

MARTIN GIROUX

SYNTHÈSE DE PYRROLIDINES CHIRALES NON-RACÉMIQUES

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en chimie
pour l'obtention du grade maître ès sciences (M. Sc.)

DÉPARTEMENT DE CHIMIE
FACULTÉ DES SCIENCES ET GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2007

A tous ceux qui ont cru en moi

Résumé

Le présent projet a été réalisé dans le cadre d'une collaboration Université-Industrie entre le laboratoire du professeur Robert Chênevert, à l'Université Laval et la compagnie OmégaChem, de Lévis. OmegaChem se spécialise dans la fabrication de dérivés d'acides aminés et de synthons chiraux pour l'industrie pharmaceutique.

Dans le but de fournir à l'industrie pharmaceutique de nouveaux dérivés d'acides aminés, diverses pyrrolidines chirales non-racémiques apparentées à l'acide aminé proline ont été synthétisées. Ces pyrrolidines sont des dérivés α , β , γ -phosphoniques, α -hydroxyphosphoniques et phosphoriques de la proline. Les dérivés de la proline peuvent éventuellement être incorporés à l'intérieur de peptides, augmentant ainsi leur biodisponibilité et leur résistance face aux peptidases.

Avant propos

Je tiens à remercier tout d'abord le professeur Robert Chênevert pour m'avoir dirigé et conseillé tout au long de ma maîtrise. Je tiens également à souligner l'aide précieuse du professeur associé Mohammed Dasser, qui m'a lui aussi conseillé et supervisé tout au long du projet.

Ce projet n'aurait pas pu avoir lieu sans l'apport financier des différents organismes subventionnaires :

- Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG)
- OmegaChem
- Centre de recherche sur la fonction, la structure et l'ingénierie des protéines (CREFSIP)

Troisièmement, je tiens à remercier mes collègues de laboratoire, avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler au cours de ces deux dernières années. Leurs conseils ont été d'une importance capitale dans l'avancement de mes recherches.

Finalement, j'accorde un remerciement spécial à ma famille et à mes amis, qui ont cru en moi tout au long de mes études.

Merci à tous, je vous en serai éternellement reconnaissant.

Table des matières

RÉSUMÉ.....	III
AVANT PROPOS	IV
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES ABRÉVIATIONS	VII
LISTE DES SCHÉMAS.....	IX
LISTE DES FIGURES.....	X
LISTE DES TABLEAUX	X
CHAPITRE I-INTRODUCTION	1
1.1 LES PYRROLIDINES	1
1.2 LES PYRROLIDINES DANS LA NATURE	1
1.3 LES PYRROLIDINES DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE.....	2
1.4 LES SYNTHÈSES DE PYRROLIDINES	4
1.5 CHIMIE EN MILIEU INDUSTRIEL.....	7
1.6 LA CHIRALITÉ EN MILIEU INDUSTRIEL	8
1.7 LES BIOCATALYSEURS EN CHIMIE INDUSTRIELLE	9
1.8 LES HYDROLASES	12
CHAPITRE II-SYNTÈSE DE PYRROLIDINES CHIRALES	14
2.1 LES ACIDES AMINOPHOSPHONIQUES	14
2.2 LES DÉRIVÉS DE LA PROLINE	16
2.3 SYNTHÈSE DE L'ACIDE PYRROLIDINE-(2R)-YLPHOSPHONIQUE, L'ANALOGUE PHOSPHONIQUE DE LA PROLINE	17
2.3.1 Synthèse par formation de sels diastéréoisomères.....	17
2.3.2 Synthèse énantiosélective à partir du (S)-(+)-phénylglycinol.....	20
2.3.3 Résolution par formation d'un peptide avec la leucine	24
2.3.3.1 Les phosphopeptides	24
2.3.3.2 Synthèse rapportée et modifications apportées.....	25
2.4 SYNTHÈSE DE L'ACIDE [(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE, L'ANALOGUE β -PHOSPHONIQUE DE LA PROLINE	29
2.4.1 Les β -aminophosphonates.....	29
2.4.2 Synthèse originale.....	30
2.5 SYNTHÈSE DE L'ACIDE [(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] ÉTHYLPHOSPHONIQUE.....	32
2.5.1 Les acides γ -aminophosphoniques.....	32
2.6 SYNTHÈSE DE L'ACIDE (R)-HYDROXY[(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE, L'ANALOGUE HYDROXYPHOSPHONIQUE DE LA PROLINE	34
2.6.1 Synthèse chimioenzymatique.....	34
2.6.2 Isolement par cristallisation fractionnée de l'acide(R)-hydroxy[(2S)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique	40
2.7 SYNTHÈSE DU (2S)-PYRROLIDIN-2-YLMÉTHYL DIHYDROGÈNE PHOSPHATE, L'ANALOGUE PHOSPHORIQUE DE LA PROLINE.	44
2.7.1 Les acides phosphoriques.....	44
2.7.2 Synthèse rapportée.....	44
2.7.3 Application de la méthode de Corcoran.....	45
2.8 LEURS UTILISATIONS COMME ORGANOCATALYSEURS	48
2.8.1 La proline comme organocatalyseur	48
2.8.2 Réaction d'annélation « one pot » de Robinson.....	49
2.9 CONCLUSION GÉNÉRALE.....	54

CHAPITRE III-PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	55
3.1 SYNTHÈSE DE L'ACIDE PYRROLIDIN-(2R)-PHOSPHONIQUE.....	56
3.1.1 Synthèse et résolution du (2R)-tétrahydro-1H-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle racémique.....	56
3.1.1.1 Formation du trimère de 1-pyrroline	56
3.1.1.2 Formation du tétrahydro-1H-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle	56
3.1.1.3 Résolution par cristallisation avec l'acide di- <i>p</i> -toluoyl-L-tartrique	58
3.1.1.4 Détermination de l'excès énantiomère de 2 par la formation d'amides de Mosher	59
3.1.2 Synthèse asymétrique à partir du (S)-(+)-phénylglycinol.....	60
3.1.2.1 Formation du (3S,5R,7aR)-5-(benzotriazol-1-yl)-3-[2,1] oxazolopyrrolidine 4	60
3.1.2.2 Formation du (3S,5R,7aR)-3-phénylhexanehydropyrrolo-[2,1] - [1,3]oxazol-5-yl phosphonate de diéthyle 5	62
3.1.2.3 Formation du (2R)-tétrahydro-1H-pyrrol-2ylphosphonate de diéthyle 2	64
3.1.2.5 Formation de l'acide pyrrolidine-(2R)-phosphonique 3	65
3.1.3 Résolution par formation d'un dipeptide avec la L-Leucine.....	66
3.1.3.1 Formation de N-(Boc)-L-Leucine.....	66
3.1.3.2 Formation du (S)-(Boc)-leucyl-(S,R) tétrahydro-1H-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle.....	68
3.1.3.3 Formation de l'acide-1-(2-amino-4-méthylpentanoyl)pyrrolidin-2-ylphosphonique.....	70
3.1.3.4 Séparation des diastéréoisomères	71
3.1.3.5 Formation de l'acide pyrrolidine-2R-phosphonique.....	73
3.2 SYNTHÈSE DE L'ACIDE-(2S)-PYRROLIDIN-2-YLMÉTHYLE PHOSPHONIQUE	74
3.2.1 Formation du N-(Boc)-L-prolinal.....	74
3.2.2 Formation du tert-butyl-(2S)-2-[(diméthoxyphosphoryl) (hydroxyméthyl)méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate	76
3.2.3 Formation du O-[(diméthoxyphosphoryl)(N-tert-butyloxy-carbonyl)pyrrolidin-2-ylméthyl]-1-H-imidazole-1-carboxylate	77
3.2.4 Formation de l'acide-(2S)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphonique.....	78
3.3 FORMATION DE L'ACIDE-2-[(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] ÉTHYLPHOSPHONIQUE	80
3.3.1 Formation du tert-butyl(2S)-2-[(E)-2-(diéthoxyphosphoryl) vinyl]pyrrolidine-1-carboxylate...80	
3.3.2 Formation de l'acide (E)-2-[(2S)-pyrrolidin-2-yl] vinyl phosphonique.....	82
3.3.3 Formation de l'acide 2-[(2S)-pyrrolidin-2-yl] éthylphosphonique.....	84
3.4 FORMATION DE L'ACIDE (R)-HYDROXY [(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE	85
3.4.1 Synthèse chimioenzymatique.....	85
3.4.1.1 Formation du tert-butyl-(2S)-(diméthoxyphosphoryl)(pyrrolidin-2-yl)méthylbutyrate-1-carboxylate 85	
3.4.1.2 Hydrolyse enzymatique	88
3.4.2 Isolement par cristallisation fractionnée	89
3.4.2.1 Formation du tert-butyl-(2S)-2-[(diméthoxyphosphoryl) (hydroxyméthyl)méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate	89
3.4.2.2 Détermination des excès diastéréoisomère et énantiomère par chromatographie liquide à haute performance en phase stationnaire.....	91
3.4.2.3 Formation du chlorure de (2S)-2-[(diméthoxyphosphoryl) (hydroxy)méthyl] pyrrolidinium.. 933.4.2.4	
Formation de l'acide (R)-hydroxy [(2S)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique	95
3.5 SYNTHÈSE DE L'ACIDE (2S)-PYRROLIDIN-2-YLMÉTHYL DIHYDROGÈNE PHOSPHATE.....	97
3.5.1 Formation du (2S)-2-[(diméthoxyphosphoryl) oxy] méthyl}pyrrolidine-1-carboxylate de tert-butyle	97
3.5.2 Formation de l'acide (2S)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate	99
3.5.3 Formation du (2S)-pyrrolidin-2-ylméthyle phosphate de diméthyle.....	101
3.6 RÉACTION D'ANNÉLATION DE ROBINSON CATALYSÉE PAR LES DIFFÉRENTES PYRROLIDINES	102
3.6.1 Procédure typique pour tester l'efficacité d'un catalyseur lors de l'annélation de Robinson...102	
3.6.2 Détermination de l'excès énantiomère de la cétone de Wieland Mieschert par chromatographie liquide à haute performance en phase stationnaire chirale.....	104
RÉFÉRENCES.....	105

Liste des abréviations

- AIBN : azo-bis-isobutyronitrile
- Boc : *tert*-butyloxycarbonyle
- CRL : lipase de *Candida rugosa*
- CCM : chromatographie sur couche mince
- Cbz : benzyloxycarbonyle
- DBU : 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
- DCC : dicyclohexylcarbodiimide
- DMAP : diméthylaminopyridine
- DMF : diméthylformamide
- DMSO : diméthylsulfoxyde
- DPP IV : dipeptidylpeptidase IV
- DVB : divinylbenzène
- e.e.% : excès énantiomère
- e.d.% : excès diastéréoisomère
- EDC : N-(3-Diméthylaminopropyl)-N'-éthylcarbodiimide
- FDA : Food and Drug Administration
- FID : flame ionization detector
- HBTU : hexafluorophosphate de O-benzyltriazole-1-yl-N,N,N',N',-tétraméthyluronium
- HOBT : 1-hydroxybenzotriazole
- HPLC : High Performance Liquid Chromatography
- I.R. : infrarouge
- RMN : résonance magnétique nucléaire
- T_{eb} : point d'ébullition
- T_{fus} : point de fusion
- TMSBr : bromure de triméthylsilyle
- TMSCl : chlorure de triméthylsilyle
- TMSI : iodure de triméthylsilyle

Liste des Schémas

SCHÉMA 1 : SYNTHÈSE DE PYRROLIDINES CHIRALES PAR L'ADDITION 1,3-DIPOLAIRE D'YLURES D'AZOMÉTHINES	5
SCHÉMA 2 : MÉTHODE GÉNÉRALE DE BÄCKVALL POUR LA PRÉPARATION DE PYRROLIDINES 2,5-DISUBSTITUÉES	5
SCHÉMA 3 : ADDITION CONJUGUÉE D'AZOTE NUCLÉOPHILE SUR DES LACTAMES α,β -INSATURÉES.....	6
SCHÉMA 4 : SYNTHÈSE DE PYRROLIDINES DÉVELOPPÉE PAR FRASER.....	7
SCHÉMA 5 : RÉOLUTION DE L'ACIDE TARTRIQUE PAR FORMATION DE SELS DIASTÉRÉOISOMÈRES	9
SCHÉMA 6 : RÉOLUTIONS CLASSIQUE ET ENZYMATIQUE DE LA 1-PHÉNYLÉTHYLAMINE.....	11
SCHÉMA 7 : RÉOLUTION D'ALCOOLS SECONDAIRES PAR ACYLATION ENZYMATIQUE ET PAR HYDROLYSE ENZYMATIQUE	12
SCHÉMA 8 : SYNTHÈSE INDUSTRIELLE DU (S)-NAPROXEN	13
SCHÉMA 9: OXYDATION DE L'ARGENT SUIVIT DE L'OXYDATION DE LA PYRROLIDINE	18
SCHÉMA 10 : RÉOLUTION DU 2-TÉTRAHYDRO-1H-PYRROL-2YL-PHOSPHONATE DE DIÉTHYLE PAR FORMATION DE SELS DIASTÉRÉOISOMÈRES.....	19
SCHÉMA 11: DÉTERMINATION DE L'EXCÈS ÉNANTIOMÈRE DU 2-TÉTRAHYDRO-1H-PYRROL-2YL-PHOSPHONATE DE DIÉTHYLE PAR FORMATION D'UN AMIDE DE MOSHER	20
SCHÉMA 12: HYDROLYSE DU 2,5-DIMÉTHOXYTÉTRAHYDROFURANE.....	21
SCHÉMA 13: DOUBLE CONDENSATION DE ROBINSON-SCHOPF CONDUISANT À LA FORMATION DE LA (3S,5R,7AR)-5-(BENZOTRIAZOL-1-YL)-3-[2,1]-OXAZOLOPYRROLIDINE	21
SCHÉMA 14: MÉCANISME PROPOSÉ POUR LA DOUBLE CONDENSATION DE ROBINSON-SCHOPF	22
SCHÉMA 15: RÉACTION D'ARBUZOV ET HYDROGÉNATION CATALYTIQUE	23
SCHÉMA 16: AGENT DE COUPLAGE ET LEURS PRODUITS DE RÉACTION	26
SCHÉMA 17: RÉOLUTION PAR FORMATION DU PEPTIDE AVEC LA L-LEUCINE ET CRISTALLISATION FRACTIONNÉE	27
SCHÉMA 18: SYNTHÈSE RAPPORTÉE PAR M. WEINREB	29
SCHÉMA 19: FORMATION D'UNE OXAZOLIDINONE	30
SCHÉMA 20 : SYNTHÈSE DE L'ANALOGUE B-AMINOPHOSPHONIQUE DE LA PROLINE	31
SCHÉMA 21 : ADDITION D'UN BISPHOSPHONATE SUR UN ALDÉHYDE	32
SCHÉMA 22 : MÉCANISME DE FORMATION DU <i>tert</i> -BUTYL(2S)-2-[(E)-2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYL) VINYL]PYRROLIDINE-1-CARBOXYLATE SOUS CONTRÔLE THERMODYNAMIQUE	33
SCHÉMA 23 : HYDROLYSE ET HYDROGÉNATION CATALYTIQUE DU <i>tert</i> -BUTYL(2S)-2-[(E)-2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYL) VINYL]-PYRROLIDINE-1-CARBOXYLATE	34
SCHÉMA 24 : RÈGLE DE FELKIN-ANH PRÉDISANT LA SÉLECTIVITÉ LORS DE L'ADDITION D'UN NUCLÉOPHILE SUR UN ALDÉHYDE	36
SCHÉMA 26 : RÉOLUTION ENZYMATIQUE DU <i>tert</i> -BUTYL-(2S)-2-[(DIMÉTHOXYPHOSPHORYL) (HYDROXYMÉTHYL)MÉTHYL] PYRROLIDINE-1-CARBOXYLATE ET FORMATION DE L'ACIDE (R)-HYDROXY [(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE.....	38
SCHÉMA 27 : RÉOLUTION ENZYMATIQUE D'HYDROXYPHOSPHONATES PAR LE GROUPE DE CHEN-YE.....	39
SCHÉMA 28: SYNTHÈSE DE L'ACIDE(R)-HYDROXY [(2S)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE PAR CRISTALLISATION FRACTIONNÉE	41
SCHÉMA 29 : FORMATION DES 4 STÉRÉOISOMÈRES DE LA MOLÉCULE.....	42
SCHÉMA 30: SYNTHÈSE D'UN INHIBITEUR DE LA POLY (ADP RIBOSE) GLYCOHYDROLASE PAR JACOBSON ET SES COLLABORATEURS	45
SCHÉMA 31 : MÉCANISME DE PHOSPHORYLATION PROPOSÉ PAR CARDOGAN ET APPLIQUÉ AU N-(BOC)-PROLINOL	46
SCHÉMA 32 : FORMATION DU (2S)-PYRROLIDIN-2-YLMÉTHYL PHOSPHATE DE DIMÉTHYLE ET DU (2S)-PYRROLIDIN-2-YLMÉTHYL DIHYDROGÈNE PHOSPHATE.....	47
SCHÉMA 33 : SYNTHÈSE DE STÉROÏDES À PARTIR DE LA CÉTONE DE WIELAND-MIESCHERT.....	49
SCHÉMA 34 : RÉACTION D'ANNÉLATION DE ROBINSON «ONE POT» CATALYSÉ PAR LA PROLINE	50
SCHÉMA 35 : MÉCANISME PROPOSÉ PAR HOUK POUR L'ANNÉLATION DE ROBINSON «ONE POT» CATALYSÉE PAR LA PROLINE.....	51

Liste des figures

FIGURE 1 : LE NOYAU PYRROLIDINE, ANGLES ET LONGUEURS DE LIAISONS	1
FIGURE 2 : PYRROLIDINES RETROUVÉES DANS LA NATURE	2
FIGURE 3 : MÉDICAMENTS PRÉSENTEMENT SUR LE MARCHÉ RENFERMANT UN NOYAU PYRROLIDINE.....	3
FIGURE 4 : COMPOSÉS TESTÉS EN PHASE CLINIQUE POUR LE TRAITEMENT DU DIABÈTE TYPE II	3
FIGURE 5 : COMPOSÉ TESTÉ EN PHASE CLINIQUE POUR LE TRAITEMENT DU GLIOBLASTOME.....	4
FIGURE 6 : NOMBRE TOTAL DE PROCÉDÉS UTILISANT LA BIOTRANSFORMATION SUR UNE ÉCHELLE INDUSTRIELLE	10
FIGURE 7 : DISTRIBUTION DES SECTEURS D'ACTIVITÉS UTILISANT LA BIOTRANSFORMATION SUR UNE ÉCHELLE INDUSTRIELLE, BASÉE SUR 134 PROCÉDÉS	10
FIGURE 8 : GROUPEMENTS CARBOXYLIQUE ET PHOSPHONIQUE	14
FIGURE 9 : L'ACIDE 2-AMINOÉTHYLPHOSPHONIQUE (AEP)	15
FIGURE 10 : AMINOPHOSPHONATES UTILISÉS QUOTIDIENNEMENT	15
FIGURE 11 : REMPLACEMENT DE L'ACIDE CARBOXYLIQUE.....	16
FIGURE 12 : PHOSPHONOPEPTIDES AYANT DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES	25
FIGURE 13 : ACIDES B-AMINOPHOSPHONIQUES RETROUVÉES DANS LA NATURE ET L'INDUSTRIE	29
FIGURE 14 : RÈGLE DE KAZLAUSKAS PRÉDISANT LA SÉLECTIVITÉ DES LIPASES.....	39
FIGURE 15 : REPRÉSENTATION DE L'ACIDE (<i>R</i>)-HYDROXY [(2 <i>S</i>)-PYRROLIDIN-2-YL] MÉTHYLPHOSPHONIQUE PAR CRISTALLOGRAPHIE RAYON-X.....	43
FIGURE 16: FONCTIONS ACIDE PHOSPHORIQUE ET ACIDE PHOSPHONIQUE	44
FIGURE 17 : DÉRIVÉ TÉTRAZOLE DE LA PROLINE DÉVELOPPÉ PAR STEVEN LEY	53
FIGURE 18 : DÉRIVÉ DE LA PROLINE PLUS SOLUBLE DANS LE DMSO QUE LES DIFFÉRENTES PYRROLIDINES ORIGINALES	53

Liste des tableaux

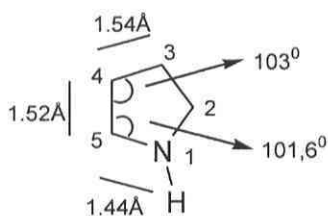
TABLEAU 1 :RÉSULTATS OBTENUS POUR L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE D'HYDROXYPHOSPHONATES	39
TABLEAU 2 : LONGUEURS EXPÉRIMENTALES ET RAPPORTÉES DES LIENS P-O ⁻ ET P-OH	43
TABLEAU 3 : RÉSULTATS OBTENUS POUR LA RÉACTION D'ANNÉLATION DE ROBINSON CATALYSÉE PAR LES DIFFÉRENTES PYRROLIDINES.....	52

Chapitre I-Introduction

1.1 Les pyrrolidines

La pyrrolidine est un hétérocycle à 5 membres, contenant un azote et 4 carbones (figure 1). Il s'agit d'une base relativement forte, avec une valeur de pK_a pour son acide conjugué de 11,2. On retrouve ce noyau la plupart du temps monosubstitué en position 2, comme dans le cas de l'acide aminé proline. Cette amine secondaire basique confère à l'acide aminé proline des caractéristiques qui lui sont propres.

Figure 1 : Le noyau pyrrolidine, angles et longueurs de liaisons

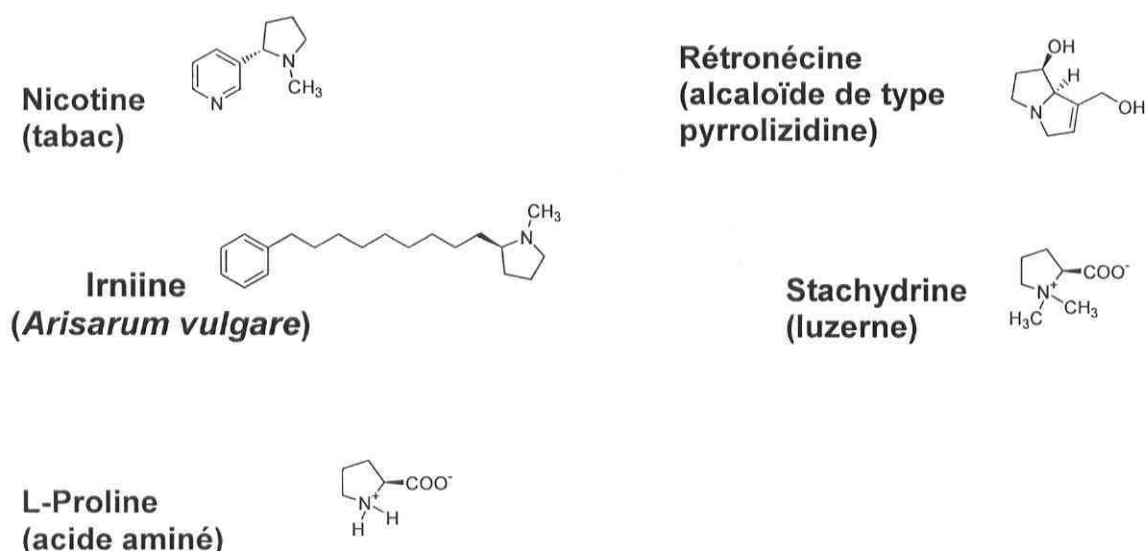


1.2 Les pyrrolidines dans la nature

Les pyrrolidines sont omniprésentes dans la nature et l'acide aminé L-proline est sans contredit le plus répandue. La proline est un des 20 acides aminés naturels qui constituent les protéines et elle est notamment impliquée dans le repliement de celles-ci. Les alcaloïdes extraits de plantes de type pyrrolizidines¹, renfermant aussi ce noyau, sont parmi les premiers composés naturels reconnus comme étant cancérogènes². On retrouve aussi des molécules renfermant ce noyau dans la vie de tous les jours. En effet, la nicotine du tabac possède un noyau pyrrolidine N-méthylé substitué en position 2 par une pyridine. La différence primordiale entre la proline et les autres acides aminés provient de son noyau pyrrolidine. C'est son amine secondaire, plus basique que les amines des autres acides aminés, qui est à l'origine de cette différence. Elle favorise la formation

d'énamines et d'imines plus que les autres acides aminés³. L'irniine est un composé qui fut longtemps utilisé en médecine traditionnelle le long des côtes de la méditerranée pour soigner les maladies respiratoires⁴. On peut observer à la figure 2 différentes pyrrolidines que l'on retrouve dans la nature.

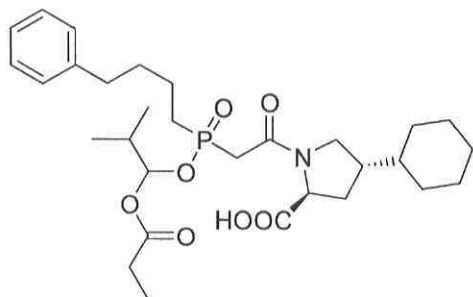
Figure 2 : Pyrrolidines retrouvées dans la nature



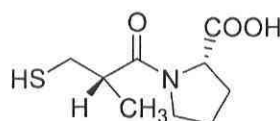
1.3 Les pyrrolidines dans l'industrie pharmaceutique

Le noyau pyrrolidine est omniprésent dans les produits pharmaceutiques. Les deux antihypertenseurs Fosinopril et Captopril vendu par la compagnie Bristol-Myers Squibb en sont de bons exemples. Seulement aux États-Unis, 50 millions d'individus étaient atteints d'hypertension en 2002⁵. Ces deux composés ont générés à eux seuls des milliards de dollars américains, ce qui montre bien l'importance de cet hétérocycle dans l'industrie pharmaceutique (figure 3).

Figure 3 : Médicaments présentement sur le marché renfermant un noyau pyrrolidine



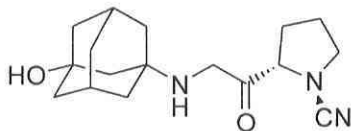
Fosinopril



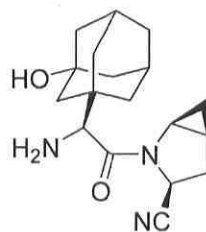
Captopril

Les pyrrolidines chirales énantipures sont toujours d'actualité. Certaines molécules renfermant ce noyau sont présentement en phase clinique pour le traitement de maladies importantes. C'est notamment le cas des deux composés présents à la figure 4, qui sont testés par les compagnies Novartis et GlaxoSmithKline pour le traitement du diabète type II. Ces deux composés sont en fait des inhibiteurs de haute affinité pour l'enzyme DPP IV (dipeptidylpeptidase IV) une enzyme impliquée dans la régulation de l'insuline⁶.

Figure 4 : Composés testés en phase clinique pour le traitement du diabète type II



Novartis LAF-237

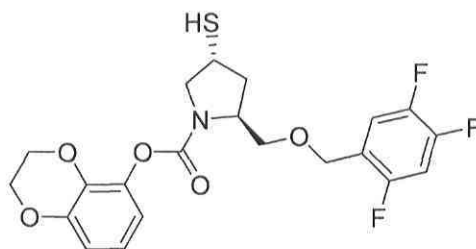


GlaxoSmithKline GSK23A

De plus, la compagnie Hoffman Laroche effectue présentement des tests cliniques sur une toute nouvelle molécule qui pourrait bien devenir la seule alternative de

traitement pour les personnes atteintes du glioblastome, une forme quasi incurable de cancer du cerveau (figure 5).

Figure 5 : Composé testé en phase clinique pour le traitement du glioblastome



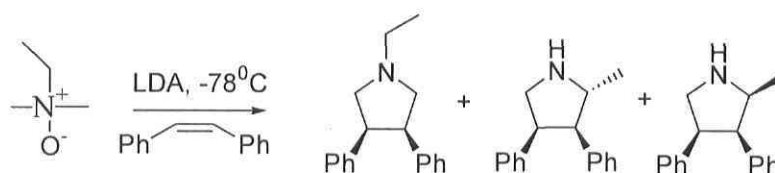
Les compagnies pharmaceutiques et les centres de recherches en chimie médicinales créent ainsi une forte demande pour la synthèse d'intermédiaires renfermant un noyau pyrrolidine chiral sous forme d'un seul énantiomère.

1.4 Les synthèses de pyrrolidines

Les pyrrolidines substituées peuvent être synthétisées de deux façons générales, soit par construction du cycle pyrrolidine ou par modification d'un substituant de la pyrrolidine déjà formée. Dans la première méthode, la plupart des formations de cycle conduisent à des produits racémiques, comme la photocyclisation de N-chloroamines et l'amination réductive⁷.

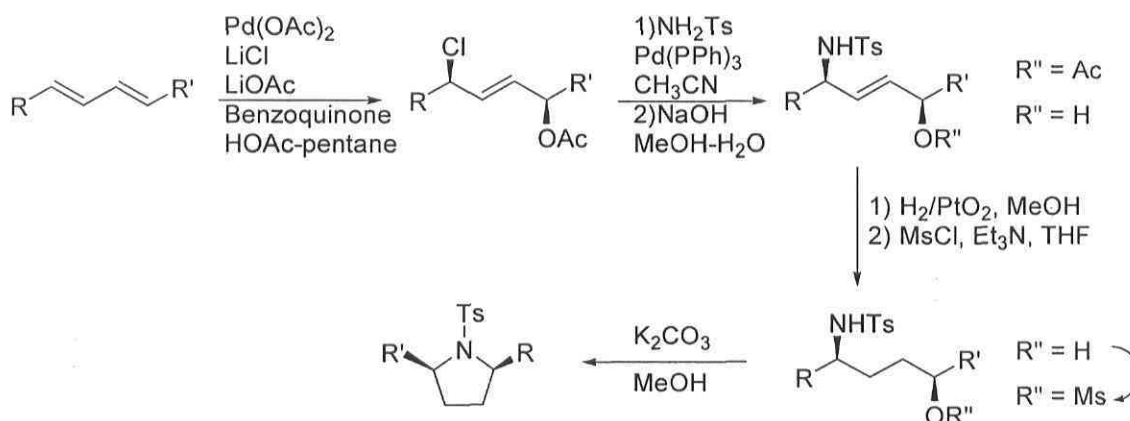
D'autres méthodes conduisent à la formation de pyrrolidines chirales; c'est le cas de l'addition 1,3-dipolaire d'ylures d'azométhines⁸⁻⁹⁻¹⁰ sur différents composés dipolarophiles, une bonne méthode de préparation pour une grande variété d'hétérocycles comme la pyrrolidine (schéma 1).

