

CARINE LÉVESQUE

**Synthèse énantiosélective par catalyse enzymatique de
dérivés de la phosphonothrixine, du *cis*-2,2-diméthyl-
1,3-cyclohexanediol et du 7-azabicyclo[2.2.1]heptane.**

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 de maître ès sciences (M.Sc.)

DÉPARTEMENT DE CHIMIE
FACULTÉ DES SCIENCES ET GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2010

À mes parents qui ont toujours cru en moi et en mes rêves.

Merci de tout cœur.

RÉSUMÉ

La synthèse énantiosélective de composés chiraux est un thème important de la chimie organique. L'utilisation de biocatalyseurs dans la préparation de synthons chiraux énantioenrichis a connu un essor considérable au cours des deux dernières décennies. Les enzymes du groupe des hydrolases (lipases, estérases, protéases) permettent la résolution cinétique de mélanges racémiques ou la désymétrisation de composés prochiraux ou *méso*.

Des dérivés de la phosphonothrixine, un produit naturel ayant des propriétés antibiotiques et herbicides, ont été préparés via une résolution enzymatique d'un 2-alkylglycérol.

La désymétrisation enzymatique du *méso*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol et du diacétate correspondant a conduit à des synthons chiraux énantiopurs utiles en synthèse asymétrique. Ces travaux sont l'objet d'une publication parue dans la revue *Journal of Organic Chemistry*.

La dernière section de ce mémoire rapporte une étude sur la désymétrisation enzymatique de dérivés du 7-azabicyclo[2.2.1]heptane. L'intérêt dans ce genre d'hétérocycle émane principalement de la découverte de l'épibatidine, un alcaloïde extrait d'une grenouille tropicale dont les propriétés analgésiques sont plusieurs centaines de fois plus forte que la morphine.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je désire remercier mon directeur de recherche, le professeur Robert Chênevert, pour m'avoir permis de me joindre à son groupe de recherche et pour m'avoir conseillée tout au long de mes études de maîtrise.

De plus, j'aimerais remercier mes collègues de laboratoire, désormais amis, pour leurs conseils judicieux, leur disponibilité mais surtout pour la bonne ambiance qui régnait au sein de l'équipe.

Je ne voudrais pas négliger l'apport de ma famille, de mon conjoint et de mes amis (es) qui ont cru en moi, m'ont encouragée et poussée à me dépasser lorsque se sont présentés les moments plus difficiles.

Enfin, je tiens à remercier le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) de même que le Centre de recherche sur la fonction, la structure et l'ingénierie des protéines (CREFSIP) pour le soutien financier qui a permis de mener à bien ces travaux.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iii
REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xix
INTRODUCTION	1
La chiralité et la biocatalyse en synthèse énantiosélective	1
Les enzymes comme biocatalyseurs	2
Avantages et inconvénients des enzymes	3
Types d'enzymes et nomenclature	5
Propriétés des enzymes de la classe des hydrolases	8
Les méthodes utilisées pour l'obtention de composés énantiomériquement purs	10
L'approche chiron	11
Les dédoublements (résolutions)	12
Le dédoublement cinétique	12
Le dédoublement cinétique dynamique	14
La synthèse asymétrique	15
La synthèse asymétrique chimique	15
La synthèse asymétrique biocatalytique ou désymétrisation	16
PARTIE THÉORIQUE	20
CHAPITRE 1	21
SYNTHÈSE ÉNANTIOSÉLECTIVE DE DÉRIVÉS DE LA PHOSPHONOTHRIXINE	21
1.1 Les phosphonates naturels	21
1.2 La phosphonothrixine : propriétés et synthèses rapportées	25
1.3 Objectif du projet	30
1.3.1 Stratégie de synthèse	30
1.4 Synthèse du butyrate de (<i>R,S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((<i>R,S</i>)- 4)	31
1.5 Hydrolyse enzymatique de (<i>R,S</i>)- 4	33

1.6	Détermination de la configuration absolue de l'alcool (<i>S</i>)- 3	34
1.7	Oxydation de l'alcool (<i>S</i>)- 3 en aldéhyde	35
1.8	Formation du lien C-P.	36
1.9	Ozonolyse du composé (<i>R</i>)- 8	36
1.10	Déprotection du composé (<i>R</i>)- 9 pour obtenir l'hydroxy-phosphonothrixine.	38
1.11	Conclusion	38
CHAPITRE 2		40
DÉSYMÉTRISATION ENZYMATIQUE DU <i>CIS</i>-2,2-DIMÉTHYL-1,3-CYCLOHEXANEDIOL		40
2.1	Les 1,3-diols	40
2.2	Objectif du projet	44
2.2.1	Stratégie de synthèse.....	44
2.3	Synthèse du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12).....	45
2.4	Désymétrisation enzymatique du diol <i>méso</i> 12	46
2.5	Synthèse du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14).....	47
2.6	Désymétrisation enzymatique du diacétate <i>méso</i> (14).....	48
2.7	Synthèse du 3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol (<i>rac</i> - 13)	49
2.8	Détermination de la configuration absolue du monoacétate (<i>1S,3R</i>)- 13	50
2.9	Conclusion	50
CHAPITRE 3		52
DÉSYMÉTRISATION CHIMIOENZYMATIQUE DE COMPOSÉS <i>MÉSO</i> POSSÉDANT UN SYSTÈME 7-AZABICYCLO[2.2.1]HEPTANE		52
3.1	L'épibatidine : histoire, propriétés et synthèses	52
3.2	Le système 7-azanorbornane ou 7-azabicyclo[2.2.1]heptane.....	54
3.3	Objectifs du projet	55
3.3.1	Stratégie de synthèse.....	56
3.4	Synthèse de l' <i>endo</i> 7- <i>tert</i> -butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3,7-tricarboxylate (17)	58
3.5	Désymétrisation enzymatique du N-Boc diester (17).....	59
3.6	Synthèse de l' <i>endo</i> acide 7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18) et de l' <i>endo</i> acide 7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19).....	60
3.7	Synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (20)	61
3.8	Désymétrisation enzymatique du N-Boc diol (20)	62
3.9	Synthèse de l' <i>endo</i> (7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (23).....	63
3.10	Désymétrisation enzymatique du N-Boc diacétate (23)	64
3.11	Synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (21)	65

3.12	Synthèse de l' <i>endo</i> (7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (24).....	66
3.13	Désymétrisation enzymatique du N-Boc dibutyrate (24).....	66
3.14	Synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (25).....	67
3.15	Synthèse de l' <i>endo</i> diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (26).....	68
3.16	Désymétrisation enzymatique du N-H diester (26).....	69
3.17	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (27) et de l'acide <i>endo</i> 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (28).....	69
3.18	Synthèse du <i>endo</i> diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (29).....	70
3.19	Désymétrisation enzymatique du N-Bn diester (29).....	71
3.20	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (30) et de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31).....	72
3.21	Synthèse du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (32).....	73
3.22	Désymétrisation enzymatique du N-Bn diol (32).....	73
3.23	Synthèse du <i>endo</i> (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)méthyl acétate (33) et du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (34).....	74
3.24	Conclusion.....	75
CONCLUSION		77
PARTIE EXPÉRIMENTALE		80
REMARQUES GÉNÉRALES		81
CHAPITRE 1		83
SYNTHÈSE ÉNANTIOSÉLECTIVE DE DÉRIVÉS DE LA PHOSPHONOTHRIXINE		83
1.1	Synthèse du 1-chloro-2-(chlorométhyl)-3-méthylbut-3-én-2-ol (1).....	83
1.2	Synthèse du 2-isopropénylpropane-1,2,3-triol (2).....	84
1.3	Synthèse du (<i>R,S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthanol ((<i>R,S</i>)- 3).....	85
1.4	Synthèse du butyrate de (<i>R,S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((<i>R,S</i>)- 4).....	86
1.5	Hydrolyse enzymatique de (<i>R,S</i>)- 4 : synthèse du (<i>S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthanol ((<i>S</i>)- 3).....	88
	Butyrate de (<i>S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((<i>S</i>)- 4)....	90

1.6	Synthèse de l'acétate de (<i>R</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((<i>R</i>)- 5)	91
1.7	Synthèse de l'acétate de (<i>R</i>)-2-hydroxy-2-(hydroxyméthyl)-3-méthylbut-3-èneyle méthyle ((<i>R</i>)- 6)	92
1.8	Synthèse du (<i>R</i>)-2,2-diméthyl-4-isopropényl-1,3-dioxolan-4-carbaldéhyde ((<i>R</i>)- 7)	93
1.9	Synthèse du (<i>R/S</i>)-hydroxyl[(4 <i>R</i>)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-isopropényl]méthyle ((<i>R</i>)- 8)	95
1.10	Synthèse du (<i>R/S</i>)-hydroxyl[(4 <i>R</i>)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-méthylcétone]méthyle ((<i>R</i>)- 9)	96
1.11	Synthèse de l'acide (<i>R</i>)-2-hydroxy-2-hydroxyméthyl-3-oxobutyl-1-(<i>R,S</i>)-ol-phosphonique ((<i>R</i>)- 10)	98
CHAPITRE 2		100
DÉSYMÉTRISATION ENZYMATIQUE DU <i>CIS</i>-2,2-DIMÉTHYL-1,3-CYCLOHEXANEDIOL		100
2.1	Préparation du diol (12)	100
2.1.1	Synthèse du 2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanedione (11)	100
2.1.2	Synthèse du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12)	101
2.2	Désymétrisation enzymatique du diol <i>méso</i> (12) : synthèse du (1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol ((1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- 13)	102
2.3	Préparation du diacétate (14) : synthèse du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14)	104
2.4	Désymétrisation enzymatique du diacétate <i>méso</i> (14) : synthèse du (1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol ((1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)- 13)	105
2.5	Synthèse du (rac)-3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol ((rac)- 13)	107
2.6	Détermination de la configuration absolue du monoacétate ((1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)- 13) : synthèse du (<i>S</i>)-3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-one ((<i>S</i>)- 15)	108
CHAPITRE 3		110
DÉSYMÉTRISATION CHIMIOENZYMATIQUE DE COMPOSÉS <i>MÉSO</i> POSSÉDANT UN SYSTÈME 7-AZABICYCLO[2.2.1]HEPTANE		110
3.1	Préparation du N- Boc diester (17)	110
3.1.1	Synthèse du 7- <i>tert</i> -butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,5-diène-2,3,7-tricarboxylate (16)	110
3.1.2	Synthèse de l' <i>endo</i> 7- <i>tert</i> -butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3,7-tricarboxylate (17)	112
3.2	Désymétrisation enzymatique du N-Boc diester (17) : synthèse de l' <i>endo</i> acide 7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18)	113
3.3	Préparation du N-Boc monoacide racémique (18) et du N-Boc diacide (19)	114

3.3.1	Synthèse de l' <i>endo</i> acide 7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18).....	114
3.3.2	Synthèse de l' <i>endo</i> acide 7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19).....	115
3.4	Préparation du N-Boc diol (20) : synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (20).....	117
3.5	Désymétrisation du N-Boc diol (20) : synthèse du <i>endo</i> 7-(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (21).....	118
3.6	Préparation du N-Boc diacétate (23) : synthèse du <i>endo</i> (7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (23).....	121
3.7	Désymétrisation du N-Boc diacétate (23) : synthèse du <i>endo</i> 7-(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (21).....	122
3.8	Préparation du N-Boc monoacétate racémique (21) : synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (21).....	124
3.9	Préparation du N-Boc dibutyrate (24) : synthèse de l' <i>endo</i> (7-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (24).....	126
3.10	Désymétrisation enzymatique du N-Boc dibutyrate (24) : synthèse du <i>endo</i> 7-(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-butoxyméthyl (25).....	127
3.11	Préparation du N-Boc monobutyrate racémique (25) : synthèse de l' <i>endo tert</i> -butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (25).....	128
3.12	Préparation du N-H diester (26) : synthèse du <i>endo</i> -diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,3-dicarboxylate (26).....	130
3.13	Désymétrisation enzymatique du N-H diester (26) : synthèse de l'acide <i>endo</i> 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (27).....	131
3.14	Préparation du N-H monoacide racémique (27) et du N-H diacide (28).....	132
3.14.1	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (27).....	132
3.14.2	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (28).....	133
3.15	Préparation du N-Bn diester (29) : synthèse du <i>endo</i> diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (29).....	134
3.16	Désymétrisation enzymatique du N-Bn diester (29) : synthèse de l'acide <i>endo</i> -méthyl 7-(benzyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-3-carboxylate-2-carboxylique (30).....	136
3.17	Préparation du N-Bn monoacide racémique (30) et du N-Bn diacide (31).....	137
3.17.1	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (30).....	137
3.17.2	Synthèse de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31).....	138

3.18	Préparation du N-Bn diol (32) : synthèse du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (32)	140
3.19	Désymétrisation enzymatique du N-Bn diol (32) : synthèse du <i>endo</i> 7-(benzyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (33).....	141
3.20	Préparation du N-Bn monoacétate racémique (33) et du N-Bn diacétate (34).	142
3.20.1	Synthèse du <i>endo</i> (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)méthyl acétate (33)	142
3.20.2	Synthèse du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) (34)	144
BIBLIOGRAPHIE		146

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Durée (temps) et excès énantiomères mesurés sur le monoacétate (1*R*,3*S*)-**13** ($ee_{(1R,3S)-13}$) lors d'essais d'acylations enzymatiques réalisés avec diverses enzymes.....47

Tableau 2 : Durée (temps) et excès énantiomères mesurés sur le monoacétate (1*S*,3*R*)-**13** ($ee_{(1S,3R)-13}$) lors d'essais d'hydrolyses enzymatiques réalisés avec diverses enzymes....49

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Exemples de composés chiraux dont les énantiomères montrent des activités biologiques différentes.....	1
Figure 2: Exemple de réaction d'oxydo-réduction utilisant le NADH.....	6
Figure 3: Exemple de réaction de transfert d'un groupe fonctionnel.....	6
Figure 4: Exemple de réaction d'hydrolyse.....	6
Figure 5: Exemple d'addition d'une molécule d'eau sur une double liaison.....	7
Figure 6: Exemple d'isomérisation d'une molécule.....	7
Figure 7: Exemple d'union de molécules avec bris d'un lien phosphate de l'ATP.....	7
Figure 8: Mécanisme d'action des hydrolases à sérine.....	8
Figure 9: Hydrolyse d'un ester par voie chimique et enzymatique.....	9
Figure 10: Hydrolyse sélective d'un composé diester.....	9
Figure 11: Acylation sélective d'un composé contenant plusieurs fonctions alcool.....	10
Figure 12: Synthèse du Diltiazem.....	10
Figure 13: Acylation sélective sur un seul énantiomère d'une molécule chirale.....	10
Figure 14: Synthèse stéréosélective du captopril par approche chiron.....	12
Figure 15: Exemple général de dédoublement cinétique.....	13
Figure 16: Exemple de dédoublement cinétique d'un alcool secondaire.....	13
Figure 17: Exemple général de dédoublement cinétique dynamique.....	14

Figure 18: Exemple d'estérification d'un alcool secondaire utilisant le dédoublement cinétique dynamique.....	14
Figure 19: Auxiliaire d'Evans.	15
Figure 20: Ligand diphosphane chiral développé par Noyori (BINAP).....	16
Figure 21: Exemple de désymétrisation catalysée par les enzymes.	17
Figure 22: Exemple général de désymétrisation d'un composé prochiral.....	17
Figure 23: Exemple de désymétrisation d'un composé prochiral par acylation enzymatique.....	18
Figure 24: Exemple général de désymétrisation d'un composé <i>méso</i>	18
Figure 25: Exemple de désymétrisation d'un composé <i>méso</i> par acylation enzymatique.	18
Figure 26: Acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).	21
Figure 27: Analogues N-méthylés de l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).	22
Figure 28: Exemples de glycérophosphonolipides et de sphingophosphonolipides.	22
Figure 29: Acide citiacholique.....	23
Figure 30: Acide (-)-(1 <i>R</i> , 2 <i>S</i>)-(Z)-1,2-époxypropylphosphonique.	23
Figure 31: Acide 2-aminométhylphosphonique (AMPA).	23
Figure 32: Bialaphos et phosphinothricine.	24
Figure 33: Fosfonochlorine et étéphon.	24
Figure 34: (<i>S</i>)-(-)-phosphonothrixine naturelle.	25
Figure 35: Synthèse totale de la phosphonothrixine racémique présentée par le groupe de Nakamura.....	26

Figure 36: Détermination de la configuration absolue de la phosphonothrixine naturelle.	27
Figure 37: Exemple général des deux attaques du DET.....	27
Figure 38: Synthèse de l'alcool allylique de départ utilisé par le groupe de Nakamura. ...	28
Figure 39: Synthèse de la phosphonothrixine racémique rapportée par le groupe de Fields.....	29
Figure 40: Synthèse chimioenzymatique de la (<i>S</i>)-(-)-phosphonothrixine.....	29
Figure 41: Stratégie de synthèse énantiosélective de la (<i>S</i>)-(-)-phosphonothrixine.	31
Figure 42: Préparation du butyrate de (<i>R,S</i>)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4- yl)-méthyle.....	32
Figure 43: Méthode d'obtention du 2-méthyl-glycérol proposée par Holy.....	32
Figure 44: Hydrolyse enzymatique de (<i>R,S</i>)- 4	34
Figure 45: Détermination de la configuration absolue de l'alcool (<i>S</i>)- 3	34
Figure 46: Préparation de l'aldéhyde (<i>R</i>)- 7 par réaction d'oxydation catalytique TEMPO.	35
Figure 47: Mécanisme d'oxydation de l'aldéhyde (<i>R</i>)- 7 par l'action de l'oxydant catalytique TEMPO.	35
Figure 48: Préparation de l'hydroxy-phosphonate (<i>R</i>)- 8	36
Figure 49: Mécanisme général d'ozonolyse.....	37
Figure 50: Ozonolyse du composé (<i>R</i>)- 8	38
Figure 51: Déprotection du composé (<i>R</i>)- 9	38
Figure 52: Le Taxol.	40

Figure 53: L'aquayamycin.....	41
Figure 54: La garsubelline A.	41
Figure 55: Réduction d'une cyclohexanedione-1,3 par la levure.....	42
Figure 56: La 3(<i>S</i>),17-dihydroxytanshinone.....	42
Figure 57: Produits naturels synthétisés à partir du (<i>S</i>)-3-hydroxy-2,2-diméthyl- cyclohexanone.	43
Figure 58: Transformations catalysées par des enzymes à partir de la 1,3- cyclohexanediol.....	44
Figure 59: Stratégie de synthèse des composés étudiés.....	45
Figure 60: Préparation du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12).	45
Figure 61: Autres produits obtenus lors de la réaction de méthylation.	46
Figure 62: Acylation enzymatique du diol <i>méso</i> 12	46
Figure 63: Préparation du <i>cis</i> -2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14).	47
Figure 64: Hydrolyse enzymatique du diacétate <i>méso</i> 14	48
Figure 65: Préparation du 3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol ((<i>rac</i>)- 13).	49
Figure 66: Détermination de la configuration absolue du monoacétate (<i>1S,3R</i>)- 13	50
Figure 67 : Acylation enzymatique du diol 12 et hydrolyse enzymatique du diacétate 14	50
Figure 68: L'épibatidine.	52
Figure 69: Synthèse de la (-)-épibatidine.....	53

Figure 70: Analogues de l'épibatidine : l'épiboxidine, l'homoépibatidine et le ABT-594.	54
Figure 71: Stratégie de synthèse des composés étudiés.....	57
Figure 72: Préparation de l'endo 7-tert-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane- 2,3,7-tricarboxylate (17).	58
Figure 73: Hydrolyse enzymatique du N-Boc diester endo 17	59
Figure 74: Bicycles rigides méso-diester étudiés par Bloch.	60
Figure 75: Préparation de l'endo acide 7-(tert-butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7- azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18) et de l'endo acide 7-(tert-butoxycarbonyl)- 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19).	61
Figure 76: Préparation de l'endo tert-butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7- azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (20).	61
Figure 77: Acylation enzymatique du N-Boc diol endo 20	62
Figure 78: Préparation de l'ester de Mosher 22	63
Figure 79: Préparation de l'endo (7-(tert-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane- 2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (23).	63
Figure 80: Hydrolyse enzymatique du N-Boc diacétate endo 23	64
Figure 81: Préparation de l'ester de Mosher 22	65
Figure 82: Préparation de l'endo tert-butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7- azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (21).	65
Figure 83: Préparation de l'endo (7-(tert-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane- 2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (24).	66
Figure 84: Hydrolyse enzymatique du N-Boc dibutyrate endo 24	67

Figure 85: Préparation de l' <i>endo tert</i> -butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (25).....	68
Figure 86: Préparation de l' <i>endo</i> diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (26).....	68
Figure 87: Hydrolyse enzymatique du N-H diester <i>endo</i> 26	69
Figure 88: Préparation de l'acide <i>endo</i> 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (27) et de l'acide <i>endo</i> 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (28).....	70
Figure 89: Préparation du <i>endo</i> diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (29).....	71
Figure 90: Hydrolyse enzymatique du N-Bn diester <i>endo</i> 29	71
Figure 91: Préparation de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (30) et de l'acide <i>endo</i> 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31).....	72
Figure 92: Préparation du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (32).....	73
Figure 93: Acylation enzymatique du N-Bn diol <i>endo</i> 32	74
Figure 94: Préparation du <i>endo</i> (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-yl)méthyl acétate (33) et du <i>endo</i> (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (34).....	75
Figure 95 : Dédoubléement cinétique de l'ester (rac)- 4 permettant l'obtention de l'hydroxyphosphonothrixine 10 par l'alcool (<i>S</i>)- 3	77
Figure 96 : Acylation enzymatique du diol 12 et hydrolyse enzymatique du diacétate 14	78

Figure 97 : Acylation enzymatique du N-Boc diol **20** par l'acétate de vinyle en présence de CAL-B.....78

LISTE DES ABRÉVIATIONS

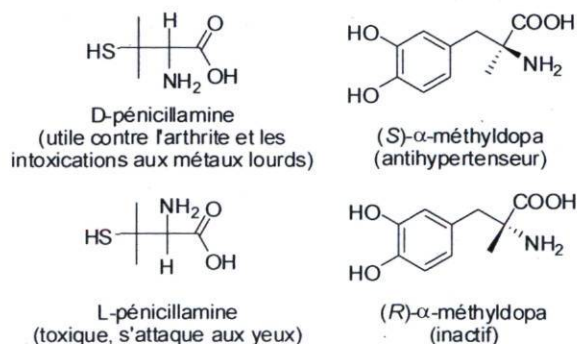
AcOEt :	acétate d'éthyle
Boc :	<i>tert</i> -butyloxycarbonyle
CAL-B :	lipase B de <i>Candida antarctica</i>
CAM :	ceric ammonium molybdate
Cbz :	benzyloxycarbonyl
CCM :	chromatographie sur couche mince
CRL :	lipase de <i>Candida rugosa</i>
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMF :	diméthylformamide
ee :	excès énantiomère
FID :	flame ionization detection
IR :	infrarouge
m :	multiplet
MS 4A :	tamis moléculaire 4A
PCL :	lipase de <i>Pseudomonas cepacia</i>
PLE :	estérase de foie de porc
PPL :	lipase de pancréas porcin
PSL :	lipase de <i>Pseudomonas species</i>
Rdt :	rendement
R_f :	temps d'élution d'une substance en fonction du solvant
RMN :	résonance magnétique nucléaire
s :	singulet
T_{éb} :	point d'ébullition
TEMPO :	2,2,6,6-tétraméthylpiperidinoxy
T_f :	point de fusion
THF :	tétrahydrofurane
T_p :	température pièce
TsOH :	acide <i>para</i> -toluènesulfonique

INTRODUCTION

La chiralité et la biocatalyse en synthèse énantiosélective

La chiralité est devenue une préoccupation omniprésente dans la recherche et le développement de nouveaux composés en chimie organique. Aujourd'hui, les manufacturiers de produits chimiques destinés aux domaines pharmaceutique et agroalimentaire sont plus que jamais confrontés au défi de la chiralité. Et pour cause, l'activité biologique est généralement associée à un seul énantiomère tandis que le second, souvent inactif, peut même se montrer toxique (figure 1). Par conséquent, deux énantiomères d'un mélange racémique constituent deux substances différentes du point de vue de l'activité biologique.

