, OH), 1.64–1.56 (m, 1H, CH_2CH_3), 1.56–1.44 (m, 1H, CH_2CH_3), 1.15 (ddd, J = 22.5, 15.0, 6.8 Hz, 1H, $CHMe_2$), 1.02–0.72 (m, 6H, $2CH_3$). Data in accordance with the literature.[18]

Benzyl (*S*)-2-((*S*)-sec-butyl)aziridine-1-carboxylate (1i). The *N*-Cbz-amino alcohol **10** (0.80 g, 3.20 mmol, 1 eq.) was dissolved under argon atmosphere in anhydrous THF (13.2 mL $mmol^{-1}$) at 0 °C. Triphenylphosphine (1.5 eq.) was added in one portion, followed by diisopropyl azodicarboxylate (1.64 eq.) dropwise at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 15 h at room temperature. After concentration, the resulting crude product was purified by silica gel flash chromatography (petroleum ether/EtOAc) to afford the title compound as a light pink liquid (570 mg, 2.48 mmol, 77%).

R*f* petroleum ether/EtOAc (8/2 v/v): 0.72. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40–7.35 (m, 4H, CHAr), 7.35–7.29 (m, 1H, CHAr), 5.13 (d, J = 1.0 Hz, 2H, OCH_2Ph), 2.31 (d, J = 6.3 Hz, 1H, CH_2,Az), 2.27 (m, 1H, CHAz), 2.00 (d, J = 3.8 Hz, 1H, CH_2,Az), 1.80–1.61 (m, 1H, CH_2), 1.41–1.31 (m, 1H, CH_2), 1.31–1.12 (m, 1H, CH), 0.96 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH_3CH_2), 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3H, CH_3CH_2). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ 163.8 (s, C(O)CH_2Ph,Cbz), 136.1 (s, CAr), 128.6 (s, CHAr), 128.3 (s, CHAr), 128.1 (CHAr), 68.1 (s, OCH_2Ph), 43.6 (s, CHAz), 37.7 (s, $CHCH_3$), 30.8 (s, CH_2Az), 27.7 (s, CH_2CH_3), 15.9 ($CHCH_3$), 11.2 (CH_2CH_3). HRMS (ESI/Q-TOF) m/z: $[M + H]^+$ Calculated for $C_{14}H_{20}NO_2$:234.1489; found: 234.1490.

General procedure for the preparation of *N*-methylenephosphonate aziridines from *N*-carbamoyl aziridines. Freshly distilled diethylphosphite (6.1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (0.5 mL $mmol^{-1}$ of diethylphosphite) under argon atmosphere. The solution was cooled to −78 °C, then *n*-BuLi (2.5 M in THF, 6 eq.) was added dropwise and the reaction mixture was stirred for 30 min at −78 °C. A solution of the *N*-carbamoyl aziridine (1 eq.) in anhydrous THF (2.8 mL $mmol^{-1}$ of aziridine) was added dropwise to the reaction, which was then allowed to warm to room temperature. The reaction mixture was stirred at the required temperature until completion of the reaction (TLC monitoring). The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH_4Cl. The mixture was extracted twice with ethyl acetate. Organic layers were dried on $MgSO_4$, filtered and concentrated in vacuum and the crude was purified on silica gel by flash chromatography (DCM/MeOH gradient) to obtain the desired product as an oil.

Diethyl (*S*)-((2-(2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)ethyl)aziridin-1-yl)methyl)phosphonate (2a). The title compound (146 mg,

 This journal is © The Royal Society of Chemistry and the Centre National de la Recherche Scientifique 2022

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.

0.43 mmol, 44%) was obtained following the procedure described above, overnight stirring at rt, from the compound **1a** (200 mg, 0.69 mmol). When the reaction was performed overnight stirring at 55 °C, compound **2a** (189 mg, 0.56 mmol) was isolated with 54% yield from the compound **1a** (300 mg, 1.04 mmol).