Schéma 1 : Synthèse de pyrrolidines chirales par l'addition 1,3-dipolaire d'ylures d'azométhines



La cyclisation catalysée par les métaux peut aussi s'avérer une méthode intéressante de synthèse de pyrrolidines chirales. En effet, Bäckvall a développé une méthode générale pour la préparation de pyrrolidine 2,5-disubstituées *cis* et *trans* à partir de diènes conjugués¹¹, comme représenté au schéma 2.

Schéma 2 : Méthode générale de Bäckvall pour la préparation de pyrrolidines 2,5-disubstituées



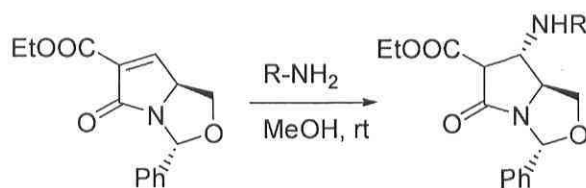
Cependant, les synthèses de pyrrolidines chirales par formation de cycle ont souvent beaucoup d'étapes. Par exemple, Rapoport et ses collaborateurs ont préparé différentes pyrrolidines 2,5-disubstituées à partir de l'acide glutamique en 10 étapes¹².

Kibayashi et ses collaborateurs ont eux aussi effectué la synthèse de pyrrolidines 2,5-disubstituées en 7 étapes à partir du D-mannitol¹³.

La deuxième stratégie générale, où la pyrrolidine substituée est créée après fonctionnalisation d'une pyrrolidine déjà formée, englobe plusieurs variantes. Ces différentes méthodes font partie de ce que l'on nomme l'approche chiron. Dans cette approche, on se sert de la chiralité déjà existante dans la nature pour générer d'autres molécules chirales. La plupart des synthèses de pyrrolidines chirales puisent leur chiralité dans des acides aminés comme la proline, l'hydroxyproline ou l'acide pyroglutamique.

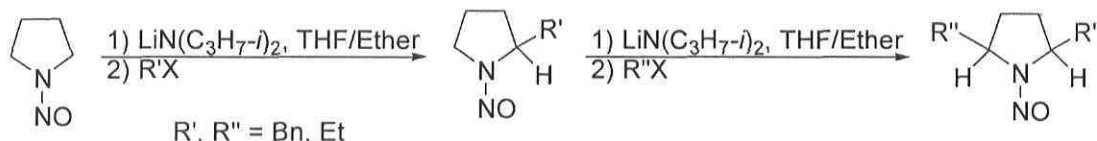
L'addition conjuguée d'azote nucléophile sur des lactames α,β -insaturées dans des conditions douces en est un bon exemple¹⁴ (schéma 3). Il s'agit d'une bonne façon de générer des β -aminopyrrolidinones chirales. Le composé de départ, dérivé de l'acide pyroglutamique, est un composé très utile pour la préparation de diverses pyrrolidines fonctionnalisées.

Schéma 3 : Addition conjuguée d'azote nucléophile sur des lactames α,β -insaturées



L'alkylation de N-nitrosopyrrolidine par déprotonation en α de l'azote, développée par Fraser est aussi une méthode intéressante de synthèse de pyrrolidines¹⁵, comme représenté au schéma 4.

Schéma 4 : Synthèse de pyrrolidines développée par Fraser



Le but du présent projet était de mettre aux points différentes synthèses de pyrrolidines chirales énantio-pures. Les pyrrolidines synthétisées doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- Nouvelles molécules: produits non disponibles sur le marché.
- Ayant un potentiel intéressant pour l'industrie pharmaceutique.
- Dont la synthèse présente de bons rendements et une purification aisée des produits.
- Synthèse possible de tous les intermédiaires et dérivés de la molécule.

1.5 Chimie en milieu industriel

La chimie industrielle diffère de la chimie en milieu académique sur certains aspects. En chimie industrielle, l'emphasis est mise sur la rentabilité des synthèses, ce qui amène certaines restrictions. Une synthèse industrielle est donc d'abord et avant tout une synthèse qui est rentable. La rentabilité d'une synthèse implique certaines contraintes, notamment un faible coût des réactifs, un minimum d'étapes, un rendement élevé à chaque étape et une application possible sur une grande échelle. Certaines contraintes s'appliquent aussi à la purification des produits et de leurs intermédiaires. En milieu industriel, on fait abstraction des méthodes chromatographiques pour plutôt opter pour des méthodes de cristallisations, lavages et distillations. La dernière contrainte, d'importance capitale pour l'industrie pharmaceutique, stipule que les produits vendus sous forme d'un seul énantiomère doivent avoir un excès énantiomère $\geq 97\%$, ce qui représente un ratio d'énantiomères de 98,5 / 1,5.

1.6 La chiralité en milieu industriel

L'industrie pharmaceutique a généré à elle seule, en 2000, des ventes de 130 milliards de dollars pour leurs médicaments sous forme d'un seul énantiomère¹⁶. Environ 80% des composés actifs qui sont dans la ligne de mire des compagnies pharmaceutiques sont chiraux et il est estimé que ce pourcentage augmentera au cours des prochaines années. En effet, depuis 1992, la "Food and Drug Administration" (FDA) aux États Unis, conjointement avec le "Committee for proprietary Medicinal products" en Europe, ont stipulé que les activités physiologiques des énantiomères devraient être caractérisées individuellement. La production de composés actifs énantiomériquement purs est aussi très importante dans l'industrie agrochimique. En utilisant un seul énantiomère, la consommation par rapport au composé racémique sera diminuée de moitié, réduisant ainsi l'impact environnemental.

La production de composés chiraux non-racémiques à partir de composés achiraux ou racémiques se nomme l'activation optique. Il existe deux grandes catégories d'activation optique, soit la résolution (dédoublage) ou la synthèse énantiosélective. La première méthode, sera élaborée plus en profondeur au cours de ce chapitre.

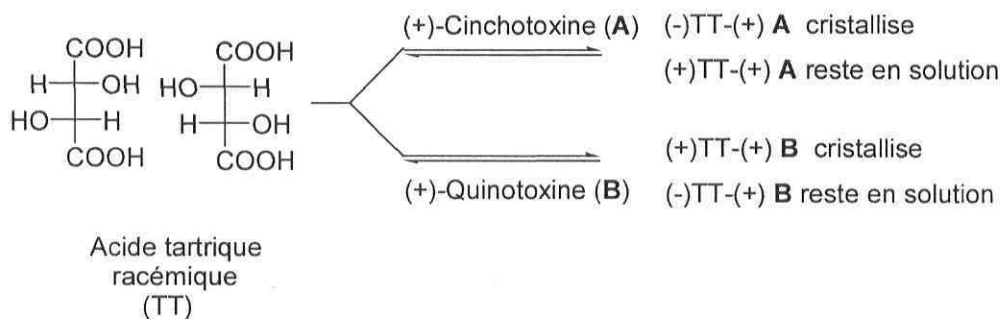
La résolution (dédoublage) est en fait la séparation d'un mélange racémique en ses deux énantiomères. Elle peut s'effectuer de différentes façons, soit par des méthodes impliquant des procédés physiques (cristallisation) ou par des méthodes impliquant des réactions chimiques (formation de diastéréoisomères) ou encore chimioenzymatique. La vaste majorité des résolutions s'effectuent selon la deuxième méthode en utilisant un agent de dédoublement. Dans ce type de réactions, le substrat est traité avec un énantiomère d'une substance chirale, l'agent de dédoublement.

Les caractéristiques recherchées d'un bon agent de dédoublement sont les suivantes¹⁷ :

- 1) les deux énantiomères de la molécule doivent être disponibles sous forme d'énantiomères purs.

2) le composé doit être stable lors de l'usage et de l'entreposage, faiblement toxique et offrant un recouvrement et une réutilisation facile.

Schéma 5 : Résolution de l'acide tartrique par formation de sels diastéréoisomères.



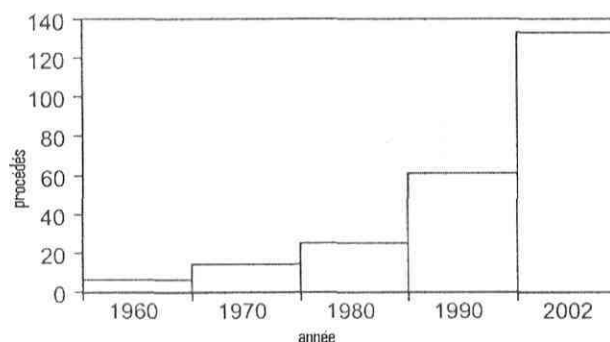
La liaison dans les diastéréoisomères formée lors de la résolution peut être ionique (sels diastéréoisomères), comme représenté dans le schéma 5, covalente ou par complexe de transfert de charge. La majorité des séparations de diastéréoisomères s'effectue par cristallisation, en se basant sur la différence de solubilité des solides. La chromatographie peut aussi être utilisée pour séparer les mélanges, en utilisant un mélange de diastéréoisomères dissous dans la phase mobile et une phase stationnaire achirale. La chromatographie peut aussi s'effectuer en utilisant un mélange racémique dissous dans la phase mobile et une phase stationnaire chirale.

1.7 Les biocatalyseurs en chimie industrielle

La troisième méthode, la résolution chimioenzymatique, est elle aussi très utilisée en chimie organique. Les enzymes sont des protéines fonctionnelles très sélectives aussi bien au niveau de la chimiosélectivité, de la régiosélectivité, de l'énantiosélectivité que de la diastéréosélectivité. Elles peuvent augmenter la vitesse d'une réaction d'un facteur allant de 10^8 - 10^{12} . Les enzymes sont peu toxiques et peuvent être réutilisées, elles sont

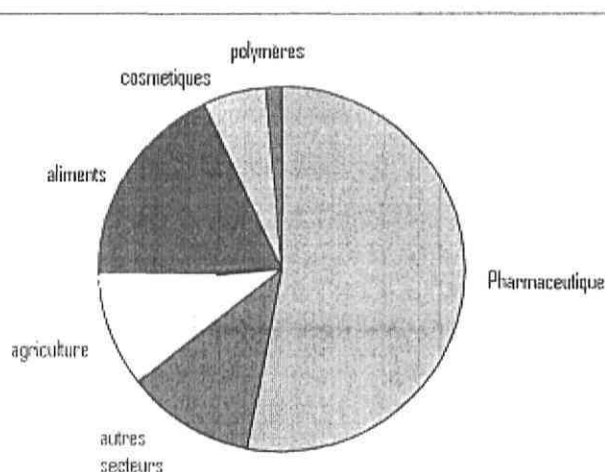
donc moins dommageables pour l'environnement que la plupart des réactifs chimiques conventionnels¹⁸⁻¹⁹. Le nombre total de procédés utilisant la biotransformation sur une échelle industrielle a cru rapidement au cours de la dernière décennie et la croissance est vouée à continuer²⁰⁻²¹, comme le montre la figure 6.

Figure 6 : Nombre total de procédés utilisant la biotransformation sur une échelle industrielle.



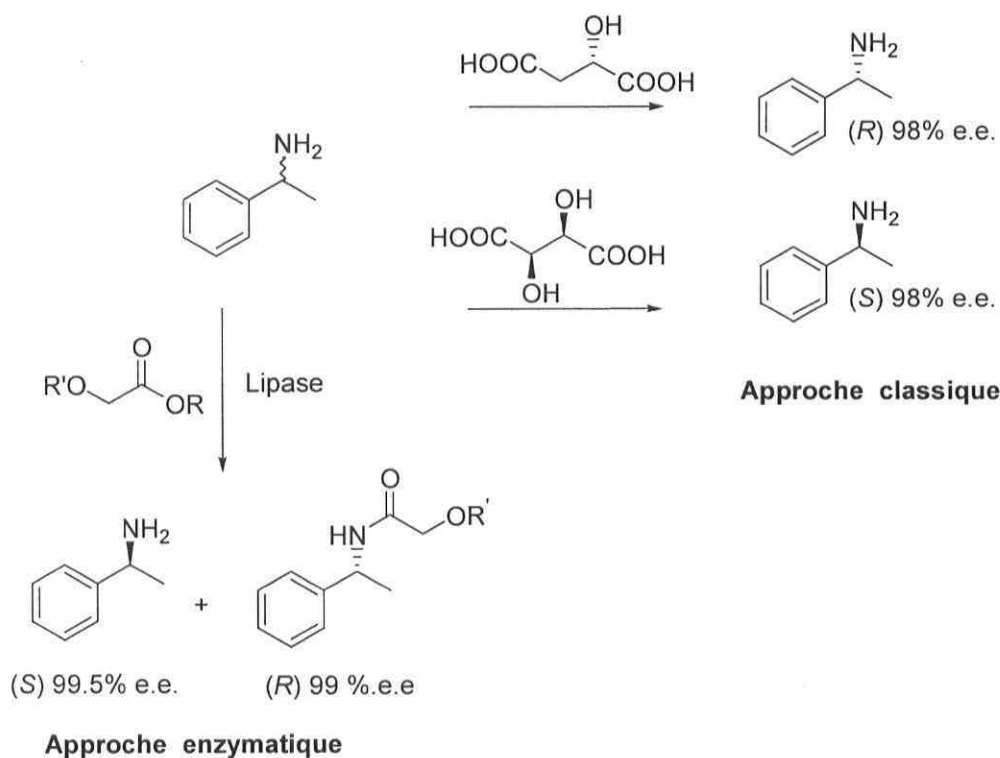
C'est dans l'industrie pharmaceutique que l'on retrouve la majorité de ces procédés, avec 53% des 134 procédés répertoriés en 2002²², comme représenté à la figure 7.

Figure 7 : Distribution des secteurs d'activités utilisant la biotransformation sur une échelle industrielle, basée sur 134 procédés.



Plusieurs compagnies se tournent maintenant vers les résolutions enzymatiques de composés racémiques, plutôt que d'utiliser les méthodes classiques de cristallisation²³. Auparavant, la résolution à l'échelle industrielle de la (*R*) et de la (*S*)-1-phényléthylamine impliquait la cristallisation avec l'acide (*S*)-malique pour générer l'isomère (*R*) de la molécule et l'acide (*R,R*)-tartrique pour l'isomère (*S*). Récemment, la compagnie BASF a mis au point un procédé impliquant une acylation sélective de la 1-phényléthylamine catalysée par une lipase (schéma 6). Cette dernière méthode est utilisée pour générer plus de 1000 tonnes / années de (*S*)-1-phényléthylamine sous forme d'un seul énantiomère ($\geq 99\%$ e.e.)²⁴.

Schéma 6 : Résolutions classique et enzymatique de la 1-phényléthylamine



Il existe 6 différentes classes d'enzymes, selon le type de réactions qu'elles catalysent.

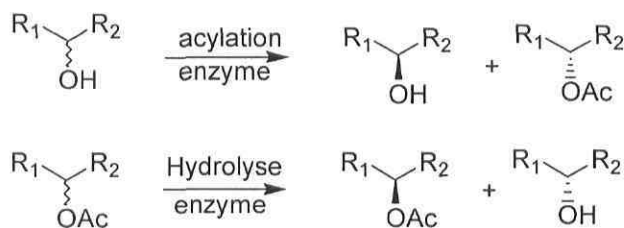
- 1- Oxydoréductases
- 2- Transférases
- 3- Hydrolases
- 4- Lyases
- 5- Isomérases
- 6- Ligases

1.8 Les hydrolases

Les hydrolases constituent la classe d'enzymes de loin la plus utilisée en chimie organique. Elles se nomment ainsi car elles sont une famille d'enzymes qui catalysent le clivage de liens par réaction avec l'eau. La fonction naturelle de la plupart des hydrolases est digestive, pour hydrolyser les nutriments en unités plus petites et pour faciliter la digestion. Dû au fait qu'elles doivent hydrolyser une vaste gamme de nutriments, elles agissent sur des substrats très variés²⁵.

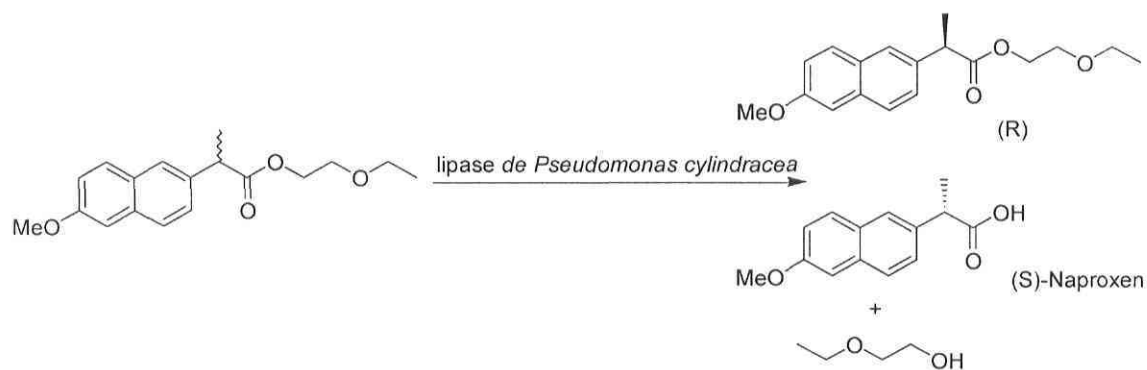
La résolution d'alcools secondaires par des hydrolases a été beaucoup étudiée en chimie organique au cours de 30 dernières années. Il y a plusieurs avantages à utiliser les hydrolases pour effectuer ces réactions, car elles n'utilisent pas de cofacteur, elles acceptent une grande variété de substrats et elles peuvent aussi bien travailler en milieu organique qu'aqueux. De plus, la résolution peut aussi bien se faire en acylation qu'en hydrolyse, comme représenté au schéma 7.

Schéma 7 : Résolution d'alcools secondaires par acylation enzymatique et par hydrolyse enzymatique



Beaucoup de synthèses de médicaments présentement vendus sur le marché comportent une étape enzymatique impliquant une hydrolase²⁶⁻²⁷. C'est le cas du Naproxen²⁸⁻²⁹ qui a été classé au quatrième rang des ventes de composés optiquement actifs en 1991 et qui a généré plus de 1.05 milliards de dollars américains en 1995³⁰. Le (S)-Naproxen était auparavant résolu par une méthode de sels diastéréoisomères³¹ mais est maintenant fabriqué en continu dans un réacteur par hydrolyse de son éthoxyéthyl ester par la lipase de *Pseudomonas cylindracea* immobilisé sur un support d'Amberlite XAD-7 (schéma 8).

Schéma 8 : Synthèse industrielle du (S)-Naproxen

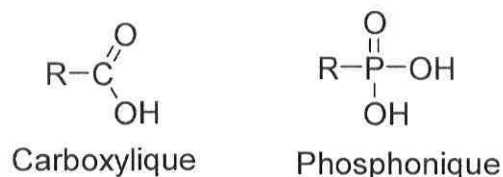


Chapitre II-Synthèse de pyrrolidines chirales

2.1 Les acides aminophosphoniques

Les acides aminophosphoniques sont définis comme étant des analogues des acides aminés, où le groupement carboxylique est remplacé par un groupement phosphonique.

Figure 8 : Groupements carboxylique et phosphonique

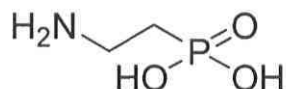


L'appellation phosphonique vient du lien phosphonate, unissant le carbone et le phosphore. Il existe certaines différences considérables entre l'acide phosphonique et l'acide carboxylique des acides aminés. Pour ce qui est de leurs grosseurs, la fonction phosphonique est légèrement plus volumineuse que la carboxylique. Deuxièmement, la fonction phosphonique est tétraédrique, alors que la carboxylique est planaire. Finalement, en général, les acides aminophosphoniques sont légèrement plus acides que les acides aminés, avec une valeur de pKa pour leur première déprotonation variant de 1,5 – 2,0 comparativement à celle des acides aminés qui est d'environ 2,0 – 3,0.

C'est Chavane, en 1949, qui fut le premier à considérer les aminophosphonates comme constituant possible de la matière vivante³². Cependant, ils ne furent isolés pour la première fois que 10 ans plus tard. En effet, en 1959, Horiguchi et Kandatsu isolèrent l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP) d'un organisme protozoaire et la nommèrent ciliatine³³ (figure 9). La ciliatine est l'aminophosphonate le plus retrouvé dans la nature.

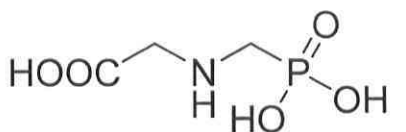
Certain organisme, comme l'escargot *Helisoma* sp., contiennent plus de 95% de leur phosphore total sous forme de phosphonate, principalement sous forme d'AEP³⁴.

Figure 9 : L'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP)

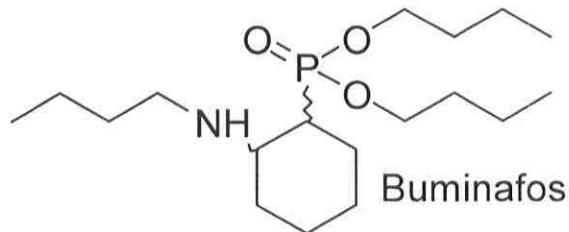
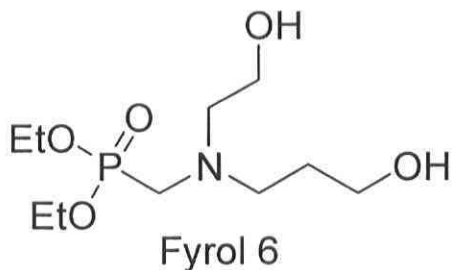


Depuis les années soixante, on dénombre environ 6000 articles scientifiques sur les aminophosphonates et 5 revues sur leur synthèse³⁵⁻³⁹ et on leur reconnaît en général une faible toxicité chez les mammifères⁴⁰. De nos jours les aminophosphonates sont utilisés quotidiennement dans plusieurs secteurs d'activités⁴¹⁻⁴⁴. Par exemple, le Buminafos, est utilisé comme régulateur de la croissance des plantes dans l'industrie agrochimique. Le pesticide le plus utilisés au monde, l'herbicide glyphosate (Round up ©), est aussi un acide aminophosphonique. Le Fyrol 6 ©, est utilisé comme ignifuge dans différents matériaux (figure 10).

Figure 10 : Aminophosphonates utilisés quotidiennement



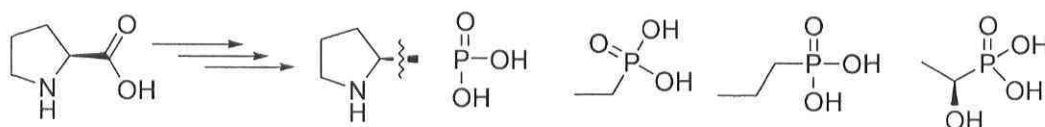
Glyphosate (Round up)



2.2 Les dérivés de la proline

La première partie du projet a été de remplacer la fonction carboxylique de l'acide aminé proline par différents acides phosphoniques, créant ainsi des pyrrolidines chirales énantiopures apparentées à la proline (figure 11).

Figure 11 : Remplacement de l'acide carboxylique



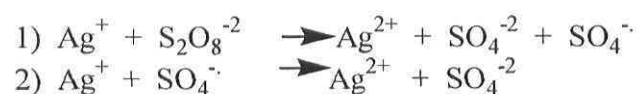
L'incorporation de ces dérivés de proline dans un peptide conduit à la formation d'un pseudo-peptide. Ces pseudo-peptides sont beaucoup plus résistants à l'hydrolyse par les peptidases dans l'organisme que leurs homologues carboxyliques. La biodisponibilité du pseudo-peptide phosphonique est donc beaucoup plus importante que celle du peptide original. Ces pseudo-peptides peuvent éventuellement traverser la barrière hémato-encéphalique et ensuite compétitionner avec leurs homologues carboxyliques dans le site actif des enzymes et dans différents récepteurs cellulaires. Les aminophosphonates sont en effet reconnus pour mimer efficacement l'intermédiaire tétraédrique formé lors de l'hydrolyse des peptides et des esters⁴⁵.

2.3 Synthèse de l'acide pyrrolidine-(2*R*)-ylphosphonique, l'analogue phosphonique de la proline

2.3.1 Synthèse par formation de sels diastéréoisomères

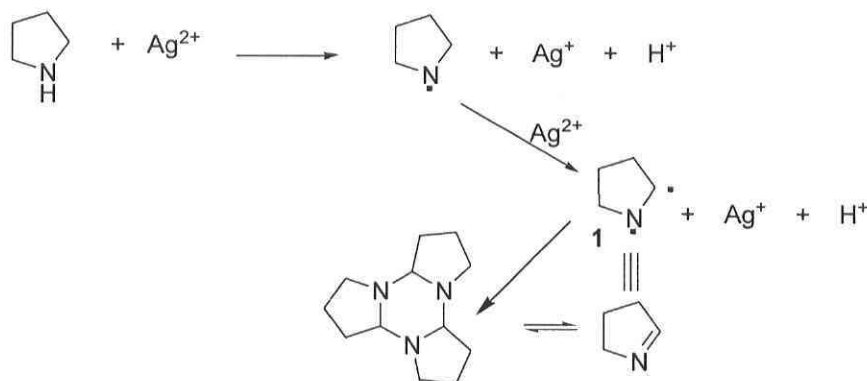
Différentes méthodes sont rapportées pour la synthèse de l'acide pyrrolidine-(2*R*)-ylphosphonique, aussi bien racémique qu'énantiosélective. La première méthode qui fut proposée menait à l'acide pyrrolidine-2-ylphosphonique racémique. L'idée de départ est d'utiliser un l'intermédiaire de cette synthèse, le 2-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle racémique **2**⁴⁶ (schéma 10), qui contient une amine secondaire basique, et de former un sel avec un acide chiral. Les sels ainsi formés sont des sels diastéréoisomères, n'ayant pas les mêmes propriétés physiques; ils sont donc séparables par des méthodes conventionnelles de cristallisations ou de chromatographies (schéma 10).

La formation du phosphonate racémique s'effectue en deux étapes. La pyrrolidine est préalablement oxydée en trimère de 1-pyrroline en présence de nitrate d'argent et de persulfate de sodium, pour générer la 1-pyrroline, en équilibre avec son trimère⁴⁷. En présence d'Ag (I), le persulfate se décompose selon les deux équations suivantes :



Ensuite la pyrrolidine est oxydée deux fois par l'argent (II) (schéma 9):

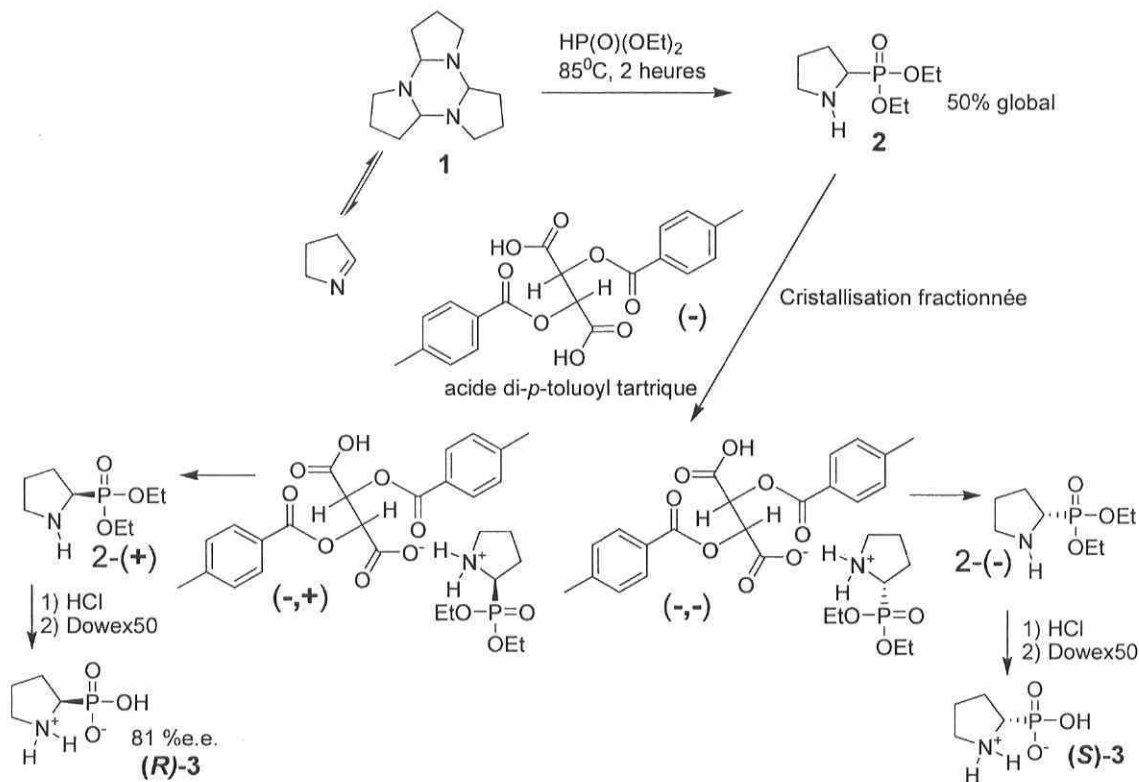
Schéma 9: Oxydation de l'argent suivi de l'oxydation de la pyrrolidine



Deux équivalents d'hydroxyde de sodium sont ajoutés à la réaction pour la neutraliser. Le trimère de 1-pyrroline **1** réagit ensuite avec le phosphite de diéthyle pour générer le composé **2** avec 50% de rendement global pour les deux étapes. Le composé est pur à environ 95%, les 5% d'impuretés étant des amines provenant de l'oxydation du trimère de 1-pyrroline. Comme il est important d'avoir des produits purs lors de la formation de sels diastéréoisomères, la cristallisation du produit **2** avec des acides non chiraux de faibles coûts a été tentée. Plusieurs acides ont été utilisés, notamment les acides fumarique, mandélique, benzoïque, 4-benzoyl benzoïque, O-acétyl mandélique, tartrique et citrique monohydrate, mais finalement aucune d'entre eux n'a conduit à des résultats concluants.