Figure 1 : Exemples de composés chiraux dont les énantiomères montrent des activités biologiques différentes.



C'est ainsi que la synthèse énantiosélective est devenue le thème central de la chimie organique moderne. Par le fait même, l'utilisation des biocatalyseurs en synthèse énantiosélective a connu un essor considérable au cours des 20 dernières années. Un grand nombre d'ouvrages (livres¹, articles, banques de données²) traitent des différentes possibilités offertes par les biocatalyseurs en synthèse.

Les enzymes comme biocatalyseurs

Les biocatalyseurs les plus couramment utilisés, que ce soit pour la recherche académique ou pour le développement industriel, sont les enzymes. Ces macromolécules ont comme rôle premier de catalyser les réactions chimiques ayant lieu à l'intérieur de tous les organismes vivants³. Ces catalyseurs naturels sont très efficaces et ont la possibilité d'augmenter la vitesse d'une réaction donnée d'un facteur allant jusqu'à $10^8 - 10^{12}$. Certaines enzymes sont tellement spécialisées que la vitesse de la réaction qu'elles catalysent n'est limitée que par la diffusion des réactifs et des produits dans le milieu. Les enzymes sont très sélectives et agissent naturellement en milieu aqueux à une température et à un pH particuliers. Dans la nature, elles catalysent la plupart des réactions chimiques connues en chimie organique à quelques exceptions près. Ce sont les seuls composés qui sont répertoriés pour avoir la capacité d'introduire des fonctions en position spécifique sur un carbone non activé. C'est pour ces raisons que les enzymes ont les propriétés nécessaires pour être des candidats par excellence pour induire la chiralité en synthèse.

Il a été démontré que des oligonucléotides (ADN, ARN)⁴ et d'autres petites molécules organiques, comme la proline⁵, pouvaient induire la chiralité. Mais lorsque l'on remonte à la base, la provenance de ces composés est habituellement une étape synthétique enzymatique ou un produit de départ naturel provenant d'une réaction également enzymatique. Cela démontre donc que les enzymes sont la source du contrôle de la chiralité, que ce soit en synthèse ou dans la nature.

En effet, les enzymes *in vivo* participent à la production d'une quantité abondante de produits naturels chiraux. Ces composés se retrouvent sous forme d'énantiomères purs tels les acides aminés, les sucres, les terpènes, les alcaloïdes, etc. Cette multitude de molécules est un réservoir naturel de composés chiraux ("chiral pool") qui peuvent être utilisés à différentes étapes d'une synthèse.

In vitro, il est possible d'utiliser les enzymes sur des substrats non naturels pour obtenir des composés chiraux. Pour ce type de biotransformations, il existe plusieurs méthodes différentes. Les biocatalyseurs sont habituellement des enzymes isolées qui peuvent être

obtenues à différents degrés de purification. Ces enzymes peuvent servir tel quel mais peuvent aussi avoir été modifiées chimiquement, par mutagenèse dirigée ou encore par évolution dirigée⁶ dans le but d'améliorer leur efficacité face à des substrats différents de leurs substrats naturels. Des anticorps catalytiques⁷ peuvent aussi être utilisés comme biocatalyseurs. Enfin, il existe aussi la possibilité de l'utilisation directe de microorganismes⁸ et même de tissus végétaux⁹. Pour ce type de réactions, la cellule devient alors la source brute d'enzymes.

Avantages et inconvénients des enzymes

L'utilisation d'enzymes en synthèse comporte plusieurs avantages intéressants par rapport aux réactifs chimiques usuels.

Les enzymes sont des catalyseurs qui peuvent être utilisés pour la majorité des réactions connues en chimie organique et ce sur un grand nombre de substrats qui peuvent être très différents de leurs substrats naturels¹⁰. Dans le cas des substrats non naturels, on observe souvent une diminution de la vitesse de réaction. Toutefois, les temps de réaction restent habituellement semblables à ceux observés avec des réactifs chimiques.

Les enzymes sont très sélectives autant au niveau de la chimiosélectivité, de la régiosélectivité, de la diastéréosélectivité et de l'énantiosélectivité. Ces sélectivités peuvent varier d'un substrat à l'autre mais restent souvent très élevées. Il existe très peu de réactifs ayant tous ces types de sélectivité. C'est cet avantage par rapport aux autres réactifs qui explique leur si grande utilisation en synthèse. Les enzymes ont aussi la capacité de catalyser une réaction donnée ou son inverse lorsque les conditions sont choisies en conséquence. Plusieurs enzymes peuvent même être employées ensemble pour effectuer des réactions successives sur un composé donné tirant profit de la sélectivité de chacune pour gagner du temps.

In vivo, les enzymes catalysent des réactions ayant lieu dans l'eau. En synthèse, il est évidemment possible de les employer en milieu aqueux. On parle alors de catalyse homogène, le catalyseur étant soluble dans le milieu réactionnel. Par contre, on peut

rencontrer quelques problèmes lorsque la solubilité du substrat n'est pas très élevée dans l'eau. On peut y remédier en utilisant un cosolvant polaire ou un émulsifiant comme le Triton X-100 qui permet de rendre les composés organiques plus solubles en milieu aqueux. L'ajout d'un émulsifiant peut aussi avoir comme effet d'augmenter l'efficacité de l'enzyme. En effet, à l'état naturel, les enzymes catalysent souvent des réactions au niveau d'une interface lipide-eau. Un émulsifiant, en mimant cette interface, peut donc améliorer l'activité d'une enzyme¹⁰.

Il existe quelques cas où les rendements d'une réaction en milieu aqueux peuvent être faibles à cause d'un équilibre thermodynamique défavorable. C'est le cas des estérifications et de la formation d'amides où l'eau est un produit de la réaction. En employant les enzymes en milieu organique, ce problème peut être évité. En effet, les enzymes sont couramment utilisées dans les solvants organiques¹⁰ et même dans les fluides supercritiques¹¹. Les composés organiques sont plus solubles dans les solvants organiques et les enzymes y sont habituellement insolubles. Cela permet donc une catalyse hétérogène où l'enzyme peut être éliminée simplement par filtration. L'emploi d'une enzyme dans ces conditions la rend parfois plus stable et augmente même sa sélectivité. Cependant, cette stabilité ne s'applique que dans les solvants organiques peu polaires tels les solvants aromatiques, les solvants chlorés, les alcanes et les éthers. La polarité de ces solvants est caractérisée par une valeur appelée log P. Cette constante est le coefficient de partage du solvant entre le 1-octanol et l'eau. Ces solvants possèdent tous des log P supérieur à 2. Cette mesure est une méthode simple pour évaluer la compatibilité d'un solvant avec les enzymes car celles-ci sont dénaturées dans les solvants polaires (DMSO, DMF, alcools : log P < 2).

Les enzymes agissent dans des conditions douces. On les utilise en milieu neutre et habituellement à la température ambiante. Par contre, des cas extrêmes existent aussi. Certains organismes thermophiles produisent des enzymes qui demeurent stables jusqu'à plus de 100°C¹². De leur côté, certaines lipases restent aptes à effectuer leur travail à basse température et ce même à -60°C¹³.

Les enzymes sont généralement peu toxiques et peuvent même être réutilisées. Les réactifs chimiques sont souvent très toxiques, corrosifs ou cancérigènes. Ils peuvent être aussi difficiles à manipuler (hygroscopiques, pyrophores, etc.). Les enzymes sont donc plus sécuritaires pour l'utilisateur et sans danger pour l'environnement. Cet avantage est considérable dans un monde où ces considérations prennent de plus en plus de place.

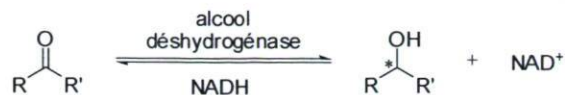
Enfin, ces biocatalyseurs possèdent quelques désavantages. Ils sont parfois difficiles à se procurer commercialement et n'existent que sous la forme d'un seul énantiomère. Leur mode d'isolement et leur pureté font généralement varier leur activité. De plus, certains paramètres d'opération comme la température, le pH et l'utilisation de solvants polaires peuvent limiter la possibilité d'employer une enzyme donnée. Les enzymes sont aussi sensibles au phénomène d'inhibition, leur action catalytique étant bloquée par certains produits. Les enzymes sont des protéines et possèdent donc une structure moléculaire complexe et flexible. Cela rend la prédiction de leurs sélectivités, tant au niveau du substrat que de la stéréochimie, difficile et ce, même si la détermination de structure des enzymes et de leur site actif est de plus en plus fiable.

Types d'enzymes et nomenclature

Dans la nomenclature de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) et de l'Union Internationale de Biochimie (IUB)¹⁴, les enzymes sont divisées en 6 classes en fonction du type de réactions qu'elles catalysent, de leur substrat, de leur cofacteur, etc.

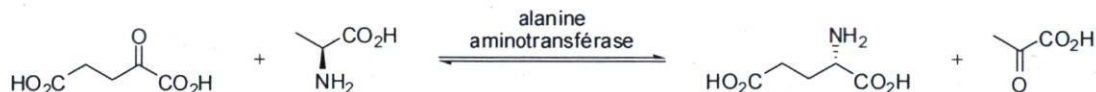
Classe 1 : Les enzymes de cette classe se nomment oxydo-réductases (figure 2) et, comme leur nom l'indique, elles participent à des réactions d'oxydo-réduction. Leur action d'oxydation ou de réduction a habituellement lieu sur des groupements alcool ou cétone et nécessite la présence d'un cofacteur. Le cofacteur usuel se nomme nicotinamide adénine dinucléotide (NAD(H)). On rapporte ce type d'enzyme dans 25 % des publications traitant de l'utilisation de biocatalyseurs pour la transformation de composés organiques non-naturels.

Figure 2 : Exemple de réaction d'oxydo-réduction utilisant le NADH.



Classe 2 : Cette classe contient les enzymes dont l'action catalytique consiste à transférer un groupement fonctionnel d'une molécule à une autre. Elles se nomment transférases (figure 3) et sont peu utilisées en synthèse.

Figure 3 : Exemple de réaction de transfert d'un groupe fonctionnel.



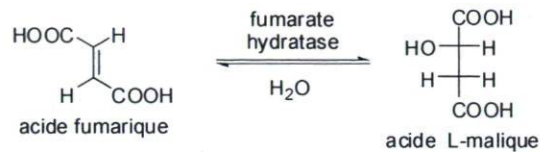
Classe 3 : C'est dans cette classe que sont regroupées les enzymes du type hydrolase (figure 4). Celles-ci participent à des réactions qui impliquent le bris d'une liaison par addition d'une molécule d'eau (hydrolyse). Elles sont très utiles en synthèse et de loin les plus utilisées.

Figure 4 : Exemple de réaction hydrolyse.



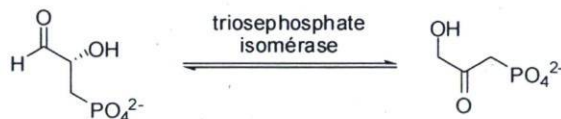
Classe 4 : On retrouve dans cette classe les lyases, des enzymes dont le rôle est d'ajouter une molécule (H_2O , par exemple) sur une liaison double (figure 5). Leur application étant limitée, elles sont par conséquent peu utilisées.

Figure 5 : Exemple d'addition d'une molécule d'eau sur une double liaison.



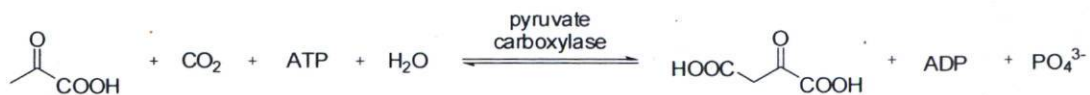
Classe 5 : Cette classe inclut les enzymes nommées isomérases. Ces dernières catalysent le processus d'isomérisation d'une molécule donnée (figure 6). Elles sont peu utilisées en synthèse.

Figure 6 : Exemple d'isomérisation d'une molécule.



Classe 6 : Les enzymes contenues dans cette dernière classe se nomment ligases. Les ligases sont des enzymes qui participent à des réactions où l'union de deux molécules entre elles nécessite le bris d'un lien phosphate de l'ATP ou du GTP comme source d'énergie (figure 7).

Figure 7 : Exemple d'union de molécules avec bris d'un lien phosphate de l'ATP.



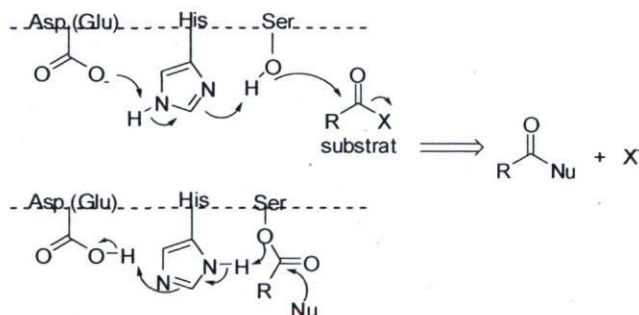
Les hydrolases étant les plus utilisées, elles seront traitées plus en détails. C'est également cette classe qui a été utilisée pour les travaux présentés dans ce mémoire.

Propriétés des enzymes de la classe des hydrolases

Les hydrolases sont une classe d'enzymes qui se subdivisent en plusieurs sous-groupes dont trois, les lipases, les estérases et les protéases, sont très utilisés en synthèse organique. Leur activité naturelle consiste à briser les liens ester ou amide des lipides, des protéines et autres molécules. Ces enzymes peuvent aussi catalyser des réactions de condensation (inverse de l'hydrolyse) et de transestérification (échange d'un alcool). Les hydrolases ont habituellement plusieurs substrats naturels, ce qui les rend plus aptes à accepter des substrats non naturels.^{1c, 15}

La cavité de leur site actif contient habituellement une triade catalytique constituée de trois acides aminés, soient l'acide aspartique (Asp) ou glutamique (Glu), l'histidine (His) et la sérine (Ser). Le mécanisme d'action des hydrolases à sérine^{1c} est présenté ci-dessous (figure 8).

Figure 8 : Mécanisme d'action des hydrolases à sérine.

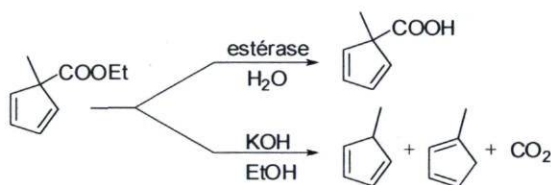


Les hydrolases sont des enzymes habituellement simples et faciles d'utilisation. Elles sont stables et plusieurs types sont disponibles commercialement et ce à faible coût. De plus, elles ne nécessitent habituellement pas la présence d'un cofacteur pour exercer leur action catalytique. Ce sont des enzymes polyvalentes et très utiles en synthèse. Elles sont utilisées pour leur action ciblée sur un groupement chimique particulier, pour leur capacité à différencier deux groupements semblables sur une même molécule et pour la propriété qu'elles possèdent de pouvoir réagir sur un seul énantiomère d'une molécule donnée.

Certains réactifs chimiques ne sont pas très sélectifs. En plus de réagir sur le groupement voulu, ils attaquent aussi d'autres parties de la molécule. Ces réactions secondaires peuvent rendre le produit attendu impossible à isoler. Lorsqu'il s'agit plus particulièrement de réactions d'hydrolyse, les hydrolases peuvent s'avérer le seul outil utile pour mener à bien une synthèse.

C'est le cas lors de l'hydrolyse de certains esters. Lors d'un traitement acide ou basique, ces derniers sont parfois totalement décarboxylés¹⁶ (figure 9). Une telle réaction n'est parfois possible qu'à l'aide d'une hydrolase.

Figure 9 : Hydrolyse d'un ester par voie chimique et enzymatique.



La propriété de régiosélectivité¹⁷ des enzymes leur permet aussi de différencier deux mêmes groupements sur une molécule. Par exemple, en présence de deux esters, une hydrolase peut hydrolyser un seul d'entre eux sélectivement (figure 10)¹⁸. De la même manière, il est possible d'acyler un alcool en particulier sur une molécule qui en contient plusieurs (figure 11)¹⁹. Cette caractéristique s'avère d'un grand secours pour la transformation de composés fragiles ou complexes. Ces enzymes ont été utilisées avec succès lors de la synthèse de nombreux produits naturels. Elles se sont aussi avérées efficaces pour la production de divers médicaments chiraux comme le Diltiazem (figure 12)²⁰.

Figure 10 : Hydrolyse sélective d'un composé diester.

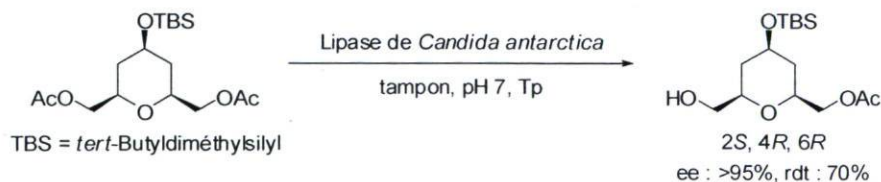


Figure 11 : Acylation sélective d'un composé contenant plusieurs fonctions alcool.

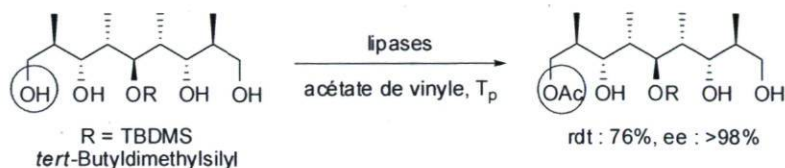
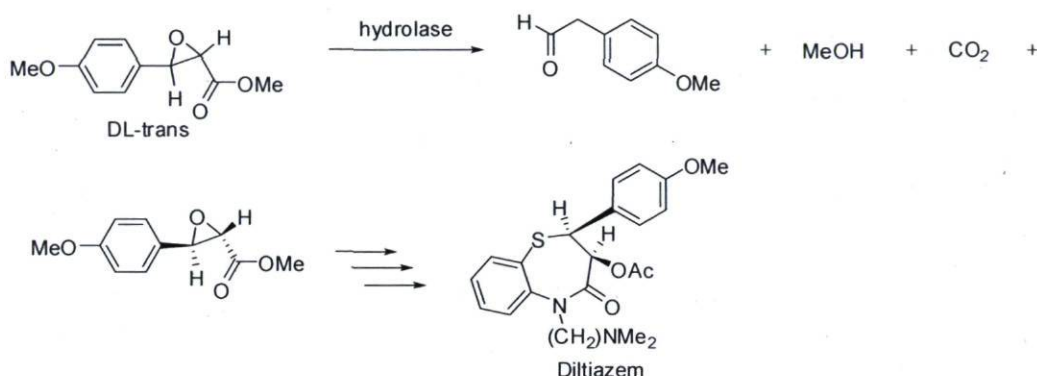


Figure 12 : Synthèse du Diltiazem.



Les hydrolases ont la capacité de différencier les énantiomères d'une molécule chirale et catalysent la réaction sur un seul d'entre eux (figure 13)²¹. Cette propriété est très importante en synthèse énantiosélective et, pour ce faire, les hydrolases peuvent être utilisées selon différentes méthodes.

Figure 13 : Acylation sélective sur un seul énantiomère d'une molécule chirale.



Les méthodes utilisées pour l'obtention de composés énantiomériquement purs

La recherche intensive des trente dernières années en chimie organique a permis de développer différentes approches en synthèse énantiosélective de composés non naturels

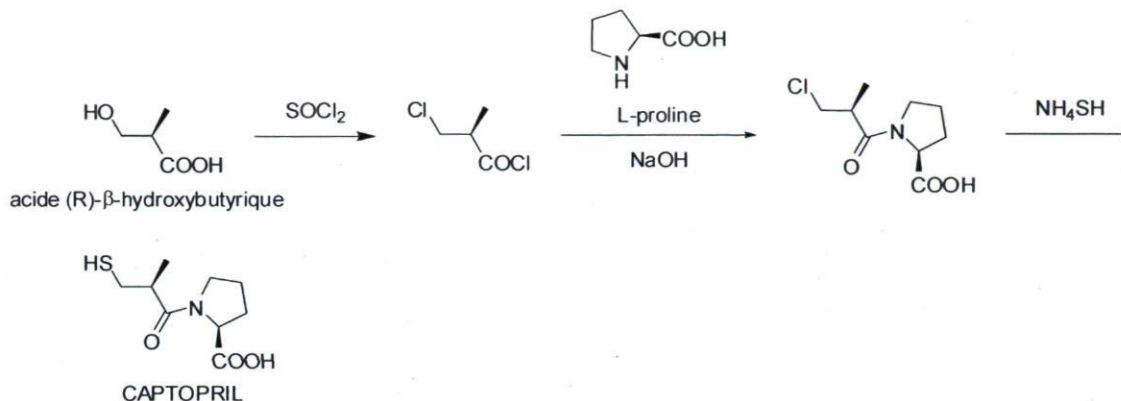
à grande échelle. Celles-ci s'articulent principalement autour de trois stratégies générales classées selon le type de substrats employés. D'abord, l'approche chiron consiste à synthétiser des composés optiquement purs à l'aide de substrats initialement chiraux. On peut aussi employer les dédoublements pour séparer les énantiomères d'un mélange racémique tandis que la synthèse asymétrique est réalisée sur des substrats achiraux pour générer des molécules chirales.