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.25. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04 (s, 1H, NCHArN), 7.79 (dd, J = 6.5, 2.1 Hz, 1H, CHAr), 7.41 (dd, J = 7.0, 2.6 Hz, 1H, CHAr), 7.30–7.24 (m, 2H, CHAr), 4.39 (tdd, J = 14.2, 11.0, 6.6 Hz, 2H, CH_2N), 4.21–4.10 (m, 4H, $2CH_2CH_3$), 2.84 (t, J = 14.5 Hz, 1H, CH_2P), 2.40 (dd, J = 14.5, 12.1 Hz, 1H, CH_2P), 2.10 (dtd, J = 12.3, 7.7, 4.7 Hz, 1H, CH_2CH_2N), 1.83 (dtd, J = 13.1, 7.4, 5.7 Hz, 1H, CH_2CH_2N), 1.63 (dd, J = 3.6, 1.1 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.53–1.47 (m, 1H, CHAz), 1.37 (dd, J = 6.5, 1.0 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.33 (q, J = 7.0 Hz, 6H, $2CH_2CH_3$). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 144.0 (s, CAr), 143.4 (s, NCHN), 133.8 (s, CAr), 122.9 (s, CHAr), 122.2 (s, CHAr), 120.5 (s, CHAr), 109.7 (s, CHAr), 62.3 (dd, J = 35.8, 7.1 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$), 56.0 (d, J = 160.4 Hz, CH_2P), 43.1 (s, CH_2N), 38.3 (d, J = 7.3 Hz, CHAz), 34.7 (d, J = 13.1 Hz, CH_2, Az), 33.2 (s, CH_2CH_2N), 17.3–16.0 (t, J = 6.3 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$). ^{31}P {1H} NMR (202 MHz, $CDCl_3$) δ 23.6 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$, Calculated for $C_{16}H_{25}N_3O_3P$: 338.1634; found: 338.1633.

Diethyl (*S*)-((2-benzylaziridin-1-yl)methyl)phosphonate (2b). The title compound (93 mg, 0.33 mmol, 51%) was obtained following the procedure described above, stirring for 2 h at 55 °C, from the compound **1b** (150 mg, 0.64 mmol). Starting from the compound **1c** (150 mg, 0.56 mmol), compound **2b** (126 mg, 0.44 mmol) was isolated with 43% yield. When stirring for 5 h at rt, compound **2b** (100 mg, 0.35 mmol) was isolated with 45% yield from **1c** (170 mg, 0.63 mmol).

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.50. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31–7.19 (m, 5H, CHAr), 4.21–4.13 (m, 4H, $2CH_2CH_3$), 2.97 (dd, J = 14.4, 5.6 Hz, 1H, CH_2Ph), 2.69 (ddd, J = 37.8, 14.5, 13.4 Hz, 2H, CH_2P), 2.55 (dd, J = 14.4, 6.7 Hz, 1H, CH_2Ph), 1.81 (dd, J = 3.8, 0.8 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.76–1.70 (m, 1H, CHAz), 1.45–1.42 (dd, J = 4, 1.5 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.35 (td, J = 7.1, 3.7 Hz, 6H, $2CH_2CH_3$). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 139.3 (s, CAr), 128.9 (s, 2C, CHAr), 128.5 (s, 2C, CHAr), 126.4 (s, CHAr), 62.2 (d, J = 8.3 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$), 56.1 (d, J = 159.8 Hz, CH_2P), 42.0 (d, J = 10.8 Hz, CHAz), 39.1 (s, CH_2Ph), 35.3 (d, J = 10.6 Hz, CH_2, Az), 16.7 (d, J = 7.8 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$). ^{31}P {1H} NMR (202 MHz, $CDCl_3$) δ 23.9 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{14}H_{23}NO_3P$: 284.1410; found: 284.1413.

Diethyl (*S*)-((2-(4-(benzyloxy)benzyl)aziridin-1-yl)methyl) phosphonate (2d). The title compound (60 mg, 0.15 mmol, 52% yield) was obtained following the procedure described above, stirring for 4 h at 55 °C, from the compound **1d** (100 mg, 0.29 mmol). Starting from compound **1e** (298 mg,0.798 mmol), compound **2d** (115 mg, 0.295 mmol) was isolated with 38% yield.