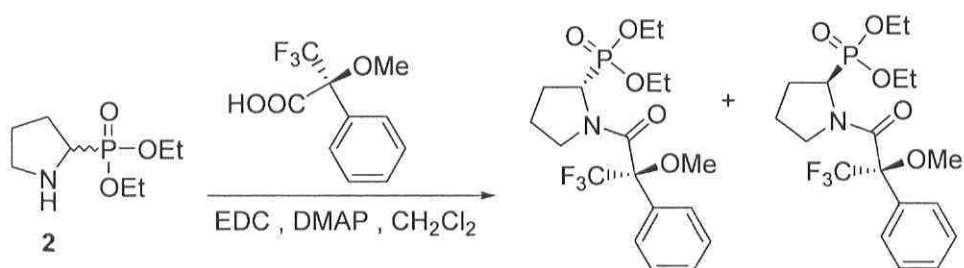
L'acide chiral choisi pour la cristallisation fractionnée a été l'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique, un acide chiral plus soluble en milieu organique que son homologue tartrique. La formation d'un sel entre le composé **2** impur et l'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique n'a conduit à aucun solide. Cependant, lorsque le composé avait été préalablement purifié sur gel de silice, la cristallisation a eu lieu. Après la formation de sels entre l'acide (+) et le phosphonate (-,+), il a été observé que le sel (+)-tartrate(-)-phosphonate était le moins soluble, il a donc été isolé par cristallisation fractionnée (schéma 10).

Schéma 10 : Résolution du 2-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-yl-phosphonate de diéthyle par formation de sels diastéréoisomères



Après bris du sel en milieu basique et extraction en milieu organique, le phosphonate 2 a été obtenu sous forme d'un énantiomère enrichie avec un excès énantiomère de 81%. Les excès énantiomères ont été mesurés par formation d'amides de l'acide (*R*)- α -méthoxy- α -(trifluorométhyl)phénylacétique (acide de Mosher) (schéma 11). Les amides de Mosher synthétisés étant des diastéréoisomères, deux signaux sont détectés en RMN ^{19}F et le rapport de leurs intégrations correspond à celui de leurs proportions. L'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique peut être récupéré en acidifiant la solution rendue basique lors du bris du sel et en extrayant en milieu organique; il peut ainsi être réutilisé, ce qui abaisse le coût de revient de la synthèse.

Schéma 11: Détermination de l'excès énantiomère du 2-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-yl-phosphonate de diéthyle par formation d'un amide de Mosher



Le composé **2** est ensuite hydrolysé en milieu acide, HCl 6N, et le contre-ion est neutralisé en éluant le composé sur une résine échangeuse d'ions Dowex50-X4 pour générer l'acide pyrrolidin-(2*R*)-ylphosphonique **3**. Comme la purification du composé **2** par chromatographie sur silice est très coûteuse d'un point de vue industriel et vu les faibles excès énantiomères générés ($\leq 97\%$), cette méthode a été mise de côté au profit d'une alternative plus intéressante.

2.3.2 Synthèse énantiosélective à partir du (*S*)-(+)-phénylglycinol

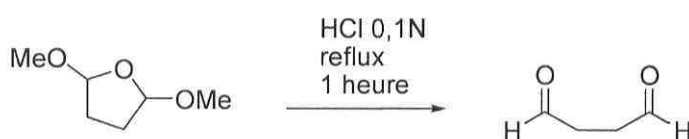
Les recherches du professeur Katritzky sur la synthèse de pyrrolidines chirales à partir du synthon 2-benzotriazolyl-5-oxazopyrrolidine ont beaucoup contribué à l'avancement des méthodes de synthèse de pyrrolidines chirales énantipures mono et di-substituées⁴⁸. La synthèse du phosphonate **2** énantipur a été rapportée en 1999 par ce dernier. Une simple hydrolyse en milieu acide conduit à l'acide pyrrolidin-(2*R*)ylphosphonique **3** énantipur.

Cette méthode comporte cependant certaines restrictions, notamment au point de vue de la purification des produits, où la chromatographie sur gel de silice est présente à presque chaque étape. Le défi de la présente synthèse fut donc de reproduire cette

synthèse et de rendre la purification des intermédiaires applicable en milieu industriel, soit en purifiant par cristallisation, par lavage ou par distillation.

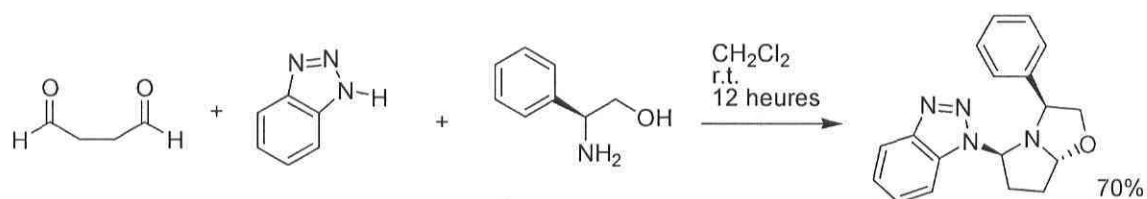
La première étape est l'hydrolyse en milieu faiblement acide du 2,5-diméthoxytétrahydrofurane, pour donner le succindialdéhyde (schéma 12).

Schéma 12: Hydrolyse du 2,5-diméthoxytétrahydrofurane



On fait ensuite réagir ce dernier, sans l'isoler, avec le (*S*)-(+)-phénylglycinol et le benzotriazole, dans une réaction «one pot». La réaction amène donc la formation de deux hétérocycles et de deux centres chiraux au cours d'une seule étape par une double condensation de Robinson-Schopf (schéma 13).

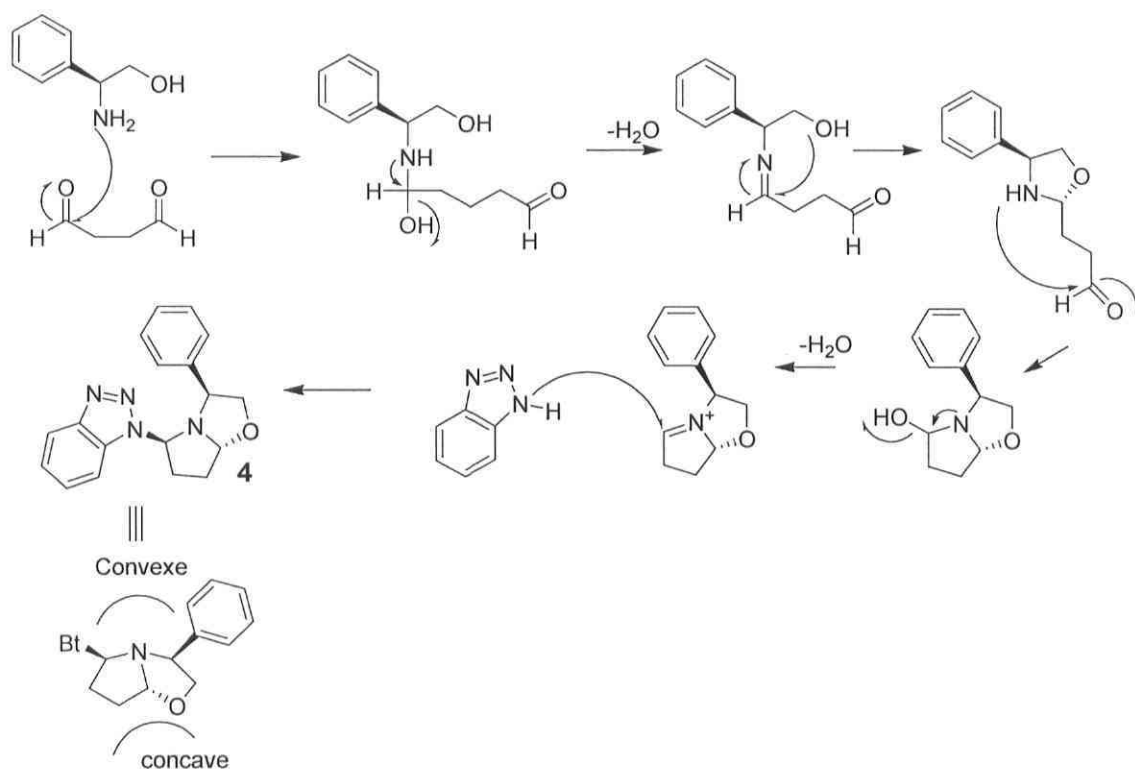
Schéma 13: Double condensation de Robinson-Schopf conduisant à la formation de la (3*S*,5*R*,7*aR*)-5-(benzotriazol-1-yl)-3-[2,1]-oxazolopyrrolidine



Le mécanisme de cette réaction implique premièrement l'attaque de l'amine sur le succindialdéhyde pour générer un carbinolamine, s'en suit l'élimination d'une molécule d'eau pour former l'imine. Ensuite l'alcool attaque l'imine par la face arrière, suivi de l'élimination d'une seconde molécule d'eau pour former l'ion iminium. Cet ion est ensuite capté par le benzotriazole qui s'additionne sélectivement par la face avant à cause

de l'encombrement stérique moins important de la face convexe. Le composé **4** peut être recristallisé dans l'AcOEt. Le mécanisme proposé pour la réaction est représenté au schéma 14 ci-dessous.

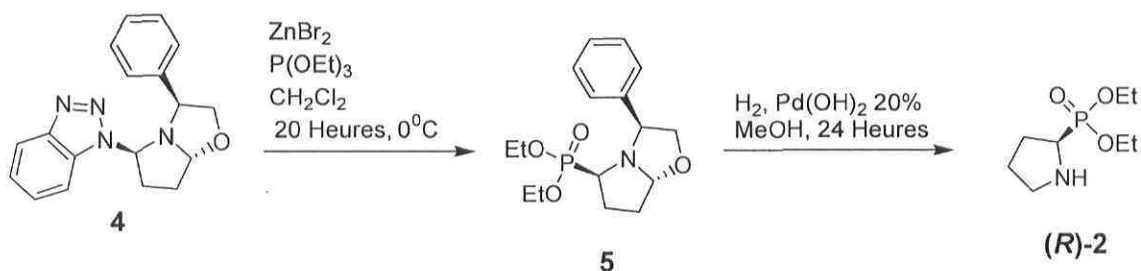
Schéma 14: Mécanisme proposé pour la double condensation de Robinson-Schopf



C'est Husson et ses collaborateurs qui ont eu l'idée au début des années 1980 d'utiliser ce genre de synthons (**4**) pour la synthèse d'acides aminophosphoniques non naturels⁴⁹. Ils ont donc été les premiers à utiliser la réaction d'Arbuzov⁵⁰ avec ce genre de molécules.

Dans l'étape suivante, le benzotriazole quitte par coordination avec le Zn^{2+} , pour régénérer l'ion iminium, suivi de l'attaque nucléophile du phosphite de triméthyle (schéma 15). Le nucléophile entrant sélectivement sur la face convexe pour des raisons d'encombrements stériques déjà mentionnées. Le rendement pour cette étape s'est avéré faible lors des premiers essais, soit de 15-30%. Après avoir contacté un des auteurs de la publication, M. Baozhen Yang, ce dernier nous a conseillé d'inverser l'ordre d'addition des réactifs mentionné dans la publication; le rendement est alors passé à 35-50%. Le produit, qui était normalement purifié par chromatographie sur gel de silice n'a pas été purifié, mais soumis à la prochaine étape d'hydrogénation catalytique, sans purification.

Schéma 15: Réaction d'Arbuzov et hydrogénation catalytique



En 2004 les travaux de M. Amedjkouh ont prouvé que le benzotriazole est primordial pour l'obtention d'un seul diastéréoisomère dans cette réaction⁵¹. En tentant la réaction, mais en remplaçant le benzotriazole par le phosphite de triméthyle lors de la première étape, ils ont obtenu le composé, mais sous forme d'un mélange de diastéréoisomères.

Le composé **(R)-2** ainsi généré peut alors être purifié par lavage. En protonant l'amine en milieu légèrement acide on l'entraîne en phase aqueuse, on peut alors effectuer le lavage des impuretés solubles en milieu organique. Il ne suffit alors que de rendre la solution basique et extraire l'amine en milieu organique. S'en suit l'hydrolyse,

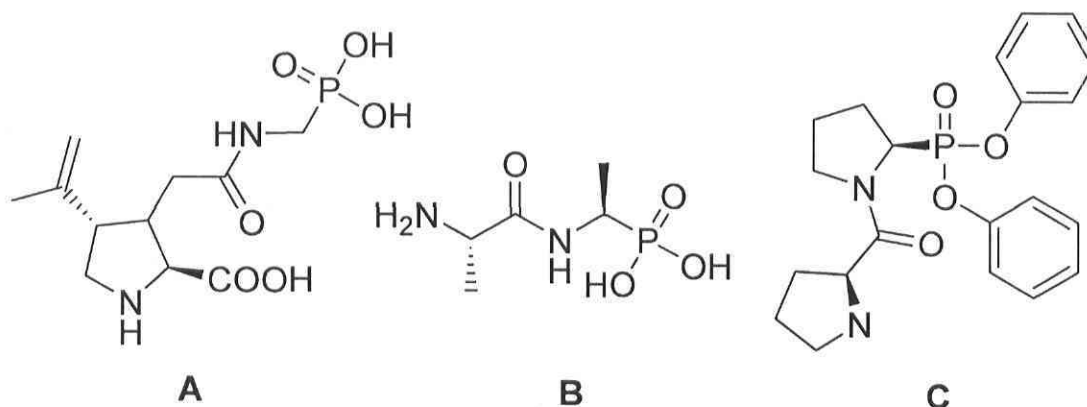
en plaçant le composé à reflux dans HCl 6N. L'acide est alors purifié en l'éluant avec de l'eau sur une résine échangeuse d'ion, pour neutraliser le contre ion chlorydrate. L'acide pyrrolidin-(2*R*)-ylphosphonique (**R**)-**3** ainsi synthétisé est énantipur, l'excès énantiomère étant déterminé par formation d'un amide de Mosher sur le phosphonate à l'étape précédente et par comparaison du pouvoir rotatoire de l'acide phosphonique avec la valeur de la littérature.

2.3.3 Résolution par formation d'un peptide avec la leucine

2.3.3.1 Les phosphopeptides

Les pseudo-peptides contenant un groupement aminophosphonique sont bien connus depuis les 30 dernières années. C'est Martell qui les a introduits en 1975 et il les a nommés phosphopeptides. On les définit comme des analogues de peptides contenant un motif aminophosphonique à la place d'un acide carboxylique. Depuis Martell, et vu l'importance du peptidomimétisme pour la recherche de nouveaux médicaments, leur synthèse a été l'objet de plus de 500 articles scientifiques et une revue⁵² et on leurs reconnaît plusieurs propriétés spécifiques. Par exemple, le composé **A**, un dipeptide entre un dérivé de la proline et une glycine phosphonique est reconnu pour ses propriétés antibactériennes. Le dipeptide **B**, nommé alaphosphine, est un herbicide et fongicide puissant et est un dipeptide d'alanine et d'alanine phosphonique. Pour le traitement du diabète type II, le dipeptide **C**, un peptide formé d'un dérivé de proline et d'une proline phosphonique, est reconnu comme étant un inhibiteur de haute affinité pour l'enzyme DPP IV (figure 12).

Figure 12 : Phosphonopeptides ayant des activités biologiques



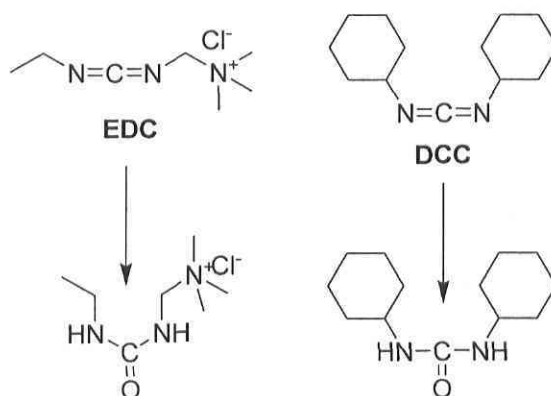
Pour le développement de nouvelles molécules à des buts de recherches pharmaceutiques, la configuration relative des peptides doit être définie et leur pureté optique, la plus haute possible. La préparation de phosphonopeptides sous forme de diastéréoisomères purs peut s'achever en utilisant des aminophosphonates optiquement purs⁵³⁻⁵⁵, en utilisant la papaïne comme agent de couplage⁵⁶⁻⁵⁸ ou en séparant le mélange de diastéréoisomères. Il existe deux méthodes normalement utilisées pour la séparation de ces peptides, soit les méthodes chromatographiques⁵⁹ et de cristallisations⁶⁰⁻⁶¹. Comme pour l'industrie les méthodes chromatographiques sur grande échelle sont très dispendieuses, il est préférable d'utiliser la cristallisation.

2.3.3.2 Synthèse rapportée et modifications apportées

Lejczak et Kafarski ont décrit dans les années 1980 une voie de synthèse pour l'obtention de l'acide pyrrolidin-(2*R*)-ylphosphonique (**R**)-**3** par formation d'un dipeptide avec la L-leucine⁶²⁻⁶³. De légères modifications ont été apportées au protocole original, notamment sur le choix des groupements protecteurs et de leurs modes de déprotection.

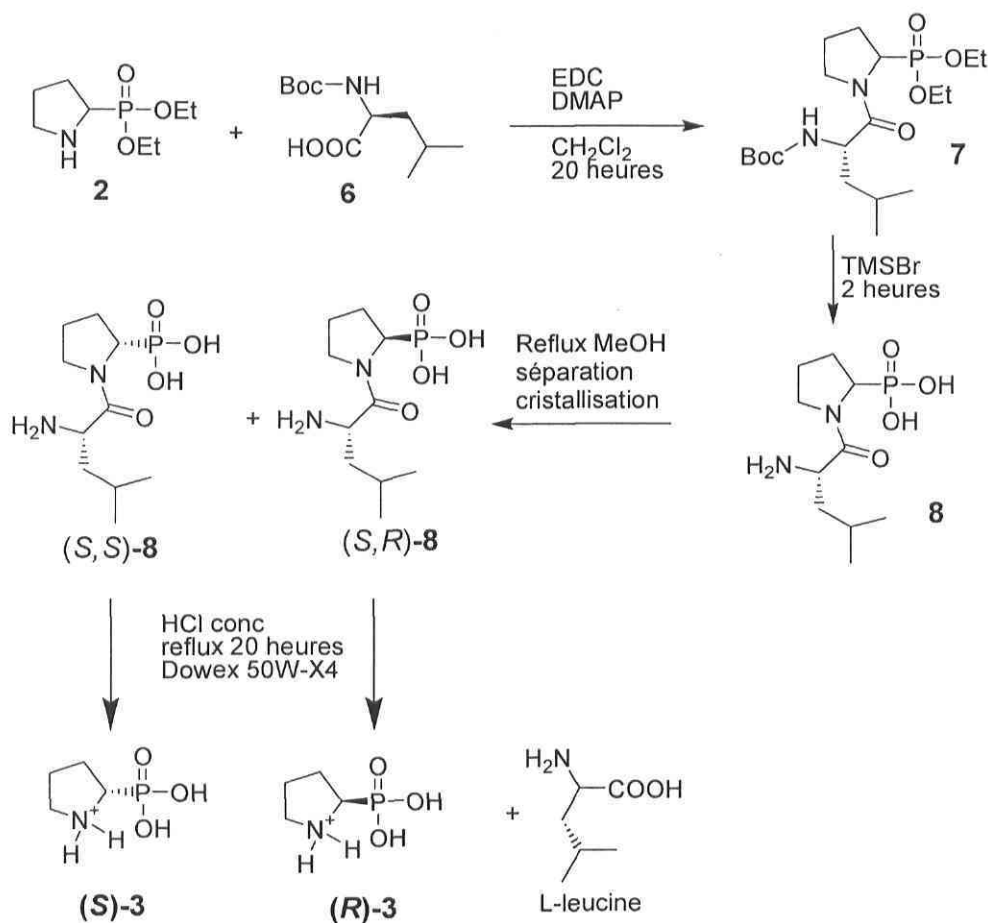
La première étape est la protection de la leucine avec le groupement *tert*-butoxy carbonyle (BOC) pour former la N-(Boc)-L-leucine **6** (schéma 17). Ce groupement a été choisi pour la simple raison que sa déprotection est relativement douce et que cette protection est moins coûteuse, aussi bien lors de la protection que lors de la déprotection⁶⁴. Kafarski utilisait le benzyloxycarbonyle (CBZ) comme protection sur l'azote, la déprotection obligeait alors l'utilisation d'acide bromhydrique dans l'acide acétique, ce qui résultait en un bris partiel du lien peptidique et donc une baisse de rendement. La deuxième étape est le couplage peptidique. Les agents de couplage EDC et DMAP ont été utilisés, générant le dipeptide protégé **7** avec un rendement de 68%. Le rendement assez faible est dû à l'utilisation d'agents de couplage peu dispendieux. L'utilisation d'agents comme HBTU ou encore HOBT aurait généré de meilleurs rendements, mais aurait augmenté le coût de revient de la molécule. De plus, ces agents sont très intéressants puisque les déchets produits sont du CO₂ et un dérivé d'urée, qui peut être éliminé par lavage. Kafarski utilisait pour sa part le DCC, les déchets produits résultaient alors en du CO₂ et un dérivé d'urée plus soluble en milieu organique, donc plus difficile à éliminer par lavage. Les deux composés ainsi que leurs produits de réactions sont représentés au schéma 16 ci-dessous.

Schéma 16: Agent de couplage et leurs produits de réaction.



Le peptide doit ensuite être déprotégé, sans altérer le lien peptidique. Les conditions drastiques de déprotection des phosphonates normalement utilisées, comme un reflux dans HCl 8N, conduirait au bris partiel du lien peptidique. Il existe d'autres méthodes de déprotection, notamment l'utilisation de bromure de triméthylsilyle (TMSBr), soit des conditions très douces. Le bromure de triméthylsilyle est cependant très dispendieux et peut être remplacé par l'iodure de triméthylsilyle (TMSI), généré *in situ* à partir de l'iodure de sodium et du chlorure de triméthylsilyle dans l'acétonitrile⁶⁴ (schéma 17). Le chlorure est ainsi converti en iodure, beaucoup plus réactif, et le NaCl formé peut être retiré par filtration. Le faible coût de ces derniers réactifs abaisse donc considérablement le coût de l'étape de déprotection.

Schéma 17: Résolution par formation du peptide avec la L-leucine et cristallisation fractionnée



Comme le centre asymétrique sur la leucine est fixé (*S*) et que l'acide pyrrolidin-2-ylphosphonique est racémique (*S,R*), il y a donc seulement deux diastéréoisomères (*S,S*) et (*S,R*). Ces molécules (**8**) ne possèdent donc pas les mêmes propriétés et peuvent être séparées par cristallisation fractionnée dans un mélange MeOH / acétone. Le dipeptide **8** (*S,R*) a été obtenu avec un excès diastéréoisomère (%e.d.) supérieur à 96% alors que le **8** (*S,S*) n'a été qu'enrichie dans le filtrat. Le bris du lien peptidique en milieu fortement acide et la séparation des deux acides aminés (la L-leucine et l'acide pyrrolidin-2*R*-ylphosphonique) sur une résine échangeuse d'ions (Dowex50W-X4, forme H^+) conduit à l'acide pyrrolidine-(2*R*)-ylphosphonique sous forme d'un énantiomère pur.

Les résines échangeuses d'ions utilisées pour ce genre de séparation font partie de la gamme Dowex50. Ce sont des résines échangeuses de cations fortement acides. Elles sont constituées de polystyrène et de divinylbenzène (DVB) auxquels sont greffés des groupements fonctionnels, dans ce cas-ci, de l'acide sulfonique. La résine peut ainsi échanger les protons de l'acide sulfonique avec les cations en solution. La molécule la moins chargée positivement sera moins retenue que l'autre et sera donc éluée plus rapidement. En conséquence, il est possible de séparer l'acide pyrrolidine-2-ylphosphonique **3**, moins chargé positivement, de la leucine.

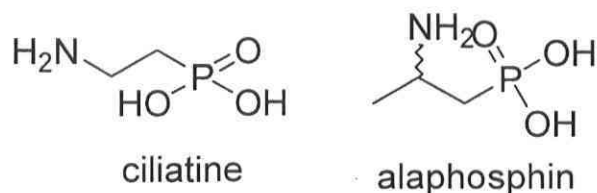
Cette méthode permet d'obtenir l'acide pyrrolidin-(2*R*)-ylphosphonique énantiopur (**R**)-**3**, mais de plus le dipeptide (*S,R*)-**8**, un phosphonodipeptide optiquement pur. En effet, l'usage de plus en plus courant de la chimie combinatoire révèle que les peptides exogènes et les analogues de peptides sont d'une très grande importance dans le développement de nouveaux médicaments. Comme analogues structuraux des peptides, les phosphonodipeptides agissent comme antagonistes de leurs analogues et compétitionnent avec leurs équivalents carboxyliques dans le site actif des enzymes et dans différents récepteurs cellulaires.

2.4 Synthèse de l'acide [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique, l'analogue β -phosphonique de la proline

2.4.1 Les β -aminophosphonates

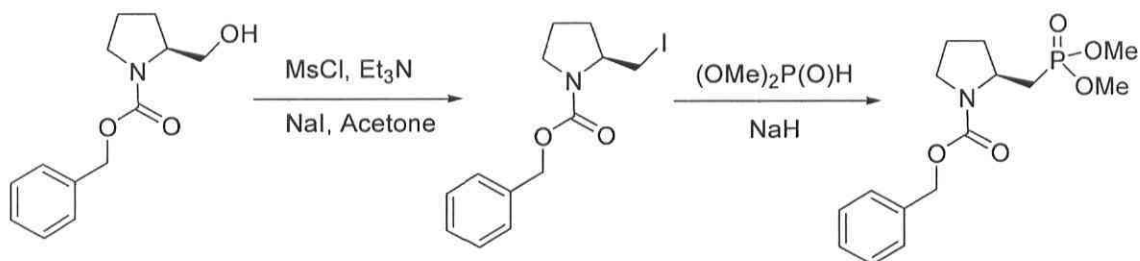
La seconde synthèse visait l'obtention de l'analogue β -aminophosphonique de la proline. Les acides β -aminophosphoniques sont reconnus pour être de très bons analogues des acides β -aminés. Cette gamme de composés se retrouve dans la nature, par exemple la ciliatine, qui est l'aminophosphonate le plus abondant en milieu naturel. On peut aussi les retrouver dans l'industrie, comme l'alaphosphin qui est un fongicide puissant.

Figure 13 : Acides β -aminophosphoniques retrouvés dans la nature et l'industrie



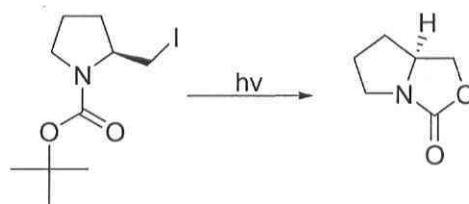
Steven M. Weinreb et ses collaborateurs ont développé en 1996 la synthèse d'un intermédiaire qui aurait conduit après une hydrolyse des groupements protecteurs à la molécule cible⁶⁵. Sa synthèse est représentée dans le schéma 18.

Schéma 18: Synthèse rapportée par M. Weinreb



Cependant, la contrainte d'utiliser le N-(BOC)-prolinol comme produit de départ pour la synthèse nous a apporté certaines complications. Après avoir généré avec succès l'iodure correspondant du N-(BOC)-prolinol, l'iodure de la pyrrolidine N-(BOC)-2-méthyle, nous n'avons observé que des échecs pour l'étape suivante de substitution par le phosphite de diméthyle P(IV) ou de triméthyle P(III). Cet iodure étant instable et reconnue comme photosensible peut se décomposer pour générer l'oxazolidinone correspondant, selon le schéma 19.

Schéma 19: Formation d'une oxazolidinone



Dans ces mêmes recherches sur la synthèse de pyrrolidines comme synthons potentiels pour la synthèse de la ptilomycalin A, une autre approche est décrite⁶⁵. Il s'agit après addition d'un phosphite de dialkyle sur un aldéhyde, générant ainsi un 2-hydroxylalcanephosphonate, de déshydroxyler le composé. Cette approche a donc été appliquée pour la formation de la molécule cible.

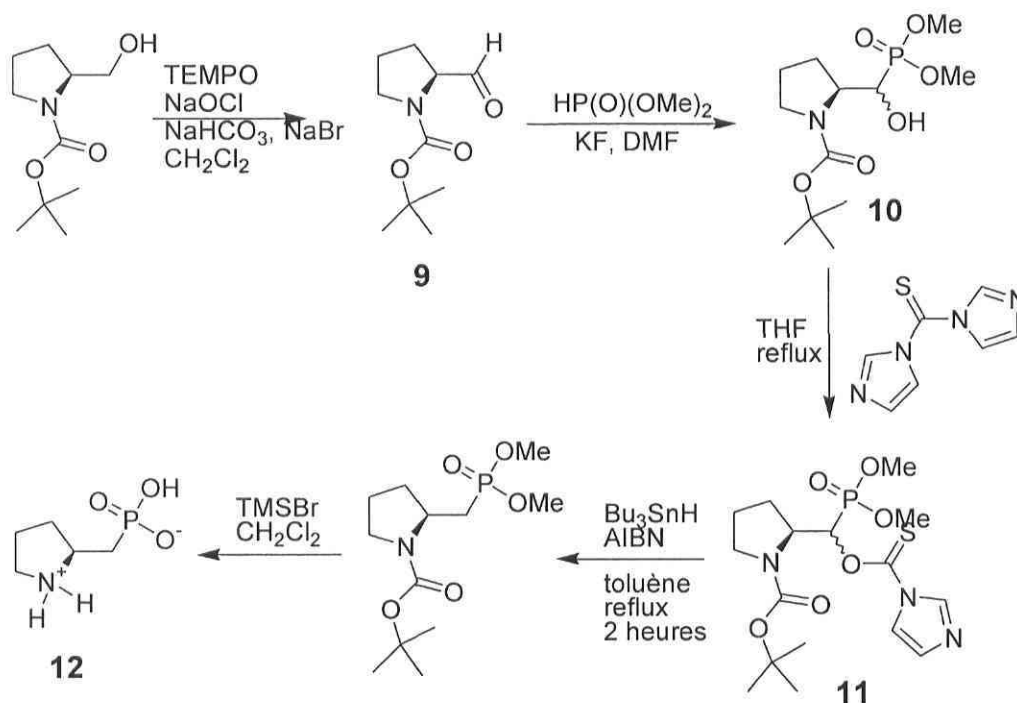
2.4.2 Synthèse originale

La synthèse de ce composé commence par l'oxydation du N-(Boc)-L-prolinol en N-(Boc)-L-prolinal **9** (schéma 19). Pour ce faire, on utilise la méthode TEMPO / NaOCl, une méthode d'oxydation douce et peu coûteuse, qui convertit l'alcool en aldéhyde. Le N-(Boc)-L-prolinal **9** est purifié par lavage et non par chromatographie sur silice, car ce genre d'aldéhydes se racémisent sur gel de silice à raison de 5-7%. La prochaine étape est l'addition du phosphite de diméthyle sur l'aldéhyde, générant ainsi un 2-hydroxylalcanephosphonate **10**. Cette gamme de composés est très importante en chimie organique depuis les 20 dernières années⁶⁶ et est étudiée plus en profondeur à la section

2.6. L'hydroxyphosphonate doit ensuite être déshydroxylé pour conduire au produit cible de la synthèse. La méthode choisie en est une bien connue en chimie organique, soit celle décrite par Barton-McCombie. Pour ce faire, l'alcool secondaire doit préalablement être converti en un dérivé thiocarbamate **11**. Cette conversion s'effectue en plaçant à reflux l'hydroxyphosphonate en présence de thiocarbonyldiimidazole pendant deux heures.