L'approche chiron

L'approche chiron représente la méthode d'obtention de composés chiraux la plus simple et souvent parmi les plus économiques car elle permet d'éviter le principal défi de la synthèse énantiosélective qu'est la création de centres chiraux contrôlés. Les nombreuses applications de l'approche chiron en synthèse de composés naturels font d'ailleurs l'objet d'un ouvrage de référence complet écrit par le professeur Hanessian²². Cette stratégie consiste à sélectionner un composé initialement chiral, souvent naturel, présentant une forte homologie structurale avec la molécule ciblée et d'y appliquer les modifications chimiques requises.

À titre d'exemple, l'agent antihypertenseur captopril est obtenu stéréosélectivement par approche chiron alors que l'acide (*R*)- β -hydroxybutyrique est employé comme substrat chiral de départ²³ (figure 14). Il faut noter également que cette synthèse prévoit également l'ajout d'un second centre chiral par l'introduction de l'acide aminé naturel *L*-proline.

Figure 14 : Synthèse stéréosélective du captopril par approche chiron.



Les dédoublements (résolutions)

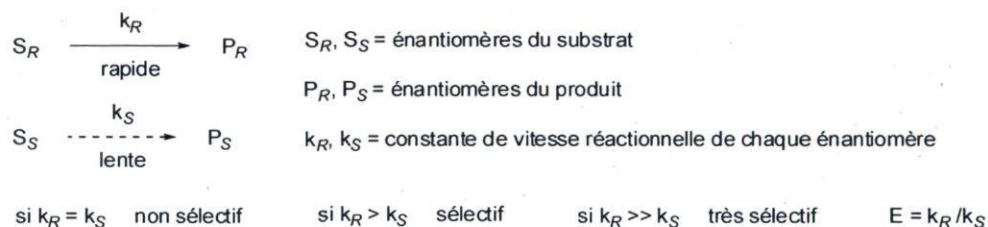
Les dédoublements, aussi appelés résolutions, sont employés pour séparer les énantiomères d'un mélange racémique. Par conséquent, les dédoublements permettent potentiellement d'obtenir séparément les deux énantiomères des composés ciblés avec un rendement maximal théorique de 50 % pour les dédoublements cinétiques et pouvant aller jusqu'à 100 % pour les dédoublements cinétiques dynamiques.

Le dédoublement cinétique

Généralement, les propriétés chimiques et physiques très similaires des énantiomères rendent leur séparation irréalisable par les méthodes de séparation conventionnelles utilisées en chimie organique. Pour en faciliter la séparation, les dédoublements cinétiques consistent à appliquer une modification chimique favorisée pour un énantiomère du mélange racémique. La stéréosélectivité d'un dédoublement cinétique repose sur la différence de vitesse réactionnelle qui existe entre deux énantiomères lors de leur transformation par un réactif chiral. La chiralité du réactif assure une différence d'efficacité de stabilisation des états de transition pour chaque énantiomère au cours de la réaction.

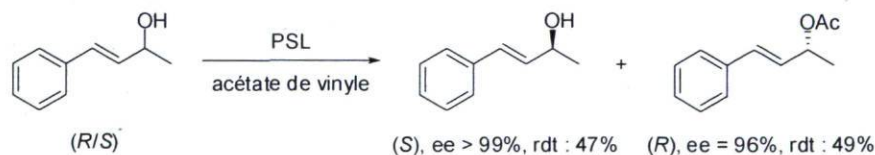
Ainsi, lors d'un dédoublement cinétique, la transformation chimique est catalysée plus efficacement pour l'énantiomère possédant l'état de transition le plus fortement stabilisé tandis que le second énantiomère est transformé plus lentement. Dans le cas idéal d'un dédoublement cinétique parfaitement stéréosélectif, l'énantiomère pour lequel la réaction chimique est accélérée par le catalyseur se verrait entièrement converti en produit alors que le second énantiomère, dont la transformation chimique serait catalysée de façon moins efficace, serait récupéré sous sa forme initiale. On définit le coefficient d'énantiosélectivité E d'un dédoublement cinétique par le rapport des constantes de vitesses réactionnelles des énantiomères k_R et k_S (figure 15)²⁴.

Figure 15 : Exemple général de dédoublement cinétique.



Les alcools secondaires sont de loin les synthons les plus fréquemment utilisés pour les dédoublements cinétiques catalysés par les lipases. Cela est dû à leur importance en synthèse organique mais également parce qu'il a été démontré que les lipases ont habituellement une meilleure énantiosélectivité lors de dédoublements cinétiques avec les alcools secondaires qu'avec les alcools primaires ou secondaires (figure 16)²⁵.

Figure 16 : Exemple de dédoublement cinétique d'un alcool secondaire.

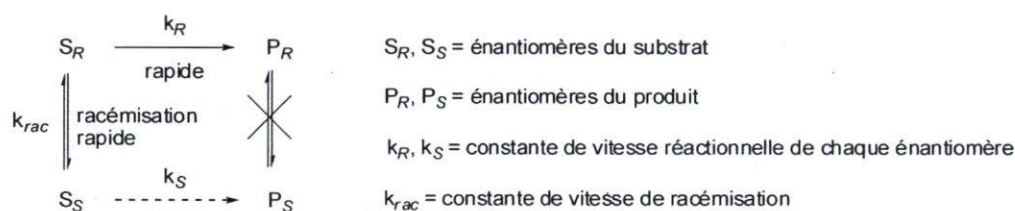


Le dédoublement cinétique dynamique

Le dédoublement cinétique dynamique implique une racémisation du substrat de départ résiduel et ce tout au long de la réaction. Cette méthode permet un rendement de 100 % de conversion et ce, en un seul énantiomère.

Le principe de base de cette méthode est que les énantiomères du substrat S_S et S_R sont en équilibre en présence d'un catalyseur chimique ou enzymatique. Un seul de ces deux énantiomères est un substrat de l'enzyme et le produit ne doit pas se racémiser dans le milieu réactionnel (figure 17). Ces conditions ont pour effet de favoriser la formation du produit sous la forme d'un seul énantiomère^{26, 27, 28, 29}.

Figure 17 : Exemple général de dédoublement cinétique dynamique.



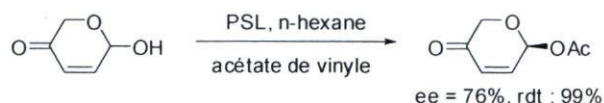
si $k_{rac} \gg k_R > k_S$ la réaction n'est pas limitée par k_{rac} , cas idéal

si $k_R > k_{rac} > k_S$ k_{rac} contrôle la vitesse de la réaction

si $k_R \gg k_S > k_{rac}$ réaction lente, dédoublement cinétique

Le dédoublement cinétique dynamique est aussi très utilisé lors d'hydrolyses ou d'estérifications enzymatiques (figure 18)³⁰.

Figure 18 : Exemple d'estérification d'un alcool secondaire utilisant le dédoublement cinétique dynamique.



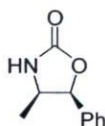
La synthèse asymétrique

La stratégie la plus innovatrice et la plus étudiée en synthèse de composés optiquement actifs est actuellement la synthèse asymétrique. Celle-ci rassemble les méthodes chimiques et biocatalytiques de création de centres chiraux sur des substrats achiraux.

La synthèse asymétrique chimique

Une première voie de synthèse asymétrique chimique préconise l'utilisation d'auxiliaires chiraux. Ces derniers sont des agents optiquement purs introduits sur des molécules achirales afin d'induire une asymétrie réactionnelle sur le substrat. Économiquement, les auxiliaires chiraux représentent une stratégie généralement défavorable vu leur emploi en quantité stoechiométrique. Toutefois, certains d'entre eux demeurent abordables à produire en plus d'être récupérables. Par exemple, les célèbres auxiliaires d'Evans³¹ (figure 19) sont fréquemment utilisés dans l'industrie pour réaliser des alkylations asymétriques.

Figure 19 : Auxiliaire d'Evans.



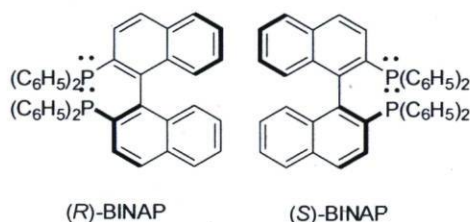
Bien que les auxiliaires chiraux occupent une place non négligeable dans les procédés chimiques de synthèses asymétriques, les milieux académique et industriel privilégient nettement les procédés faisant intervenir les catalyseurs chiraux. Le développement de ces procédés constitue le sujet de pointe de la chimie organique actuelle. Le prix Nobel de chimie en 2001 fut notamment décerné conjointement à William S. Knowles, Ryoji Noyori et Barry Sharpless pour leurs travaux pionniers dans ce domaine.

D'ailleurs, ces avancements s'insèrent progressivement dans les procédés industriels de synthèse asymétrique. Par exemple, William S. Knowles a découvert que le rhodium (I),

complexé par des ligands diphosphanes chiraux, dirigeait de façon asymétrique les hydrogénations catalytiques d'alcènes³².

Basés sur le même principe que les catalyseurs développés par Knowles, ceux de Noyori font intervenir le ruthénium (II), chélaté également par un ligand diphosphane chiral, appelé BINAP (figure 20), pour entraîner l'asymétrie dans la réaction d'hydrogénation catalytique d'alcènes mais aussi de réduction de cétones simples³³.

Figure 20 : Ligand diphosphane chiral développé par Noyori (BINAP).



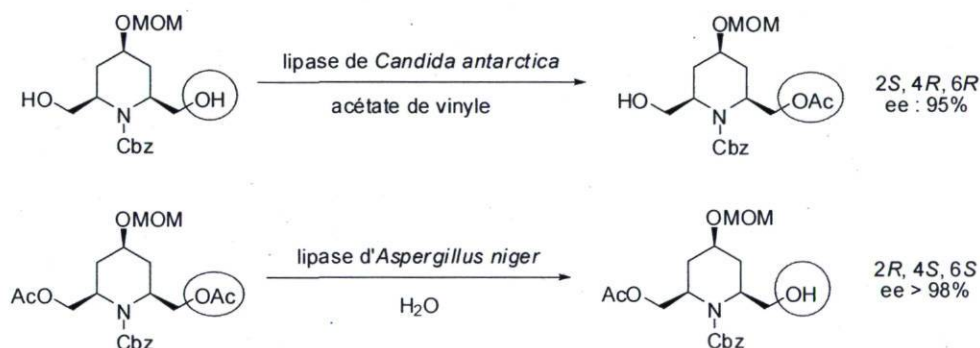
Les travaux de Sharpless portaient simultanément sur les réactions d'époxydations et de dihydroxylations asymétriques. Dans un premier temps, Sharpless a découvert qu'en présence d'un agent donneur d'oxygène, le titane (IV) formait avec les tartrates de dialkyles, des catalyseurs favorisant l'époxydation asymétrique de la portion alcène d'alcools allyliques³⁴. En second lieu, Sharpless a découvert qu'en présence de l'oxydant tétraoxyde d'osmium (OsO_4), certains ligands chiraux alcaloïdes catalysaient la dihydroxylation asymétrique d'alcènes³⁵.

La synthèse asymétrique biocatalytique ou désymétrisation

La synthèse asymétrique promue par les biocatalyseurs permet d'éviter l'utilisation des métaux très toxiques généralement associés aux catalyseurs chiraux chimiques. L'innocuité et la simplicité associée à l'utilisation des hydrolases et des lipases en chimie organique mais surtout la remarquable stéréosélectivité potentielle de ces enzymes en font les biocatalyseurs les plus répandus en synthèse asymétrique.

Dans une molécule achirale ayant un centre sp^3 où deux groupements chimiques identiques sont fixés, on retrouve un plan de symétrie. Ce type de groupement se nomme énantiotope et est désigné comme étant pro-*R* ou pro-*S*. En faisant réagir un seul de ces groupements, la molécule est ainsi désymétrisée et l'on crée, par le fait même, un centre de chiralité. Les enzymes ont la capacité de différencier les groupements énantiotopes des substrats achiraux et favorisent habituellement la transformation de l'un par rapport à l'autre. Il est donc possible d'obtenir un énantiomère pur avec un rendement théorique de 100 % en utilisant une enzyme pour désymétriser un composé achiral.³⁶ En changeant les conditions de réaction, il est également possible d'obtenir les deux énantiomères d'un même substrat achiral (figure 21).³⁷

Figure 21 : Exemple de désymétrisation catalysée par les enzymes.



Il existe deux types de ce genre de substrats : les substrats avec un centre prochiral et les molécules *méso*. Deux groupements peuvent être différenciés sur une molécule qui contient un centre prochiral sp^3 menant ainsi à la formation d'un nouveau centre de chiralité sous la forme d'un seul énantiomère pur (figure 22).

Figure 22 : Exemple général de désymétrisation d'un composé prochiral.

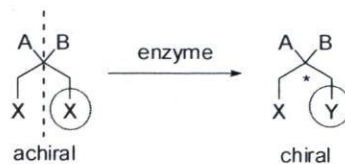
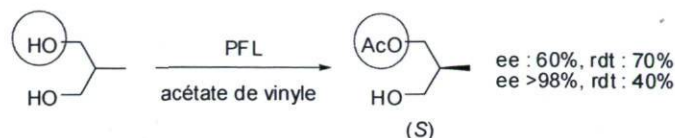


Figure 23 : Exemple de désymétrisation d'un composé prochiral par acylation enzymatique.³⁸



Un composé *méso* est un composé possédant plusieurs centres chiraux opposés par rapport à un plan de symétrie. Dans ce type de composés, des groupements chimiques identiques sont donc positionnés sur des atomes de configurations inverses. Une enzyme catalysera une réaction sur ces deux groupements avec des vitesses différentes ce qui aura pour effet de favoriser la formation d'un seul énantiomère (figure 24). Par contre, cette méthode ne peut être utilisée que si le substrat *méso* est préparé facilement par des réactions diastéréosélectives efficaces.

Figure 24 : Exemple général de désymétrisation d'un composé *méso*.

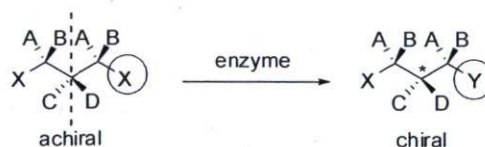
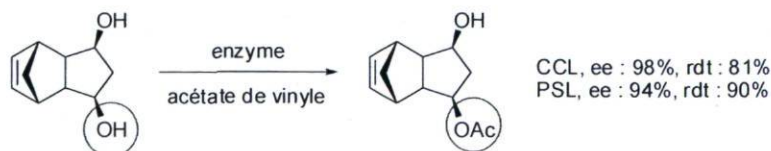


Figure 25 : Exemple de désymétrisation d'un composé *méso* par acylation enzymatique.³⁸



Plusieurs synthons chiraux permettant la synthèse de produits naturels et d'autres composés bioactifs peuvent être obtenus efficacement par désymétrisation enzymatique. Malgré que ce procédé soit plus rentable et efficace que les méthodes de résolutions, ces dernières sont plus utilisées en synthèse. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'un intermédiaire prochiral ou *méso* n'est pas toujours facile à obtenir. Toutefois, quand la

situation le permet, la désymétrisation par catalyse enzymatique reste une méthode facile, efficace et rentable d'induire la chiralité en synthèse organique moderne.

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE 1

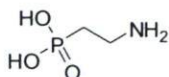
SYNTHÈSE ÉNANTIOSÉLECTIVE DE DÉRIVÉS DE LA PHOSPHONOTHRIXINE

1.1 Les phosphonates naturels^{39, 40, 41, 42}

Les composés possédant une liaison carbone-phosphore dans leur structure sont rares parmi les produits naturels. À ce jour, seulement une vingtaine de phosphonates naturels ont pu être isolés et caractérisés. Ces molécules ont été extraites de microorganismes mais aussi d'animaux terrestres et aquatiques. Cette rareté les rend uniques puisque la plupart d'entre eux présentent une activité biologique importante et intéressante. Il est à noter que des propriétés antibactériennes, antivirales, antibiotiques, pesticides ou anti-cancéreuses ont été observées chez plusieurs composés de ce type. Leur activité serait reliée à la nature relativement inerte du lien C-P mais aussi aux similitudes physiques entre les groupements acides phosphoniques, les phosphates et les acides carboxyliques. Cette dernière caractéristique expliquerait leur capacité à inhiber plusieurs processus enzymatiques.

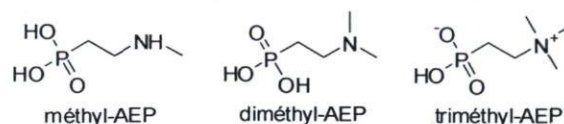
Le premier composé naturel isolé contenant un lien C-P est l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP) (figure 26). Il a été isolé d'un protozoaire pour la première fois en 1959. C'est un des phosphonates les plus abondants dans la nature. En effet, depuis sa découverte, il a été isolé de plusieurs autres sources différentes (invertébrés marins, microorganismes, humains).⁴³

Figure 26 : Acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).



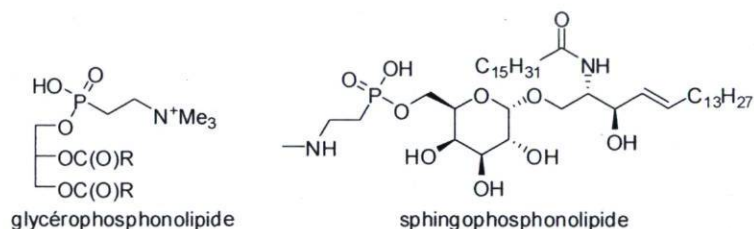
Il peut être vu comme un analogue de la taurine, de la β -alanine ou du phosphate d'éthanolamine. D'autres composés du même type ont aussi été isolés naturellement (figure 27). On peut noter les analogues N-méthylés de l'acide 2-aminoéthylphosphonique.

Figure 27 : Analogues N-méthylés de l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).

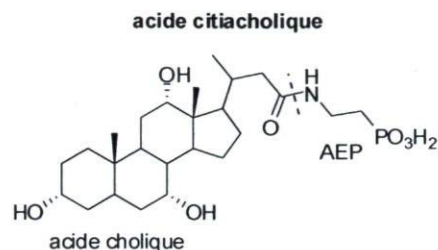


Les glycérophosphonolipides et les sphingophosphonolipides (figure 28) sont deux autres types de composés naturels contenant une fonction phosphonate. Ce sont des lipides complexes qu'on retrouve chez les invertébrés comme *Aplysia kurodai*. On les retrouve aussi chez de multiples espèces animales et végétales différentes.³⁹

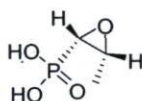
Figure 28 : Exemples de glycérophosphonolipides et de sphingophosphonolipides.



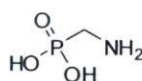
Certains dérivés d'acides biliaires contiennent aussi ce type de liaison. C'est le cas de l'acide taurocholique et de l'acide citiacholique (figure 29). Ce dernier composé est contenu dans la bile bovine et provient de la conjugaison de l'acide cholique et de l'AEP.⁴⁴

Figure 29 : Acide citiacholique.

Suite à leur découverte, certains phosphonates naturels ont démontré une activité biologique intéressante. C'est le cas, par exemple, de la fosfomycine ou phosphonomycine (figure 30). En effet, cet époxyde phosphoré, isolé à partir de *Streptomyces fradia*, possède une activité antibiotique non-négligeable.⁴⁵

Figure 30 : Acide (-)-(1R, 2S)-(Z)-1,2-époxypropylphosphonique.

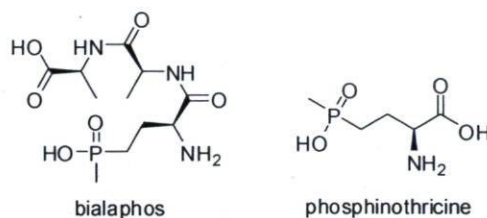
Parmi les molécules bioactives de ce type, on retrouve aussi l'acide 2-aminométhylphosphonique (figure 31). Ce composé est un métabolite primaire de la dégradation de l'herbicide commercial Roundup® (glyphosate) qui est lui aussi un phosphonate. Ce métabolite est isolé des plantes et du sol traités avec ce composé. Cette molécule s'avère posséder une activité antibactérienne.

Figure 31 : Acide 2-aminométhylphosphonique (AMPA).

En hydrolysant le tripeptide antibiotique bialaphos (phosphinothricyl-alanyl-alanine), produit par la fermentation de *Streptomyces viridochromogenes*⁴⁶, des chercheurs ont isolé la phosphinothricine (figure 32). Cette molécule est un analogue phosphoré de la glutamine et de l'acide glutamique. En effet, elle inhibe l'action de la glutamine synthase responsable de l'amination de la glutamine. Cette caractéristique lui confère une activité antibiotique mais aussi des propriétés d'herbicide. Ce composé est principalement vendu

comme constituant actif de l'herbicide non-sélectif commercial nommé Basta®. On retrouve la structure de ce composé dans d'autres antibiotiques herbicides naturels comme la phosalacine (phosphinothricyl-alanyl-leucine) et le trialaphos.

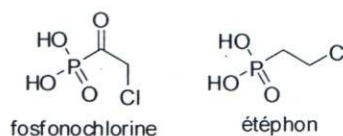
Figure 32 : Bialaphos et phosphinothricine.



Il est intéressant de remarquer que plusieurs de ces composés naturels possédant un lien C-P dans leur structure sont des analogues phosphorés de différents acides aminés. Cette similitude a poussé plusieurs groupes de recherche à synthétiser une multitude de molécules de ce type afin d'en déterminer l'activité biologique. Ces recherches ont permis la découverte de nouveaux antibiotiques, antibactériens et herbicides.