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.50. ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.44–7.41 (m, 2H, CHAr), 7.40–7.36 (m, 2H, CHAr), 7.33–7.31 (m, 1H, CHAr), 7.15 (d, J = 8.5 Hz, 2H, CHAr), 6.90 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CHAr), 5.04 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.20–4.13 (m, 4H, $2CH_2CH_3$), 2.90 (dd, J = 14.4, 5.6 Hz, 1H, $CHCH_2Ph$), 2.68 (ddd, J = 41.2, 14.6, 13.4 Hz, 2H, CH_2P), 2.50 (dd, J = 14.4, 6.7 Hz, 1H, $CHCH_2Ph$), 1.79 (dd, J = 3.5, 1.0 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.77–1.72 (m, 1H, CHAz), 1.42 (dd, J = 6.3, 0.7 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.35 (td, J = 7.0, 4.2 Hz, 6H, $2CH_2CH_3$). ^{13}C {1H} NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 157.6 (s, CAr), 137.3 (s, CAr), 131.7 (s, CAr), 129.9 (s, 2C, CHAr), 128.7 (s, 2C, CHAr), 128.1 (s, CHAr), 127.6 (s, 2C, CHAr), 114.9 (s, 2C, CHAr), 70.2 (s, OCH_2Ph), 62.2 (d, J = 8.9 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$), 56.1 (d, J = 159.7 Hz, CH_2P), 42.2 (d, J = 10.9 Hz, CHAz), 38.2 (s, $CHCH_2Ph$), 35.2 (d, J = 10.8 Hz, CH_2, Az), 16.7 (d, J = 7.6 Hz, 2C, CH_2CH_3). ^{31}P {1H} NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 24.2 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{21}H_{29}NO_4P$: 390.1834; found: 390.1833.

Diethyl (*S*)-((2-((1*H*-indol-3-yl)methyl)aziridin-1-yl)methyl) phosphonate (2f). The title compound (35 mg, 0.11 mmol, 28%) was obtained following the procedure described above, stirring for 2 h at 55 °C, from the compound **1f** (120 mg, 0.39 mmol) and contained traces of the corresponding bis-phosphonate. Both sets of NMR signals are reported below.

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.4. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.24 (s, 1H, NH), 7.65 (d, J = 7.9 Hz, 1H, CHAr), 7.61 (d, J = 7.6 Hz, 0.42H, CH'Ar), 7.36 (d, J = 8.1 Hz, 1H, CHAr), 7.36 (d, J = 7.2 Hz, 0.32, CH'Ar), 7.21–7.16 (m, 1H, CHAr), 7.19–7.16 (m, 0.41H, CH'Ar), 7.13–7.09 (m, 1H, CHAr), 7.10 (t, J = 7.8 Hz, 0.38H, CH'Ar), 7.07 (d, J = 2.2 Hz, 1H, CHAr), 7.03 (d, J = 2.3 Hz, 0.37H, CH'Ar), 4.32–4.22 (m, 2.46H, $4CH'_2CH_3$), 4.21–4.14 (m, 4H, $4CH_2CH_3$), 3.51 (dd, J = 14.9, 3.7 Hz, 0.54H, $CH'CH_2C$), 3.11 (dd, J = 15.0, 5.4 Hz, 1H, $CHCH_2C$), 2.80–2.61 (m, 3H, CH_2P, $CHCH_2C$), 2.52 (dd, J = 14.8, 9.0 Hz, 1H, $CHCH_2C$), 2.43 (t, J = 18.2 Hz, 0.52H, PCH'P), 2.19–2.12 (m, 0.49H, CH'Az), 1.97 (d, J = 3.8 Hz, 0.48H, CH'$_2$, Az), 1.86 (dd, J = 3.8, 0.8 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.83–1.78 (m, 1H, CHAz), 1.73 (d, J = 6.1 Hz, 0.43H, CH'$_2$, Az), 1.45 (d, J = 6.3 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.35 (td, J = 7.0, 2.8 Hz, 8.3H, $2CH_2CH'_3$, $2CH_2CH_3$). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 136.4 (s, CAr), 127.7 (s, CAr), 122.1 (s, CHAr), 122.0 (s, CHAr) 119.4 (s, CHAr), 119.2 (s, CHAr), 113.5 (s, CAr), 111.2 (s, CHAr), 65.0 (t, J = 150 Hz, PCHP), 63.2 (dd, J = 24.0, 5.9 Hz, 4C, $4CH_2CH_3$), 62.3 (t, J = 7.3 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$), 56.1 (d, J = 159.6 Hz, CH_2P), 42.8 (d, J = 16.3 Hz, CHAz), 41.7 (d, J = 10.3 Hz, CHAz), 37.0 (d, J = 16.9 Hz, CH_2, Az), 35.7 (d, J = 9.8 Hz, CH_2, Az), 28.9 (s, $CHCH_2C$), 28.6 (s, $CHCH_2C$), 16.7 (d, J = 7.2 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$). ^{31}P {1H} NMR (202 MHz, $CDCl_3$) δ 24.2 (s), 18.1 (s'). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{16}H_{24}N_2O_3P$: 323.1525; found: 323.1525.