L'étape suivante est la déshydroxylation de Barton-McCombie, une réaction radicalaire utilisant l'hydruire de tributylétain et l'AIBN comme initiateur. Le choix d'un intermédiaire thiocarbamate au cours de cette réaction radicalaire est préférable puisque le radical $\text{Bu}_3\text{Sn}\cdot$ est thiophile. Le composé cible, déshydroxylé, est ainsi obtenu avec des rendements faibles et variables de 25-40%. Les fonctions protectrices alkyl phosphonate et *tert*-butoxycarbonyle peuvent ensuite être retirées en une seule étape en utilisant les conditions douces d'hydrolyse en présence de bromure de triméthylsilyle ou d'iodure de triméthylsilyle, pour générer l'acide [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique **12** (schéma 20).

Schéma 20 : Synthèse de l'analogue β -aminophosphonique de la proline



La synthèse ne semble toutefois pas viable industriellement pour plusieurs raisons. La synthèse comporte un nombre élevé d'étapes (hydroxylation, deshydroxylation,...), les rendements sont relativement faibles, notamment pour ce qui est de l'étape de Barton-McCombie. De plus, la purification du produit après cette dernière étape s'avère difficile, nécessitant une purification par chromatographie sur silice. Finalement, le coût de certains réactifs, à l'occurrence Bu_3SnH et le thiocarbonyldiimidazole est élevée, rendant la synthèse non rentable, donc non viable industriellement.

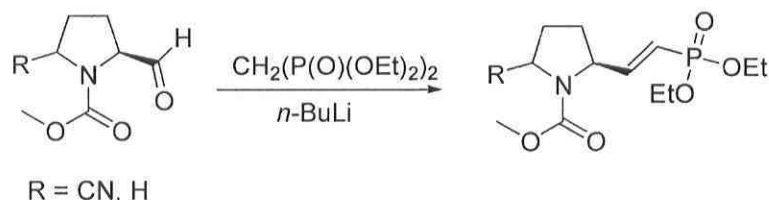
2.5 Synthèse de l'acide [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] éthylphosphonique

2.5.1 Les acides γ -aminophosphoniques

Cet acide est en fait un acide γ -aminophosphonique, soit un analogue des acides γ -aminés. Dans la nature plusieurs acides phosphoniques portent une fonction amine en position γ . Cette gamme de composés est recherchée, car ils ont des propriétés spécifiques comme biorégulateurs, agents complexants et comme additifs divers³⁴.

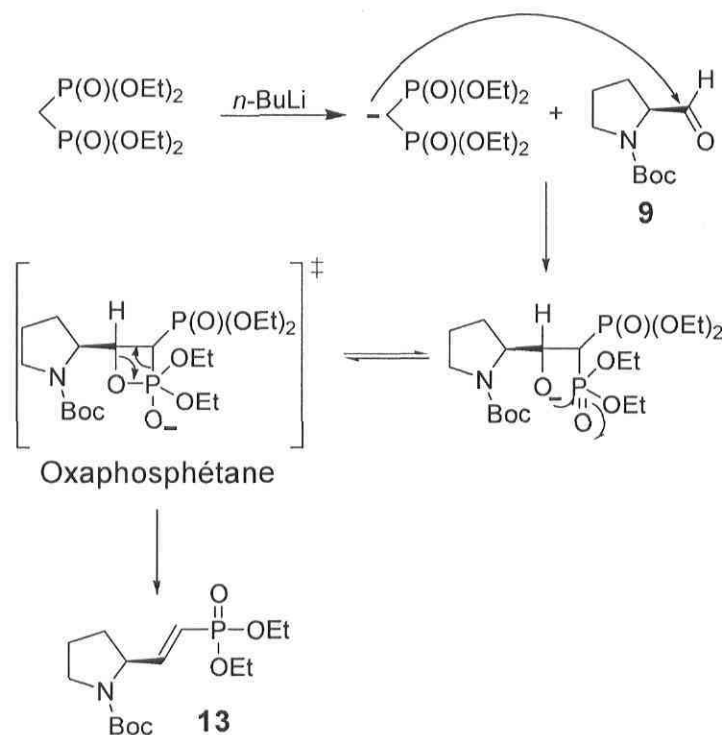
La synthèse de ce composé s'inspire d'une synthèse rapportée dans la littérature. Le groupe de Nicole Langlois, à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de France, a effectué la conversion d'un aldéhyde d'un dérivé de la proline en un dérivé phosphonate conjugué⁶⁷ (schéma 21).

Schéma 21 : Addition d'un bisphosphonate sur un aldéhyde



Ce genre de réaction implique la formation d'un intermédiaire oxaphosphétane. Cette réaction est de plus sous contrôle thermodynamique, ce qui signifie que les relations d'équilibre conduiront à la formation majoritaire du produit le plus stable. C'est ce qui explique que la réaction conduit uniquement à la formation de l'isomère *trans* de la molécule, comme pour le groupe de Nicole Langlois. Le mécanisme est représenté dans le schéma 22.

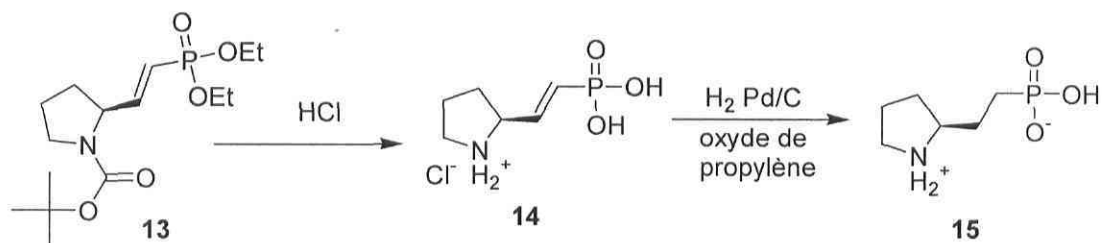
Schéma 22 : Mécanisme de formation du *tert*-butyl(2*S*)-2-[(*E*)-2-(diéthoxyphosphoryl) vinyl]pyrrolidine-1-carboxylate sous contrôle thermodynamique



Le ratio des isomères est dosé par RMN ^1H en comparant les intégrations des signaux détectés pour les isomères *cis-trans*, ces signaux se distinguant par leurs constantes de couplage⁶⁸. Pour le composé **13** la constante de couplage entre ses deux hydrogènes est de 17 Hz, confirmant la configuration *trans*.

Les deux protections sur la molécule peuvent ensuite être hydrolysées en une seule étape en plaçant la molécule à reflux dans HCl 8N pendant 2 heures, générant ainsi le produit **14**. L'étape suivante est l'hydrogénation catalytique de la molécule en chargeant d'hydrogène à 40 psi, en utilisant le palladium sur charbon comme catalyseur dans le méthanol. Le contre-ion chlorure est ensuite capté par ajout d'oxyde de propylène composé, générant le composé **15**, comme représenté au schéma 23.

Schéma 23 : Hydrolyse et hydrogénation catalytique du *tert*-butyl(2*S*)-2-[(*E*)-2-(diéthoxyphosphoryl) vinyl]-pyrrolidine-1-carboxylate



2.6 Synthèse de l'acide (*R*)-hydroxy[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique, l'analogue hydroxyphosphonique de la proline

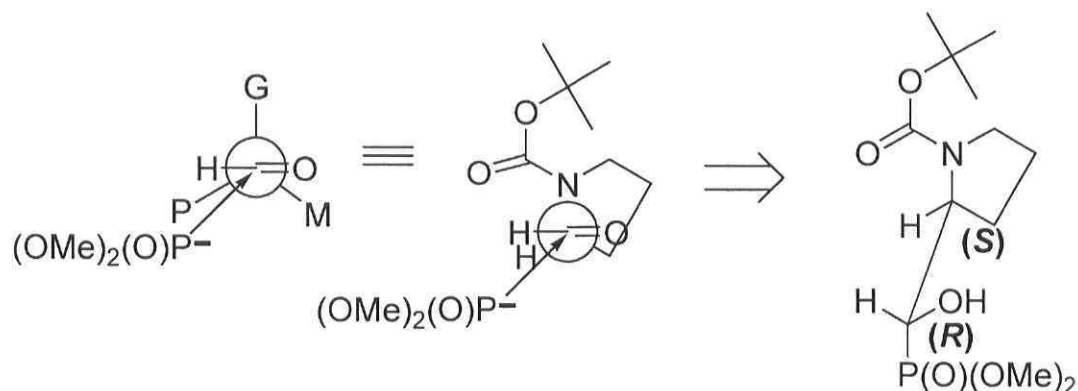
2.6.1 Synthèse chimioenzymatique

Après l'addition d'un phosphite de dialkyle sur un aldéhyde, comme mentionné à la section 2.4, il y a formation d'un 2-hydroxyalcanephosphonate. Les 2-hydroxyalcanephosphonates chiraux ont reçu une attention particulière au cours des dernières années, dû à leurs propriétés biologiques uniques. Plus précisément, ils peuvent agir comme inhibiteur d'enzymes protéolytiques, comme la rénine⁶⁹, la protéase du

VIH⁶⁸ et comme agent affectant la croissance des plantes⁷⁰. De plus, la présence des groupements amino en position β de l'hydroxyl fait de ce genre de composés d'intéressants agents chélatants liant le zinc dans le site actif des métalloprotéases⁷¹⁻⁷². Plusieurs méthodes pour leur synthèse ont été décrites, notamment : l'ouverture d'acétals de 1,3-dioxanes homochiraux par le phosphite de triméthyle, l'addition diastéréosélective de dérivés phosphorés homochiraux sur un aldéhyde, la réduction énantiosélective de cétoalcanephosphonate et celle découverte par Patel.

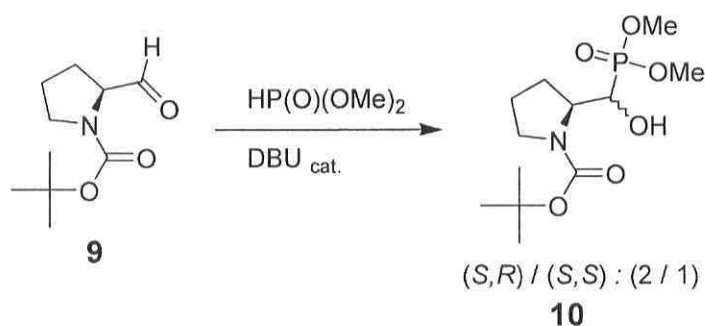
C'est en effet le groupe de Patel qui a mis au point au début des années 1990 une nouvelle méthode pour la synthèse de β -amino- α -hydroxyphosphonates⁷³. Ces recherches pour trouver de nouveaux inhibiteurs de la rénine ont grandement contribué à la compréhension de la chimie des phosphonates. Après avoir montré que l'addition d'un phosphite de dialkyle sur un aldéhyde en présence de DBU conduit à un mélange presque équimolaire de diastéréoisomères *anti/syn*, il a comparé en 1995 les résultats de diastéréosélectivité obtenu en utilisant différents mélanges de bases et de solvants lors de l'addition d'un même phosphite de dialkyle sur un même aldéhyde. C'est en utilisant le fluorure de potassium dans le DMF qu'il a obtenu le meilleur ratio *syn/anti* soit 12/1, les ratios étant déterminés par RMN ³¹P. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que lors de l'utilisation d'une base forte, l'hydroxyphosphonate formé est en fait en équilibre avec l'aldéhyde, la réaction est donc sous contrôle thermodynamique. Le produit le plus stable étant défini selon la règle classique lors d'addition de nucléophiles sur un aldéhyde, soit la règle de Felkin-Anh. La sélectivité de l'addition du phosphite de dialkyle sur l'aldéhyde est donc en accord avec cette règle. Dans cette règle, l'addition sur l'aldéhyde doit se faire le long du groupement P (petit), selon l'angle de Dunitz-Burgi (schéma 24).

Schéma 24 : Règle de Felkin-Anh prédisant la sélectivité lors de l'addition d'un nucléophile sur un aldéhyde



Le phosphite de diméthyle déprotoné par le n-BuLi à -78°C attaque donc l'aldéhyde le long de l'hydrogène pour générer l'hydroxyphosphonate (*S,R*) majoritaire. Pour la première synthèse de l'analogue hydroxyphosphonique de la proline, le DBU a été utilisé en quantité catalytique, pour obtenir les deux diastéréoisomères (*S,R*) et (*S,S*). En utilisant cette méthode, le ratio obtenu est de 2/1 (*anti/syn*) (schéma 25).

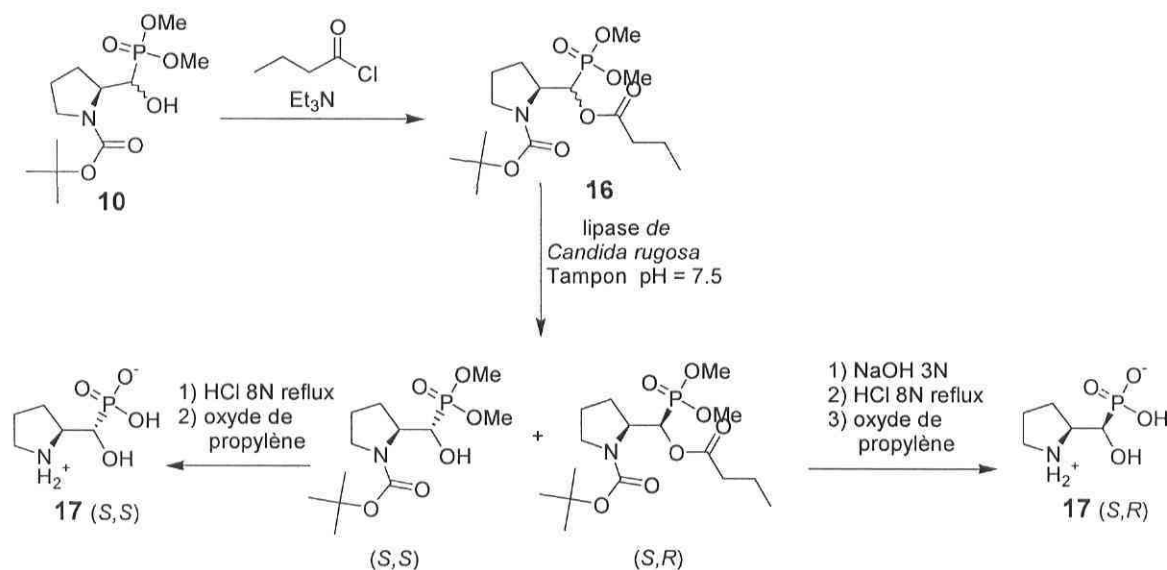
Schéma 25 : Utilisation de DBU pour la formation de l'hydroxyphosphonate 10



Le composé **10** ainsi formé, était rapporté dans la littérature sous forme d'un mélange inséparable de diastéréoisomères⁷⁴, c'est donc cette séparation qui représentait un défi pour obtenir l'analogue hydroxyphosphonique de la proline.

La résolution d'alcools secondaires par des lipases étant une réaction beaucoup étudiée en chimie organique au cours des 30 dernières années, la résolution de cet alcool par voie enzymatique a donc été tentée. Cependant, rares sont les résolutions dont les substrats sont des phosphonates ou des dérivés de la proline, la combinaison de ces deux fonctions sur la même molécule rend donc la tâche plus ardue. La réaction enzymatique s'effectue en mode hydrolyse, sur le butyrate correspondant. Après avoir acylé l'alcool secondaire en utilisant le chlorure de butyryle en présence de la triéthylamine, le butyryloxyphosphonate ainsi formé est soumis à l'hydrolyse enzymatique par la lipase de *Candida rugosa* (CRL) (schéma 26). Cette enzyme est en fait l'une des enzymes les plus répandues en synthèse organique. Le mélange de diastéréoisomères du butyryloxyphosphonate est très bien séparé par chromatographie gazeuse à phase chirale, ce qui permet de suivre la disparition d'un des deux diastéréoisomères. L'alcool, ou l'hydroxyphosphonate ainsi formé ne montre qu'un seul signal en RMN ³¹P, correspondant à celui du diastéréoisomère minoritaire (*S,S*) avec un excès diastéréoisomère $\geq 97\%$, qui peut être dosé en chromatographie liquide à haute performance.

Schéma 26 : Résolution enzymatique du *tert*-butyl-(2*S*)-2-[(diméthoxyphosphoryl) (hydroxyméthyl)méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate et formation de l'acide (*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique



Yuan et ses collaborateurs en 2003 effectuèrent la résolution d'hydroxyalcanephosphonates en milieu organique, par hydrolyse du butyrate correspondant en utilisant la lipase de *Candida rugosa*⁷⁵. Ils ont démontré par une méthode empirique (Mosher) que l'alcool hydrolysé avait une configuration (*S*). La configuration de l'hydroxyphosphonate hydrolysé au cours de la présente synthèse s'est aussi avérée être (*S*). La configuration du composé a été déterminée par cristallographie rayon X et par RMN ^{31}P . En effet, à la section suivante il est démontré par cristallographie rayon X que la configuration du diastéréoisomère majoritaire est (*S,R*) ou *anti*. Comme on peut observer en RMN ^{31}P que c'est le diastéréoisomère minoritaire (*S,S*) qui est hydrolysé par l'enzyme, la configuration de l'alcool hydrolysé est donc (*S*). Le genre de composé résolu par le groupe de Yuan est représenté au schéma 27 et les résultats qu'ils ont obtenus au tableau 1.

Schéma 27 : Résolution enzymatique d'hydroxyphosphonates par le groupe de Chen-Ye

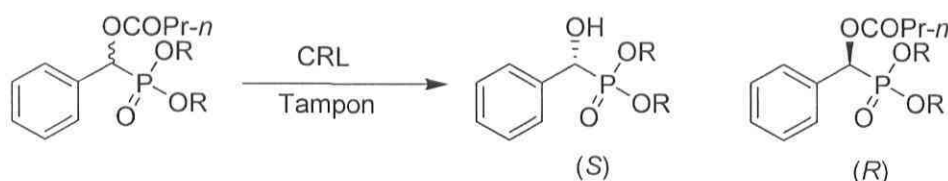
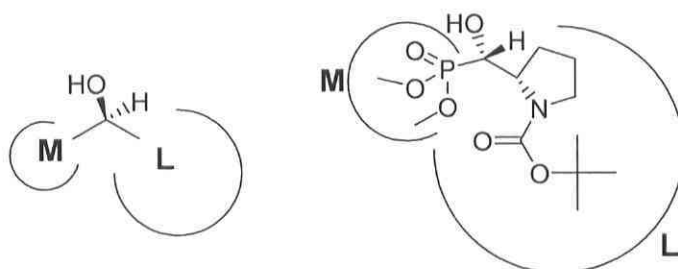


Tableau 1 : Résultats obtenus pour l'hydrolyse enzymatique d'hydroxyphosphonates

R	temps (h)	Conversion (%)	% e.e.
Me	4	33	75
Et	4	14	59
<i>i</i> -Pr	-	pas de réaction	-

Tout comme pour le groupe de Yuan, nos résultats sont en désaccord avec la règle de Kazlauskas, qui se base sur la grosseur des substituants pour prédire la sélectivité de l'enzyme (figure 14).

Figure 14 : Règle de Kazlauskas prédisant la sélectivité des lipases



En effet, la règle de Kazlauskas prédit qu'en disposant le groupement moyen (M) à gauche et le plus gros (L) à droite, l'alcool estérifié, ou l'ester hydrolysé sélectivement sortira devant le plan. Les résultats expérimentaux obtenus sont en désaccord avec cette règle, cette réaction est en conséquence anti-Kazlauskas. Cette observation s'explique par

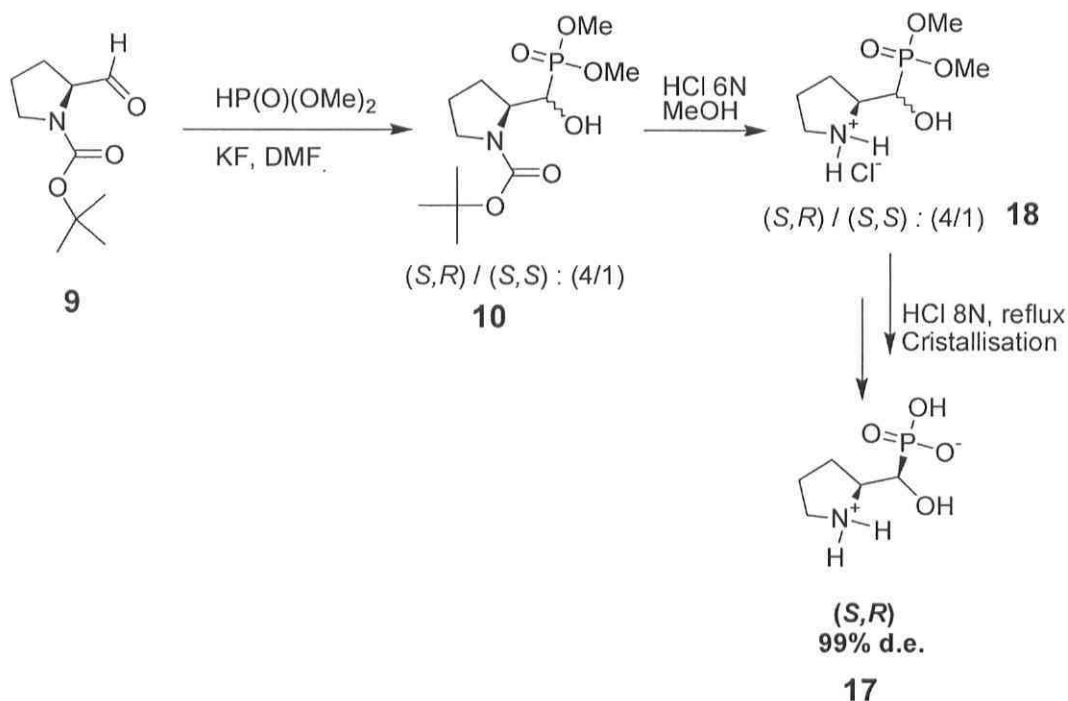
le fait que dans le site actif de l'enzyme CRL, le groupement moyen devrait se loger dans une cavité cylindrique, on observe donc la sélectivité inverse puisque le groupement $P(O)(OMe)_2$ est trop volumineux pour s'y accommoder. Chen-Ye a aussi avancé que la grosseur des groupements n'était pas le seul facteur influençant la sélectivité, mais qu'il y avait aussi l'influence des interactions électroniques. De plus, cette règle est plus ou moins fiable en ce qui a trait aux alcools acycliques. En effet, Kazlauskas a lui-même analysé la résolution de 31 alcools secondaires acycliques pour observer que seulement 14 d'entre eux suivaient la règle⁷⁶.

2.6.2 Isolement par cristallisation fractionnée de l'acide(*R*)-hydroxy[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique

Contrairement à la section précédente, où les deux diastéréoisomères de l'acide étaient recherchés, dans ce cas-ci, seul le diastéréoisomère majoritaire est intéressant, puisque lors d'une cristallisation fractionnée, le diastéréoisomère minoritaire sera compris dans le filtrat et ne pourra être récupéré. Les conditions de réactions, soit la base et le solvant, ont donc été changés de DBU, CH_2Cl_2 , à KF, DMF, augmentant la stéréosélectivité de l'addition du phosphite de dialkyle sur l'aldéhyde. Le ratio des diastéréoisomères *anti/syn* est alors passé de 2/1 à 4/1. En augmentant ce ratio on peut séparer les diastéréoisomères par cristallisation fractionnée en recristallisant le composé (*S,R*)-**10** deux fois dans l'hexane. Le diastéréoisomère (*S,R*)-**10** est ainsi obtenu avec 97%e.d. Son énantiomère, le diastéréoisomère (*R,S*)-**10** est obtenu avec 91%e.d. en utilisant le N-(Boc)-D-prolinal comme réactif de départ.

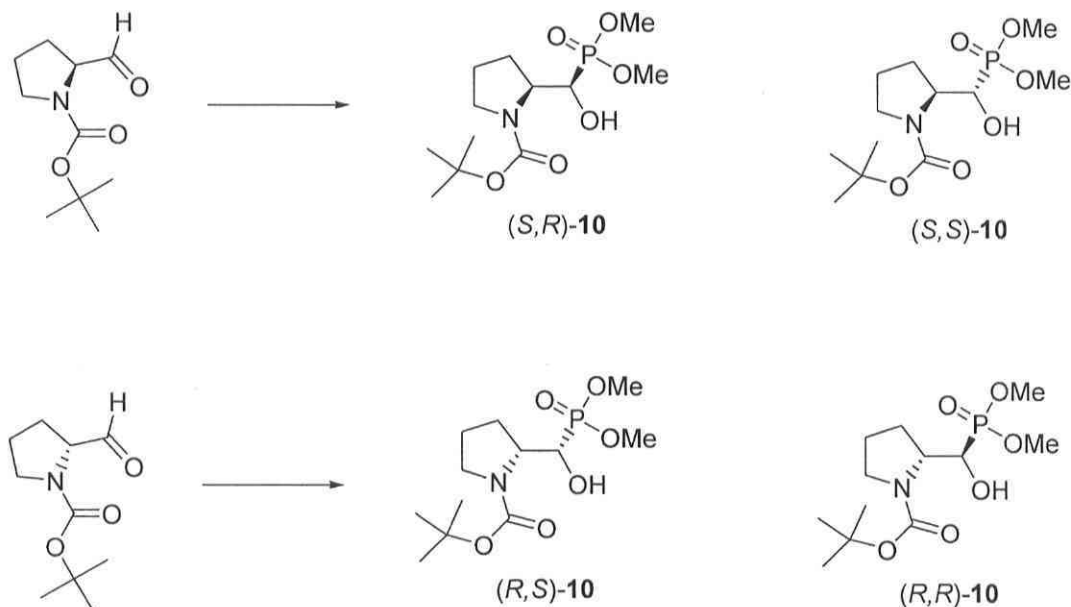
La cristallisation fractionnée peut aussi s'effectuer sur l'acide hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique **17**; pour ce faire, les protections sur l'azote et le phosphore sont hydrolysées en milieu acide et s'en suit la cristallisation. Il est possible après deux recristallisations d'obtenir le diastéréoisomère *anti* (*S,R*)-**17** avec un excès diastéréoisomère supérieur à 99%, l'autre diastéréoisomère, le *syn* n'étant pas observé en RMN ^{31}P (schéma 28).

Schéma 28: Synthèse de l'acide(*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique par cristallisation fractionnée.



Comme au cours de cette réaction une base forte est placée en présence d'un aldéhyde, il faut s'assurer qu'aucune racémisation du proton en α de la proline n'a eu lieu. En utilisant le N-(Boc)-D-prolinal au début de la synthèse, les deux autres stéréoisomères de la molécule sont ainsi obtenus (schéma 29). Les énantiomères (*S,R*) et (*R,S*) ont les mêmes propriétés physiques et ne peuvent donc pas être différenciés en RMN. Ces deux énantiomères peuvent cependant être analysés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) en utilisant une colonne chirale comme phase stationnaire. Les résultats expérimentaux ont démontré qu'aucune racémisation ne survient au cours de cette réaction.

Schéma 29 : Formation des 4 stéréoisomères de la molécule.



La configuration relative de la molécule **17** a été déterminée par cristallographie rayon X à l'institut de cristallographie de l'Université de Montréal. La molécule est représentée à la figure 15 et la configuration relative s'est avérée (*S,R*). Elle représente le diastéréoisomère majoritaire lors de l'addition du phosphite de dialcyle sur l'aldéhyde. La cristallographie rayon X, nous a permis d'affirmer que la molécule existe sous forme d'un zwitterion, en comparant nos résultats expérimentaux avec ceux obtenus par Clegg⁷⁷ et Polyanchuk⁷⁸ sur la cristallographie de dizaines d'aminophosphonates. Ils ont prouvé que pour les acides phosphoniques zwitterioniques, il existe un lien P-OH plus long que les deux autres liens P-O délocalisés. Les résultats de longueurs des liens P-O et P-OH sont regroupés au tableau 2 et confirme que la présente molécule existe sous forme d'un zwitterion.

Figure 15 : Représentation de l'acide (*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique par cristallographie rayon-X.