Parmi les phosphonates naturels, on retrouve aussi quelques molécules contenant un ou des atomes de chlore (Cl) dans leur structure. Cette particularité se retrouve chez la fosfonochlorine. Ce composé a été isolé à partir d'échantillons de sols et est produit par *Talaromyces flavus*, *Fusarium oxysporum*, *F. avenaceum* et *F. tricinctum* (fungus). C'est un antibiotique qui inhibe la biosynthèse des parois cellulaires bactériennes.⁴⁷ L'éthéphon est lui aussi un phosphonate chloré qui possède une activité biologique (figure 33). Il est utilisé comme régulateur de croissance pour les plantes.

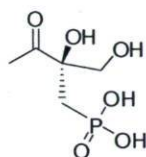
Figure 33 : Fosfonochlorine et éthéphon.



Le phosphonate naturel le plus récemment découvert se nomme phosphonothrixine. Au Japon, en 1995, Nakamura et ses collaborateurs ont isolé le microorganisme *Saccharothrix* sp. ST-888 à partir d'échantillons de sol. En analysant des cultures de cette

bactérie, ils en ont isolé le composé qu'ils ont nommé phosphonothrixine⁴⁸ (figure 34). Par analyse RMN et GC-MS, ce groupe en a déterminé la structure chimique. Ils en ont aussi déterminé les propriétés biologiques.⁴⁹

Figure 34 : (S)-(-)-phosphonothrixine naturelle.

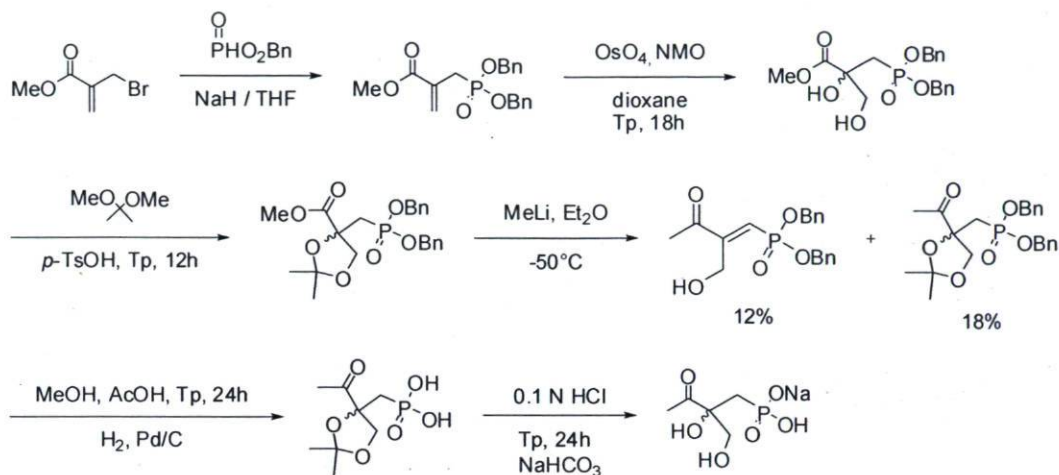


1.2 La phosphonothrixine : propriétés et synthèses rapportées

Ce métabolite secondaire, isolé sous forme d'un seul énantiomère pur, est un dérivé de l'isoprène (terpène C₅) incluant un centre stéréogénique et une fonction acide phosphonique (lien C-P). Cette molécule possède à l'état naturel une activité antibiotique. On ne lui a toutefois pas trouvé d'effet sur les bactéries pathogènes de l'homme. Par contre, ce produit naturel possède des propriétés herbicides intéressantes. En effet, il inhibe de façon significative la germination de diverses mauvaises herbes et induit aussi la chlorose lorsqu'on l'applique directement sur les feuilles.^{48, 50}

Pour confirmer cette structure proposée, le groupe de Nakamura a entrepris la synthèse totale de la phosphonothrixine racémique. Ces résultats sont rapportés dans un article⁵¹ publié en 1995. Le schéma suivant (figure 35) résume bien leurs travaux.

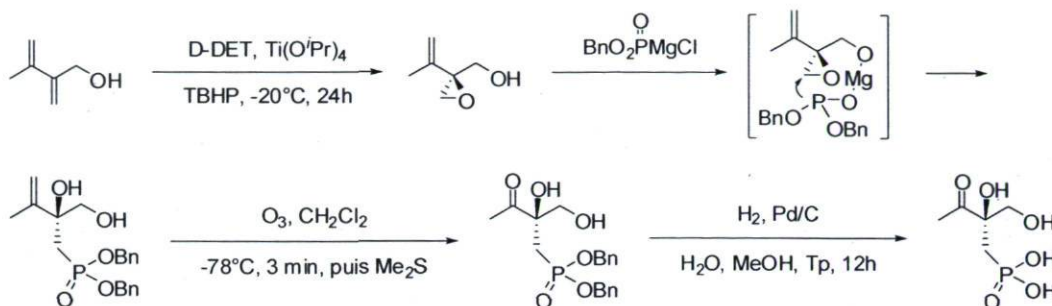
Figure 35 : Synthèse totale de la phosphonothrixine racémique présentée par le groupe de Nakamura.



On peut remarquer que l'étape nécessaire pour transformer l'ester en cétone à l'aide de MeLi s'effectue avec un rendement faible expliqué par la formation d'un produit secondaire (réarrangement). Cette synthèse avait toutefois comme but premier la confirmation de la structure proposée par ce groupe. Ce mandat a bien été rempli car l'analyse par RMN et GC-MS du composé synthétique concorde bien avec la structure déterminée pour la phosphonothrixine naturelle.

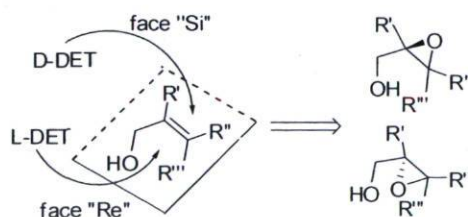
Le même groupe de recherche a aussi publié en 1997 une synthèse énantiosélective des deux énantiomères de la phosphonothrixine.^{52, 53} Dans cette synthèse, ils utilisent la méthodologie d'époxydation asymétrique de Sharpless pour déterminer la configuration absolue de la phosphonothrixine naturelle. Ce schéma (figure 36) montre la voie de synthèse privilégiée par Nakamura et ses collaborateurs.

Figure 36 : Détermination de la configuration absolue de la phosphonothrixine naturelle.



La méthode d'époxydation de Sharpless^{54, 55} se base sur des règles empiriques pour prédire la configuration absolue de l'époxyde obtenu. La réaction consiste donc à époxyder la double liaison d'un alcool allylique en utilisant le *t*-butylhydropéroxyde en présence de $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ et du tartrate de diéthyle (DET) de configuration D ou L. Par complexation avec le sel de titane, c'est le stéréoisomère de DET utilisé qui oriente la face de l'époxydation déterminant ainsi la configuration absolue du produit (figure 37). En utilisant le D-DET, on forme l'énantiomère *R* de l'époxyde. Le L-DET mène à la formation de l'énantiomère de configuration inverse soit le (*S*)-époxyde.

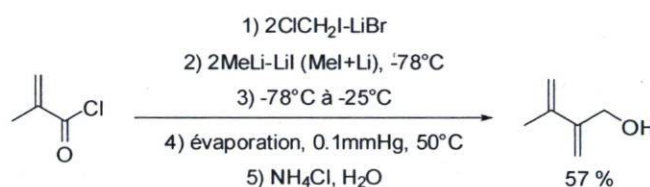
Figure 37 : Exemple général des deux attaques du DET.



Pour chaque alcool allylique rapporté dans la littérature comme ayant été soumis à ces conditions, aucune exception n'a été observée jusqu'à ce jour. Cette méthode de prédiction semble donc fiable et c'est ce qui a permis à Nakamura d'affirmer que l'énantiomère de la phosphonothrixine naturelle s'avérait être de configuration *S*.

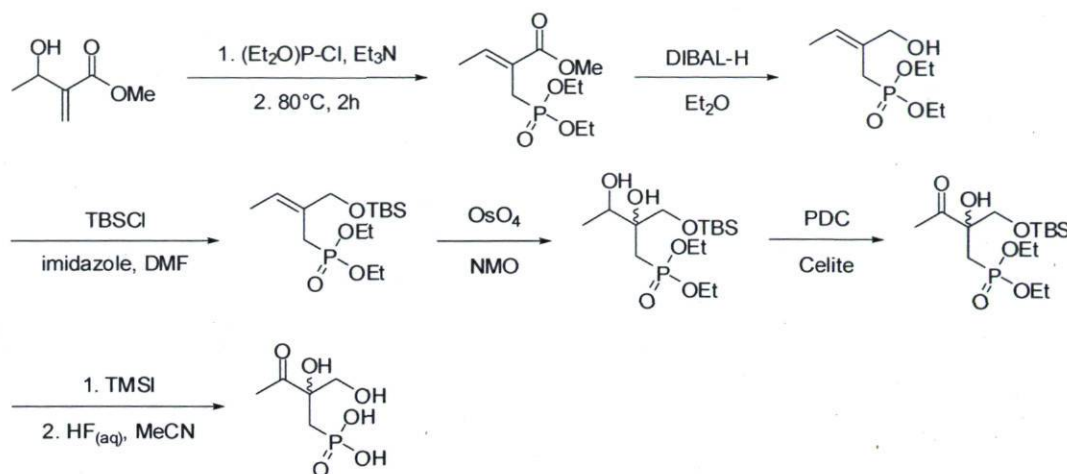
La synthèse du groupe de Nakamura contient peu d'étapes et permet l'obtention des deux énantiomères de la phosphonothrixine. Il serait par contre important de noter que le produit de départ de cette synthèse n'est pas disponible commercialement. Il doit donc être lui aussi synthétisé au préalable même s'ils n'ont pas inclus ces étapes dans leur schéma synthétique (figure 38). La référence pour la préparation de cet alcool allylique rapporte des conditions de réaction qui peuvent être considérées comme difficiles.⁵⁶

Figure 38 : Synthèse de l'alcool allylique de départ utilisé par le groupe de Nakamura.



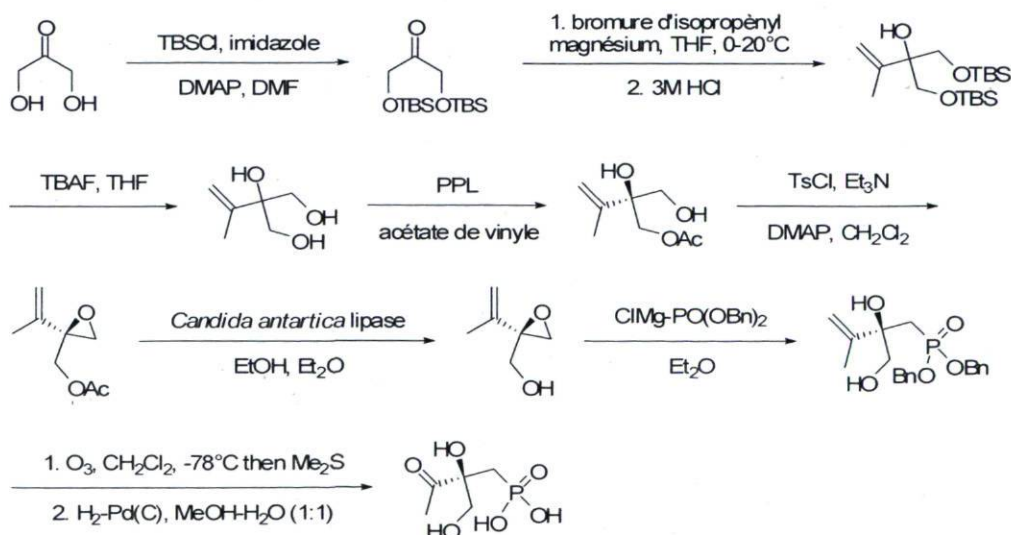
En effet, en 1998, S. C. Fields et ses collaborateurs ont rapporté eux aussi la synthèse racémique de la phosphonothrixine.⁵⁷ Dans leur article, ils décrivent plusieurs des problèmes rencontrés lors de leurs tentatives pour synthétiser ce phosphonate. Parmi ces problèmes, on peut noter leur incapacité à reproduire les résultats de Nakamura. En effet, Fields rapporte avoir tenté la synthèse du produit de départ de Nakamura mais sans succès. Selon lui, cette molécule est très réactive et très instable ce qui rend son isolation difficile. Elle est donc difficile à manipuler et il semblerait qu'elle ne puisse être époxydée dans les conditions décrites. En utilisant une autre méthode, Fields a toutefois effectué la synthèse de la phosphonothrixine racémique avec succès et cette dernière est représentée à la figure 39.

Figure 39 : Synthèse de la phosphonothrixine racémique rapportée par le groupe de Fields.



En 2004, le groupe de recherche de R. Chênevert a rapporté la synthèse chimioenzymatique de la phosphonothrixine.⁵⁸ La synthèse formelle énantiosélective de la (*S*)-(-)-phosphonothrixine à partir de la 1,3-dihydroxyacétone est reportée dans cet article. La (*S*)-(-)-phosphonothrixine a été obtenue, après neuf étapes, avec un excès énantiomère de 93 % et un rendement global de 12 %. L'étape clé de cette synthèse est la désymétrisation enzymatique du 2-isopropénylpropane-1,2,3-triol. Le schéma synthétique de cette synthèse est présenté ci-dessous (figure 40).

Figure 40 : Synthèse chimioenzymatique de la (*S*)-(-)-phosphonothrixine.



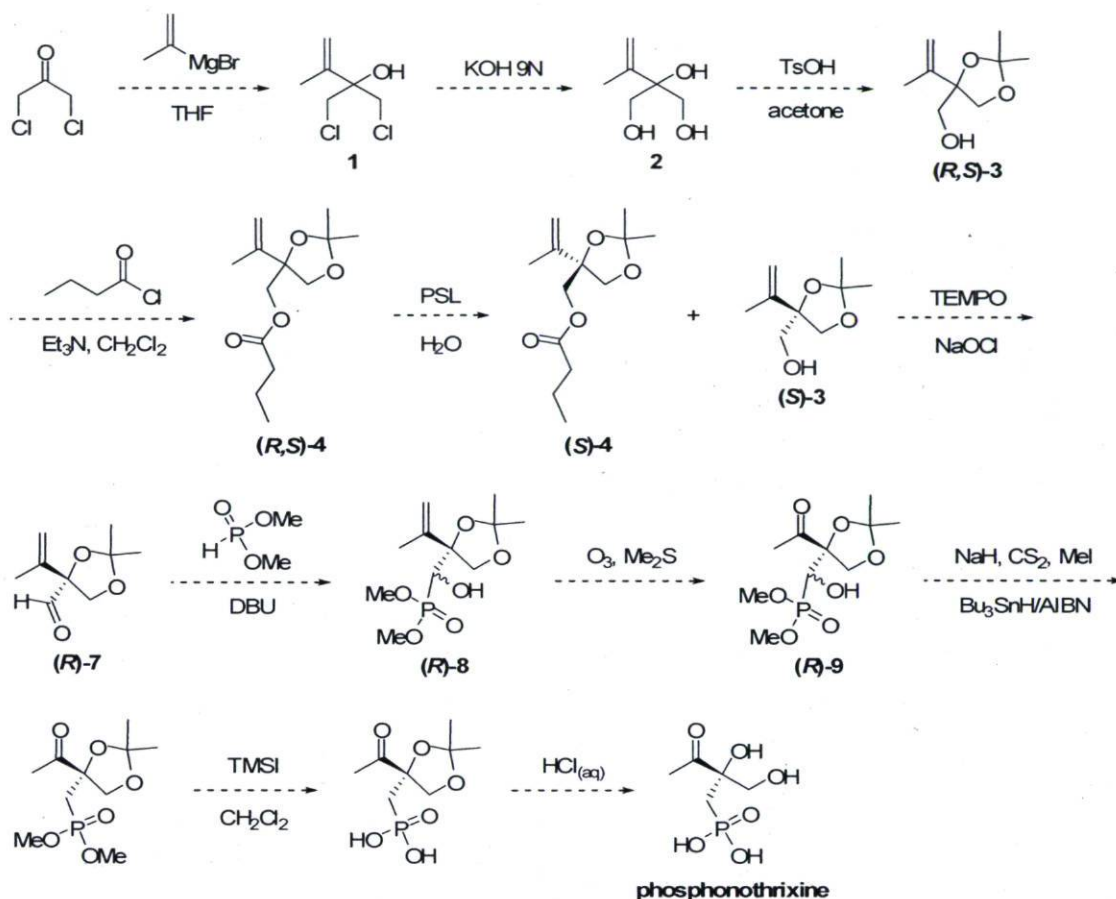
1.3 Objectif du projet

Compte tenu que très peu de synthèses de la phosphonothrixine ont été rapportées dans la littérature, le présent projet avait donc pour but la synthèse énantiosélective de la phosphonothrixine ou de ses dérivés. Sachant que ce produit naturel possède des propriétés antibiotiques et herbicides, un autre aspect du projet était de mesurer l'activité biologique des composés ainsi synthétisés.

1.3.1 Stratégie de synthèse

En observant le schéma synthétique (figure 41), on remarque qu'il semble possible d'obtenir ce phosphonate en quelques 11 étapes en utilisant comme produit de départ un composé commercial peu coûteux, la 1,3-dichloroacétone. L'étape clé de cette synthèse consiste donc au dédoublement cinétique enzymatique d'un composé racémique.

Figure 41 : Stratégie de synthèse énantiosélective de la (S)-(-)-phosphonothrixine.



1.4 Synthèse du butyrate de (R,S)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((R,S)-4)⁵⁹.

La stratégie adoptée consiste à introduire la chaîne isopropényle par addition de Grignard sur la 1,3-dichloroacétone et d'hydrolyser ensuite les chlorures de l'alcool dihalogéné obtenu pour générer le 2-isopropényl-glycérol désiré (figure 42). Cette approche a été inspirée par les travaux de Holy⁶⁰ (figure 43) où il est rapporté que le 2-méthyl-glycérol peut être obtenu grâce à cette méthode.

Figure 42 : Préparation du butyrate de (*R,S*)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle.

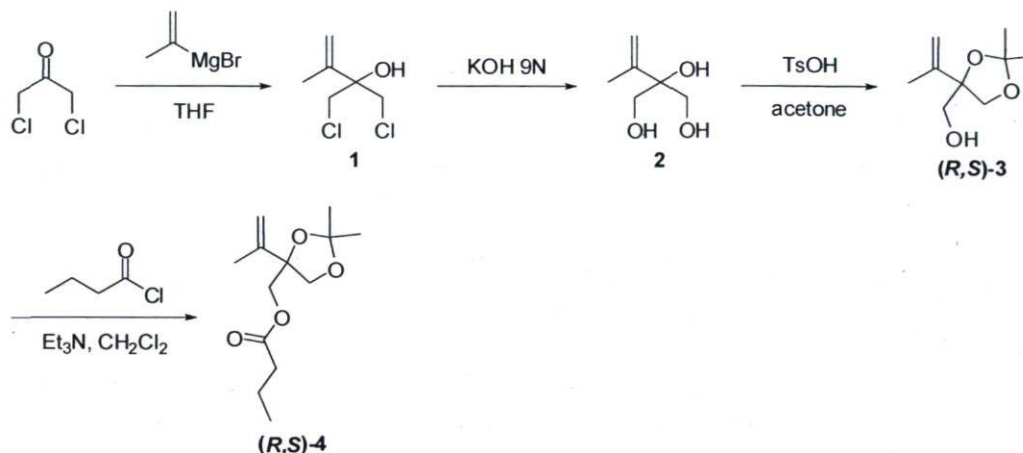
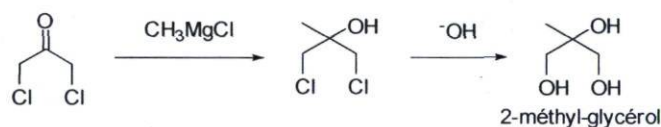


Figure 43 : Méthode d'obtention du 2-méthyl-glycérol proposée par Holy⁶⁰.



Le produit synthétisé porte une chaîne isopropényle en position 2. Pour l'obtenir, nous avons appliqué la méthode de Holy pour permettre l'introduction du groupement isopropényle en position 2 par addition de Grignard sur la 1,3-dichloroacétone et ainsi obtenir l'alcool dihalogéné **1**. Le glycérol 2-substitué **2** est obtenu suite à l'hydrolyse basique des chlorures de l'alcool dihalogéné **1**. Toutefois, bien que l'addition de Grignard soit rapide tout en offrant un rendement élevé (82 %) pour l'alcool dihalogéné **1**, l'hydrolyse subséquente est lente et montre un rendement moyen pour l'obtention du glycérol 2-substitué **2**, récupéré à 72 %.

Le triol **2** brut est protégé par acétalisation en traitant ce dernier avec l'acétone en catalyse acide pour donner le dérivé de l'isopropylidèneglycérol 2-isopropényle racémique (*R,S*)-**3**. Il est à noter que la réaction forme l'isomère cyclique à 5 membres et que l'isomère à 6 membres n'est observable qu'à l'état de trace. Le produit (*R,S*)-**3** a pu être isolé en ayant recours à la chromatographie éclair sur gel de silice (rendement = 61%).

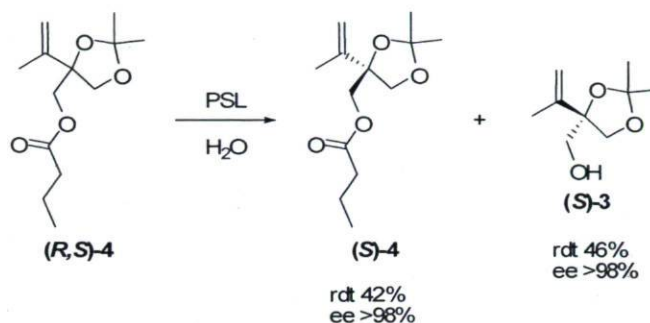
Par la suite, la fonction alcool du composé **(R,S)-3** est acylée chimiquement pour former l'ester **(R,S)-4** qui, après purification par chromatographie éclair sur gel de silice, est récupéré pur avec un rendement quantitatif.