Diethyl (((*S*)-2-((*S*)-sec-butyl)aziridin-1-yl)methyl) phosphonate (2h). The title compound was obtained following the procedure described above, stirring for 2 h at 55 °C, from the compound **1h** (150 mg, 0.75 mmol) with 53% yield (99 mg, 0.39 mmol). When using compound **1i** (300 mg, 1.286 mmol) as starting material, stirring for 4 h at 55 °C, compound **2h** (79 mg, 0.317 mmol) was isolated with 25% yield.

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.5. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 4.25–4.09 (m, 4H, OCH_2,Et), 2.85–2.73 (m, 1H, CH_2,Az), 2.53 (dd, J = 14.6, 12.8 Hz, 1H, CH_2,Az), 1.67 (dd, J = 3.8, 0.9 Hz, 1H, CH_2P), 1.66–1.59 (m, 1H, CH_2), 1.34 (td, J = 7.0, 3.6 Hz, 7H, $2CH_3$,Et, CH, Az), 1.32–1.21 (m, 2H, CH_2, CHP), 1.15–1.02 (m, 1H, CH), 0.91 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH_3CH_2), 0.84 (d, J = 6.9 Hz,

Published on 11 March 2022. Downloaded by University of Montpellier on 3/28/2023 10:05:37 AM.

3H, CH_3CH). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ 62.2 (dd, J = 10.7, 6.6 Hz, $2CH_2$,Et), 56.37 (d, J = 159.5 Hz, CH_2,Az), 46.89 (d, J = 10.5 Hz, CH_2), 37.97 (s, CH), 34.21 (d, J = 8.2 Hz, CH, Az), 28.06 (s, CH_2P), 16.64 (t, J = 5.0 Hz, $2CH_2CH_3$,Et), 16.17 (s, CH_3CH_2), 11.58 (s, CH_3CH). ^{31}P {1H} NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 24.4 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{11}H_{25}NO_3P$: 250.1567; found: 250.1566.

***tert*-Butyl (*S*)-(4-(1-((diethoxyphosphoryl)methyl)aziridin-2-yl) butyl)carbamate (2j).** The title compound (57 mg, 0.15 mmol, 45%) was obtained following the procedure described above, stirring for 4 h at 55 °C, from the compound **1j** (120 mg, 0.35 mmol).

R*f* DCM/MeOH (95/5, v/v): 0.18. ^1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 4.75 (br s, 1H, NH), 4.19–4.10 (m, 4H, $2CH_2CH_3$), 3.10–3.04 (m, 2H, CH_2NH), 2.72 (t, J = 14.1 Hz, 1H, CH_2P), 2.53 (t, J = 13.6 Hz, 1H, CH_2P), 1.62 (d, J = 2.0 Hz, 1H, CH_2, Az), 1.55–1.42 (m, 8H, CH_2, Az, $3CH_2$, CHAz), 1.40 (s, 9H, $3CH_3$, Boc), 1.32 (dt, J = 8.7, 7.1 Hz, 6H, $2CH_2CH_3$). ^{13}C {1H} NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 156.1 (s, NHC(O)O), 79.0 (s, $C(CH_3)_3$), 62.2 (dd, J = 26.5, 7.1 Hz, 2C, $2CH_2CH_3$), 56.3 (d, J = 159.9 Hz, CH_2P), 41.0 (d, J = 8.7 Hz, CHAz), 40.3 (s, CH_2NH), 35.3 (d, J = 11.7 Hz, CH_2, Az), 32.5 (s, CH_2), 29.7 (s, CH_2), 28.5 (s, 3C, $3CH_3$, Boc), 24.5 (s, CH_2), 18.5–15.5 (m, 2C, $2CH_2CH_3$). ^{31}P {1H} NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 24.0 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{16}H_{34}N_2O_5P$: 365.2205; found: 365.2211.