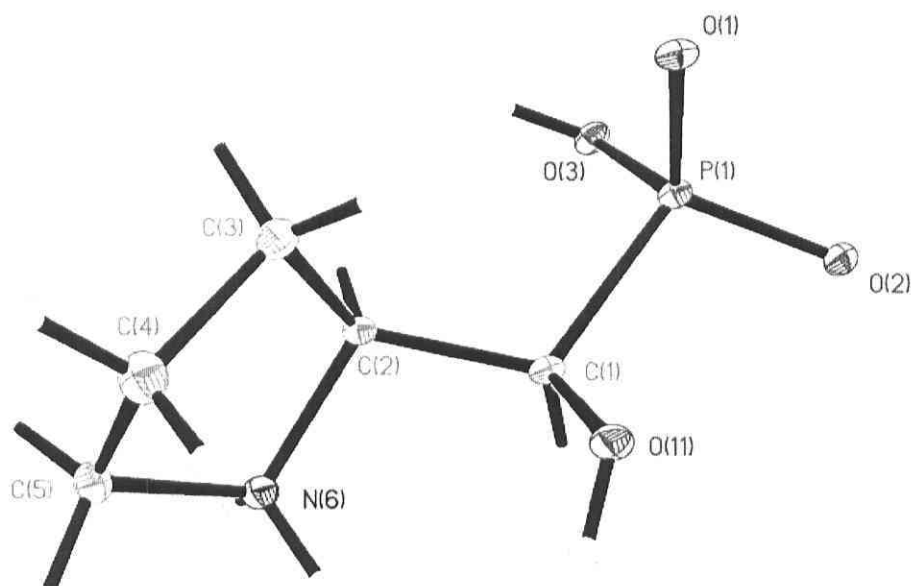


Tableau 2 : Longueurs expérimentales et rapportées des liens P-O⁻ et P-OH

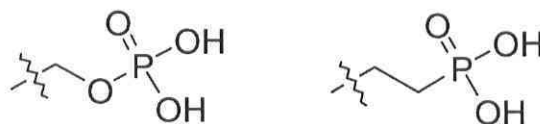
	Longueur du lien (Å)	
	PO ⁻	P-OH
Polyanchuk	1,503	1,564
Clegg	1,507	1,561
expérimentale	1,508	1,576

La synthèse de cette molécule par voie chimioenzymatique et par cristallisation fractionnée représente les premiers travaux sur le sujet. Il est possible en utilisant le N-(Boc)-D-prolinal comme réactif de départ d'obtenir par voie enzymatique les 2 autres diastéréoisomères *anti* et *syn*, soit (*R,S*) et (*R,R*), rendant ainsi possible l'obtention des quatre diastéréoisomères de la molécule (schéma 29).

2.7 Synthèse du (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate, l'analogue phosphorique de la proline.

2.7.1 Les acides phosphoriques

Figure 16: Fonctions acide phosphorique et acide phosphonique

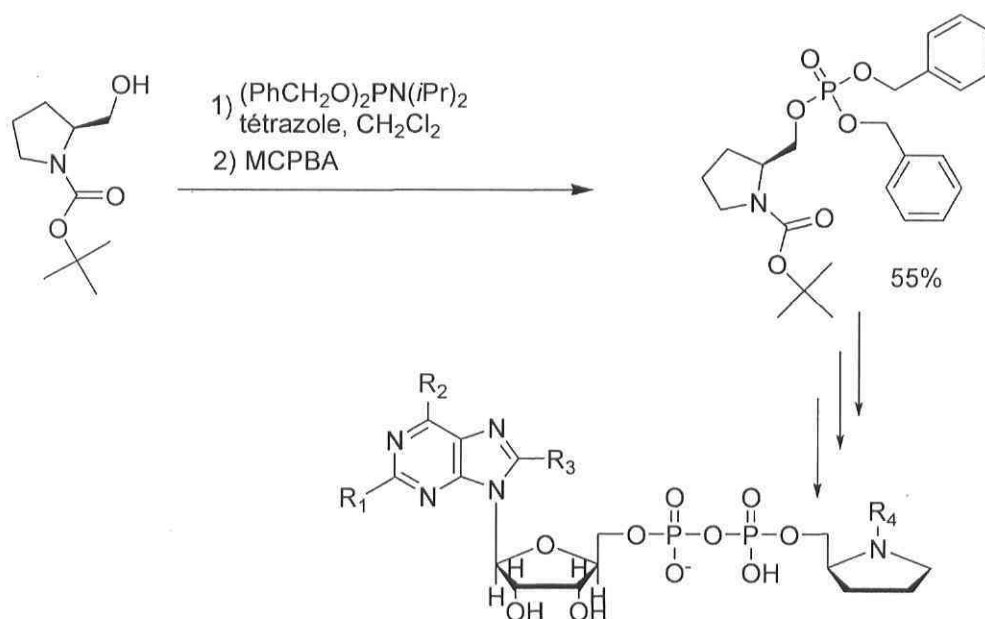


Après avoir synthétisé les analogues α , β , γ -phosphoniques et hydroxyphosphoniques, la synthèse de l'analogue phosphorique de la proline a été tentée. Il existe certaines différences entre les acides phosphoniques et phosphoriques (figure 16). En effet, le pKa de la seconde déprotonation du phosphonate est de 7,6 alors que celui du phosphate est de 6,4⁷⁹. De plus, l'angle C-X-P du lien phosphonate est de 112.1° alors que celui du phosphate est de 118.1°. D'un point de vue bioorganique, les phosphonates sont en fait des groupements bioisostères des phosphates, plus résistants à l'hydrolyse. Le changement d'un oxygène, fortement électronégatif, par un groupement CH₂ rend la molécule beaucoup plus stable face à l'hydrolyse par les phosphatases.

2.7.2 Synthèse rapportée

Jacobson et ses collaborateurs, en 2003, ont synthétisé une molécule similaire à partir eux aussi du N-(Boc)-L-prolinol⁸⁰. Ils l'ont synthétisé pour effectuer la synthèse du composé diphosphate représenté au schéma 30, qui est en fait un inhibiteur de la poly (ADP ribose) glycohydrolase.

Schéma 30: Synthèse d'un inhibiteur de la poly (ADP ribose) glycohydrolase par Jacobson et ses collaborateurs.



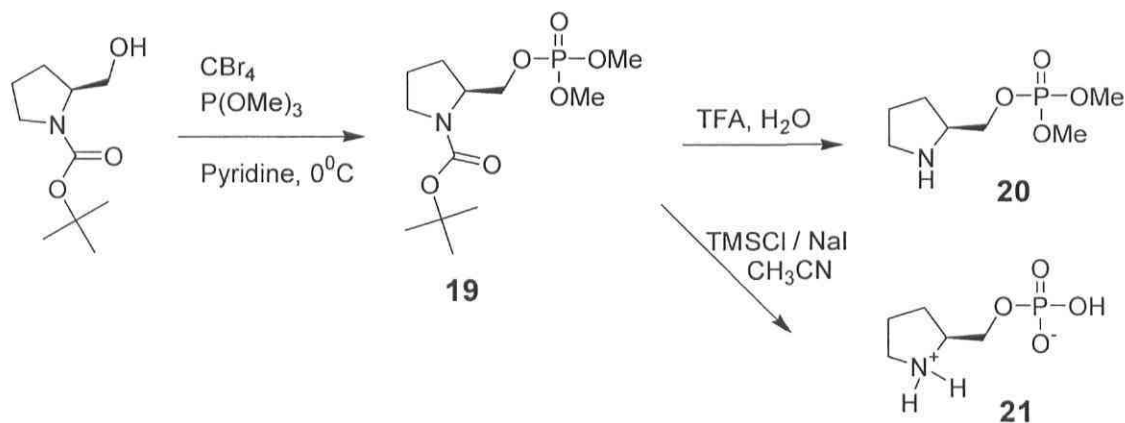
Leur voie de synthèse est relativement coûteuse et fastidieuse. En effet, le coût des réactifs et le faible rendement de la réaction nous ont amenés à développer une nouvelle voie de synthèse.

2.7.3 Application de la méthode de Corcoran

La synthèse de monoesters des phosphates à partir d'alcools primaires est une réaction très courante en biochimie et en biologie, par exemple la phosphorylation de la sérine et de la tyrosine⁸¹. Cependant par voie chimique, ces réactions sont plus compliquées qu'elles ne le paraissent. La phosphorylation d'alcools primaires est généralement accomplie par réaction de l'alcool avec un réactif au P(V) activé⁸², par exemple $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$, par réaction avec un phosphate de tétraalkyles⁸³, ou par couplage avec un dérivé du P(III) suivi de l'oxydation. La troisième voie de synthèse est beaucoup

réaction, ils en sont venus à la conclusion que pour l'obtention de l'ester du phosphate de diméthyle B, les meilleures conditions étaient simplement l'addition de phosphite de triméthyle à une solution d'alcool dans la pyridine à 0°C. Les seuls produits secondaires formés au cours de la réaction sont le bromoforme (CHBr₃) et le bromure de méthane, un gaz, donc aucune formation des autres esters possibles. L'étape suivante consiste en l'hydrolyse des groupements protecteurs sur le phosphore et sur l'azote en une seule étape pour générer le (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate **21**. L'intermédiaire **20**, où seulement l'azote a été déprotégé est formé en faisant réagir le composé **19** avec l'acide trifluoroacétique (TFA) (schéma 32).

Schéma 32 : Formation du (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphate de diméthyle et du (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate



2.8 Leurs utilisations comme organocatalyseurs

2.8.1 La proline comme organocatalyseur

L'organocatalyse est une stratégie relativement vieille en chimie organique. Cette technique utilise de petites molécules organiques qui catalysent certaines réactions en l'absence de métaux, et que l'on nomme organocatalyseurs. Les organocatalyseurs utilisent une stratégie de catalyse en l'absence de métaux similaire à celle de plusieurs enzymes dans la nature. Les organocatalyseurs offrent certains avantages : ils sont moins coûteux et sont plus stables que les enzymes et autres catalyseurs bioorganiques. De plus, l'absence de métaux les rend beaucoup plus intéressants pour l'environnement et pour l'industrie pharmaceutique, pour qui les traces de métaux représentent parfois un problème.

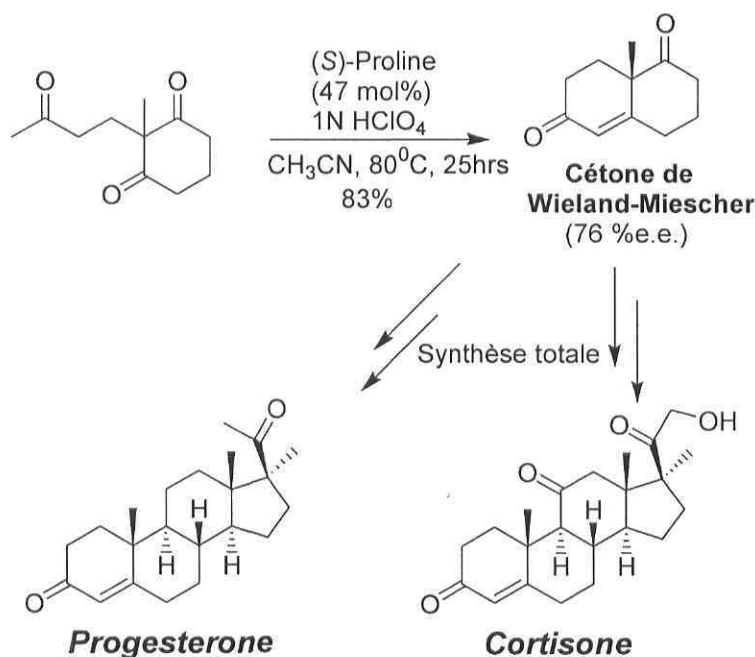
La proline est depuis plusieurs décennies reconnue comme étant un excellent organocatalyseur. Elle peut être un modifiant chiral dans les hydrogénations en catalyse hétérogène et elle peut servir d'organocatalyseur dans plusieurs réactions de transformations asymétriques, comme les réactions de types aldol⁸⁵⁻⁸⁷, Mannich⁸⁸⁻⁹¹ et Michael⁹²⁻⁹³.

Il existe plusieurs raisons expliquant le fait que la proline soit un aussi bon organocatalyseur. Premièrement, la proline est bifonctionnelle, elle possède une fonction carboxylique et une fonction amine, qui peuvent toutes deux agir comme acides et bases, travaillant de concert comme dans le cas des enzymes. Finalement, cette molécule chirale est abondante, peu dispendieuse et disponible sous forme de ses deux énantiomères. La proline, comparativement aux autres acides aminés, est cyclique et son amine secondaire est plus basique. Le caractère nucléophile de la proline est donc dû à son noyau pyrrolidine, qui peut former des ions iminiums et des énamines avec les composés carbonyles plus facilement que les autres acides aminés⁹⁴⁻⁹⁵.

2.8.2 Réaction d'annélation « one pot » de Robinson

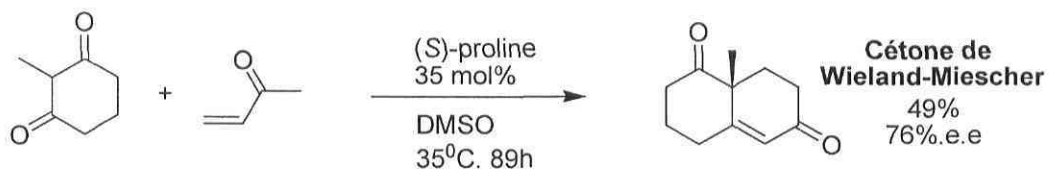
Au début des années soixante, beaucoup d'efforts en chimie organique étaient mis sur de nouvelles synthèses économiques de stéroïdes, vu le grand succès des agents contraceptifs stéroïdiens. La version organocatalytique de la réaction d'annélation de Robinson est la réaction de Hajos-Wiechert, une réaction permettant la synthèse de la cétone de Wieland-Miescher⁹⁶ (schéma 33).

Schéma 33 : Synthèse de stéroïdes à partir de la cétone de Wieland-Miescher



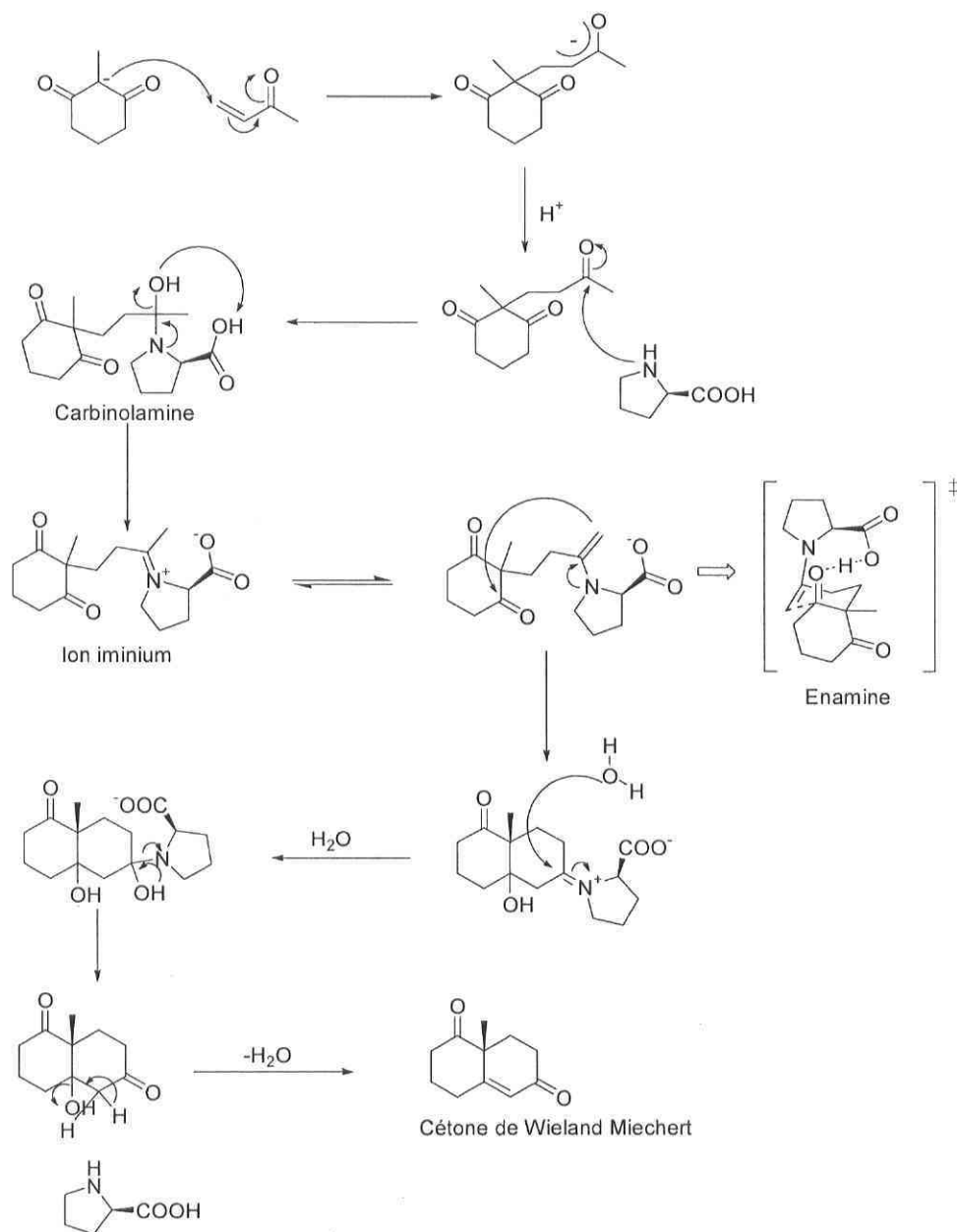
Bui et Barbas ont rapporté pour la première fois, en 2000, la réaction « one pot » à partir des produits de départ, soit le 1-méthyl-2,6-cyclohexanedione et la méthyl vinyl cétone en utilisant 35 % molaire de proline comme catalyseur (schéma 34). Ils ont obtenu la cétone de Wieland-Miescher avec un rendement de 49% et un excès énantiomère de 76%⁹⁷.

Schéma 34 : Réaction d'annélation de Robinson «one pot» catalysé par la proline



Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la stéréochimie de cette réaction. Celui présentement retenu par les experts de la question est celui de Houk⁹⁸. Ce mécanisme, qui explique la stéréochimie observée, est basé sur des calculs quantochimiques (schéma 35).

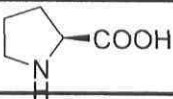
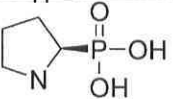
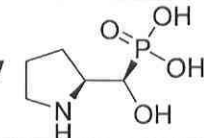
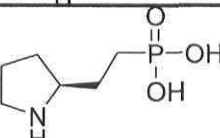
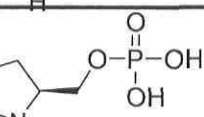
Schéma 35 : Mécanisme proposé par Houk pour l'annélation de Robinson «one pot» catalysée par la proline



Les différentes pyrrolidines phosphoniques **3**, **12**, **15**, hydroxyphosphonique **17** et aminophosphorique **21** ont été testées pour leur capacité à catalyser cette réaction. Les mêmes conditions et concentrations ont été utilisées, mais les pyrrolidines se sont avérées moins solubles dans le DMSO que la proline. L'acide aminophosphorique **21** s'est avéré absolument insoluble dans ce solvant, rendant impossible la catalyse de la réaction. Les

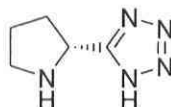
résultats obtenus pour l'obtention de la cétone de Wieland-Miecher sont comparés dans le tableau 3

Tableau 3 : Résultats obtenus pour la réaction d'annélation de Robinson catalysée par les différentes pyrrolidines.

pyrrolidines	% rendement	%e.e.
	48	76
(<i>R</i>)-3 	52	50
(<i>S,R</i>)-17 	44	77
(<i>S</i>)-15 	40	45
(<i>S</i>)-21 	-	-

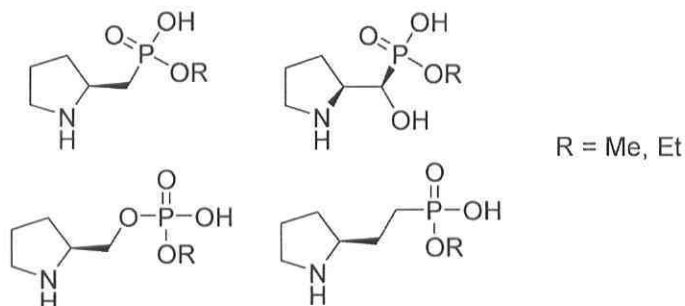
La solubilité de ces molécules n'étant pas optimale dans le DMSO, il est permis de croire que ces résultats sont sous-évalués. Steven Ley a observé lui aussi des problèmes de solubilité avec la proline et ses dérivés⁹⁹. Il a remédié à ce problème dernièrement en synthétisant l'analogue de la proline représenté à la figure 17. Un tétrazole est utilisé pour remplacer la fonction carboxylique de la proline. Cette fonction est aussi acide que la précédente (pKa similaire), mais permet une meilleure solubilité dans les solvants comme le DMSO (figure 17).

Figure 17 : Dérivé tétrazole de la proline développé par Steven Ley



Dans le cas des dérivés phosphoriques, l'obtention de molécules plus solubles dans les solvants comme le DMSO, peut être rendue possible en générant le type de composés représentés à la figure 18.

Figure 18 : Dérivés de la proline plus solubles dans le DMSO que les différentes pyrrolidines originales



Ce genre de composé est formé par déprotection d'un seul alkylphosphonate ou alkylphosphate, par hydrolyse en milieu basique en utilisant NaOH 2N. Ces molécules n'ont pas été synthétisées et leur étude fait partie des projets futurs.

2.9 Conclusion générale

Les composés renfermant un noyau pyrrolidine, spécialement la proline, sont des composés omniprésents dans la nature ainsi que dans l'industrie. De plus, de nombreux processus biologiques font intervenir ce noyau en particulier, puisque son amine secondaire cyclique lui confère des caractéristiques propres.

Les acides aminés, notamment la proline, contiennent une fonction acide carboxylique pouvant être remplacée par une fonction phosphonique ou phosphorique. Ce changement génère des dérivés d'acides aminés, ayant de nouvelles propriétés. Après incorporation de ces dérivés à l'intérieur de peptides, on observe une plus grande résistance à l'hydrolyse par les peptidases et une plus grande biodisponibilité. De plus, ces dérivés de la proline peuvent être utilisés comme catalyseur dans plusieurs réactions chimiques pour générer de la chiralité.

Au cours des dernières décennies, l'industrie pharmaceutique est sans cesse à la recherche de nouvelles molécules chirales augmentant l'efficacité des peptides. La notion de chiralité est vite devenue une nécessité dans l'industrie et les façons de générer des molécules chirales se sont multipliées. Les méthodes enzymatiques ont rapidement pris une place de choix dans l'industrie, si bien que le nombre de procédés impliquant des biocatalyseurs en chimie industrielle ne cesse d'augmenter. On reconnaît plusieurs avantages relatifs à l'utilisation des enzymes, notamment qu'elles peuvent augmenter la vitesse d'une réaction d'un facteur considérable, qu'elles sont peu toxiques et qu'elles sont moins dommageables pour l'environnement.

Au cours du présent projet, de nouvelles pyrrolidines chirales énantio-pures, dérivées de la proline, ont donc été synthétisées, par voie chimique et enzymatique. Ces dérivés pourront être incorporés à l'intérieur de peptides, augmentant ainsi leur biodisponibilité. Ces nouvelles molécules pourront aussi servir de catalyseurs dans différentes réactions classiques de chimie organique pour y introduire la chiralité.

Chapitre III-Partie expérimentale

La présente section décrit les modes opératoires pour la synthèse des différents composés ainsi que leurs caractérisations. Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été enregistrés sur un appareil Varian Inova 400MHz et Bruker AC 300MHz aux fréquences suivantes : ^1H (400MHz), ^{13}C (100MHz), ^{19}F (282MHz) et ^{31}P (120MHz). Les déplacements chimiques δ sont notés en ppm et les constantes de couplages J sont notées en Hertz (Hz)

Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Bomem Mb-Series. Le pouvoir rotatoire des composés chiraux a été mesuré sur un polarimètre JASCO DIP-360 en utilisant la raie D du sodium (589 nm) en utilisant des solvants de qualité spectrophotométrique.

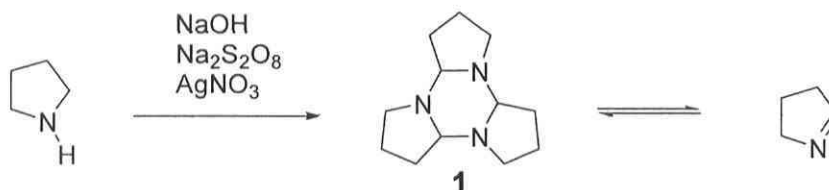
Les points de fusion des différents solides ont été mesurés à l'aide d'un appareil Thomas HOOVER 6427-H10. Les spectres de masses exactes par ionisation chimique ont été enregistrés à l'Université de Sherbrooke.

La détermination des excès énantiomères et diastéréoisomères ont été réalisée par chromatographie gazeuse à l'aide d'un chromatographe Agilent Technologies 6890N, muni d'un détecteur FID ainsi que par chromatographie liquide à haute performance à l'aide d'un chromatographe HP serie 1100, muni d'un détecteur UV/visible.

3.1 Synthèse de l'acide pyrrolidin-(2*R*)-phosphonique

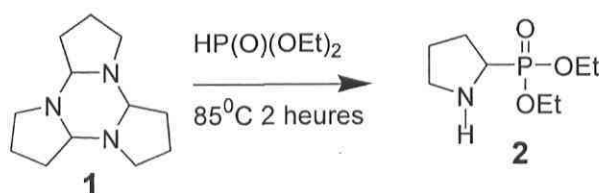
3.1.1 Synthèse et résolution du (2*R*)-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle racémique

3.1.1.1. Formation du trimère de 1-pyrroline

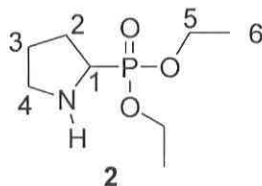


Une solution aqueuse de 25% de persulfate de sodium Na₂S₂O₈ (35.7g, 150 mmol) est ajoutée lentement, à 0 °C, à un mélange sous agitation de pyrrolidine (12.5 ml, 150 mmol), de NaOH (12 g, 300 mmol) et de AgNO₃ (0.127 g, 0.75 mmol) dans 150 ml d'eau. Le mélange réactionnel est agité à 0 °C pendant 2 heures et agité à la température de la pièce toute la nuit. La réaction est suivie par RMN ¹H; 2 ml de la mixture sont extrait avec CDCl₃, et analysé pour suivre la disparition du produit de départ. La réaction est complétée par ajout d'un excès de Na₂S₂O₈ et d'AgNO₃. Le mélange réactionnel est alors saturé avec NaCl et extrait avec CH₂Cl₂. La phase organique est séchée avec MgSO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite à 0 °C pour donner le trimère de 1-pyrroline (**1**) brut, une huile orange-brune (9.42 g) suffisamment pure pour la prochaine étape. Le composé peut toutefois être purifié par chromatographie sur alumine pour obtenir une huile incolore⁴⁶.

3.1.1.2 Formation du tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle



Le trimère de 1-pyrroline (**1**) (9.42 g, 45.4 mmol) et le phosphite de diéthyle (18.82 g, 0.136 mol) sont agités ensemble sous atmosphère d'azote pendant 2 heures à 85 °C. Le mélange réactionnel est ensuite placé dans une ampoule à extraction contenant 25 ml d'éther et 25 ml de HCl 0,5N. La phase organique est extraite plusieurs fois avec HCl 0,5N. Les phases aqueuses combinées sont rendues basiques par l'ajout de NaOH 0,5N et la solution est extraite plusieurs fois avec CH₂Cl₂. La phase organique est séchée avec MgSO₄ et évaporée sous pression réduite pour donner le 2-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle (**2**) brut, (12.34 g, 40% de rendement global pour les deux étapes à partir de la pyrrolidine) une huile brunâtre pure à 95%. Le produit peut être distillé sous vide à 110 °C / 0.2 mmHg, pour obtenir une huile incolore⁴⁶.



Nom formel : (2*R*)-Tétrahydro-1*H*-pyrrol-2ylphosphonate de diéthyle

Formule brut : C₈H₁₈NPO₃

Masse molaire : 207.21g/mol

Aspect : huile incolore

I.R. (NaCl) : 3323 (N-H), 2983, 1722, 1660, 1450, 1231, 1027, 959 cm⁻¹

¹H RMN (CDCl₃) δ :

1.24 (t, J=7.1Hz, 6H, **H6**)

1.63-1.98 (m, 4H, **H2-H3**)

2.75-2.98 (m, 2H, **H4**)

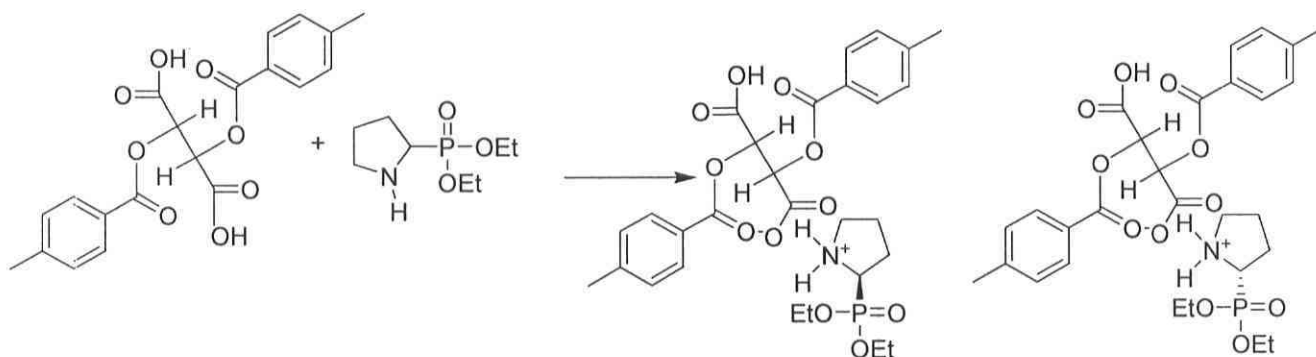
3.19-3.25 (m, 1H, **H1**)

4.02-4.10 (m, 4H, **H5**)

^{13}C RMN (CDCl_3) δ :	16.7 (d, $J_{\text{CP}}=6.1\text{Hz}$, C6)
	26.1 (d, $J_{\text{CP}}=8.4\text{Hz}$, C2)
	26.9 (C3)
	47.8 (d, $J_{\text{CP}}=11.5\text{Hz}$, C4)
	54.2 (d, $J_{\text{CP}} = 163.4\text{Hz}$, C1)
	62.3 (d, $J_{\text{CP}} = 7.7\text{Hz}$, C5)

^{31}P RMN (CDCl_3) δ	29.4 ppm
--	----------

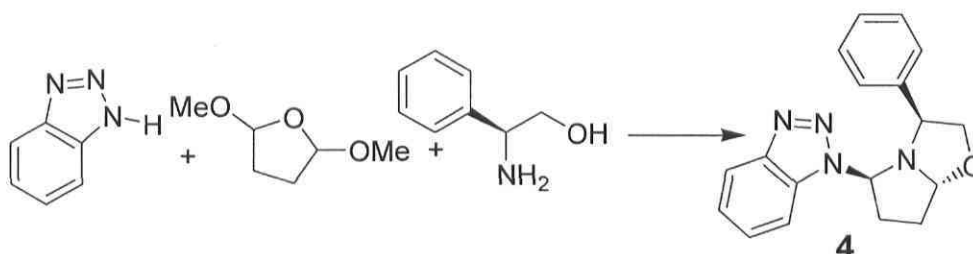
3.1.1.3. Résolution par cristallisation avec l'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique



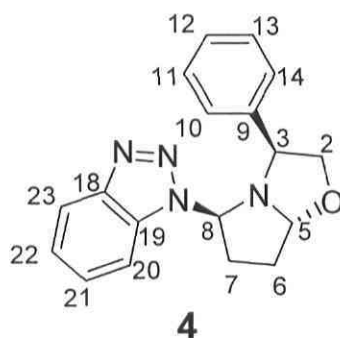
L'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique (0.932 g, 2.41 mmol) est dissous dans le minimum d'acétate d'éthyle chaud (4-5 ml) et **2** y est ajouté (0.5 g, 2.41 mmol). Le mélange est alors refroidi et laissé reposer toute la nuit. Les cristaux sont ensuite filtrés, traités avec NaOH 2N et extrait plusieurs fois avec CH_2Cl_2 pour donner **2** sous forme d'un énantiomère enrichi. L'acide di-*p*-toluoyl-L-tartrique peut être régénéré en rendant la phase aqueuse ($\text{NaOH}_{(\text{aq})}$) acide à l'aide de HCl 3N et en extrayant au CH_2Cl_2 .