1.5 Hydrolyse enzymatique de **(R,S)-4**⁵⁹.

L'hydrolyse enzymatique de l'ester **(R,S)-4** est catalysée par la lipase de *Pseudomonas* sp. (PSL) en émulsion dans l'eau au pH ajusté à 7.5 à l'aide de NaOH en solution (figure 44). L'absence de tampon permet de suivre le dédoublement avec exactitude car l'hydrolyse génère de l'acide butyrique qui doit être titré avec NaOH jusqu'à ce que s'interrompe l'acidification du milieu réactionnel pour indiquer le moment où le dédoublement cinétique peut être arrêté. Ainsi, la stabilisation du pH devient un indicateur précis de la fin de l'hydrolyse enzymatique de l'énantiomère favorisé.

L'hydrolyse enzymatique de l'ester **(R,S)-4** a été effectuée afin de générer l'alcool **(S)-3** et l'ester **(S)-4** énantipurs (ee > 98 %) récoltés avec des rendements de 46 % et 42 % respectivement. Les excès énantiomères énoncés résultent d'une analyse chromatographique en phase gazeuse sur colonne chirale dont la méthode a été développée dans notre laboratoire. Les produits ont été isolés par chromatographie éclair sur gel de silice. Ces résultats démontrent non-seulement la grande stéréosélectivité de l'enzyme en hydrolyse mais aussi le taux de conversion optimal de 50 % atteint pour cette résolution.

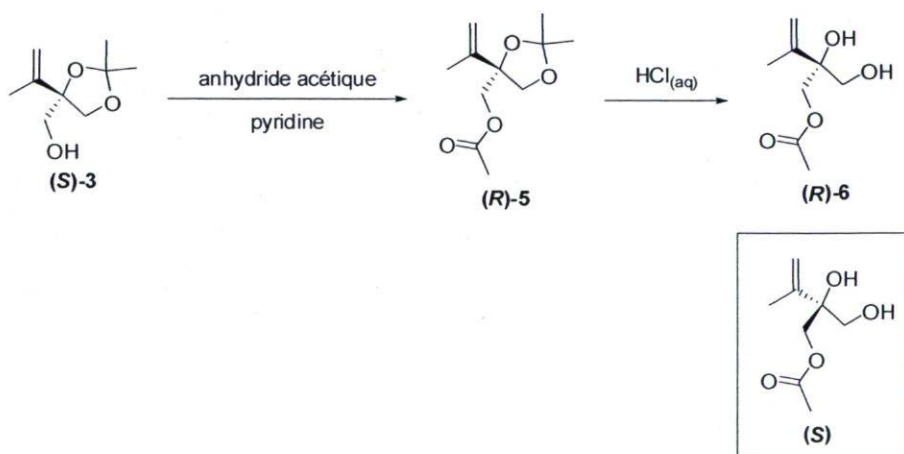
Figure 44 : Hydrolyse enzymatique de (*R,S*)-4.



1.6 Détermination de la configuration absolue de l'alcool (*S*)-3⁵⁹.

Les configurations absolues des composés chiraux (*S*)-3 et (*S*)-4 ont été déterminées par corrélation chimique avec un intermédiaire de la synthèse formelle de la phosphonothrixine⁵⁸ publiée par le groupe de R. Chênevert en 2004. Ainsi, nous avons acétylé la fonction alcool du composé (*S*)-3 pour obtenir l'ester (*R*)-5 qui a ensuite été traité en milieu acide pour fournir le diol chiral (*R*)-6 présentant un pouvoir rotatoire inverse à celui de la molécule de référence de même structure mais de configuration *S* (figure 45).

Figure 45 : Détermination de la configuration absolue de l'alcool (*S*)-3.



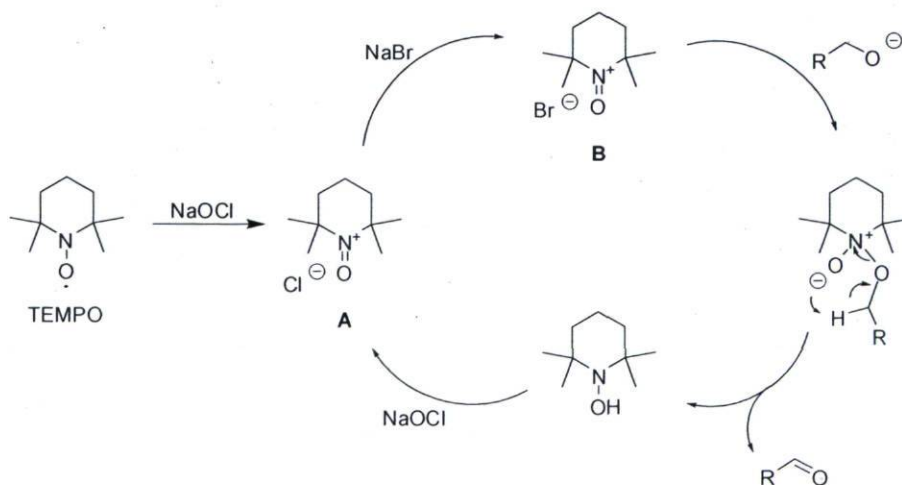
1.7 Oxydation de l'alcool (*S*)-3 en aldéhyde ⁵⁹.

Afin de poursuivre le schéma de synthèse proposé à la section 1.3.1, il nous fallait oxyder l'alcool (*S*)-3. Pour ce faire, nous avons utilisé une méthode d'oxydation propre, efficace et peu dispendieuse. Cette méthode est, de plus, réputée pour préserver la pureté énantiomérique des composés oxydés. Ainsi, la méthode faisant intervenir l'oxydant catalytique TEMPO en présence du co-oxydant NaOCl (figure 46) afin d'oxyder la fonction alcool du composé (*S*)-3 a donc été utilisée. Le mécanisme réactionnel particulier de cette oxydation engendrée par l'oxydant catalytique TEMPO est décrit à la figure 47 ⁶¹.

Figure 46 : Préparation de l'aldéhyde (*R*)-7 par réaction d'oxydation catalytique TEMPO.



Figure 47 : Mécanisme d'oxydation de l'aldéhyde (*R*)-7 par l'action de l'oxydant catalytique TEMPO ⁶¹.



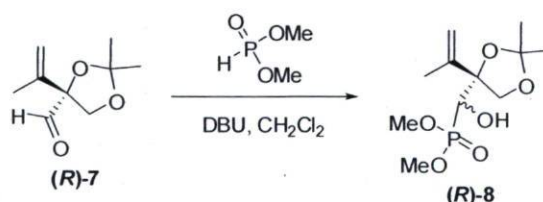
L'espèce catalytique active est **B** que l'on régénère au cours de la réaction. Cette espèce est plus soluble en milieu organique que **A** et c'est donc pour cela que l'on ajoute une quantité catalytique de NaBr dans le milieu pour changer le contre-ion.

1.8 Formation du lien C-P.

Une des étapes les plus importantes de cette synthèse est bien entendu la formation du lien carbone-phosphore. La méthode envisagée est celle de Michaelis-Becker qui procède par substitution nucléophile avec l'anion d'un phosphite diprotégé formé par déprotonation avec une base forte⁶².

L'aldéhyde (**R**)-7 en solution dans le dichlorométhane est mis en présence de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) et de diméthylphosphite^{63, 64, 65, 66, 67} (figure 48). Le résidu obtenu après réaction a dû être purifié par chromatographie éclair sur gel pour ainsi obtenir l'hydroxy-phosphonate (**R**)-8 pur dans un faible rendement de 26 %. Il est cependant important de mentionner que ce genre de réactions donne des rendements faibles et que ce dernier est comparable à ceux rapportés dans la littérature⁶². L'anion du diméthylphosphite est un mauvais nucléophile. Le mélange de diastéréoisomères est visible en spectroscopie RMN dans une proportion de 1:1.

Figure 48 : Préparation de l'hydroxy-phosphonate (R)-8.



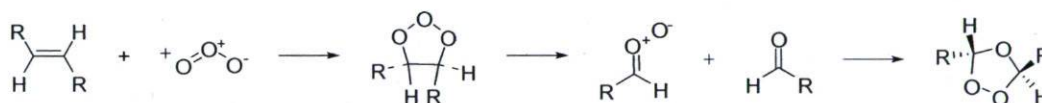
1.9 Ozonolyse du composé (R)-8

La réaction des alcènes avec l'ozone constitue une importante méthode de rupture de liaisons doubles carbone-carbone⁶⁸. L'application de techniques spectroscopiques à basse température a fourni des informations sur les espèces assez instables qui sont

intermédiaires dans le processus d'ozonolyse. Ces études, avec les résultats du marquage isotopique, ont permis de comprendre le mécanisme réactionnel ⁶⁹.

Les deux intermédiaires-clés de l'ozonolyse semble être le 1,2,3-trioxolane, ozonide initial, et le 1,2,4-trioxolane ou l'ozonide proprement dit. La première étape de la réaction est une cycloaddition donnant le 1,2,3-trioxolane. Celle-ci est suivie d'une fragmentation et d'une recombinaison, qui donnent l'isomère 1,2,4-trioxolane. Le schéma mécanistique de la première étape correspond à celui d'une réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 (figure 49). L'ozone est supposé être un dipôle 1,3 très réactif du fait de l'accumulation d'atomes d'oxygène électronégatifs dans la molécule d'ozone. D'après des considérations thermochimiques, on peut prévoir que la cycloaddition initiale, la fragmentation et la recombinaison sont exothermiques ⁷⁰.

Figure 49 : Mécanisme général d'ozonolyse.

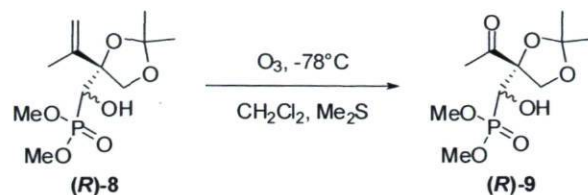


La fragmentation-recombinaison peut se produire plus rapidement que la diffusion ou peut être représentée comme un processus concerté.

Les produits effectivement isolés après ozonolyse dépendent des conditions de manipulation. L'hydrolyse simple amène aux composés carbonylés et au peroxyde d'hydrogène et ceux-ci peuvent réagir en donnant des produits d'oxydation secondaires. Il est habituellement préférable d'inclure un agent réducteur doux capable de réduire les produits peroxydiques (le sulfure de diméthyle, par exemple).

L'hydroxy-phosphonate (**R**)-8, en solution dans le dichlorométhane, est amené à -78°C à l'aide d'un mélange acétate d'éthyle/azote liquide. Par la suite, l'ozone est barboté dans la solution jusqu'à apparition d'une coloration bleue ^{71, 72, 73, 74} (figure 50). Le résidu obtenu après réaction a été purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour ainsi obtenir le composé (**R**)-9 pur avec un très bon rendement de 82 %.

Figure 50 : Ozonolyse du composé (R)-8.

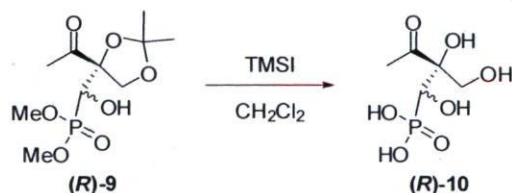


1.10 Déprotection du composé (R)-9 pour obtenir l'hydroxy-phosphonothrixine.

Le présent projet avait pour but la synthèse énantiosélective de la phosphonothrixine ou de ses dérivés. Il était donc facile, rendu à ce point, de tenter de déprotéger le composé (R)-9 et ainsi obtenir l'hydroxy-phosphonothrixine.

Le composé (R)-9 a été mis en réaction avec l'iodotriméthylsilane (TMSI) (figure 51) ⁷⁵. La réaction, terminée après 20 heures, nous donne un résidu de couleur rouille. Ce dernier est précipité dans un mélange méthanol / éther pour ainsi obtenir un solide blanc avec un faible rendement de 22 %, Ce rendement peut être expliqué par le fait que le composé (R)-9 est très polaire et hydrosoluble, il est donc difficile à extraire.

Figure 51 : Déprotection du composé (R)-9.



1.11 Conclusion

La synthèse énantiosélective de l'hydroxyphosphonothrixine **10** a été complétée en 9 étapes. La résolution cinétique enzymatique de l'ester intermédiaire **4** est hautement énantiosélective (ee >98%) et permet un contrôle du centre stéréogénique C-2. D'autre part, la réaction du diméthylphosphite sur l'aldéhyde **7** n'est pas stéréosélective et le produit final **10** est un mélange de diastéréoisomères.

Les hydroxyphosphonates sont des analogues des hydroxyacides carboxyliques, des intermédiaires métaboliques variés et abondants; ils agissent souvent comme inhibiteurs des enzymes dont les substrats sont des hydroxyacides et ils peuvent affecter une variété de processus physiologiques.⁷⁶ Ils ont entre autres des activités antibactériennes, antivirales et anti-cancer. Le composé **10** devrait être testé comme herbicide et antibiotique.

L'obtention de la phosphonothrixine nécessitait une autre étape, soit une désoxygénation radicalaire (figure 41). Le premier plan de synthèse proposait que cette réaction se fasse sur l'intermédiaire (**R**)-**8**. Une réaction de Barton-McCombie^{77, 78} a été tentée sans succès à quelques reprises; la fonction alcène du composé **8** n'est probablement pas inerte aux intermédiaires radicalaires formés lors de la désoxygénation. Dans le futur, la réaction devrait être tentée sur le composé **9**, porteur d'une fonction cétone plus compatible avec les conditions de réactions.

CHAPITRE 2

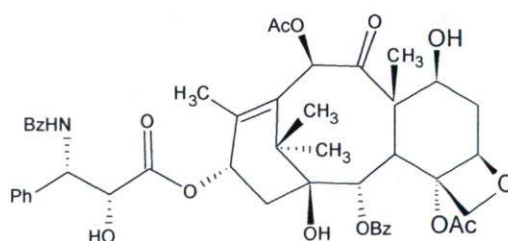
DÉSYMÉTRISATION ENZYMATIQUE DU *CIS*-2,2-DIMÉTHYL-1,3-CYCLOHEXANEDIOL

2.1 Les 1,3-diols

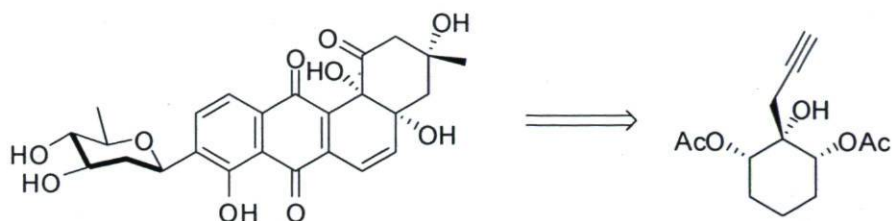
Les composés 1,3-diols cycliques sont très utilisés dans le domaine de la chimie médicinale et pharmaceutique. Ils servent de bloc de départ à la construction d'une grande variété de composés⁷⁹. Plusieurs dérivés de produits naturels contiennent une unité 1,3-diol *syn* ou *anti*. Vu l'intérêt que ces composés suscitent, plusieurs façons de synthétiser des 1,3-diols optiquement actifs ont été mises au point, dont la désymétrisation enzymatique de *méso*-1,3-diols.

On retrouve les 1,3-diols dans plusieurs sources naturelles. Le Taxol, utilisé dans le traitement de plusieurs cancers dont celui du sein et des ovaires, contient une unité 1,3-diol et peut être synthétisé à partir du 2-méthyl-1,3-cyclohexanedione⁸⁰ (figure 52).

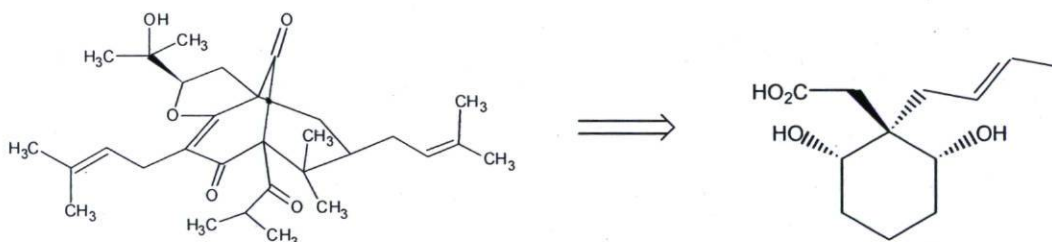
Figure 52 : Le Taxol.



L'acétate de *cis*-2,3-dihydroxy-2-(prop-2-ynyl)cyclohexyle est obtenu à partir du diacétate correspondant dans un rendement quasi quantitatif et un excès énantiomère supérieur à 99% par hydrolyse asymétrique en utilisant la lipase de *Candida antarctica*⁸¹. Ce monoacétate est utilisé comme produit de départ de la synthèse totale de l'aquayamycin, un puissant inhibiteur de la tyrosine hydroxylase, possédant également une unité 1,3-diol (figure 53).

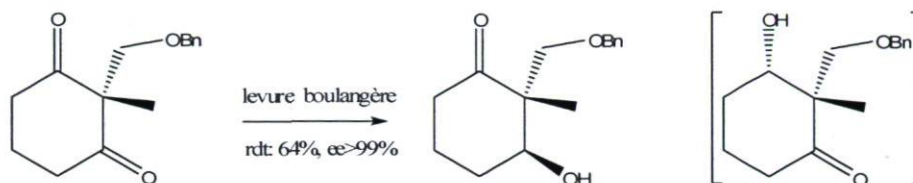
Figure 53 : L'aquayamycin.

Étant donné l'utilité potentielle de la garsubelline A comme outil biologique permettant de découvrir de nouveaux agents thérapeutiques pour lutter contre la maladie d'Alzheimer, beaucoup d'études sur la synthèse de cette substance naturelle complexe et de substances analogues ont été réalisées⁸². Cette molécule a également été synthétisée en utilisant comme bloc de départ un composé 1,3-diol (figure 54).

Figure 54 : La garsubelline A.

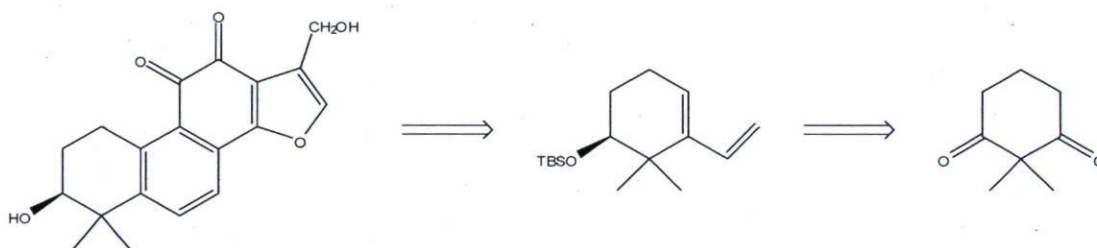
Les réductions énantiosélectives de cycles à cinq, six, sept et huit membres de 1,3-cycloalcanediones possédant un groupement méthyle et un groupement hydroxyméthyle protégé en position C2 ont été grandement étudiées. Le groupe de recherches de M. Nakada a mis au point une méthode de réduction par utilisation de levures boulangères (*Saccharomyces cerevesiae*) pour obtenir le composé cétole chiral correspondant avec un excès énantiomère >99% et un bon rendement (figure 55)^{83,84}. Ces composés chiraux, sont facilement utilisés comme produits de départ dans la synthèse de produits naturels complexes.

Figure 55 : Réduction d'une cyclohexanedione-1,3 par la levure.



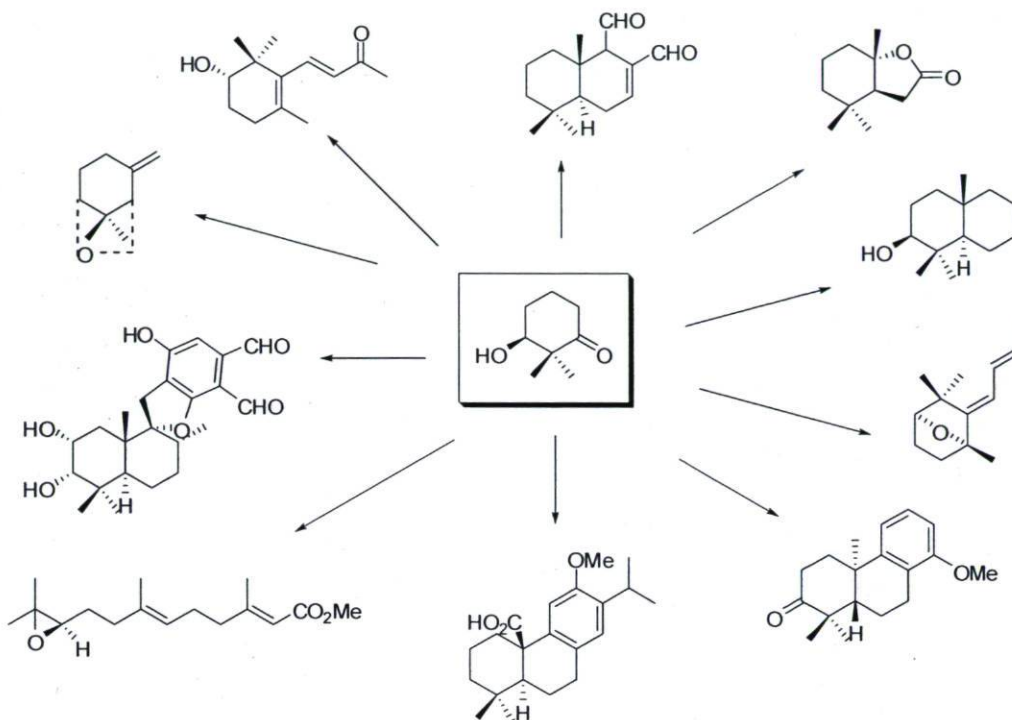
Cette méthode a été utilisée par J. Zhang lors de la synthèse asymétrique de la 3(*S*),17-dihydroxytanshinone⁸⁵. L'intermédiaire diène a été synthétisé à partir de la 2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanedione par réduction à l'aide de levures pour obtenir le (*S*)-3-(*tert*-butyldiméthylsilyloxy)-2,2-diméthylcyclohexanone avec un excès énantiomère supérieur à 95% (figure 56).

Figure 56 : La 3(*S*),17-dihydroxytanshinone.