Diethyl (((1*R*,6*S*)-7-azabicyclo[4.1.0]heptan-7-yl)methylene) phosphonate (2l). The title compound (254 mg, 1.028 mmol, 47%) was obtained following the procedure described above, stirring for 4 h at 55 °C, from the compound **1l** (500 mg, 2.162 mmol).

R*f* Petroleum ether/acetone (7/3, v/v): 0.82. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 4.27–4.10 (m, 4H, $2CH_2CH_3$), 2.65 (dd, J = 13.0, 2.3 Hz, 2H, 2CH,Az), 1.88–1.78 (m, 2H, CH_2CH), 1.71 (s, 2H, CH_2CH), 1.61 (s, 2H, CH_2P), 1.33 (td, J = 7.0, 2.3 Hz, 8H, $2CH_3$, CH_2), 1.19–1.05 (m, 2H, CH_2). ^{13}C {1H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ 62.26 (d, J = 6.6 Hz, $2CH_2O$), 55.92 (d, J = 158.7 Hz, 2CH,Az), 39.87 (d, J = 9.7 Hz, CH_2P), 24.13 (s, $2CH_2CH$), 20.44 (s, $2CH_2$), 16.63 (d, J = 5.7 Hz, $2CH_3$). ^{31}P {1H} NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 24.5 (s). HRMS Q-TOF (ESI) $[M + H]^+$ Calculated for $C_{11}H_{23}NO_3P$: 248.1410; found: 248.1414.

(1a*R*,6a*S*)-1,1a,6,6a-Tetrahydroindeno[1,2-*b*]azirine (2m). The title compound (48 mg, 0.37 mmol, 84%) was obtained following the procedure described above, stirring for 6 h at 55 °C, from the compound **1m** (100 mg, 0.44 mmol). Data in accordance with the literature.[12]

Conclusions

It has been shown that *N*-carbamoyl aziridines may be converted into methylene-*gem*-bisphosphonylated or methylene phosphonylated derivatives under similar conditions where the outcome depends on the choice of the lithiated base. To our knowledge, these are the first reports of this type of synthetic strategy. A broad range of *N*-Cbz and *N*-Boc aziridines was used to study the scope of this reaction, which afforded the desired phosphonylated compounds in low to moderate yields.

The substrate scope of the reaction, combined with the isolation and identification of by-products, and additional spectroscopic analyses, has led to a possible mechanism. This mechanism requires lithium ion, a strong nucleophilic base and the presence of the aziridine ring to produce *N*-methylene phosphonate aziridines.

Author contributions

Author contributions were as follow: I. G. (investigations), T. C. (investigations, conceptualization and writing original draft preparation), S. P. (conceptualization, supervision, writing, review and editing, and funding acquisition).

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

We are grateful to the CNRS (National Scientific Research Council) for financial support. I. G. is particularly grateful to the Région Occitanie for a PhD fellowship.