3.1.2 Synthèse asymétrique à partir du (*S*)-(+)-phénylglycinol

3.1.2.1 Formation du (3*S*,5*R*,7*aR*)-5-(benzotriazol-1-yl)-3-[2,1]oxazolopyrrolidine **4**



Un mélange de 2,5-diméthoxytétrahydrofurane (9.72 ml, 75 mmol) et d'une solution aqueuse de HCl 0.1N (200ml) est porté à reflux pendant une heure. La solution est refroidie à la température de la pièce et une solution de benzotriazole (8.93g, 75 mmol) et de (*S*)-phénylglycinol (10.29 g, 75 mmol) dans 600ml de dichlorométhane y est ajouté et le mélange est agité toute la nuit. Le mélange réactionnel est transféré dans une ampoule à extraction et la phase organique est lavée avec 3 X 200ml de NaOH 2N et 2 X 200ml d'eau. La phase organique est séchée avec MgSO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite. Le résidu est ensuite recristallisé dans AcOEt pour donner le composé **4** (15.64 g) avec un rendement de 68%⁴⁸.



Nom formel : (3*S*,5*R*,7*aR*)-5-(benzotriazole-1-yl)-3-[2,1] oxazolopyrrolidine

Formule brut : C₁₈H₁₈N₄O

Masse molaire : 306.37 g/mol

Aspect : solide cristallin

Point de fusion : 139-140 °C littérature⁴⁸ = 139-140 °C

$[\alpha]_D = 89^0$ (c = 0.57, EtOH), littérature⁴⁸ = 89⁰

I.R. (KBr) : 3100-2900, 1615, 1490, 1445, 1184, 1000-600 cm⁻¹

¹H RMN ((CD₃)₂CO) δ :

2.07-2.29 (m, 1H, **H6**)
 2.60-2.75 (m, 3H, **H6-H7**)
 3.58-3.62 (m, 1H, **H3**)
 4.53-4.57 (m, 1H, **H2**)
 4.68-4.72 (m, 1H, **H2**)
 5.27-5.28 (m, 1H, **H5**)
 6.16-6.19 (m, 1H, **H8**)
 7.08-7.23 (m, 5H, **H10 à H14**)
 7.30-7.40 (m, 2H, **H21-H22**)
 7.77 (d J=8,2Hz, 1H, **H23**)
 7.93 (d J=8.4Hz, 1H, **H20**)

¹³C RMN (C₆D₆) δ :

29.6 (**C7**)
 29.8 (**C6**)
 68.6 (**C3**)
 73.1 (**C8**)
 82.2 (**C2**)
 97.7 (**C5**)
 111.1 (**C20**)
 111.2 (**C23**)
 120.3 (**C21**)
 123.5 (**C22**)
 126.3 (**C14-C10**)
 126.4 (**C11-C13**)

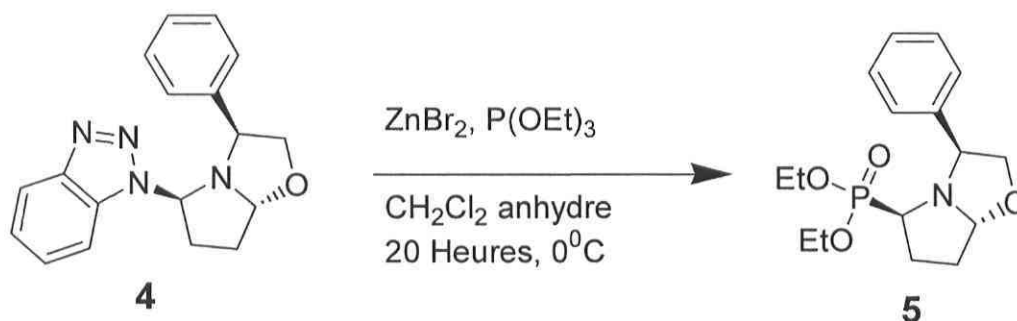
127.2 (C19)

127.3 (C12)

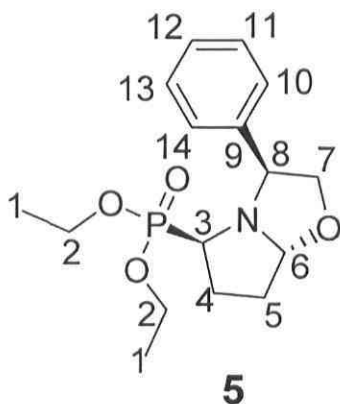
128.4 (C9)

141.2 (C18)

3.1.2.2 Formation du (3*S*,5*R*,7*aR*)-3-phénylhexanehydropyrrolo-[2,1] - [1,3]oxazol-5-yl phosphonate de diéthyle **5**



Dans un ballon de 250 ml est ajouté le bromure de zinc 99.999% (225 mg, 1 mmol) (il est préférable de laisser le ballon avec le ZnBr_2 au moins une nuit dans une étuve sous vide). Une solution de **4** (3.06 g, 10 mmol) dans 200 ml de dichlorométhane anhydre est transférée dans le ballon et on laisse agiter à 0 °C, sous azote, pour 30 minutes. Le phosphite de triéthyle (3.48 ml, 20 mmol) y est ajouté et le mélange réactionnel est agité pour 20 heures à 0 °C. La réaction est arrêtée par l'ajout de 150 ml de NaOH 2 N. Le mélange est transféré dans une ampoule à extraction, les phases sont séparées et la phase aqueuse est lavée au dichlorométhane (3 X 100 ml). Les phases organiques sont combinées, séchées avec MgSO_4 et évaporées sous pression réduite. Le résidu contient du produit **4**, qui peut être récupéré par filtration ou par recristallisation. Le filtrat est repris dans AcOEt et est extrait avec 4 portions de 25 mL de HCl 0.5N. La phase aqueuse est rendue basique en ajoutant du NaOH 1N. La phase basique est ensuite extraite au dichlorométhane pour donner **5** (1.4 g, 4.3 mmol) sous forme d'une huile incolore avec 43 % de rendement à partir de **4**⁴⁸.



Nom formel : (3*S*,5*R*,7*aR*)-3-phénylhéxanehydropyrrolo-[2,1] - [1,3]oxazol-5-yl
phosphonate de diéthyle

Formule brut : C₁₆H₂₄NPO₄

Masse molaire : 325.35 g/mol

Aspect : huile incolore

[α]_D = 50.02° (c = 4.65, EtOH)

I.R. (NaCl) : 3100-2905, 1730, 1610, 1492, 1235, 1000-595 cm⁻¹

¹H RMN (CDCl₃) δ :

- 1.07 (t, J=7.0Hz, 3H, **H1**)
- 1.15 (t, J=7.0Hz, 3H, **H1**)
- 1.98-2.28 (m, 4H, **H4-H5**)
- 3.22 (m, 1H, **H3**)
- 3.61 (t, J=10.3Hz, 1H, **H8**)
- 3.79-4.00 (m, 4H, **H2**)
- 4.27-4.32 (m, 2H, **H7**)
- 5.03 (m, 1H, **H6**)
- 7.17-7.38 (m, 5H, **H10-H11-H12-H13-H14**)

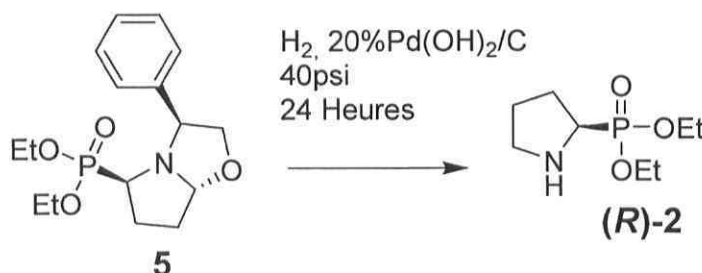
¹³C RMN (CDCl₃) δ :

- 16.5 (d, J_{CP}=5.4Hz, **C1**)
- 16.6 (d, J_{CP}=5.4Hz, **C1**)

25.4 (**C4**)
 30.7 (d, $J_{CP}=6.1\text{Hz}$, **C5**)
 63.0 (d, $J_{CP}=178\text{Hz}$, **C3**)
 62.5 (d, $J_{CP}=16.1\text{Hz}$, **C8**)
 70.4 (d, $J_{CP}=6.1\text{Hz}$, **C2**)
 72.9 (**C7**)
 99.5 (**C6**)
 127.0 (**C11-C13**)
 127.3 (**C12**)
 128.5 (**C10-C14**)
 142.1 (**C9**)

^{31}P RMN (CDCl_3) δ : 26.5

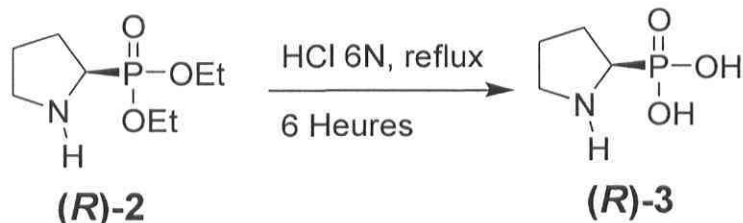
3.1.2.3 Formation du (2*R*)-tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle



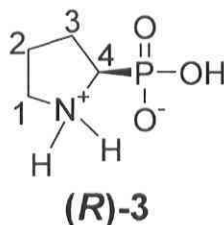
Une solution de **5** (325 g, 1 mmol) et de 20% $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$ dans le méthanol (60 ml) est chargée d'hydrogène à une pression de 40psi pour 24 heures. Après filtration du catalyseur sur Celite, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans AcOEt et extrait avec 3 portions de HCl 0.5N. Les phases aqueuses combinées sont rendues basiques par l'ajout de NaOH 1N et sont extraites avec 3 portions de dichlorométhane (25 mL). Les phases organiques combinées sont séchées et évaporées sous pression réduite pour donner **(R)-2** (177 mg), avec 85 % de rendement à partir de **5**⁴⁸.

$$[\alpha]_D = -7.7^0 \text{ (c=2, EtOH)}$$

3.1.2.5 Formation de l'acide pyrrolidine-(2*R*)-phosphonique **3**



Une solution de **2** (177mg, 8.54×10^{-4} mol) dans 10ml de HCl 6N est portée à reflux durant 6 heures. L'eau et le HCl sont ensuite évaporés sous pression réduite. Le résidu est repris dans l'eau et est soumis à une colonne de résine échangeuse d'ions Dowex 50W-X4(H^+ form) avec l'eau comme éluant. L'eau est ensuite évaporée sous pression réduite et le résidu est recristallisé dans un mélange eau-éthanol en utilisant un peu d'acétone. Le produit **(R)-3** est un solide cristallin blanc (119 mg) obtenu avec un rendement de 92% partir de **(R)-2**.



Nom formel : acide pyrrolidine-2*R*-phosphonique

Formule brut : $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NPO}_3$

Masse molaire : 151.10g/mol

Aspect : solide blanc

Point de fusion : déc. 265°C , littérature⁴⁶ = 265°C

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 64.0$ ($c = 1.0$, 1M NaOH)

I.R. (KBr) : 3873; 3012, 2262, 1640, 1430, 1134-680 cm^{-1}

RMN ^1H (D_2O) δ :

- 1.79-2.00 (m, 3H, **H2-H3**)
- 2.00-2.15 (m, 1H, **H3**)
- 3.12-3.46 (m, 2H, **H1**)
- 3.36 (dd, $J = 18.6\text{Hz}$, $J_{\text{HP}} = 9.5\text{Hz}$, 1H, **H4**)

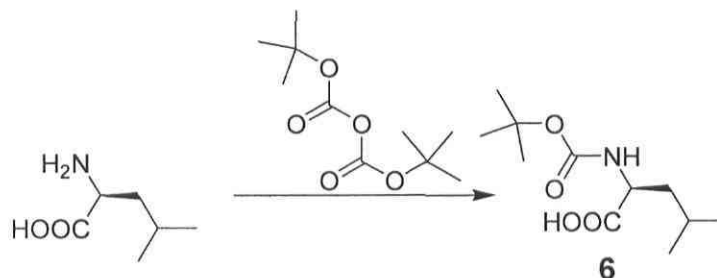
^{13}C RMN (D_2O) δ :

- 24.0 ($J_{\text{CP}} = 8.4\text{Hz}$, **C3**)
- 26.5 (**C2**)
- 46.9 ($J_{\text{CP}} = 6.1\text{Hz}$, **C1**)
- 55.9 ($J_{\text{CP}} = 144.2\text{Hz}$, **C4**)

^{31}P RMN (D_2O) δ : 15.6

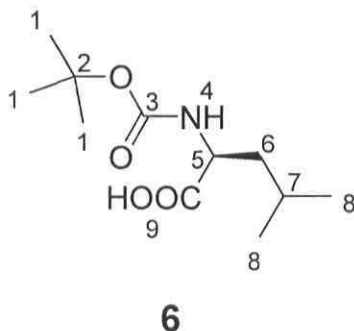
3.1.3 Résolution par formation d'un dipeptide avec la L-Leucine

3.1.3.1 Formation de N-(Boc)-L-Leucine



La L-leucine (5.46 g, 41.7 mmol) est dissoute dans une solution de dioxane (80 ml) et de NaOH 1M (40 ml) et 40 ml d'une solution de NaOH 1M supplémentaire y sont

alors ajoutés et le mélange est refroidi dans un bain de glace. Le di-*tert*-butyl dicarbonate (10 g, 45.8 mmol) est ensuite ajouté lentement, on laisse la réaction atteindre la température de la pièce et l'agitation se poursuit pour 2 heures supplémentaires. Le dioxane est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu est couvert d'une couche d'acétate d'éthyle et acidifié à pH : 2-3 à l'aide d'une solution diluée de KHSO₄. Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite séchée à l'aide de MgSO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite pour donner la N-(Boc)-L-leucine **6** (9.45 g, 91%) sous forme d'une huile incolore.



Nom formel : Acide 2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-4-méthylpentanoïque

Formule brut : C₁₁H₂₁NO₄

Masse molaire : 231.30 g/mol

Aspect : huile incolore

[α]_D = -25⁰ (c = 2, acide acétique)

I.R. (NaCl) : 3440, 2958, 2545, 1722, 1679, 1362-730 cm⁻¹

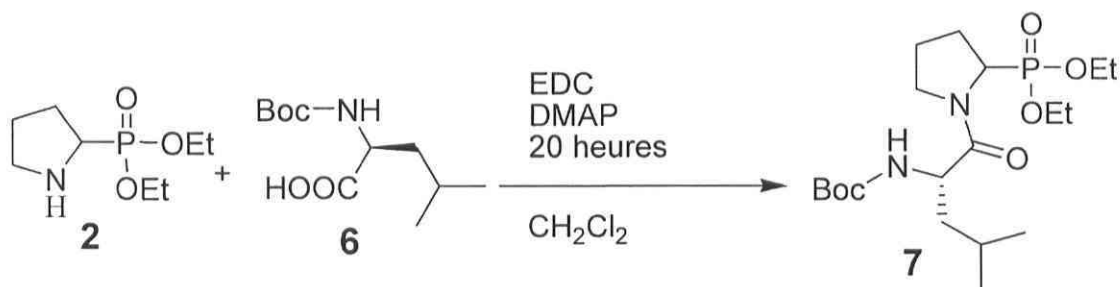
¹H RMN (CDCl₃) δ :

0.93 (d, J=6.2Hz, 6H, H8)
1.42(s, 9H, H1)
1.50-1.74 (m, 3H, H6-H7)
4.30-4.40 (m, 1H, H5)

10.50-10.60 (m, 1H, **H9**)

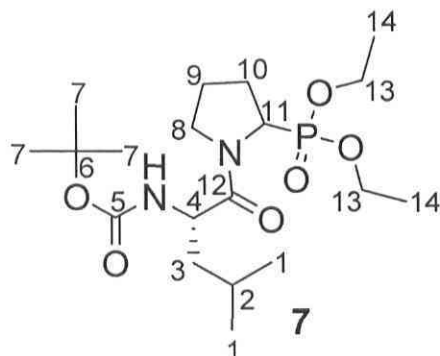
^{13}C RMN (CDCl_3) δ :	21.8 (C8)
	22.8 (C8)
	24.6 (C7)
	28.3 (C1)
	41.5 (C6)
	52.0 (C5)
	80.1 (C2)
	156.0 (C3)
	178.2 (C9)

3.1.3.2 Formation du (*S*)-(Boc)-leucyl-(*S,R*) tétrahydro-1H-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle



Le composé **2** (3 g, 14.5 mmol) et la N-(Boc)-L-leucine **6** (3.35 g, 14.5 mmol) sont dissous dans le CH_2Cl_2 anhydre (25 ml), le EDC (4.16 g, 21.8 mmol) et le DMAP (265 mg, 2.2 mmol) y sont alors ajoutés. Le mélange réactionnel est agité toute la nuit et la réaction est complétée par l'ajout d'EDC (0.5 g). Le mélange réactionnel est ensuite transféré dans une ampoule à extraction, lavé avec HCl 1N 2X15 ml, NaHCO_3 2X15 ml et NaCl_{sat} 1X15 ml. La phase organique est séchée avec MgSO_4 et évaporée sous

pression réduite pour donner le dipeptide protégé **7** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères (1:1) et d'une huile brunâtre (3.77 g, 62%)⁶²⁻⁶³.



Nom formel : (*S*)-(Boc)-leucyl-(*S,R*) tétrahydro-1*H*-pyrrol-2-ylphosphonate de diéthyle

Formule brut : $C_{19}H_{37}N_2PO_6$

Masse molaire : 420.50 g/mol

Aspect : Huile brunâtre

I.R. (NaCl) : 3435, 2973, 2253, 1703, 1645, 900 cm^{-1}

RMN 1H ($CDCl_3$) δ :

- 0.88-0.96 (m, 6H, **H1**)
- 1.23-1.33 (m, 6H, **H14**)
- 1.38 (s, 9H, **H7**)
- 1.40-2.25 (m, 9H, **H2-H3-H8-H9-H10**)
- 3.45-3.80 (m, 1H, **H4**)
- 4.03-4.15 (m, 4H, **H13**)
- 4.40-4.65 (m, 1H, **H11**)

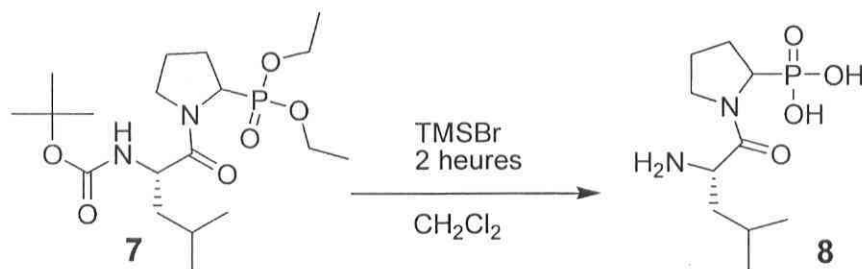
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ :

- 16.7 (**C14**)
- 22.1 (**C9**)
- 23.6 (**C10**)
- 24.9 (**C1**)
- 26.6 (**C2**)
- 28.6 (**C7**)

43.0 (C3)
 47.0 (C8)
 50.7 (C4)
 52.7, d, $J = 158.6\text{Hz}$ (C11)
 62.8, d, $J = 7.0\text{Hz}$ (C13)
 79.7 (C6)
 156.5 (C5)
 177.3 (C12)

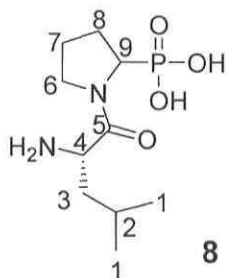
RMN ^{31}P (CDCl_3) δ :
 24.72
 25.30

3.1.3.3 Formation de l'acide-1-(2-amino-4-méthylpentanoyl)pyrrolidin-2-ylphosphonique



Le dipeptide protégé **7** (3.77 g, 9 mmol) est dissous dans 25 ml de CH_2Cl_2 et refroidi à 0°C dans un bain de glace et le TMSBr y est ajouté par petites portions (3.9 ml, 29 mmol). On laisse le mélange réactionnel atteindre la température de la pièce et l'agitation se poursuit pour 2 heures. La réaction est suivie par CCM jusqu'à disparition complète du produit de départ. Une fois la réaction complète, on ajoute par petites portions 25 ml d'eau et l'agitation se poursuit 10 minutes supplémentaires. Les deux phases sont séparées et la phase organique est extraite avec deux portions d'eau. La phase aqueuse est ensuite évaporée sous pression réduite. Le résidu est alors dissous dans le

minimum d'éthanol anhydre et le dipeptide est précipité par l'ajout d'oxyde de propylène pour donner le dipeptide déprotégé **8** sous forme d'un solide blanc beige (1.8g, 76%)



Nom formel : Acide-1-(2-amino-4-méthylpentanoyl)pyrrolidin-2-ylphosphonique

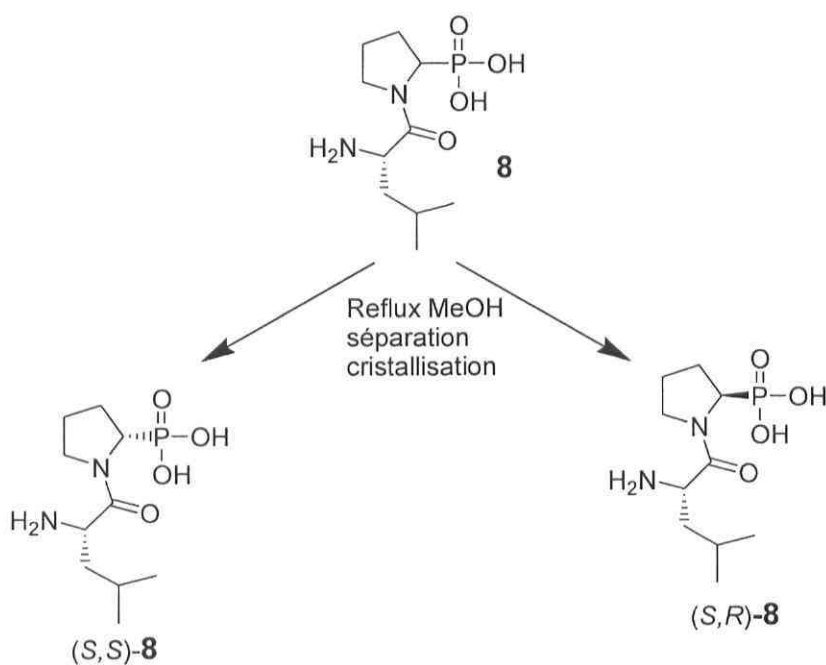
Formule brut : $C_{10}H_{21}N_2PO_4$

Masse molaire : 264.26 g/mol

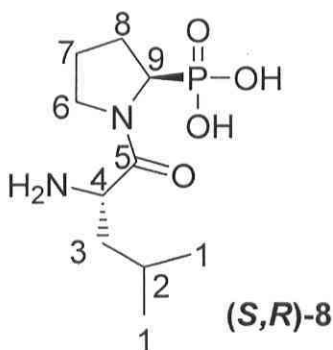
Aspect : solide blanc beige

Pour les analyses RMN : voir celles du dipeptide (*S,R*)-**8** section 3.1.3.4

3.1.3.4 Séparation des diastéréoisomères



Le dipeptide déprotégé (1.8 g, 6.8 mmol) est dissous dans 20 ml de méthanol et la solution est portée à reflux pendant 20 minutes. Après refroidissement à température ambiante, le produit est filtré. Le solide filtré représente le dipeptide (*S,R*)-**8** ; après avoir répété la séquence de reflux dans le méthanol 2 fois, le dipeptide est obtenu avec une pureté de 97% d.e.. Le peptide (*S,S*)-**8** est obtenu à partir du premier filtrat en faisant précipiter le dipeptide par ajout d'acétone. Le dipeptide (*S,S*)-**8** sous forme d'un diastéréoisomère pur peut être obtenu de cette façon. En conservant les filtrats après les reflux et les précipitations et en répétant ces étapes on obtient 0,75 g de dipeptide (*S,R*)-**8** pur et 1 g de dipeptide (*S,S*)-**8** enrichi, mais non optiquement pur. Le dipeptide (*S,R*)-**8** est obtenu sous forme de cristaux blancs⁶³.



Nom formel : Acide-1-(2-amino-(4*S*)-méthylpentanoyl) pyrrolidin-(2*R*)-ylphosphonique

Formule brute : $C_{10}H_{21}N_2PO_4$

Masse molaire : 264.26 g/mol

Aspect : cristaux blancs

Point de fusion : déc. 255-260 °C, littérature⁶³ = déc. 255-256 °C

$[\alpha]_D$: 82.4° (c = 0.6, H₂O)

I.R.(KBr) : 2968, 2311, 1664, 1503, 1445, 1085-612 cm⁻¹

RMN ^1H (D_2O) δ :

0.97 (d, $J = 3.9\text{Hz}$, 6H, **H1**)

1.46-1.74 (m, 3H, **H2-H3**)

1.95-2.20 (m, 4H, **H7-H8**)

3.60-3.66 (m, 2H, **H6**)

4.19-4.28 (m, 2H, **H4-H9**)

RMN ^{13}C (D_2O) δ :

23.3 (**C7**)

25.3 (**C8**)

26.6 (**C1**)

29.3 (**C2**)

41.4 (**C3**)

50.3 (**C4**)

53.8 (**C6**)

59.02, d, $J = 145.8\text{Hz}$, (**C9**)

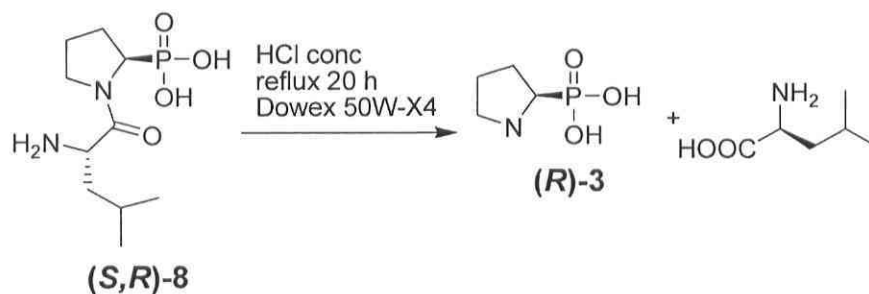
171.3 (**C5**)

RMN ^{31}P (D_2O) δ :

(*S,R*) = 22.10

(*S,S*) = 20.20

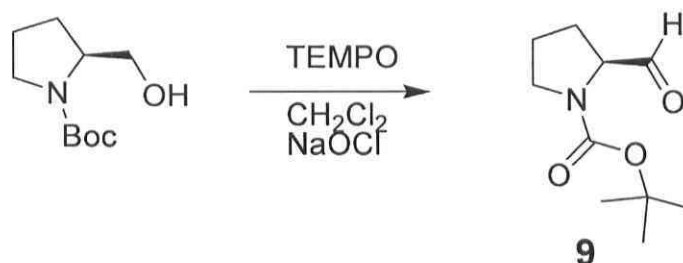
3.1.3.5 Formation de l'acide pyrrolidine-2*R*-phosphonique



Le dipeptide (*S,R*)-**8** (0.75 g, 2.84 mmol) est porté à reflux dans 30 ml de HCl 12N pour 20 heures. L'eau et le HCl sont ensuite évaporés sous pression réduite et le résidu est repris dans environ 3 ml d'eau. Le résidu est alors soumis à une colonne de résine échangeuse d'ion Dowex50W-X4, élué avec de l'eau et la migration de l'acide pyrrolidin-2*R*-yl phosphonique est révélée à l'aide de la ninhydrine. On obtient ainsi l'acide pyrrolidine-2*R*-yl phosphonique (395 mg, 92%) sous forme de cristaux blancs et d'un énantiomère pur⁶². Le solide peut être recristallisé dans eau-éthanol. L'énantiomère (*S*)-**3** est obtenu par la même méthode.