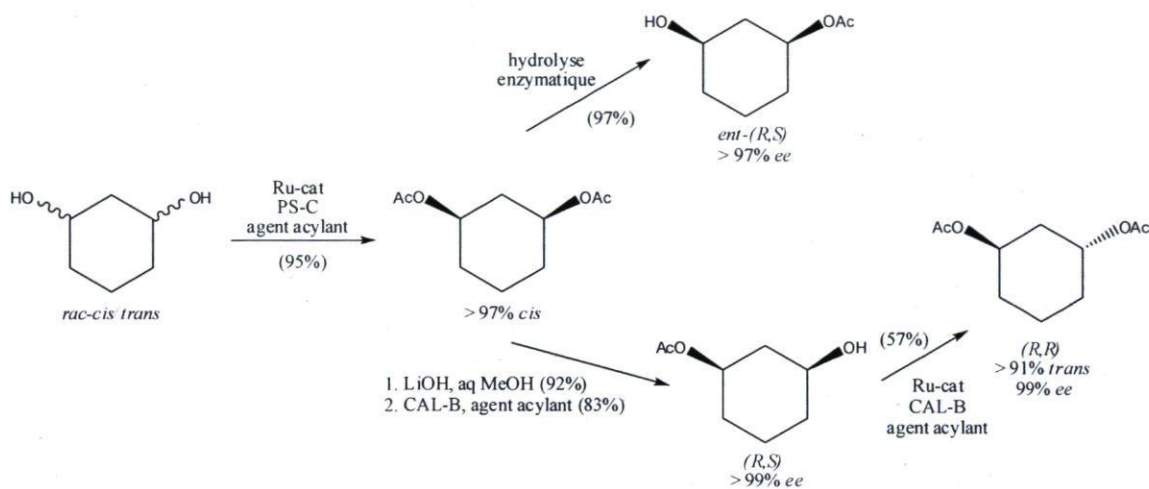
Dans les années 1960, les réductions de cyclopentane et de cyclohexane-1,2-diones ont été étudiées en profondeur en corrélation avec les synthèses totales de stéroïdes. La (*S*)-3-hydroxy-2,2-diméthyl-cyclohexanone a été démontrée comme un produit de départ chiral non racémique d'une grande versatilité pouvant être utilisé dans la synthèse des terpènes⁸⁶. Plusieurs produits naturels peuvent être synthétisés à partir du (*S*)-3-hydroxy-2,2-diméthyl-cyclohexanone (figure 57).

Figure 57 : Produits naturels synthétisés à partir du (S)-3-hydroxy-2,2-diméthyl-cyclohexanone.



Le groupe de recherche de Jan-E Bäckvall a publié en 2006 des travaux sur la résolution enzymatique, la désymétrisation et la transformation cinétique dynamique de 1,3-cycloalcanediols⁸⁷ (figure 58).

Figure 58 : Transformations catalysées par des enzymes à partir de la 1,3-cyclohexanediol.



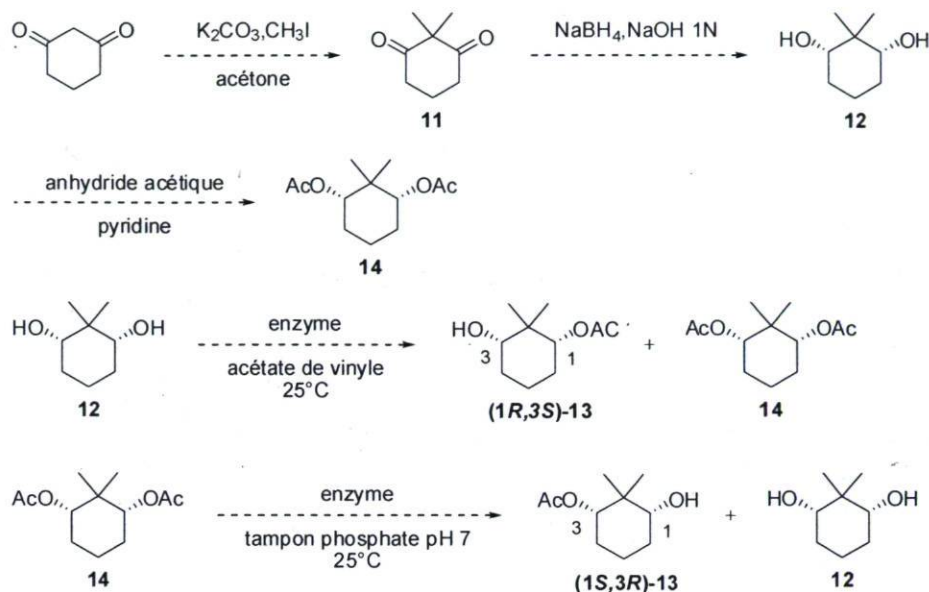
2.2 Objectif du projet

Sachant que plusieurs dérivés de produits naturels contiennent une unité 1,3-diol *syn* ou *anti* et que ces derniers servent de bloc de départ à la construction d'une grande variété de composés, il était intéressant d'étudier l'un de ces diols⁷⁹. L'objectif de ce projet était donc d'effectuer la désymétrisation enzymatique du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol.

2.2.1 Stratégie de synthèse

En observant le schéma synthétique (figure 59), on remarque qu'il est possible d'obtenir le diol désiré en seulement 2 étapes et le diacétate correspondant en 3 étapes. Les synthons ainsi obtenus, il est par la suite possible de procéder à la désymétrisation enzymatique de ces composés *méso* par la distinction de groupes énantiotopes sur ces substrats achiraux et ainsi obtenir les 2 énantiomères du même produit.

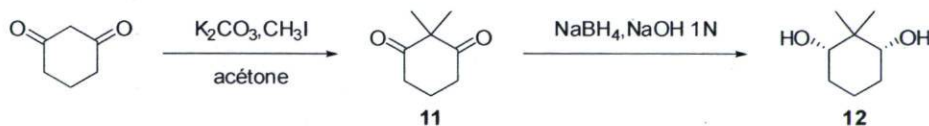
Figure 59 : Stratégie de synthèse des composés étudiés.



2.3 Synthèse du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12)

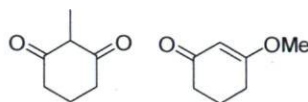
La stratégie adoptée consiste à introduire deux groupements méthyle en position 2 sur la 1,3-cyclohexanedione et à réduire ensuite les fonctions cétones pour générer le diol désiré (figure 60).

Figure 60 : Préparation du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12).



La 1,3-cyclohexanedione et l'iodure de méthyle en présence de carbonate de potassium dans l'acétone sont portés à reflux pour une période de cinq heures^{88, 89, 90, 91}. La 2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanedione (11) est ainsi obtenue après purification par chromatographie éclair sur gel de silice avec un rendement de 48 %. Le rendement plutôt faible est dû à la formation de deux autres produits ; soit la 2-méthylcyclohexane-1,3-dione et la 3-méthoxycyclohex-2-ène qui sont représentés à la figure 61.

Figure 61 : Autres produits obtenus lors de la réaction de méthylation.

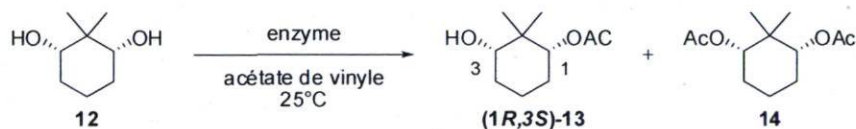


La dicétone **11** est par la suite réduite à l'aide du borohydrure de sodium en milieu basique et ainsi obtenir un mélange *cis-trans* du diol **12**^{87, 88, 89}. Le produit majeur *cis* **12** a pu être isolé pur en ayant recours à la chromatographie éclair sur gel de silice dans un rendement de 54 %.

2.4 Désymétrisation enzymatique du diol méso **12**

Le diol **12** est dissous dans de l'acétate de vinyle et l'acylation enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 62).

Figure 62 : Acylation enzymatique du diol méso **12.**



L'acylation enzymatique du diol **12** a été effectuée afin de générer le monoacétate **(1R,3S)-13**. Le meilleur résultat a été obtenu en utilisant la lipase B de *Candida antarctica*. L'excès énantiomère obtenu est supérieur à 98 % et le monoacétate a été récolté avec un rendement de 55 %. Les résultats obtenus avec les autres enzymes utilisées sont présentés dans le tableau 1. Les excès énantiomères énoncés résultent d'une analyse chromatographique en phase gazeuse sur colonne chirale dont la méthode a été développée dans notre laboratoire. Les produits ont été isolés par chromatographie éclair sur gel de silice.

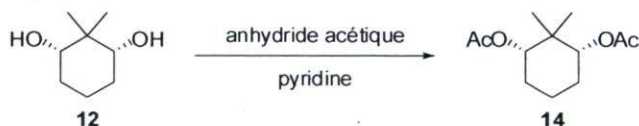
Tableau 1 : Durée (temps) et excès énantiomères mesurés sur le monoacétate (1*R*,3*S*)-13 ($ee_{(1R,3S)-13}$) lors d'essais d'acylations enzymatiques réalisés avec diverses enzymes.

Enzyme	Temps (jrs)	$ee_{(1R,3S)-13}$ (%)	Rendement (%)	
			monoacétate (1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-13	diacétate 14
CAL-B	6	> 98	55	4
CRL	14	95	5	---
PLE	10	83	6	---
PPL	10	64	36	---
PCL	14	63	16	---

2.5 Synthèse du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14)

L'objectif étant d'obtenir les deux énantiomères du monoacétate 13, la synthèse du diacétate était donc la suite logique. Le diol 12 a été dissous avec de la pyridine et 5 équivalents d'anhydride acétique ont été ajoutés au mélange (figure 63)^{87, 91}. Le résidu a été purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le diacétate 14 avec un rendement de 83 %.

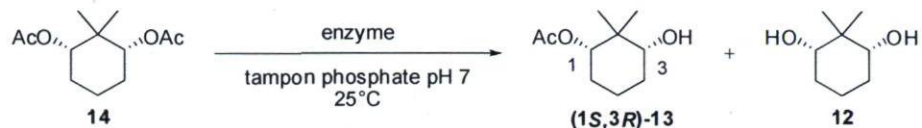
Figure 63 : Préparation du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14).



2.6 Désymétrisation enzymatique du diacétate méso (14)

Le diacétate **14** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.0 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 64).

Figure 64 : Hydrolyse enzymatique du diacétate méso 14.



L'hydrolyse enzymatique du diacétate **14** a été effectuée afin de générer le monoacétate (**1S,3R**)-**13**. Les meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant l'estérase de foie de porc, la lipase de pancréas de porc et la lipase de *Candida rugosa*. Les excès énantiomères obtenus sont supérieurs à 98 % et le monoacétate a été récolté avec des rendements respectifs de 100 %, 93 % et de 75 %. Les résultats obtenus avec les autres enzymes utilisées sont présentés dans le tableau 2. Les excès énantiomères énoncés résultent d'une analyse chromatographique en phase gazeuse sur colonne chirale dont la méthode a été développée dans notre laboratoire. Les produits ont été isolés par chromatographie éclair sur gel de silice.

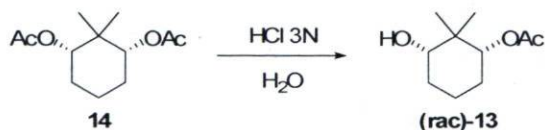
Tableau 2 : Durée (temps) et excès énantiomères mesurés sur le monoacétate (1*S*,3*R*)-13 ($ee_{(1S,3R)-13}$) lors d'essais d'hydrolyses enzymatiques réalisés avec diverses enzymes.

Enzyme	Temps	$ee_{(1S,3R)-13}$ (%)	Rendement (%)	
			monoacétate (1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-13	diol 12
PLE	4 hrs	> 98	100	---
PPL	24 hrs	> 98	93	---
CRL	24 hrs	> 98	75	---
CAL-B	10 jrs	90	70	22
PCL	11 jrs	89	77	11

2.7 Synthèse du 3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol (rac-13)

Pour pouvoir mesurer les excès énantiomères des 2 énantiomères du monoacétate **13** par analyse chromatographique en phase gazeuse sur colonne chirale il faut posséder un échantillon du monoacétate racémique correspondant. Ce dernier a été obtenu à partir du diacétate **14** mis en solution dans un mélange d'eau et d'acide chlorhydrique 3N (figure 65). Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice.

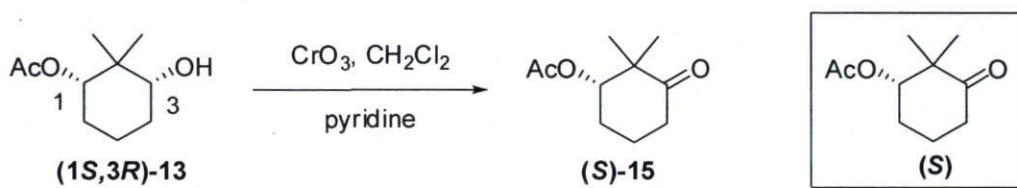
Figure 65 : Préparation du 3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-ol (rac-13).



2.8 Détermination de la configuration absolue du monoacétate (1*S*,3*R*)-13

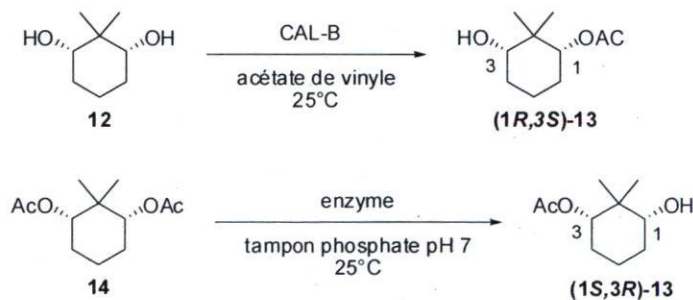
La configuration absolue du composé chiral (1*S*,3*R*)-13 a été déterminée par corrélation chimique. Ainsi, nous avons oxydé la fonction alcool du composé (1*S*,3*R*)-13 pour obtenir la cétone (S)-15 présentant un pouvoir rotatoire de même signe que la molécule de référence de même structure et de configuration *S* (figure 66)⁹².

Figure 66 : Détermination de la configuration absolue du monoacétate (1*S*,3*R*)-13.



2.9 Conclusion

Figure 67 : Acylation enzymatique du diol 12 et hydrolyse enzymatique du diacétate 14.



L'acétylation du *méso*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexane-diol par l'acétate de vinyle en présence de la lipase B de *Candida antarctica* a conduit au monoester (1*R*,3*S*)-13 avec un excès énantiomère très élevé (ee>98%). L'hydrolyse du *méso*-diacétate correspondant en milieu aqueux en présence de trois lipases (PLE, PPL, CRL) a conduit à l'autre énantiomère (1*S*,3*R*)-13 énantio pur (ee>98%).

La réversibilité des réactions catalysées par les hydrolases permet l'exploitation de stratégies énantiodivergentes. En effet, qu'une hydrolase soit utilisée pour former une liaison ou pour la cliver, elle conserve généralement la même stéréopréférence. Ainsi, il est possible d'obtenir les deux énantiomères d'un composé chiral en changeant le mode de réaction (hydrolyse versus estérification). L'enzyme CAL-B est un exemple de ce phénomène car elle conduit à un énantiomère de composé **13** lors de l'estérification (Tableau 1) et à l'énantiomère complémentaire lors de l'hydrolyse (Tableau 2). Il s'agit cependant d'une règle empirique et des exceptions ont été rapportées. Dans le cas présent, l'action d'enzymes différentes sur le diol **12** et le diacétate correspondant ont permis d'obtenir les énantiomères en conditions optimales (rendement, ee, temps de réaction).

Les travaux décrits dans ce chapitre ont été complétés par Pierre Morin de notre groupe de recherche. Ils sont l'objet d'un article intitulé "Chemoenzymatic Synthesis of Both Enantiomers of 3-Hydroxy-2,2-dimethylcyclohexanone" parue dans "Journal of Organic Chemistry"⁹³. Ce synthon chiral a servi de matériel de départ pour la synthèse asymétrique de plusieurs dizaines de produits naturels. Il est intéressant de noter qu'entre temps, E. J. Corey et ses collaborateurs ont adapté la réduction CBS (catalyseur oxazaborolidine) afin de préparer les deux énantiomères du même composé⁹⁴.

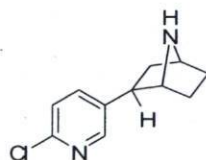
CHAPITRE 3

DÉSYMÉTRISATION CHIMIOENZYMATIQUE DE COMPOSÉS MÉSO POSSÉDANT UN SYSTÈME 7- AZABICYCLO[2.2.1]HEPTANE

3.1 L'épibatidine : histoire, propriétés et synthèses

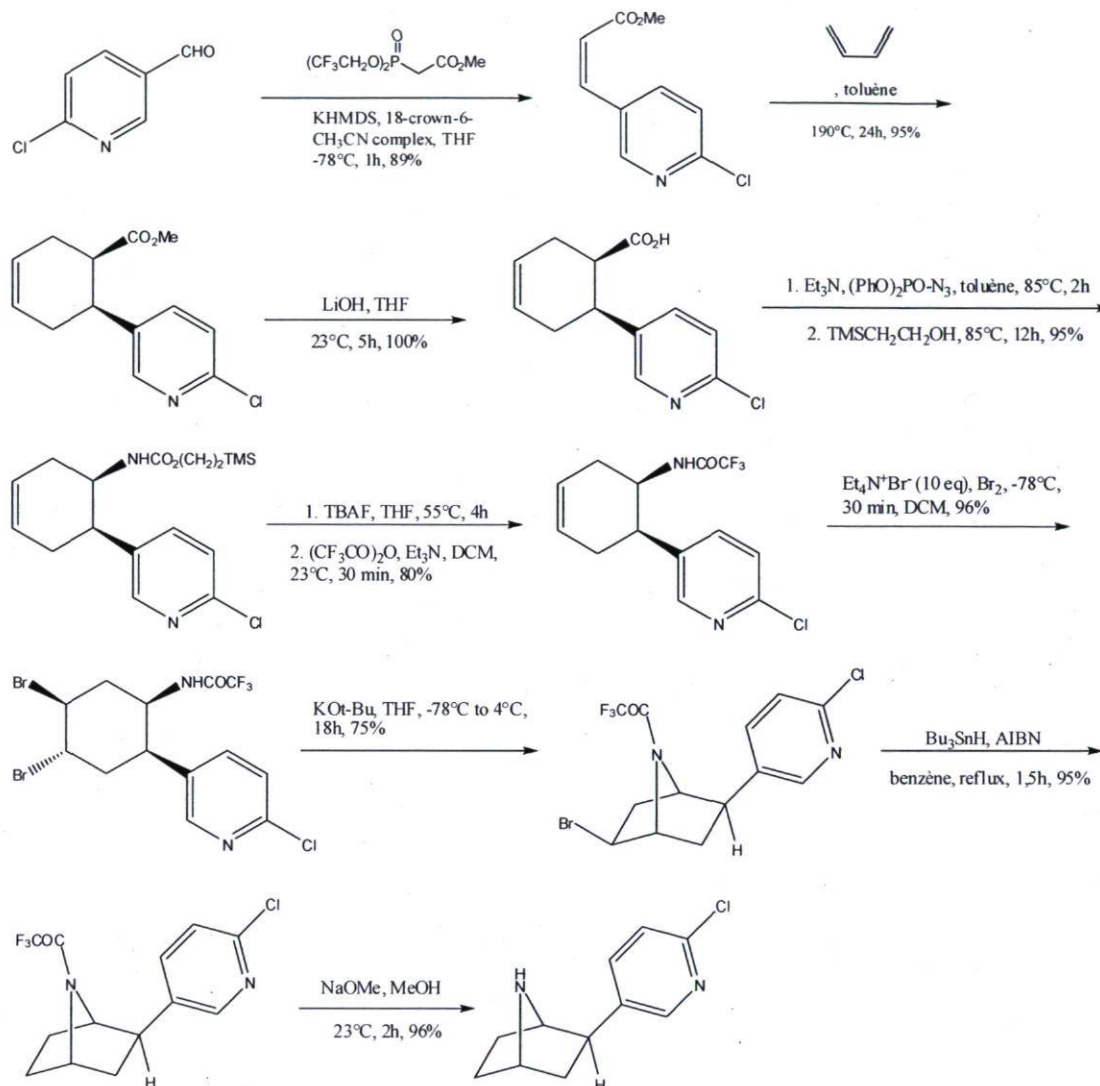
L'épibatidine, ou (1*R*, 2*R*, 4*S*) exo-2-(6-chloro-3-pyridyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane (figure 68), fut découverte dans la peau d'une grenouille vénéneuse équatorienne, l'*Epipedobates tricolor*, en 1974. Elle fut initialement isolée par John Daly au National Institutes of Health. Cet alcaloïde possède des propriétés analgésiques importantes, soit environ 200 fois plus puissant que la morphine^{95,96}.

Figure 68 : L'épibatidine.



Puisque la source naturelle de l'épibatidine peut seulement en fournir une petite quantité, plusieurs synthèses de cette dernière et de ses analogues ont été développées^{97, 102}. Corey fait partie de ceux qui ont proposé une synthèse totale de la (+) et (-)-épibatidine (figure 69)¹⁰³.

Figure 69 : Synthèse de la (-)-épibatidine.

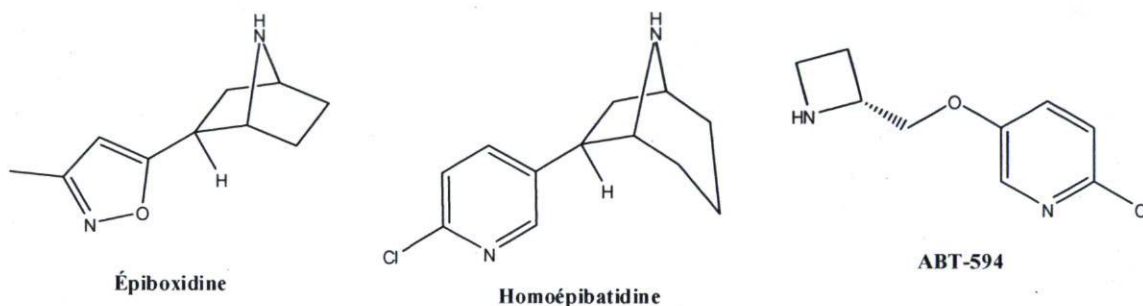


Étrangement, ce composé n'est pas un opioïde; il semble plutôt être similaire à la nicotine et apparaît agir en liant et activant des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine. Bien que l'épibatidine soit trop toxique pour être utilisée en usage clinique, ce composé représente un fil conducteur pour le design de nouvelles drogues à usage analgésique⁹⁸.