References

1 J. A. Burkhard, G. Wuitschik, M. Rogers-Evans, K. Müller and E. M. Carreira, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**(48), 9052–9067.
2 D. Renato, L. Alessandra and P. Helene, *Curr. Org. Chem.*, 2017, **21**(13), 1143–1191.
3 A. P. Sakla, P. Kansal and N. Shankaraiah, *Org. Biomol. Chem.*, 2020, **18**(42), 8572–8596.
4 R. Akhtar, S. A. R. Naqvi, A. F. Zahoor and S. Saleem, *Mol. Diversity*, 2018, **22**(2), 447–501.
5 X. E. Hu, *Tetrahedron*, 2004, **60**(12), 2701–2743.
6 B. T. Kelley and M. M. Joullié, *Org. Lett.*, 2010, **12**(19), 4244–4247.
7 J. Lugiņina and M. Turks, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2016, **52**(10), 773–775.
8 A. Mucha, P. Kafarski and L. Berlicki, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**(17), 5955–5980.
9 F. Palacios, C. Alonso and J. M. de los Santos, *Chem. Rev.*, 2005, **105**(3), 899–932.
10 G. A. Sheikha, P. La Colla and A. G. Loi, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, 2002, **21**(10), 619–635.
11 C. Stevens, A. Verbeke and N. De Kimpe, *Synlett*, 1998, 180–182.
12 T. Cheviet and S. Peyrottes, *J. Org. Chem.*, 2021, **86**(4), 3107–3119.
13 R. Burgada, D. E. Manouni, A. Tromelin and H. Fauduet, *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.*, 1987, **29**(2-4), 275–282.
14 P. Cui, W. F. McCalmont, J. L. Tomsig, K. R. Lynch and T. L. McDonald, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**(5), 2212–2225.
15 M. E. Jung and S. W. Yi, *Tetrahedron Lett.*, 2012, **53**(32), 4216–4220.
16 I. Mavridis, G. Kythreoti, K. Koltsida and D. Vourloumis, *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, **22**(4), 1329–1341.
17 M. S.-I. Veitía, P. L. Brun, P. Jorda, A. Falguières and C. Ferroud, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**(18), 2077–2089.
18 E. Yousefi-Salakdeh, M. Murtola, A. Zetterberg, E. Yeheskiely and R. Strömberg, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, **14**(8), 2653–2659.

 This journal is © The Royal Society of Chemistry and the Centre National de la Recherche Scientifique 2022

Titre : Bisphosphonates d'intérêt biologique : méthodologie de synthèse et évaluation biologique

Mots clés : Chimie du phosphore, aziridine, cancer, paludisme

Résumé :

Les bisphosphonates (BPs) sont une classe chimique de molécules actuellement utilisés dans le traitement, la prévention de maladies osseuse (ostéoporose, maladie de Paget, hypercalcémie, etc), et parfois aussi comme adjuvants dans les traitements des cancers. Des études ont montré qu'en plus d'une puissante activité anti-résorptive, les amino-bisphosphonate (N-BPs) possèdent une activité directe sur les métastases et l'inhibition de la prolifération de parasites.

Ces travaux de thèse reposent sur la synthèse et l'étude de nouveaux bisphosphonates. Dans une première partie, la voie de synthèse d'aziridines amino-méthylène-*gem*-bisphosphonates est exploitée pour accéder à des N-BPs inédits en tant que potentiels agents antitumoraux et/ou antipaludiques. La seconde partie s'intéresse à la modulation des conditions réactionnelles de cette même voie de synthèse afin de préparer des aziridines N-méthylènephosphonates. La dernière partie décrit l'étude préliminaire qui vise à établir une voie de synthèse inédite et écoresponsable de bisphospho(i)nates via une double addition radicalaire d'H-phospho(i)nates.

Title : Bisphosphonates of biological interest : synthesis methodology and biological evaluation

Key words : Phosphorus chemistry, aziridine, cancer, malaria

Abstract :

Bisphosphonates (BPs) are a class of chemical molecules currently used in the treatment and prevention of bone diseases (osteoporosis, Paget's disease, hypercalcemia, etc.), and sometimes also as adjuvants in cancer treatments. Studies have shown that in addition to their potent anti-resorptive activity, amino-bisphosphonates (N-BPs) also exhibit a direct effect on metastases and the inhibition of parasite proliferation.

This thesis work is based on the synthesis and study of new bisphosphonates. In the first part, the synthesis pathway for amino-methylene-*gem*-bisphosphonate aziridines is used to access novel N-BPs as potential anticancer and/or antimalarial agents. The second part focuses on modifying the reaction conditions of this same synthesis pathway to prepare N-methylene-phosphonate aziridines. The final part describes the preliminary study aimed at establishing an innovative and eco-friendly synthesis route for bisphospho(i)nates through a double radical addition of H-phospho(i)nates.