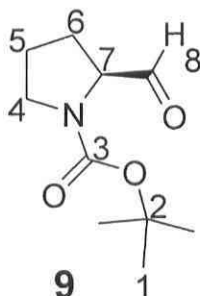
3.2 Synthèse de l'acide-(2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyle phosphonique

3.2.1 Formation du N-(Boc)-L-prolinal



Le N-(Boc)-L-prolinol (6g, 29.8 mmol) est dissous dans 100 ml de CH₂Cl₂ et une solution de NaBr (3.07 g, 29.8 mmol dans 9 ml H₂O) y est ajoutée. Le mélange est refroidi entre -5 et -10 °C et on ajoute le TEMPO. Le NaOCl (35.8 mmol) tamponné avec NaHCO₃ (1.3 g, 15.4 mmol) est ajouté de manière à ce que la température de la solution demeure inférieure à 15 °C. L'agitation se poursuit 10 minutes et la réaction est arrêtée par l'ajout d'une solution de Na₂S₂O₃ 10% (50 ml). Le mélange est transféré dans une ampoule à extraction, les phases sont séparées et la phase organique est évaporée sous pression réduite dans un bain de glace. Le résidu est repris dans l'éther (100 ml) et est lavé avec HCl 10% 2X15 ml, Na₂S₂O₃ 10% 2X15 ml, NaHCO₃ 5% 2X15 ml, H₂O

1X15 ml et de la saumure 1X15 ml. La phase étherée est ensuite séchée avec MgSO_4 et est évaporée sous pression réduite pour donner **9** (4.51 g, 76%).



Nom formel : *tert*-butyl-(2*S*)-formyl pyrrolidine-1-carboxylate

Formule brut : $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_3$

Masse molaire : 199.25 g/mol

Aspect : Huile incolore

$[\alpha]_D^{22}$: -100.0 ($c = 0.66$, CHCl_3)

I.R. (NaCl) : 3454, 2982, 2087, 2710, 1742, 1479-657 cm^{-1}

^1H RMN (CDCl_3) δ :

- 1.32 (s, 9H, **H1**)
- 1.76-2.07 (m, 4H, **H5-H6**)
- 3.36-3.46 (m, 2H, **H4**)
- 4.00 (m, 1H, **H7**)
- 9.40 (m, 1H, **H8**)

^{13}C RMN (CDCl_3) δ :

- 23.8 (**C5**)
- 27.9 (**C6**)
- 28.4(**C1**)
- 46.6 (**C4**)

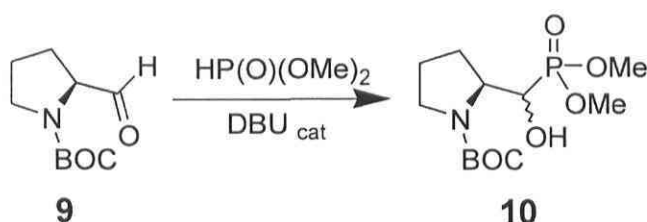
64.9 (C7)

80.4 (C2)

153.9 (C3)

200.1 (C8)

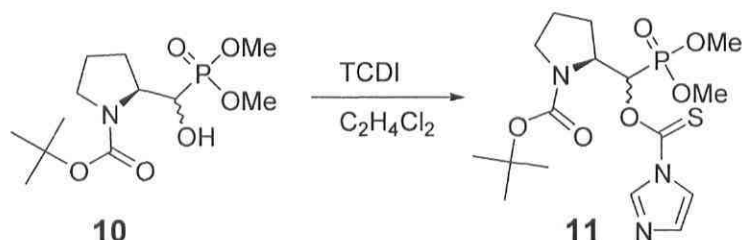
3.2.2 Formation du *tert*-butyl-(2*S*)-2-[(diméthoxyphosphoryl)(hydroxyméthyl)méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate



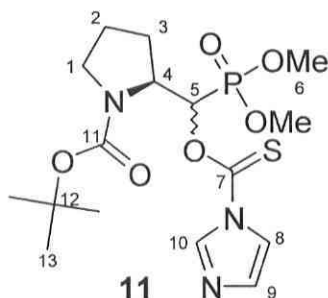
Le N-(BOC)-(L)-prolinal (3.8 g, 19 mmol), le phosphite de diméthyle (1.84 ml, 20 mmol) et le DBU (290 mg, 1.9 mmol) sont agités à 0 °C dans 10 ml de CH₂Cl₂ pendant 30 minutes. On laisse le mélange réactionnel atteindre la température de la pièce et l'agitation se poursuit toute la nuit. La réaction est suivie par CCM jusqu'à disparition complète du N-(BOC)-prolinal, la réaction est complétée par l'ajout d'un excès de phosphite de diméthyle. On place ensuite le mélange réactionnel dans une ampoule à extraction contenant 25 ml de CH₂Cl₂ et 25 ml H₂O, les phases sont alors séparées et la phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée avec MgSO₄ et évaporée sous pression réduite pour donner l'hydroxyphosphonate **10** (5.2 g, 88%) sous forme d'une cire blanche, dans un mélange de diastéréoisomères ayant un ratio d'environ 2 :1 (*S,R*)/(*S,S*)⁷⁴. Le produit peut être recristallisé dans l'hexane.

Pour analyse voir section 3.4.2.1

3.2.3 Formation du O-[(diméthoxyphosphoryl)(N-*tert*-butyloxycarbonyl)pyrrolidin-2-ylméthyle]-1-*H*-imidazole-1-carboxylate



Une solution d'hydroxyphosphonate **10** (1 g, 3.23 mmol) et de 1,1-thiocarbonyl diimidazole (1.15 g, 6.47 mmol) dans 100 ml de 1,2-dichloroéthane est mélangée vigoureusement à 70 °C pendant 3 heures. La réaction se poursuit jusqu'à disparition complète du produit de départ. Le mélange est ensuite transféré dans une ampoule à extraction et la phase organique est lavée avec HCl 1N (2 X 100 ml), NaHCO₃ (2 X 100 ml) et NaCl_{sat}, ensuite séchée et évaporée pour générer le composé **11** (1.06g, 78%)⁶⁵.



Nom formel : O-[(diméthoxyphosphoryl) (N-*tert*-butyloxycarbonyl)pyrrolidin-2-ylméthyle]-1-*H*-imidazole-1-carboxylate

Formule brut : C₁₆H₂₈N₃PO₆S

Masse molaire : 421.45 g/mol

Aspect : huile jaunâtre

I.R. (NaCl) : 3489, 2978, 2919, 2608, 2170, 1650, 1416, 1163, 1051-671 cm⁻¹

^1H RMN (CDCl_3) δ :	1.52 (s, 9H, H13)
	2.15-2.37 (m, 4H, H2-H3)
	3.10-3.16 (m, 2H, H1)
	3.31-3.42 (m, 1H, H4)
	3.79 (d, $J = 9\text{Hz}$, 3H, H6)
	4.36 (s large, 1H, H5)
	6.86 (d, $J = 11.4\text{Hz}$, 1H, H9)
	7.64 (d, $J = 7.4\text{Hz}$, 1H, H8)
	8.38 (d, $J = 16.1\text{Hz}$, 1H, H10)

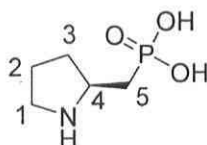
^{13}C RMN (CDCl_3) δ :	24.7 (C2)
	27.6 (C3)
	28.6 (C13)
	46.6 (C1)
	53.5 (C6)
	57.0 (C4)
	75.0 (C12)
	78.9 (d, $J = 166.5\text{Hz}$, C5)
	118.2 (C9)
	130.5 (C8)
	136.9 (C10)
	163.0 (C11)
	178.5 (C7)

^{31}P RMN (CDCl_3) δ :	19.1
--	------

3.2.4 Formation de l'acide-(2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphonique

À une solution de thiocarbamate **11** (251 mg, 0.6 mmol) dans 15 ml de toluène anhydre sous azote, est ajouté l'hydruure de tributylétain (347 mg, 1.2 mmol) et le

mélange est porté à reflux pour 2,5 heures. Le mélange est ensuite refroidi et le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le résidu est alors repris dans 25 ml de HCl 8N et la solution est portée à reflux pour 2 heures. Le mélange est refroidi et le HCl et l'eau sont évaporés sous pression réduite. Le résidu est ensuite repris dans 5 ml d'éthanol anhydre et l'acide-(2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphonique **12** est précipité par ajout d'oxyde de propylène (174 mg, 1.06 mmol) avec un rendement global de 42% pour les deux étapes.

**12**

Nom formel : acide-(2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphonique

Formule brut : C₅H₁₂NPO₃

Masse molaire : 165.13 g/mol

Aspect : solide blanc

Point de fusion : dec. 225 °C

I.R. (NaCl) : 2940, 2739, 1625, 1430 1220-600 cm⁻¹

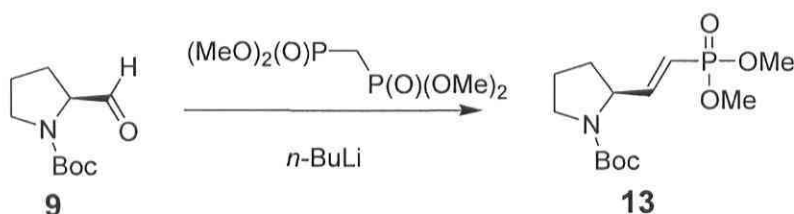
¹H RMN (CDCl₃) δ :
 1.76-2.36 (m, 6H, **H2-H3-H5**)
 3.33 (t, 2H, **H1**)
 4.07 (dd, J_{HP} = 11.3Hz, J_{HH} = 3.6Hz, 1H, **H4**)

¹³C RMN (CDCl₃) δ :
 22.4 (**C2**)
 24.0 (d, J = 100.5Hz, **C5**)
 33.7 (**C3**)
 48.1 (**C1**)
 56.3 (**C4**)

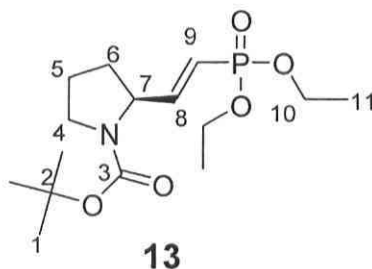
^{31}P RMN (CDCl_3) δ : 26.0

3.3 Formation de l'acide-2-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]éthylphosphonique

3.3.1 Formation du *tert*-butyl(2*S*)-2-[(*E*)-2-(diéthoxyphosphoryl)vinyl]pyrrolidine-1-carboxylate



Le bisphosphonate de tétraéthylméthylène (2 ml, 8.07 mmol) est dissous dans 30 ml de THF anhydre à $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$; le *n*-BuLi (5.05 ml d'une solution 1.6N dans l'hexane, est alors ajouté et le mélange est agité durant 30 minutes. Le N-(Boc)-L-prolinal **9** (1.46 g, 7.34 mmol) dissous dans 30 ml de THF anhydre y est ajouté par petite portions et le mélange réactionnel est agité à $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour 80 minutes. La réaction se termine par l'ajout d'une solution saturée de NH_4Cl (25 ml). Le mélange est transféré dans une ampoule à extraction, les deux phases sont ensuite séparées et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques combinées sont séchées et évaporées sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexane/AcOEt : 3/7) pour donner le produit **13** (1.8 g, 76%) sous forme d'une huile incolore⁶⁷.



Nom formel : *tert*-butyl(2*S*)-2-[(*E*)-2-(diéthoxyphosphoryl)vinyl]pyrrolidine-1-carboxylate

Formule brut : C₁₅H₂₈NPO₅

Masse molaire : 333.37 g/mol

Aspect : huile incolore

$[\alpha]_D^{22} = -38.4$ (c = 0.25, CHCl₃)

I.R (NaCl). : 3250, 2980, 2113, 1692, 1396, 1241-650 cm⁻¹

¹H RMN (CDCl₃) δ :

1.29 (t, J = 7.0Hz, 6H, **H11**)

1.39 (s, 9H, **H1**)

1.74-2.14 (m, 4H, **H5-H6**)

3.40 (m, 2H, **H4**)

3.98-4.10 (m, 4H, **H10**)

4.33-4.42 (m, 1H, **H7**)

5.62 (t, J = 18.3Hz, 1H, **H8**)

6.61 (ddd, J_{HP}=21.9Hz, J_{H Trans}=17.0Hz, J_{HH}=5.2Hz, **H9**)

¹³C RMN (CDCl₃) δ :

16.5 (d, J = 6.1Hz, **C11**)

22.9 (**C5**)

28.5 (**C1**)

31.6 (**C6**)

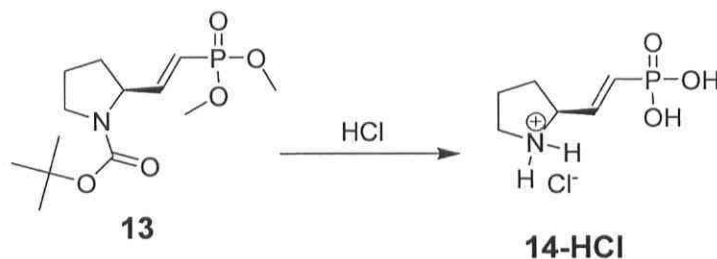
46.5 (**C4**)

59.1 (C7)
 61.9 (C10)
 79.9 (C2)
 116.2 (d, $J = 187.9\text{Hz}$, C9)
 152.7 (C8)
 154.5 (C3)

^{31}P RMN (CDCl_3) δ : 19.34

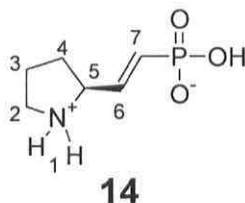
Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 334.1783 (\text{MH}^+)$
 $m/z_{\text{expérimentale}} = 334.1788 (\text{MH}^+)$

3.3.2 Formation de l'acide (E)-2-[(2S)-pyrrolidin-2-yl] vinyl phosphonique



Le composé **13** (1.5 g, 4.5 mmol) est dissous dans 30 ml de HCl et la solution est portée à reflux pour la nuit. L'eau et le HCl sont ensuite évaporés sous pression réduite. Le résidu est repris dans un minimum d'eau est soumis à une colonne de résine échangeuse d'ions Dowex50W-X4 et éluée avec de l'eau. Le solide obtenu est ensuite

recristallisé dans éthanol-acétone pour donner **14** (718 mg, 90%) sous forme d'un solide blanc.



Nom Formel : Acide (E)-2-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] vinylphosphonique

Formule brut : C₆H₁₂NPO₃

Masse molaire : 177.14 g/mol

Aspect : cristaux blancs

Point de fusion : déc. 220 °C

I.R (KBr): 2950, 2735, 1670, 1615, 1448, 1228-650 cm⁻¹

¹H RMN (D₂O) δ :

- 1.75-2.22 (m, 4H, **H3-H4**)
- 3.27 (m, 2H, **H2**)
- 4.09-4.14 (m, 1H, **H5**)
- 6.05 (t, J = 16.5Hz, **H6**)
- 6.31 (ddd, J_{HP} = 20.1Hz, J_{H Trans} = 18.8Hz, J_{HH} = 6.8Hz, **H7**)

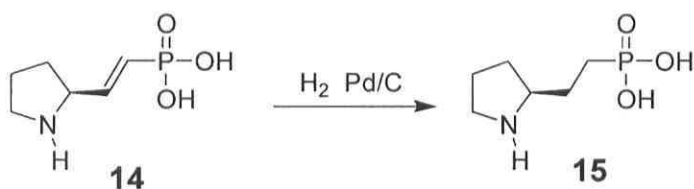
¹³C RMN (D₂O) δ :

- 25.9 (**C3**)
- 32.4 (**C4**)
- 47.9 (**C2**)
- 64.2 (d, J = 22.7Hz, **C5**)
- 132.0 (d, J = 173.5Hz, **C7**)

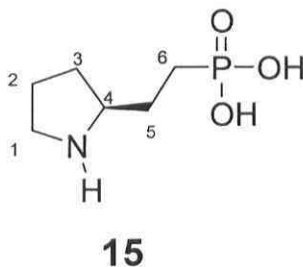
140.2 (C6)

 ^{31}P RMN (D_2O) δ : 12.9

3.3.3 Formation de l'acide 2-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] éthylphosphonique



Le composé **14** (500 mg, 2.82 mmol) est dissous dans le méthanol (60 ml) et on y ajoute le $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ 20% (80 mg) et le mélange est chargé d'hydrogène à une pression de 40psi pour 24 heures. La solution est ensuite filtrée sur celite. Le filtrat est évaporé sous pression réduite et le résidu est recristallisé dans un mélange éthanol-eau pour donner **15** (430 mg, 85%) sous forme de cristaux blancs.



Nom formel : acide 2-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] éthylphosphonique

Formule brut : $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{NPO}_3$

Masse molaire : 179.16 g/mol

Aspect : solide blanc

Point de fusion : déc. 262-265 °C

$[\alpha]_D : -45,6^0$ ($c = 0.59$, H_2O)

I.R. (KBr) : 2939, 2734, 1615, 1445, 1226-650 cm^{-1}

1H RMN (D_2O) δ :
 1.58-2.26 (m, 8H, **H2-H3-H5-H6**)
 3.28 (t, $J = 7.5Hz$, 2H, **H1**)
 3.52-3.62 (m, 1H, **H4**)

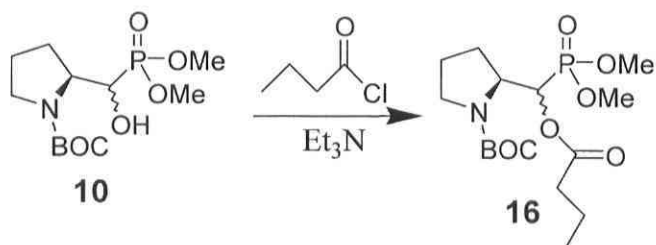
^{13}C RMN (D_2O) δ :
 25.8 (**C2**)
 27.9 (d, $J = 148.4Hz$, **C6**)
 28.8 (d, $J = 10.4Hz$, **C5**)
 32.2 (**C3**)
 47.9 (**C1**)
 64.0 (d, $J = 17.35Hz$, **C4**)

^{31}P RMN (D_2O) δ : 26.6

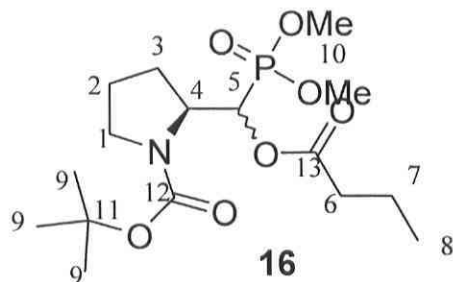
3.4 Formation de l'acide (*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique

3.4.1 Synthèse chimioenzymatique

3.4.1.1 Formation du *tert*-butyl-(2*S*)-(diméthoxyphosphoryl)(pyrrolidin-2-yl)méthylbutyrate-1-carboxylate



L'hydroxyphosphonate **10** (1.35 g , 4.4 mmol) est dissous dans 5 ml de CH_2Cl_2 à 0°C , puis la triéthylamine (1.83 ml , 13.1 mmol) et le chlorure de butyryle (1.15 ml , 10.9 mmol) y sont ensuite ajoutés. On laisse le mélange atteindre la température de la pièce et la réaction est suivie par CCM jusqu'à disparition complète de l'hydroxyphosphonate. La réaction est complétée par l'ajout d'un excès de chlorure de butyryle et de triéthylamine. Le mélange réactionnel est ensuite transféré dans une ampoule à extraction contenant 20 ml de CH_2Cl_2 et est lavé avec 2 X HCl 1N, 2 X NaHCO_3 sat , et 1 X NaCl sat ; la phase organique est ensuite séchée avec MgSO_4 et évaporée sous pression réduite pour donner le butyryloxyphosphonate **16** (1.47 g , 89%) sous forme d'une huile jaunâtre.



Nom formel : *tert*-butyl-(2S)-(diméthoxyphosphoryl) (pyrrolidin-2-yl) méthylbutyrate-1-carboxylate

Formule brut : $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{NPO}_7$

Masse molaire : 379.39 g/mol

Aspect : huile jaunâtre

I.R. (NaCl) : 2928, 2878, 1752, 1472, 1013-766 cm^{-1}

Analyse du diastéréoisomères majoritaire (*S,R*) :

RMN ^1H (CDCl_3) δ :

- 0.83 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, 3H, **H8**)
- 1.33(s, 9H, **H9**)
- 1.51-1.58 (m, 2H, **H7**)
- 1.58-1.91 (m, 4H, **H2-H3**)
- 2.20-2.25 (m, 2H, **H6**)
- 3.00-3.45 (m, 3H, **H1-H4**)
- 3.63-3.69 (m, 6H, **H10**)
- 5.97 (d, $J = 11.8\text{Hz}$, 1H, **H5**)

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ :

- 13.9 (**C8**)
- 18.3 (**C7**)
- 23.4 (**C2**)
- 28.1 (**C3**)
- 28.6 (**C9**)
- 35.7 (**C6**)
- 46.6 (**C1**)
- 53.2 (**C4**)
- 56.7 (**C10**)
- 66.7, d, $J = 123.2\text{Hz}$ (**C5**)
- 80.1 (**C11**)
- 153.7 (**C12**)
- 170.9 (**C13**)

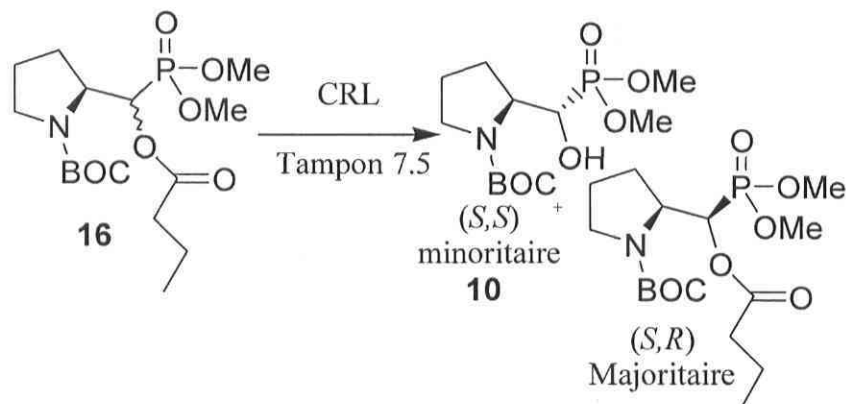
RMN ^{31}P (CDCl_3) δ :

- 21.74 (*S,S*)
- 22.44 (*S,R*)

Masse exacte (IC : NH_3) :

- $m/z_{\text{calculé}} = 380.1838$
- $m/z_{\text{expérimentale}} = 380.1841$

3.4.1.2 Hydrolyse enzymatique



Le composé **16** (1 g, 2.64 mmol) est mis en émulsion dans un tampon phosphate (5 ml) pH :7.5 en présence de la lipase de *Candida rugosa* (100 mg)⁷⁵. La réaction est suivie par chromatographie en phase gazeuse, jusqu'à disparition complète du diastéréoisomère minoritaire du butyryloxyphosphonate (*syn*). La réaction est tamponnée par ajout d'une solution de NaOH 1N. Une fois la réaction terminée, on transfère le mélange dans une ampoule à extraction, on extrait au CH₂Cl₂ et la phase organique est alors séchée et évaporée. Le butyryloxyphosphonate **16** et l'hydroxyphosphonate **10** sont séparés par chromatographie sur silice (AcOEt 100%) pour donner l'hydroxyphosphonate (*S,S*) et le butyryloxyphosphonate (*S,R*), sous forme de diastéréoisomères purs.

Analyse de l'hydrolyse enzymatique par chromatographie gazeuse en phase chirale

A) Méthode expérimentale

- Injecteur : manuel
- Température : 180°C
- Split ratio : 100/1
- Solution d'injection : 1µL, concentration : 10mg/ml CH₂Cl₂
- Colonne : Astec71030 (BDM 30M)
- Débit : 1,5ml/min

- Détecteur : FID
- Température : 250°C

B) Résultats d'analyses

Temps de rétention des diastéréoisomères (*S,R*) $t_{r(S,R)}$ et (*S,S*) $t_{r(S,S)}$

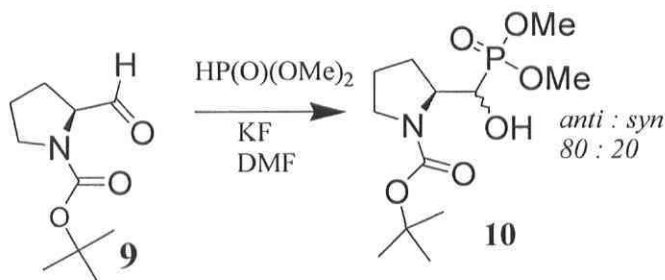
$t_{r(S,R)}$: 27.7 min

$t_{r(S,S)}$: 25.9 min

La réaction se poursuit jusqu'à disparition complète du diastéréoisomères (*S,S*)

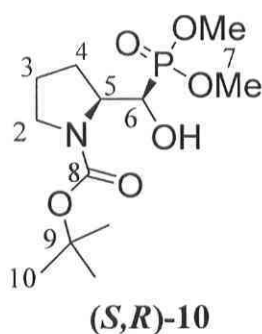
3.4.2 Isolement par cristallisation fractionnée

3.4.2.1 Formation du *tert*-butyl-(2*S*)-2-[(diméthoxyphosphoryl)(hydroxyméthyl)méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate



A une solution de **9** (7 g, 35 mmol) dissous dans le DMF (150 ml) à 0 °C, on ajoute le phosphite de diméthyle (3.2ml, 35mmol) et le fluorure de potassium (10.2 g, 175 mmol). On laisse le mélange réactionnel atteindre la température de la pièce et l'agitation se poursuit toute la nuit ou jusqu'à disparition complète du produit de départ sur CCM. Les solides sont alors filtrés et le filtrat évaporé sous pression réduite. Le résidu est alors repris dans 50ml de CH_2Cl_2 , transféré dans une ampoule à extraction et

lavé avec une solution d'acide citrique 10% (50 ml), H₂O (50 ml) et de NaCl_{sat} (50 ml). La phase organique est ensuite séchée avec MgSO₄ et évaporée sous pression réduite pour donner le composé **10** (9.97 g, 92 %) sous forme d'une cire blanche sous forme d'un mélange de diastéréoisomères (*S,R*) / (*S,S*) de 75/25 à 80/20¹⁰⁰. Le produit peut être recristallisé dans l'hexane, pour obtenir après deux recristallisations le diastéréoisomère (*S,R*) avec un excès diastéréoisomère de 97 %. En utilisant le N-(Boc)-D-prolinal comme produit de départ il est possible d'obtenir de cette façon le diastéréoisomère (*R,S*) avec un e.d. de 91 %. Ces deux molécules ayant un excès énantiomère supérieur à 99 %.



Nom formel : (2*S*)-2-[(diméthoxyphosphoryl)(hydroxyméthyl) méthyl] pyrrolidine-1-carboxylate de *tert*-butyle

Formule brut : C₁₂H₂₄NO₆P

Masse molaire : 309.2995

Aspect : solide blanc

Point de fusion : 74-77°C

[α]_D²² : -58.81 (c = 1.64, CHCl₃) (*S,R*)-**10**

[α]_D²² : 56.13 (c = 1.60, CHCl₃) (*R,S*)-**10**

I.R. (NaCl) : 3340, 2977, 1690, 1401, 1251, 1162, 1047 cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃) δ : analyse du diastéréoisomères majoritaire (*anti*)

1.46 (s, 9H, **H10**)
 1.80-2.20 (m, 4H, **H3** et **H4**)
 3.28-3.48 (m, 2H, **H2**)
 3.75-3.88 (m, 7H, **H5** et **H7**)
 4.20-4.35 (m, 1H, **H6**)

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ :
 24.3 (**C3**)
 28.5 (**C4**)
 28.6 (**C10**)
 47.4 (**C2**)
 53.3 (d, $J = 6.9\text{Hz}$) (**C7**)
 59.2 (**C5**)
 73.2 (d, $J = 158.8\text{Hz}$) (**C6**)
 81.4 (**C9**)
 158.8 (**C8**)

RMN ^{31}P (CDCl_3) δ :
 24.90 ppm (*S,R*) et (*R,S*)
 24.31 ppm (*S,S*) et (*R,R*)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 310.1419 (\text{MH}^+)$
 $m/z_{\text{expérimentale}} = 310.1424 (\text{MH}^+)$

3.4.2.2 Détermination des excès diastéréoisomère et énantiomère par chromatographie liquide à haute performance en phase stationnaire chirale.

Séparation des diastéréoisomères (*S,R*) et (*S,S*)

A) Méthode expérimentale

- Injecteur : automatique
- Solution d'injection : volume = 10 μL , concentration = 10mg/ml

- Colonne : Chiracel OD-H
- Débit : 0.9ml/min
- Phase mobile : Hexane / Isopropanol = 95 / 5
- Détecteur UV / visible
- Longueur d'onde : 200 nm

B) Résultats expérimentaux

Temps de rétention t_r des 4 diastéréoisomères des molécules (S,R) -**10** ($t_{r(S,R)}$), (S,S) -**10** ($t_{r(S,S)}$), (R,S) -**10** ($t_{r(R,S)}$) et (R,R) -**10** ($t_{r(R,R)}$). Aires sous la courbe respectives ($A_{(S,R)}$, $A_{(S,S)}$, $A_{(R,S)}$, $A_{(R,R)}$) et excès diastéréoisomères mesurés (%d.e.).

	(S,R) - 10	(S,S) - 10	(R,S) - 10	(R,R) - 10
t_r	10,2	13,8	9,6	11,1
A	19556,8	324,072	20192,7	1001,85
%d.e.	96,7	-	90,5	-

Séparation des énantiomères (S,R) et (R,S)

A) Méthode expérimentale

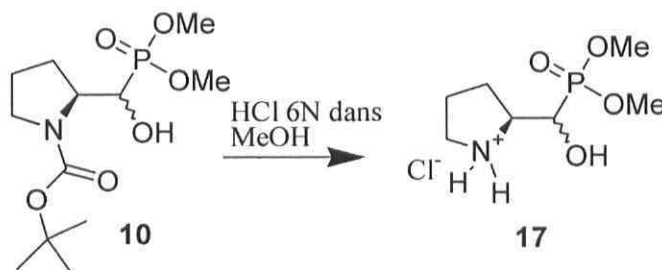
- Injecteur : automatique
- Solution d'injection : volume = 10 μ L, concentration = 10mg/ml
- Colonne : Chiracel OD-H
- Débit : 0.85 ml/min
- Phase mobile : Hexane / Isopropanol = 98 / 2
- Détecteur UV / visible
- Longueur d'onde : 200 nm

B) Résultats expérimentaux

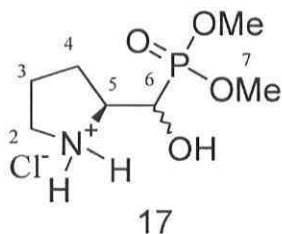
Temps de rétentions des 2 énantiomères de la molécules (*S,R*)-**10** ($t_{r(S,R)}$), et (*R,S*)-**10** ($t_{r(R,S)}$). Aires sous la courbe respectives ($A_{(S,R)}$ et $A_{(R,S)}$, et excès énantiomères mesurés (% e.e)

	10 (<i>S,R</i>)	10 (<i>R,S</i>)	10 (<i>S,R</i>) + 10 (<i>R,S</i>)
$t_{r(S,R)}$	40,4	-	40,5
$t_{r(R,S)}$	-	42,9	42,9
$A_{(S,R)}$	2659,38	n/d	2965,18
$A_{(R,S)}$	n/d	1998,63	4819,58
% e.e.	≥98	≥98	-

3.4.2.3 Formation du chlorure de (2*S*)-2-[(diméthoxyphosphoryl) (hydroxy)méthyl] pyrrolidinium



Le composé **10** (6 g, 19.4 mmol) est dissous dans une solution de HCl 6N saturée en méthanol (100 ml) et le mélange est agité pour 30 minutes. Les solvants sont ensuite évaporés sous pression réduite pour donner le composé **17** (4.34 g, 91%) sous forme d'un solide blanc amorphe.