Plusieurs analogues de l'épibatidine ont été synthétisés et étudiés. Un de ces analogues intéressants est l'épiboxidine qui est vingt fois moins toxique que l'épibatidine⁹⁹ (figure 70). D'autres analogues, dont le cycle azabicycloheptane a été modifié, ont aussi été étudiés. L'homoépibatidine, possédant un potentiel analgésique comparable à celui de

l'épibatidine, est un de ceux-là (figure 70)¹⁰⁰. L'ABT-594, dont la structure chimique est très proche de celle de l'épibatidine, a démontré avoir les mêmes qualités analgésiques mais sans être toxique et sans créer de dépendance (figure 70)¹⁰¹. Ce composé des Laboratoires Abbott est le plus prometteur jusqu'à maintenant et est cinquante fois plus puissant que la morphine.

Figure 70 : Analogues de l'épibatidine : l'épiboxidine, l'homoépibatidine et le ABT-594.



3.2 Le système 7-azanorbornane ou 7-azabicyclo[2.2.1]heptane

Le système 7-azabicyclo[2.2.1]heptane (aussi appelé 7-azanorbornane) est une cible intéressante pour les chimistes de synthèse depuis la découverte de la (-)-épibatidine¹⁰⁴.

Les composés de la famille des 7-azabicyclo[2.2.1]-heptane et heptène ont été historiquement difficiles à synthétiser¹⁰⁵. La réaction de cycloaddition [4+2] entre des composés N-acyl pyrroles et des composés diénophiles a démontré être une méthode générale pour la synthèse de dérivés 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,5-diène et 7-azabicyclo[2.2.1]hept-2-ène¹⁰⁶. Malheureusement, les pyrroles et leurs dérivés subissent facilement des réactions de substitution suivant le traitement avec des diénophiles¹⁰⁷. Le caractère partiellement aromatique du pyrrole limite sa réactivité comme diène et le produit d'addition de Michael domine habituellement¹⁰⁸. L'augmentation de la conversion et des rendements des réactions de Diels-Alder entre les pyrroles et les oléfines a été obtenue par l'utilisation d'acides de Lewis¹⁰⁹ et de fortes pressions¹¹⁰ mais

jusqu'ici ces approches ont été plutôt limitées. La limitation dans ces réactions est souvent inhérente à l'instabilité des produits 7-azabicyclo[2-2.1]hept-2-ène qui sont sujet à une rétro-cycloaddition ou une rétro-Mannich et à une ré-aromatisation. Ceci est notamment vrai pour des cas où l'oléfine résultante est fonctionnalisée par des groupes électro-donneurs¹¹¹. Une méthode alternative pour la synthèse du système 7-azanorbornane a été rapporté par Fraser¹¹², mais le long schéma synthétique et les conditions de réactions drastiques impliquées sont peu convenables pour la synthèse de l'épibatidine.

À la lumière du pouvoir analgésique de l'épibatidine, aussi bien que du grand besoin de nouveaux et efficaces analgésiques non- opioïdes il serait utile de fournir des méthodes pour la synthèse de composés 7-azabicyclo[2.2.1]-heptane et heptène qui possèdent une activité pharmacologique, et en particulier, une activité analgésique.

En 1993, il a été rapporté que l'épibatidine était un agoniste du récepteur cholinergique nicotinique^{113, 114}. Les récepteurs cholinergiques jouent un rôle important dans le fonctionnement des muscles, organes et généralement dans le système nerveux central. Il y a également des interactions complexes entre les récepteurs cholinergiques et la fonction des récepteurs des autres neurotransmetteurs tels que la dopamine, la sérotonine et les catécholamines.

Puisque l'épibatidine est un puissant ligand des récepteurs cholinergiques, il est d'intérêt de fournir de nouveaux dérivés 7-azabicyclo[2.2.1]-heptane et -heptène possédant une activité pharmacologique.

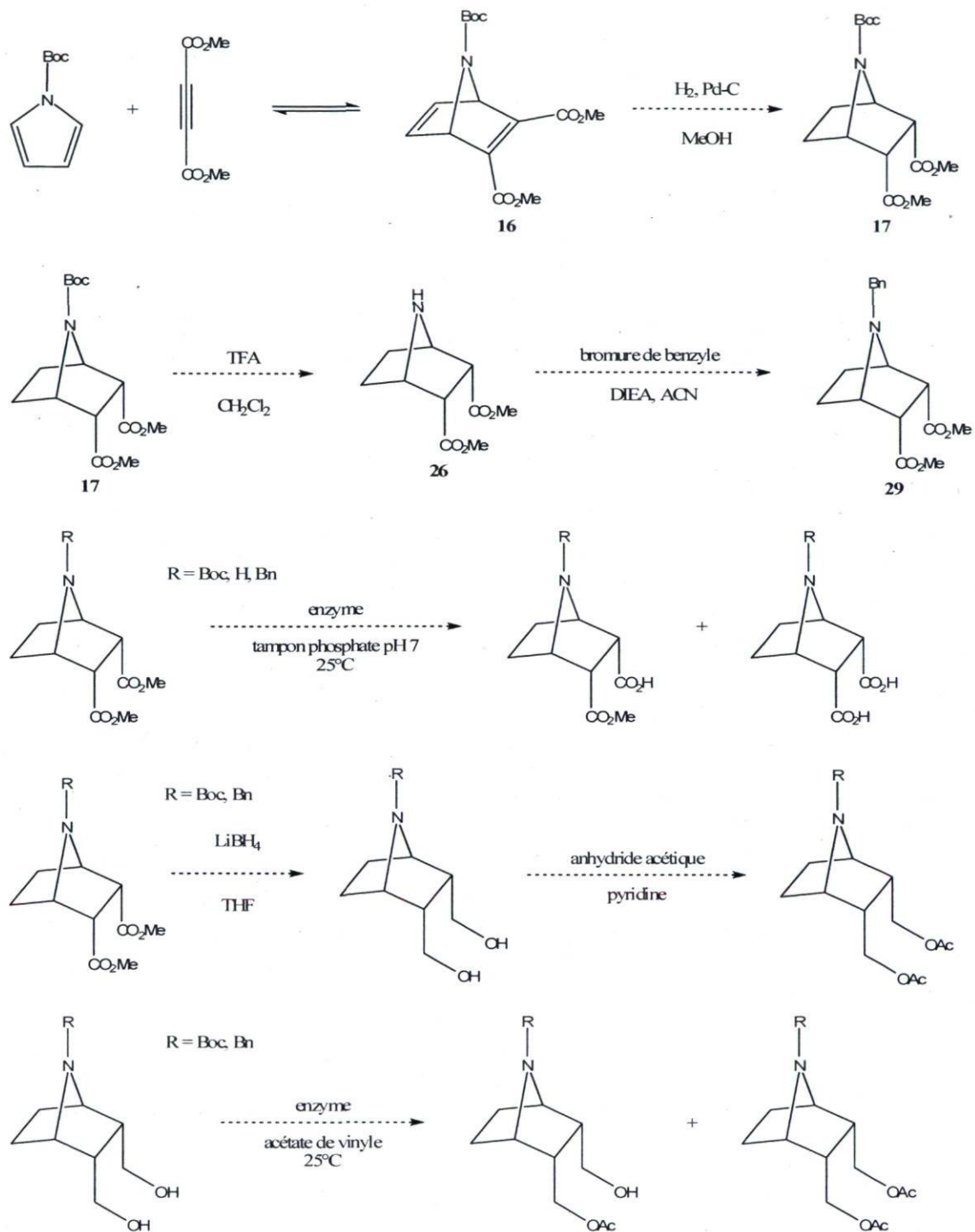
3.3 Objectifs du projet

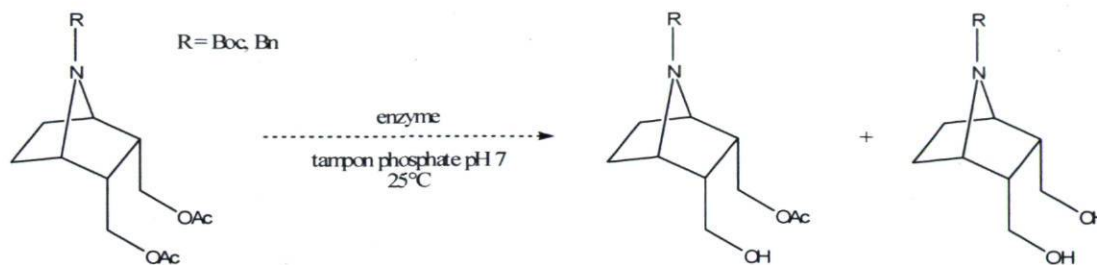
L'objectif de ce projet était donc d'effectuer la désymétrisation enzymatique de molécules *méso* possédant un système 7-azanorbornane.

3.3.1 Stratégie de synthèse

En observant le schéma synthétique (figure 71), on remarque qu'il est possible d'obtenir le N-Boc diester **17** en seulement 2 étapes, ce composé étant le point de départ à la synthèse de tous les synthons étudiés dans ce projet. Par la suite, il était facile d'obtenir le NH diester **26** de même que le N-Bn diester **29**. Il fut également facile de synthétiser les N-R diols et N-R diacétates à partir des N-R diesters correspondants (R = Boc, Bn). Les synthons ainsi obtenus, il est par la suite possible de procéder à la désymétrisation enzymatique de ces composés *méso* par la distinction de groupes énantiotopes sur ces substrats achiraux et ainsi obtenir les 2 énantiomères du même produit. Les enzymes utilisées pour le criblage enzymatique de chaque synthon sont les suivantes : l'estérase de foie de porc (PLE), la lipase de *Rhizopus species* (RSL), la lipase pancréatique de porc (PPL), la lipase de *Pseudomonas cepacia* (PCL), la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B) et la lipase de *Geotrichum candidum* (GCL).

Figure 71 : Stratégie de synthèse des composés étudiés.

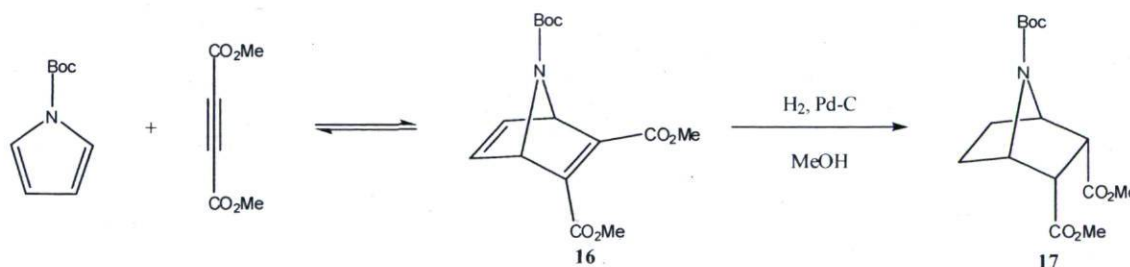




3.4 Synthèse de l'endo 7-*tert*-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3,7-tricarboxylate (17)

La stratégie adoptée consiste à former le composé bicyclique **16** par une réaction de Diels-Alder, pour ensuite l'hydrogéner et ainsi générer le diester saturé désiré **17** (figure 72).

Figure 72 : Préparation de l'endo 7-*tert*-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3,7-tricarboxylate (17).



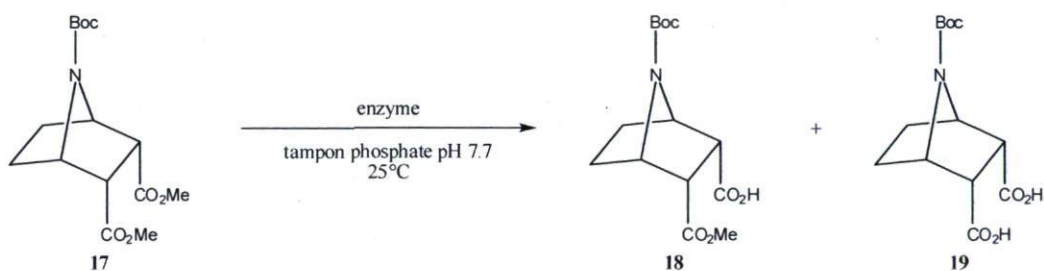
Le N-Boc-pyrrole et l'acétylènedicarboxylate de diméthyle sont portés à reflux pour une période de trois heures¹¹⁵. Le 7-*tert*-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,5-diene-2,3,7-tricarboxylate (**16**) est ainsi obtenu après purification par chromatographie éclair sur gel de silice avec un rendement de 57 %. Le rendement plutôt moyen obtenu s'explique par le fait que la réaction étant en équilibre, il est parfois difficile de connaître le moment exact où celle-ci atteint son maximum de rendement.

Le diester **16**, solubilisé dans le méthanol, est hydrogéné avec du palladium sur charbon sous une pression de 55 PSI pendant cinq heures¹¹⁵. Le mélange endo/exo fut par la suite séparé en ayant recours à la chromatographie éclair sur gel de silice pour ainsi obtenir le diester **17** *endo* pur dans un rendement de 92 %.

3.5 Désymétrisation enzymatique du N-Boc diester (**17**)

Le N-Boc diester **17** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.7 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 73).

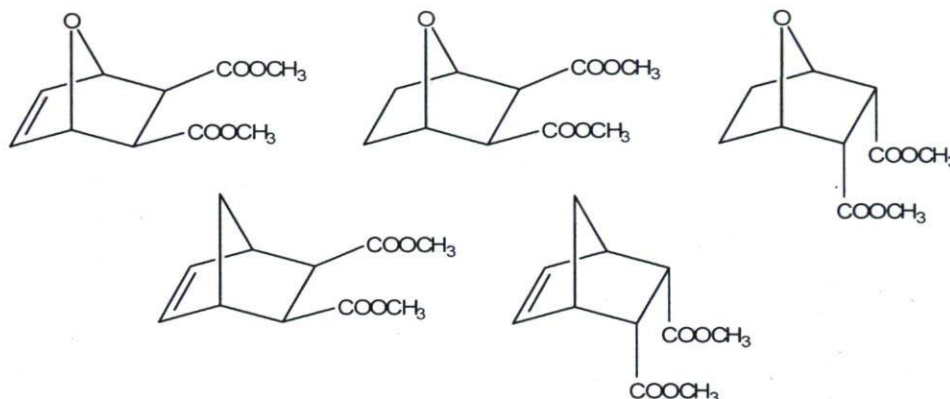
Figure 73 : Hydrolyse enzymatique du N-Boc diester *endo* **17.**



L'hydrolyse enzymatique du N-Boc diester **17** a été tentée en utilisant plusieurs enzymes dans le but de générer le N-Boc monoester **18**. Malheureusement, après avoir suivie la réaction pendant deux jours, aucun avancement n'est observé et le produit de départ **17** est récupéré. La réaction ne semble donc pas catalysée par les enzymes.

Les résultats obtenus sont plutôt décevants puisque Bloch et son groupe ont démontré que plusieurs bicycles rigides méso-diester (figure 74) étaient de bons substrats pour l'estérase de foie de porc (PLE)¹¹⁶. Bien qu'effectuées plusieurs fois et en reproduisant à la lettre les conditions décrites par Bloch, il n'y a aucun avancement des réactions. On peut donc supposer que la présence d'un N-Boc sur le pont rend la réaction impossible.

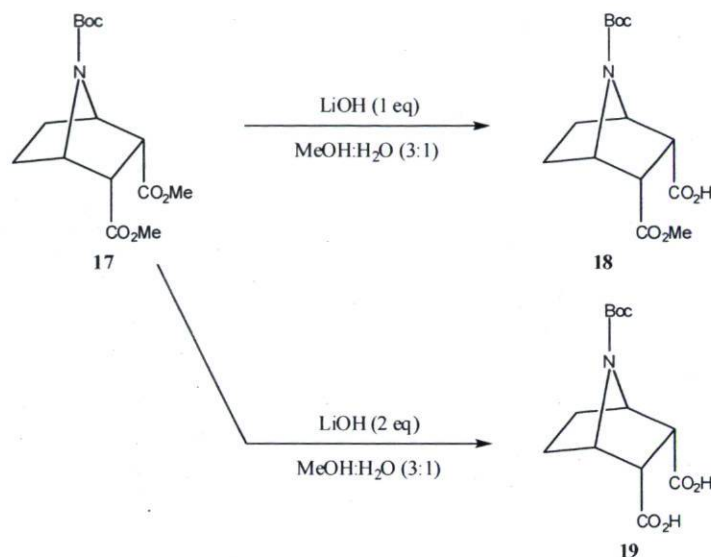
Figure 74 : Bicycles rigides méso-diesters étudiés par Bloch.



3.6 Synthèse de l'endo acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18) et de l'endo acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19)

Tout en étudiant l'hydrolyse enzymatique, le N-Boc monoacide racémique **18** et le N-Boc diacide **19** furent synthétisés (figure 75). Le diester **17** est solubilisé dans un mélange de méthanol et d'eau dans une proportion de 3 :1 auquel est ajouté 1 équivalent d'hydroxyde de lithium¹¹⁷. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Boc monoacide racémique **18** dans un rendement de 61 %. Pour ce qui est du N-Boc diacide **19**, le même protocole est suivi sauf que 2 équivalents d'hydroxyde de lithium sont utilisés pour ainsi obtenir le produit désiré avec un rendement de 88 %.

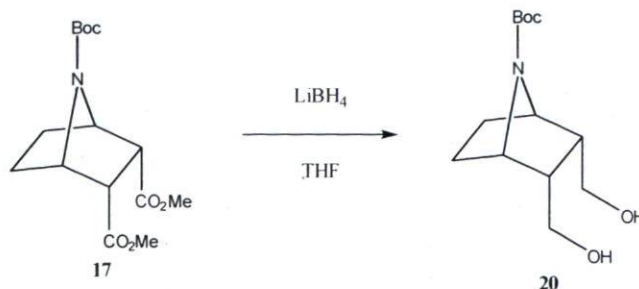
Figure 75: Préparation de l'*endo* acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18) et de l'*endo* acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19).



3.7 Synthèse de l'*endo tert*-butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (**20**)

La suite logique était de synthétiser le N-Boc diol **20** (figure 76). À partir de ce dernier, il est facile de générer une série de diesters et ainsi d'obtenir plusieurs synthons énantio-purs par désymétrisation enzymatique.

Figure 76: Préparation de l'*endo tert*-butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (**20**).

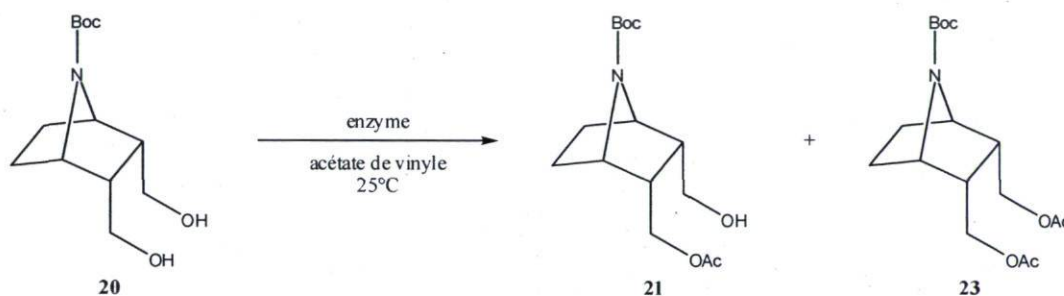


Le N-Boc diester **17** est réduit en utilisant le borohydrure de lithium en suspension dans le THF^{118, 119}. Le mélange a été purifié en ayant recours à la chromatographie éclair sur gel de silice pour ainsi obtenir le N-Boc diol **20** *endo* dans un rendement de 95 %.

3.8 Désymétrisation enzymatique du N-Boc diol (**20**)

Le N-Boc diol **20** est dissous dans de l'acétate de vinyle et l'acylation enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 77).

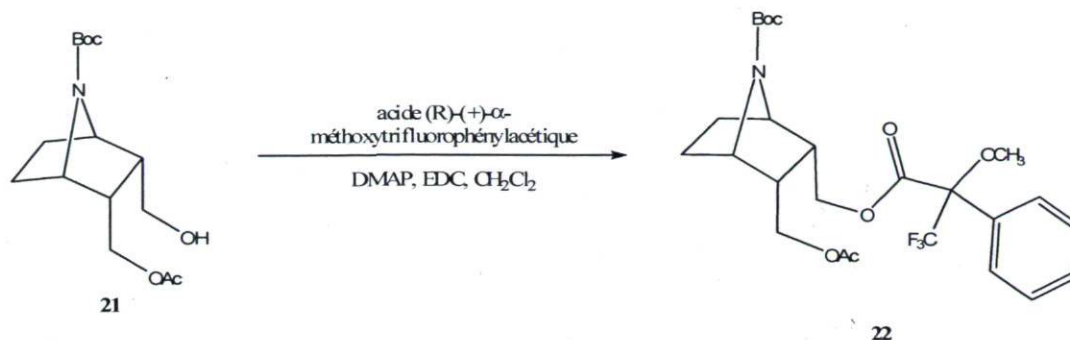
Figure 77 : Acylation enzymatique du N-Boc diol *endo* **20.**



La réaction est suivie pendant 4 heures avant d'être arrêtée et purifiée. Dans le meilleur des cas, le monoacétate **21** est obtenu avec un rendement de 41 %.

L'excès énantiomère de ce composé a été déterminé par analyse RMN du fluor de l'ester de Mosher correspondant (composé **22**). Ce dernier a été préparé en utilisant l'acide (*R*)-(+)- α -méthoxytrifluorophénylacétique (figure 78). L'ester **22** ainsi obtenu a été utilisé pour procéder à l'analyse RMN du ¹⁹F et ainsi déterminer l'excès énantiomère de ce dernier. Le meilleur excès énantiomère obtenu est de 74% en utilisant la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B). La configuration absolue de **21** n'a pas été déterminée (une configuration a été choisi arbitrairement pour désigner le monoester **21**).