Nom formel : chlorure de (2*S*)-pyrrolidinium-2-[(diméthoxyphosphoryle) (hydroxy)méthyl]

Formule brut : C₇H₁₇NPO₄Cl

Masse molaire : 245.64 g/mol

Aspect : solide blanc amorphe

I.R. (KBr) : 3300, 2969, 2557, 1639, 1448, 1204-543 cm⁻¹

RMN ¹H (D₂O) δ :

- 2.00-2.22 (m, 4H, **H3** et **H4**)
- 3.33-3.38 (m, 2H, **H2**)
- 3.86 (d, J = 3.87Hz, 3H, **H7**)
- 3.90 (d J = 3.90Hz, 3H, **H7**)
- 3.93-3.97 (m, 1H, **H5**)
- 4.56 (dd, J_{HP} = 11.0Hz, J_{HH} = 4.0Hz, 1H, **H6**)

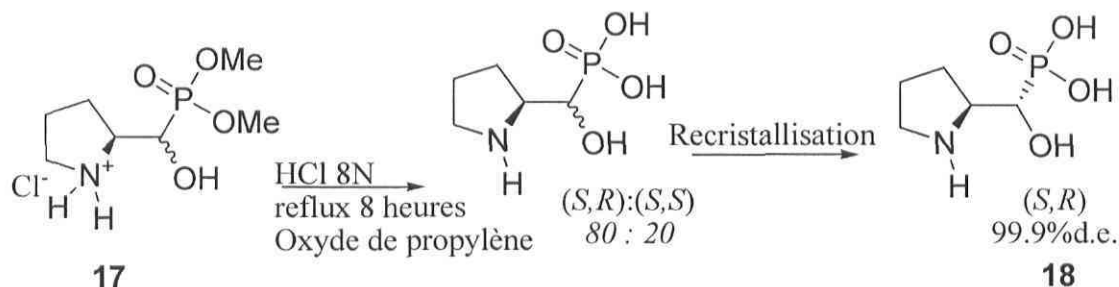
RMN ¹³C (D₂O) δ :

- 26.3 (**C3**)
- 27.4 (**C4**)
- 48.9 (**C2**)
- 57.0 (d, J = 12.8Hz, **C7**)
- 57.3 (d, J = 8.0Hz, **C7**)
- 62.5 (d, J = 10.2Hz, **C5**)
- 66.8 (d, J = 167.7Hz, **C6**)

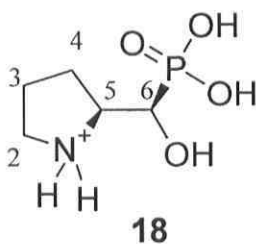
RMN ³¹P (D₂O) δ :

- 26.5 (*S,R*)
- 27.3 (*S,S*)

3.4.2.4 Formation de l'acide (*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique



Le composé **17** (3 g, 12.2 mmol) est mis à reflux dans $\text{HCl } 8\text{N}$ (100 ml) durant 8 heures. Les solvants sont ensuite évaporés sous pression réduite, le résidu est alors repris dans 50 ml d'éthanol anhydre et le produit est précipité par l'ajout d'oxyde de propylène (2 ml). Le produit obtenu sous forme de poudre blanche est ensuite recristallisé dans eau-alcool isopropylique¹⁰⁰. Le solide est alors filtré pour générer le composé **18** sous forme de cristaux blanc et d'un diastéréoisomère pur (1.42 g, 64 %). Le faible rendement s'attribue à la quantité considérable de diastéréoisomère (*S,S*) enrichie restant dans le filtrat.



Nom formel : acide (*R*)-hydroxy [(2*S*)-pyrrolidin-2-yl] méthylphosphonique

Formule brut : $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{NPO}_4$

Masse molaire : 181.13 g/mol

Aspect : Cristaux blanc

Point de fusion : dec. 223-225 °C

$[\alpha]_D$: -36.9° (c = 1.0, H₂O)

I.R. (KBr) : 2761, 1612, 1457, 1417, 1364, 1257-756, 636, 556 cm⁻¹

RMN ¹H (D₂O) δ :

- 1.97-2.18 (m, 4H, **H3-H4**)
- 3.30 (t, J = 6.4Hz, 2H, **H2**)
- 3.82-3.93 (m, 1H, **H5**)
- 4.06 (dd, J_{HP} = 11.6Hz, J_{HH} = 3.9Hz, 1H, **H6**)

RMN ¹³C (D₂O) δ :

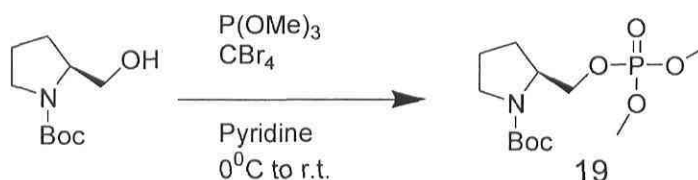
- 26.4 (**C3**)
- 27.3 (**C4**)
- 42.3 (**C2**)
- 64.2 (d, J = 8.8Hz) (**C5**)
- 69.0 (d, J = 154.5Hz) (**C6**)

RMN ³¹P (D₂O) δ :

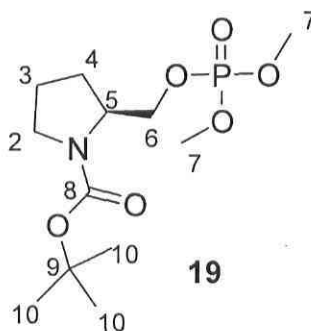
- 17.72 ppm

3.5 Synthèse de l'acide (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate

3.5.1 Formation du (2*S*)-2{[(diméthoxyphosphoryl) oxy] methyl}pyrrolidine-1-carboxylate de *tert*-butyle



Le N-(Boc)-L-prolinol (7 g, 34.8 mmol) et le CBr₄ (14.4 g, 43.5 mmol) sont dissous dans 25 ml de pyridine anhydre et agités sous azote à 0 °C. Le phosphite de triméthyle (5.75 ml, 48.7 mmol) est ajouté lentement et on laisse la réaction atteindre la température de la pièce (du CHCl₃ peut alors être ajouté (30 ml) pour faciliter l'agitation). La réaction est suivie par CCM jusqu'à disparition du N-(Boc)-L-prolinol. Le mélange réactionnel est ensuite transféré dans une ampoule à extraction contenant 200 ml d'éther éthylique et la phase organique est lavée avec HCl 1N (3 X 50 ml), NaHCO₃ (1 X 50 ml) et NaCl_{sat} (1 X 50 ml). La phase organique est alors séchée avec MgSO₄ et évaporée sous pression réduite pour donner le composé **19**, sous forme d'une huile jaune-brune contenant du bromoforme (CHBr₃) comme impureté⁸⁴. Le produit peut-être purifié par chromatographie sur silice (Hexane/AcOEt 3 :7) pour obtenir une huile incolore.



Nom formel : (2*S*)-2{[(diméthoxyphosphoryl)oxy]méthyl}pyrrolidine-1-carboxylate de *tert*-butyle

Formule brut : C₁₂H₂₄NPO₆

Masse molaire : 309.30 g/mol

Aspect : huile incolore

[α]_D : -40.4⁰ (c = 1.3, CHCl₃)

I.R. (NaCl) : 3491, 2969, 2881, 1696, 1460-544 cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃) δ :

- 1.36 (s, 9H, **H10**)
- 1.72-1.92 (m, 4H, **H3-H4**)
- 3.18-3.34 (m, 2H, **H2**)
- 3.66 (d, 6H, J=5.6Hz, **H7**)
- 3.76-4.04 (m, 3H, **H5-H6**)

Bromoforme RMN ¹H (CDCl₃) δ : 6.8 ppm

RMN ¹³C (CDCl₃) δ :

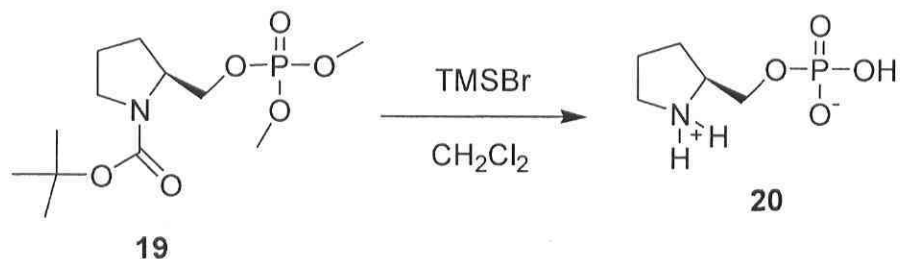
- 23.5 (**C3**)
- 28.1 (**C4**)
- 28.6 (**C10**)
- 46.8 (**C2**)
- 54.4 (d, J = 5.8Hz, **C5**)
- 56.5 (d, J = 9.2Hz, **C7**)
- 67.8 (**C6**)
- 79.9 (**C9**)
- 154.5 (**C8**)

RMN ³¹P (CDCl₃) δ : 1.79

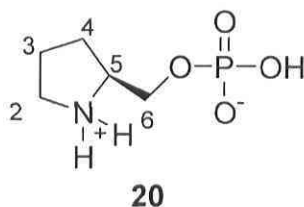
Masse exacte (IC : NH₃) :

- m/z_{calculé} = 310.1419
- m/z_{expérimentale} = 310.1424

3.5.2 Formation de l'acide (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate



Le composé **19** impur (17 g, 34.8 mmol) est dissous dans 50 ml de CH₂Cl₂ anhydre, à 0 °C sous azote. Le TMSBr (15.7 ml, 121.58 mmol) y est ajouté lentement et on laisse la réaction atteindre la température de la pièce. La réaction est suivie par CCM jusqu'à disparition du produit de départ (2 heures). La réaction est terminée par l'ajout de 50 ml d'eau et l'agitation se poursuit 10 minutes supplémentaires. Le mélange est ensuite transféré dans une ampoule à extraction et la phase aqueuse est lavée au dichlorométhane. Les phases organiques combinées sont ensuite extraites à l'eau. Les phases aqueuses sont combinées et évaporées sous pression réduite pour obtenir le produit brut sous forme d'une huile brune. L'huile est ensuite décolorée en utilisant du charbon activé en reprenant dans un mélange eau-méthanol (1 : 3) et en filtrant sur Celite pour donner le composé **20** sous forme d'un solide blanc (5.5 g) avec 88% de rendement global pour les deux étapes.



Nom formel : (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl dihydrogène phosphate

Formule brut : C₅H₁₂NPO₄

Masse molaire : 181.13

Aspect : solide blanc

Point de Fusion : déc. 145 °C

[α]_D = 8.4° (c = 1.0, H₂O)

I.R. (KBr) : 3365, 1683, 1521, 1417, 1098-633 cm⁻¹

RMN ¹H (D₂O) δ :

- 1.36-1.45 (m, 1H, **H3**)
- 1.56-1.82 (m, 3H, **H3-H4**)
- 2.95 (t, 2H, J=7.34Hz, **H2**)
- 3.50-3.57 (m, 1H, **H5**)
- 3.64-3.70 (m, 1H, **H6**)
- 3.83-3.88 (m, 1H, **H6**)

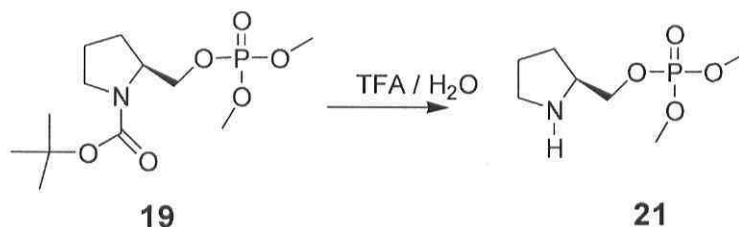
RMN ¹³C (D₂O) δ :

- 23.3 (**C3**)
- 25.5 (**C4**)
- 45.9 (**C2**)
- 59.6 (d, J=3.8Hz) (**C5**)
- 64.4 (d, J=2.3Hz) (**C6**)

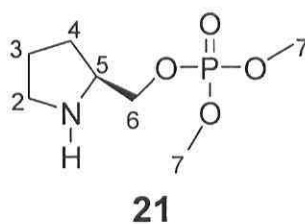
RMN ³¹P (D₂O) δ

2.31

3.5.3 Formation du (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyle phosphate de diméthyle



Le composé **19** impur (17 g, 34.8 mmol) est placé dans un ballon contenant 50 ml d'acide trifluoroacétique et 10 ml d'eau. Le mélange réactionnel est agité jusqu'à disparition complète du réactif de départ par CCM. Le mélange réactionnel est alors transféré dans une ampoule à extraction où il est lavé avec 2 X 10 ml d'éther, enlevant ainsi les traces de CHBr_3 de l'étape précédente. La phase aqueuse est alors rendue basique par l'ajout de NaOH 6N, saturée avec NaCl et extraite au dichlorométhane. La phase organique est alors séchée avec MgSO_4 et évaporée sous pression réduite pour donner le composé **21** (6.25 g) avec 86% de rendement global pour les deux étapes. Le composé est sous forme d'une huile qui peut être décolorée au besoin à l'aide du charbon activé pour donner une huile jaune pâle.



Nom formel : (2*S*)-pyrrolidin-2-ylméthyl phosphate de diméthyle

Formule brut : $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NPO}_4$

Masse molaire : 209.18 g/mol

Aspect : huile jaunâtre

$[\alpha]_D = -3.76^0$ ($c = 1.6$, H_2O)

I.R. (NaCl) : 3490, 2970, 2885, 1460, 1066-656 cm^{-1}

RMN¹H (CDCl₃) δ :

- 1.34-1.44 (m, 1H, **H3**)
- 1.64-1.86 (m 3H, **H3-H4**)
- 2.49 (1H, **H1**)
- 2.81-2.95 (m 2H, **H2**)
- 3.29-3.38 (m, 1H, **H5**)
- 3.71 (d, J = 11Hz, 6H, **H7**)
- 3.80-3.96 (m, 2H, **H6**)

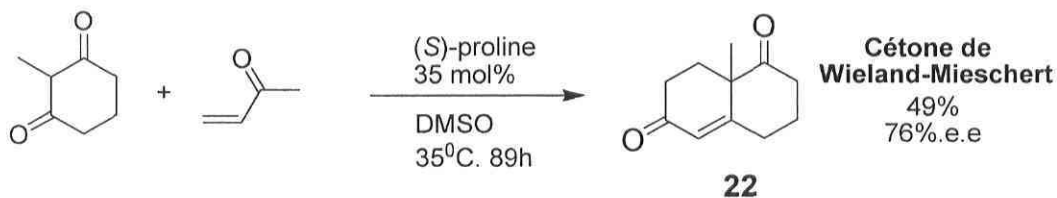
RMN ¹³C (CDCl₃) δ :

- 25.1 (**C3**)
- 27.4 (**C4**)
- 46.4 (**C2**)
- 54.2 (d, J = 5.9Hz) (**C5**)
- 57.6 (d, J = 7.1Hz) (**C7**),
- 70.7 (d, J = 5.9 Hz) (**C6**)

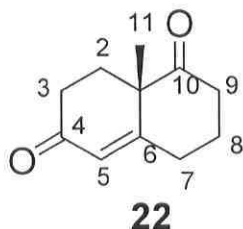
RMN ³¹P (CDCl₃) δ : 1.92 ppm

3.6 Réaction d'annélation de Robinson catalysée par les différentes pyrrolidines

3.6.1 Procédure typique pour tester l'efficacité d'un catalyseur lors de l'annélation de Robinson.



Une solution de L-proline (0.32 g, 2.8 mmol) et de 2-méthyl-1,3-cyclohexanedione (1 g, 7.9 mmol) dans 50 ml de DMSO est agitée sous azote à 35 °C jusqu'à ce que la proline soit complètement dissoute. La méthylvinylcétone (0.99 ml, 11.9 mmol) fraîchement distillée est alors ajoutée et le mélange est agité à cette température pour 89 heures. Le mélange est alors transférée dans une ampoule à extraction contenant 100 ml d'une solution saturée de NH_4Cl et 100 ml d'AcOEt. Les deux phases sont séparées par ajout d'une solution saturée de NaCl et la phase aqueuse est extraite plusieurs fois à l'AcOEt. Les phases organiques combinées sont ensuite séchées et évaporées sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur silice en utilisant un mélange hexane : AcOEt (3 : 2 puis 1 : 1) pour obtenir la cétone de Wieland-Mieschert (0.69 g, 3.87 mmol) avec un rendement de 49 % et un excès énantiomère de 76 %⁹⁷.



Nom formel : [3,4,8,8a-tétrahydro-8a-méthyl-1,6(2*H*, 7*H*)-naphtalènedione]

Formule brut : $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_2$

Masse molaire : 179.24 g/mol

Aspect : huile incolore

RMN¹H (CDCl₃) δ :	1.42 (s, 3H, H11)
	1.60-1.79 (m, 2H, H8)
	2.05-2.20 (m, 3H, H2)
	2.40-2.57 (m, 4H, H7-H9)
	2.65-2.80 (m, 2H, H3)
	5.80 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H, H5)

3.6.2 Détermination de l'excès énantiomère de la cétone de Wieland Mieschert par chromatographie liquide à haute performance en phase stationnaire chirale.

A) Méthode expérimentale

- Injecteur : automatique
- Solution d'injection : volume = 2 μ L, concentration = 10mg/ml
- Colonne : Chiracel OD-H
- Débit : 0.85 ml/min
- Phase mobile : Hexane / Isopropanol = 98 / 2
- Détecteur UV / visible
- Longueur d'onde : 250 nm

B) Résultats expérimentaux

Temps de rétention des 2 énantiomères de la molécules (*S,R*) ($t_{r(S,R)}$), et (*R,S*) ($t_{r(R,S)}$).
 Aires sous la courbe respectives ($A_{(S,R)}$ et $A_{(R,S)}$), et excès énantiomères mesurés (% e.e)
 pour l'analyse en phase chirale du composé **22**.

Catalyseur	$t_{r(R)}$	$A_{(R)}$	$t_{r(S)}$	$A_{(S)}$	% e.e	% rendement
D-Proline	17,8	11034,2	17,0	8728,6	78,1	48
3	17,8	11034,2	16,8	32542,6	49,4	52
18	18,0	701,7	17,0	5261,2	76,5	44
15	17,7	771,0	16,9	2022,6	44,8	40
20*	-	-	-	-	-	-

* Catalyseur insoluble

Références

1. R. Manteiga; D. L. Park; A. S. S. Risk, *Reviews in Environmental contamination toxicology*, **150**.
2. S. Baj; T. Mroczek, *Biomed. Chromatogr.*, **18**, 745 (2004).
3. B. List, *Synlett*, 1675 (2001).
4. A. Melhaoui; N. Rakba, *Toxicon*, **38**, 1389 (2000).
5. www.drugs.com.
6. L. W. Dalton, *Chemical & Engineering News*, **82**, 59 (2004).
7. T. H. Jones; R. J. Highet; A. W. Don; M. S. Blum, *J. Org. Chem.*, **51**, 2712 (1986).
8. J. Chastanet; G. Roussi, *J. Org. Chem.*, **53**, 3808 (1988).
9. C. Wittland; M. Arend; N. Risch, *Synthesis*, 367 (1996).
10. Y. Cancho; J. Martin; A. Delgado; J. Moreto, *Tetrahedron*, **54**, 1221 (1998).
11. J. E. Bäckvall; H. E. Schink; Z. D. Renzo, *J. Org. Chem.*, **55**, 826 (1990).
12. K. Shiosaki; H. Rapoport, *J. Org. Chem.*, **50**, 1229 (1985).
13. N. Machinaga; C. Kibayashi, *J. Org. Chem.*, **56**, 2294 (1991).
14. P. W. H. Chan; I. F. Cottrell; M. G. Moloney, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 5891 (1997).
15. R. R. Fraser; S. Passannanti, *Synthesis*, 540 (1976).
16. B. Hauer; M. Breuer; K. Ditrich; T. Habicher, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 788 (2004).
17. E. L. Eliel; S. H. Wilen, *Stereochemistry of organic compounds*, Wiley-Interscience, New-York, 1994.
18. K. M. Koeller; C. H. Wong, *Nature*, **409**, 232 (2001).
19. D. Rozell, *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 2253 (1999).
20. J. T. Sime, *J. Chem. Educ.*, **76**, 1658 (1999).
21. A. Zaks, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **5**, 130 (2001).
22. A. J. J. Straathof; S. Panke; A. Schmid, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **13**, 548 (2002).
23. C. Wabdney; A. Liese; D. Kihumbu, *Org. Process Res. Dev.*, **4**, 286 (2000).
24. S. D. Bull; D. E. J. E. Robinson, *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 2757 (2004).
25. U. T. Bornscheuer; R. J. Kazlauskas, *Hydrolases in organic synthesis*, **1999**, Wiley-VCH, New-York.

26. N. M. Shaw; K. T. Robins; A., Kiener, *Adv. Synth. Catal.*, **4**, 345 (2003).
27. M. Peterson; M. Sauter, *Chimia*, **53**, 608 (1999).
28. E. Eichhorn; J. P. Roduit; N. Shaw; K. Heizmann; A. Kiener, *Tetrahedron: Asymmetry*, **8**, 2533 (1997) .
29. E. Battistel; D. Bianchi; P. Cesti; C. Pina; *Biotechnol. Bioeng.*, **38**, 659 (1991).
30. A. Zaks; D. R. Dodds, *Drugs Discovery today*, **2** (12), 513 (1997) .
31. A. Franck; C. Rüchardt, *Chem. Lett.* 1431 (1984).
32. V. Chavane, *General. Ann. Chim.*, **4**, 352 (1949).
33. M. Huriguchi; M. Kantadsu, *Nature*, **184**, 901 (1959).
34. R. L. Hilderbrand, *The Role of Phosphonates in Living Systems*, CRC Press, Boca Raton, Florida (1982).
35. M. I. Kabachnik; T. Y. Medved; N. M. Diatlyova; M. V. Rudomino, *Usp. Khim.*, **43**, 1554 (1974).
36. K. Praier; J. Rachon, *Z. Chem.*, **15**, 209 (1975).
37. D. Redmore, *Topics in Phosphorus Chemistry Vol III*, Interscience Ed., New-York-London, 515 (1976).
38. E. N. Rizkalla, *Rev. Inorg. Chem.*, **5**, 223 (1983).
39. J. Uziel; J. P. Genet; *Zh. Org. Chem.*, **33**, 1605 (1997).
40. P. Kafarsky; B. Lejczak, *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **1**, 301 (2001).
41. F. R. Atherton; C. H. Hassall; R. W. Lambert, *J. Med. Chem.*, **29**, 29 (1986).
42. S. De Lombaert; L. Blanchard; T. Tan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **5**, 145 (1995).
43. P. Kafarski; B. Lejczak, *Current Med. Chem.: Anti-Cancer Agents*, **1**, 301 (2001).
44. J. Emsley; D. Hall, *The chemistry of phosphorus*, Harper and Row, London (1976).
45. E. N. Jacobsen; P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 654 (1981).
46. E. W. Petrillo; E. R. Spitzmiller, *Tetrahedron Lett.*, **20**, 4929 (1979).
47. K. Ogawa; Y. Nomura; Y. Takeuchi; S. Tomoda, *Chem. Lett.*, 693 (1977).
48. A. R. Katritzky; B. Yang; P. J. Stell. *J. Org. Chem.*, **64**, 1979 (1999).
49. C. Maury; Q. Wang; T. Charbaoui; J. Royer; H.D. Husson, *Tetrahedron*, **53**, 3627 (1997).
50. A. K. Bhattacharya; G. Thyagarajan, *Chem. Review*, **81**, 415 (1981).
51. M. Amedjkouh; K. Wersterlund; *Tetrahedron Lett.*, **45**, 5175 (2004).

52. B. Lejczak; P. Kafarski; P. Mastalerz, *Beitrage zur Wirkstoffforschung*, **25** (1985).
53. F. R. Atherton; C. H. Hassall; R. W. Lambert, *J. Med. Chem.*, **29**, 29 (1986).
54. E. K. Baylis; C. D. Campbell; J. D. Dinwall; W. Pickles, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, **171**, (1981).
55. L. Zupezyk-Subotowska; P. Kafarski; J. Kowakik; B. Lejczak; P. Mastarlez, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, **171**, 187 (1982).
56. V. A. Solodenko; Y. V. Mitin; V. P. Kukhar, *Zh. Obshch. Khim.*, **58**, 700 (1988).
57. V. A. Solodenko; V. P. Kukhar, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 6917 (1989).
58. I. Bissane; F. Quazzi; M. L. Roumestant, *Peptides*, **90**, 438 (1991).
59. D. Sykora, I. Viny; P. Hermann; F. Kemer, *J. Chromatogr.*, **A665**, 59 (1994).
60. S. A. Bajusz; A. Q. Ronani; J. I. Szekely; A. Yuran; A. Juhasz; A. Pathy, *FEBS Lett.*, **117**, 308 (1980).
61. P. Hermann; I. Lukes; P. Vojtisek; I. Cinarova, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2611 (1995).
62. B. Lejczak; P. Kafarski; P. Mastalerz, *Can. J. Chem*, **60**, 3081 (1982).
63. B. Lejczak; P. Kafarski; P. Mastalerz, *J. Chromatography*, **324**, 455 (1985).
64. T. W. Greene; P. G. M. Wuts, *Protective groups in Organic Synthesis 2nd Ed.* Wiley-Interscience, New-York (1991).
65. S. M. Weinreb; S. D. Taylor, *J. Org. Chem.*, **61**, 125 (1996).
66. P. Savignac; B. Lorga, *Modern Phosphonate Chemistry*, CRC Presss, New-York (2003).
67. N. Langlois; A. Rojas-Rousseau; O. Decavallas, *Tetrahedron: Asymmetry*, **4**, 1095 (1996)
68. t. I. Hullar, *J. Med. Chem.*, **12**, 58 (1969).
69. F. Dellaria; G. R. Maki; H. H. Stein; J. Cohen; T. J. Perun, *J. Med..Chem.*, 534 (1990).
70. B. Stowasser; K. H. Budt; L. Jian-Qi; A. Peyman, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 6625 (1992).
71. P. Kafarsky; P. Wieczorek; B. Leczak; R. Gancarz; J. Zygmunt, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 2989 (1996).
72. A. Taylor; C. Z. Peltier; F. J. Torre; N. Hakamian, *Biochemistry*, **32**, 784 (1993).

73. D. V. Patel; K. Rielly-Gauvin; D. E. Ryono; E. W. Petrillo, Jr, *J. Med. Chem.*, **38**, 4557 (1995).
74. P. Van der Veken; K. Senten; I. Kertész; A. Haemers; K. Augustyns, *Tetrahedron Lett.*, **44**, 969 (2003).
75. C. Y. Yuan, Y. H. Zhang, C. F. Xu, J. F. Li, *Chin. J. Chem.* **21**, 883 (2003).
76. R. J. Kazlauskas; A. N. E. Weissfloh; A. T. Rappaport; L. A. Cuccia, *J. Org. Chem.*, **56**, 2656 (1991).
77. W. Clegg, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, 3291 (1992).
78. G. V. Polyanchuk, *Zh. Strukt. Khim*, **26**, 109 (1985).
79. J. Nieshalk; A.S. Batsanov; O. Hagan; J. A. K. Howard, *Tetrahedron*, **52**, 165 (1996).
80. M. K. Jacobson; D. W. Koh; D. L. Coyle; N. Mehta; S. Ramsinghani; H. Kim; J. T. Slama, *J. Med. Chem.*, **46**, 4322 (2003) .
81. P. D. Boyer; E. G. Krebs, *The Enzymes*, 17A, Academic press, New-York, (1986).
82. M. Uchiyama; Y. Aso; R. Noyuri, *J. Org. Chem.*, **58**, 373 (1993).
83. P. M. Chouinard; P. A. Bartlett, *J. Org. Chem.*, **51**, 75 (1986).
84. V. B. Oza; R. C. Corcoran, *J. Org. Chem.*, **60**, 3680 (1995).
85. A. Cordova; C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 7749 (2001).
86. S. Bahmanyar; K. N. Houk; H. J. Martin; B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 2475 (2003).
87. A. Bøgevig; K. A. Jørgensen, *Chem. Comm.*, 620 (2002).
88. B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 9336, (2000).
89. N. S. Chowdari; D. B. Ramachary, *Synlett*, 1906 (2003).
90. B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 9336 (2000).
91. Y. Hayashi; W. Tsuboi; T. Urushima, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 3677 (2003).
92. B. List; P. Pojarliev; H. J. Martin, *Org. Lett.*, **3**, 2423 (2001).
93. D. Enders; A. Seki, *Synlett*, 26 (2002).
94. B. List, *Synlett*, 1675 (2001).
95. U. Schöllkopf; U. Groth; L. Richter, *Tetrahedron*, **48**(1), 117 (1992).
96. N. Cohen, *Acc. Chem. Res.*, **9**, 412 (1976).
97. T.Bui; C. F. Barbas III, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 6951 (2000).
98. K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 12911 (2001).

99. S. V. Ley; A. J. A. Cobb; D. M. Shaw; D. A. Longbottom; J. B. Gold, *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 84 (2005).
100. M. Drag; R. Latajka; E. Gummienna-Kontecka; P. Kafarski, *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 1837 (2003)