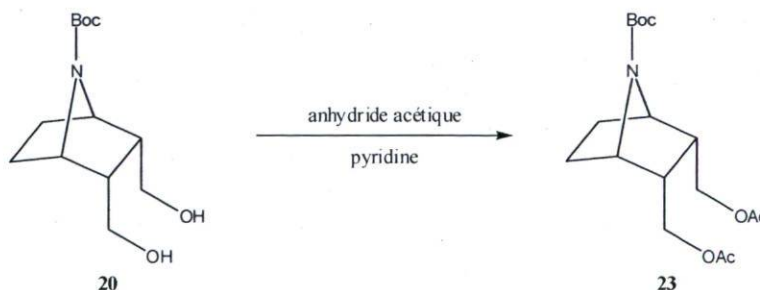
Figure 78 : Préparation de l'ester de Mosher 22.



3.9 Synthèse de l'*endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (**23**)

L'objectif étant d'obtenir les deux énantiomères du N-Boc monoacétate **21**, la synthèse du N-Boc diacétate était donc la suite logique dans le but d'obtenir les deux énantiomères du monoester **21**. Le diol **20** a été dissous avec de la pyridine et 5 équivalents d'anhydride acétique ont été ajoutés au mélange (figure 79). Le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Boc diacétate **23** avec un rendement de 87 %.

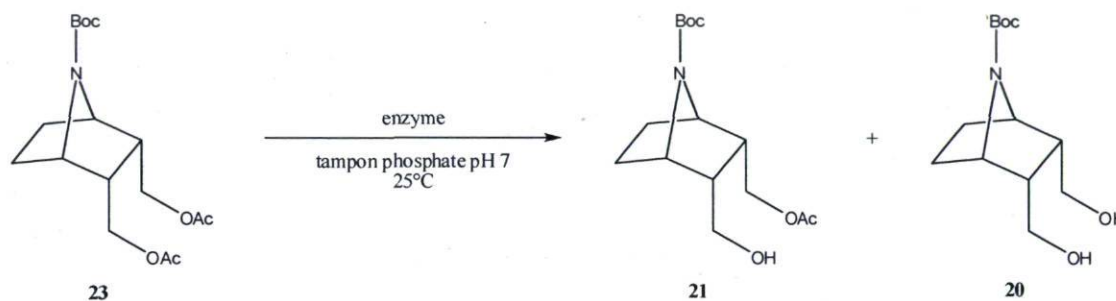
Figure 79 : Préparation de l'*endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (**23**).



3.10 Désymétrisation enzymatique du N-Boc diacétate (23)

Le N-Boc diacétate **23** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.7 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 80).

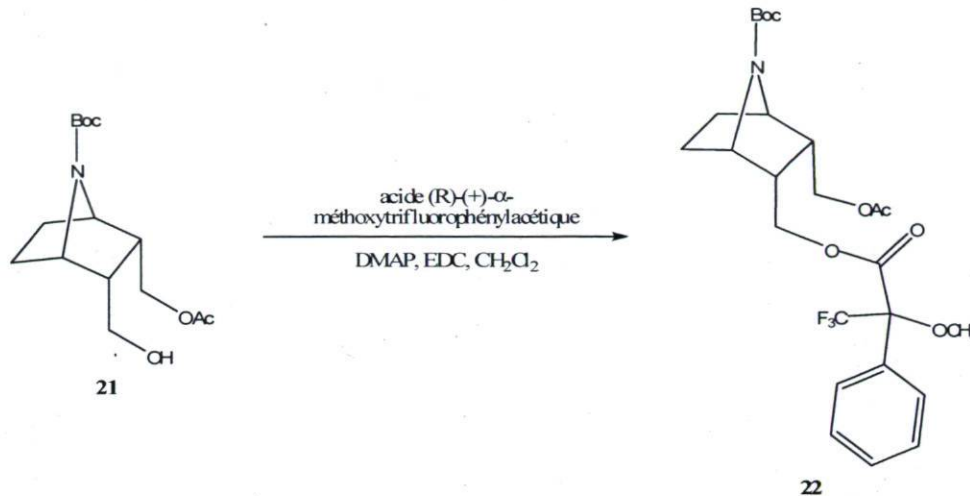
Figure 80 : Hydrolyse enzymatique du N-Boc diacétate *endo* 23.



La réaction est suivie pendant 12 jours avant d'être arrêtée et purifiée. Le meilleur rendement obtenu pour le monoacétate **21** est de 15 %.

L'excès énantiomérique de ce composé a été déterminé à partir de l'ester de Mosher correspondant (composé **22**). Ce dernier fut préparé en utilisant l'acide (*R*)-(+)- α -méthoxytrifluorophénylacétique (figure 81). L'ester **22** ainsi obtenu fut utilisé pour procéder à l'analyse RMN du ^{19}F et ainsi déterminer l'excès énantiomère de ce dernier. Le meilleur excès énantiomère obtenu est de 39% avec la lipase de *Geotricum candidum* (GCL).

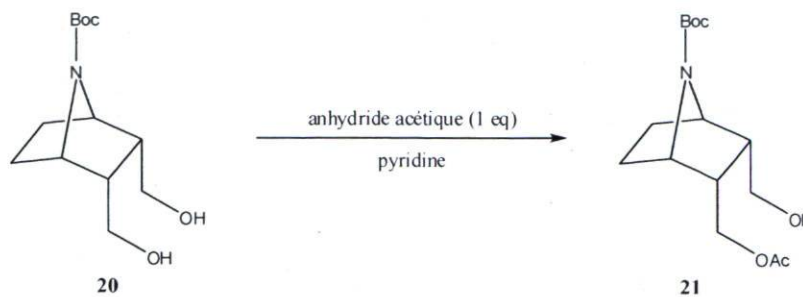
Figure 81 : Préparation de l'ester de Mosher 22.



3.11 Synthèse de l'*endo tert*-butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (21)

Pour pouvoir mesurer les excès énantiomères des 2 énantiomères du monoacétate **21** par analyse RMN des esters de Mosher, il faut préparer le monoacétate racémique correspondant comme référence. Ce dernier a été obtenu à partir du diol **20** dissout avec de la pyridine à laquelle on ajoute un équivalent d'anhydride acétique (figure 82). Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour ainsi obtenir le produit désiré avec un rendement de 84 %.

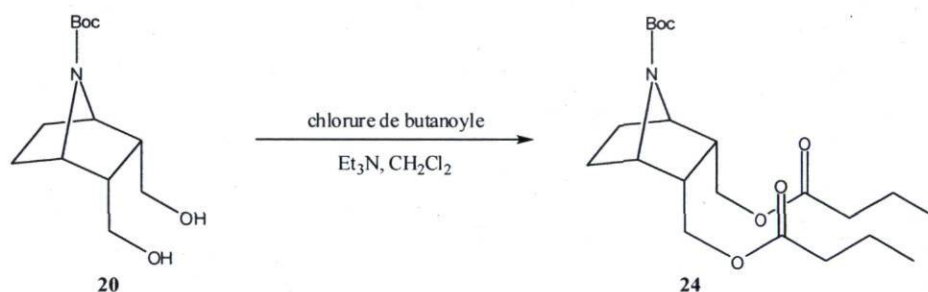
Figure 82 : Préparation de l'*endo tert*-butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (21).



3.12 Synthèse de l'*endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (24)

L'objectif étant d'obtenir des produits avec des $ee > 90\%$, il fallait donc tester d'autres dérivés. La préparation du butanoate (figure 83) a été effectuée puisqu'il a été observé que parfois, les chaînes plus longues qui ressemblent aux substrats naturels des enzymes (acides gras à longues chaînes) conduisent à une meilleure sélectivité.

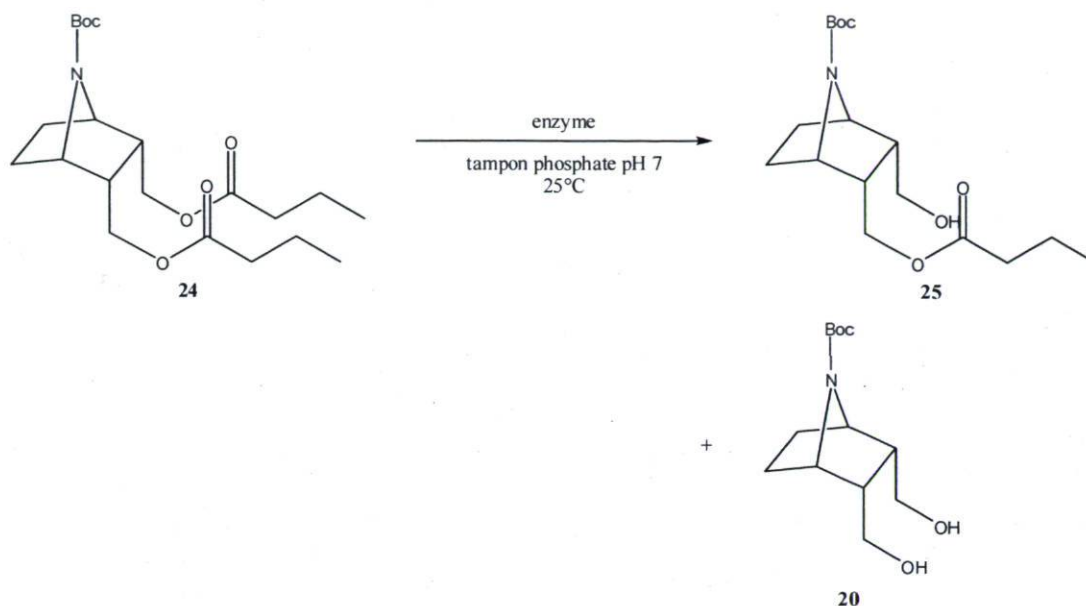
Figure 83 : Préparation de l'*endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (24).



3.13 Désymétrisation enzymatique du N-Boc dibutyrate (24)

Le N-Boc dibutyrate **24** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.7 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de plusieurs enzymes (figure 84).

Figure 84 : Hydrolyse enzymatique du N-Boc dibutyrate *endo* 24.

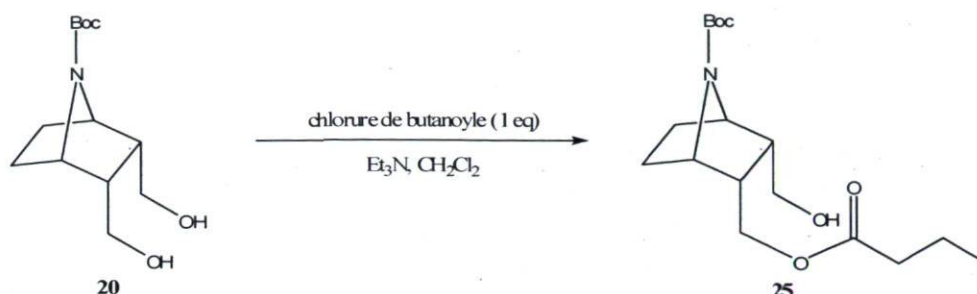


La réaction est suivie pendant 13 jours avant d'être arrêtée et purifiée. Dans le meilleur des cas, le monobutyrate **25** est obtenu avec un rendement de 35 % et malheureusement, l'excès énantiomérique mesuré est nul. Ces résultats ont été obtenus en utilisant la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B).

3.14 Synthèse de l'*endo tert*-butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (**25**)

En supposant avoir des résultats intéressants, le monobutyrate **25** a été synthétisé tout en faisant les tests enzymatiques. Le diol **20** a été dissous dans du dichlorométhane. Par la suite, de la triéthylamine ainsi que 1 équivalent de chlorure de butanoyle furent ajoutés au mélange réactionnel (figure 85). Le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Boc monobutyrate racémique **25** avec un rendement de 69 %.

Figure 85 : Préparation de l'endo tert-butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (25).

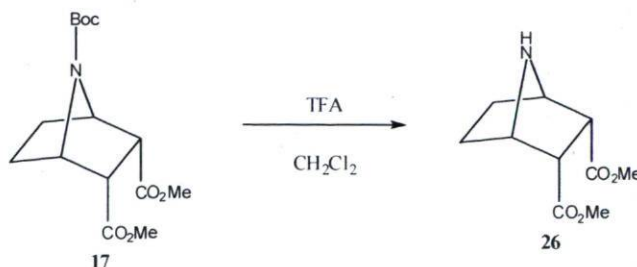


3.15 Synthèse de l'endo diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (26)

Avant d'essayer d'autres groupements protecteurs, il semblait intéressant de regarder quels seraient les résultats de la désymétrisation du composé diester déprotégé et ainsi voir si la protection de l'amine influence ou non la désymétrisation de ce type de composé.

Il est facile d'obtenir le N-H diester **26** à partir du diester **17** par déprotection du composé N-Boc par traitement en milieu acide avec de l'acide trifluoroacétique (figure 86)¹²⁰.

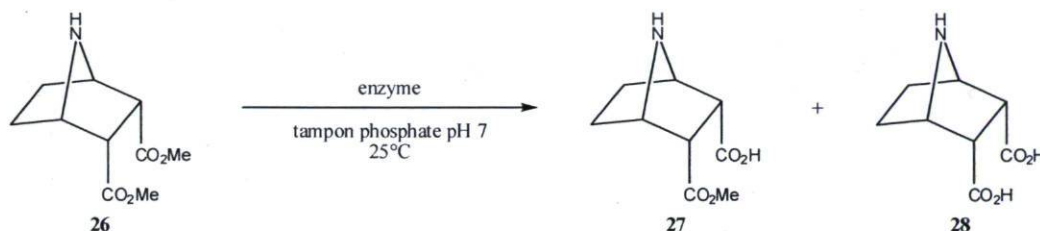
Figure 86 : Préparation de l'endo diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (26).



3.16 Désymétrisation enzymatique du N-H diester (26)

Le N-H diester **26** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.5 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 87).

Figure 87 : Hydrolyse enzymatique du N-H diester *endo* **26**.

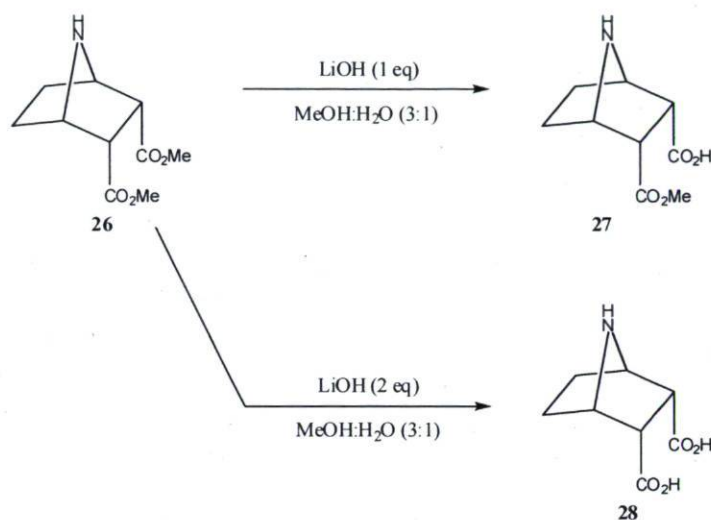


Les meilleurs résultats pour l'hydrolyse enzymatique du N-H diester **26** ont été obtenus en utilisant la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B) de même que l'estérase de foie de porc (PLE), et ce dans le but de générer le N-H monoester **27**. La réaction est suivie pendant 1.5 heure avant d'être arrêtée et ainsi obtenir le composé **27** avec des rendements respectifs de 37 % et de 27 %. Malheureusement, l'excès énantiomérique obtenu est nul pour les deux essais.

3.17 Synthèse de l'acide *endo* 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (**27**) et de l'acide *endo* 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (**28**)

Au préalable, le N-H monoacide racémique **27** et le N-H diacide **28** ont été synthétisés (figure 88). Le diester **26** est solubilisé dans un mélange de méthanol et d'eau dans une proportion de 3 : 1 auquel est ajouté un équivalent d'hydroxyde de lithium¹¹⁷. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-H monoacide racémique **27** dans un rendement de 60 %. Pour ce qui est du N-H diacide **28**, le même protocole est suivi sauf que 2 équivalents d'hydroxyde de lithium sont utilisés pour ainsi obtenir le produit désiré avec un rendement de 63 %.

Figure 88: Préparation de l'acide *endo* 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (**27**) et de l'acide *endo* 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (**28**)



3.18 Synthèse du *endo* diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (**29**)

L'objectif étant d'obtenir des synthons ayant des $ee > 90\%$, nous avons donc décidé d'étudier l'effet de différents groupes protecteurs sur l'azote. Le diester **26** a été dissous dans de l'acétonitrile. Par la suite, du bromure de benzyle et de la diisopropyléthylamine (DIEA) sont ajoutés au mélange réactionnel (figure 89)^{121, 122}. Le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Bn diester **29** avec un rendement de 40 %.

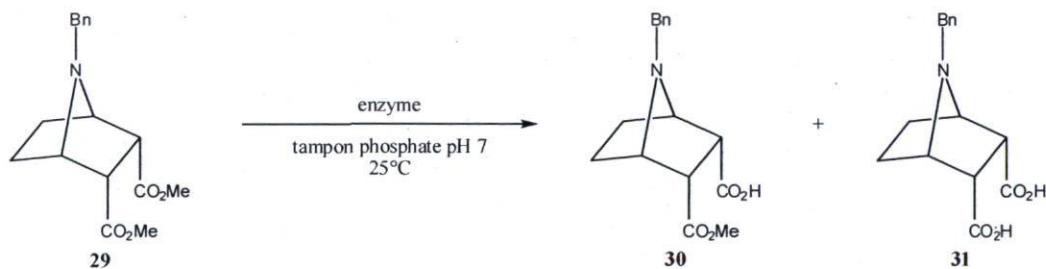
Figure 89 : Préparation du *endo* diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (29)



3.19 Désymétrisation enzymatique du N-Bn diester (29)

Le N-Bn diester **29** est dissous avec un tampon phosphate pH 7.5 et l'hydrolyse enzymatique est catalysée par l'ajout de différentes enzymes (figure 90).

Figure 90 : Hydrolyse enzymatique du N-Bn diester *endo* 29.

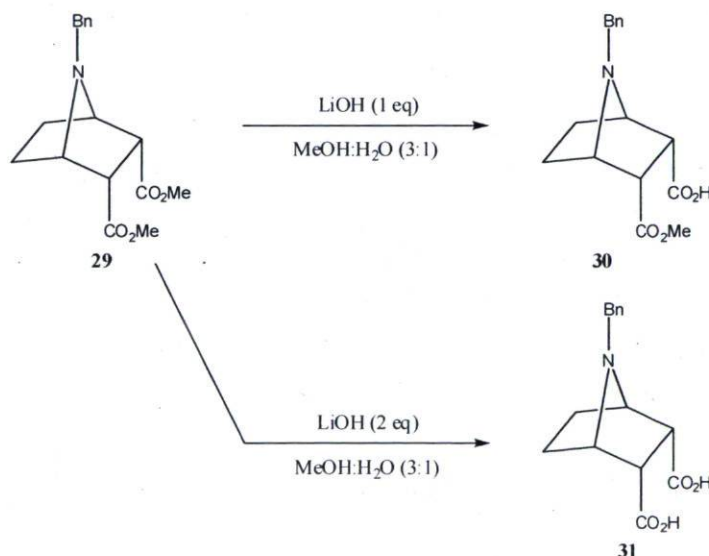


L'hydrolyse enzymatique du N-Bn diester **29** a été effectuée en utilisant plusieurs enzymes dans le but de générer le N-Bn monoester **30**. Malheureusement, avec toutes les enzymes testées, le produit obtenu est le diacide **31**. La réaction est donc trop rapide et ne donne pas le produit intermédiaire désiré, soit le N-Bn monoester **30**.

3.20 Synthèse de l'acide *endo* 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (30) et de l'acide *endo* 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31)

Au préalable, le N-Bn monoacide racémique **30** et le N-Bn diacide **31** furent synthétisés (figure 91). Le diester **29** est solubilisé dans un mélange de méthanol et d'eau dans une proportion de 3 :1 auquel est ajouté 1 équivalent d'hydroxyde de lithium¹¹⁷. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Bn monoacide racémique **30** dans un rendement de 58 %. Pour ce qui est du N-Bn diacide **31**, le même protocole est suivi sauf que 2 équivalents d'hydroxyde de lithium sont utilisés pour ainsi obtenir le produit désiré avec un rendement de 70 %.

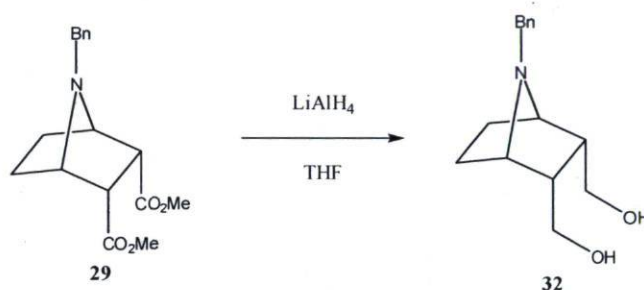
Figure 91: Préparation de l'acide *endo* 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique racémique (30) et de l'acide *endo* 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31).



3.21 Synthèse du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (32)

La suite logique était donc de synthétiser le N-Bn diol **32** (figure 92). À partir de ce dernier, il est facile de générer une série d'esters et ainsi tenter d'obtenir plusieurs synthons énantiopurs par désymétrisation enzymatique.

Figure 92 : Préparation du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (**32**).

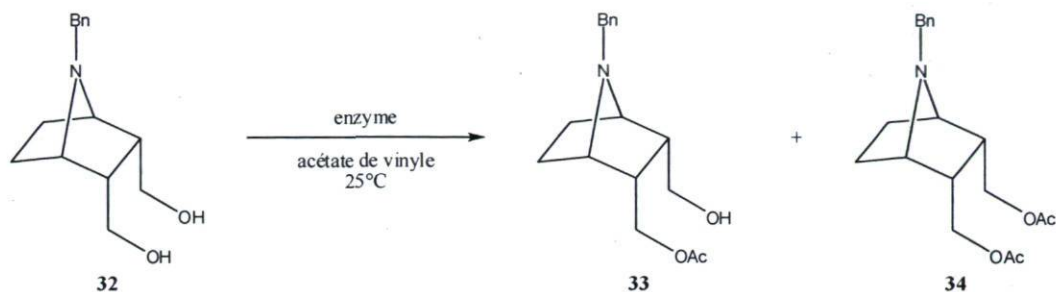


Le N-Bn diester **29** est réduit en utilisant l'hydrure de lithium et d'aluminium en suspension dans le THF^{123, 124, 125}. Le mélange fut purifié en ayant recours à la chromatographie éclair sur gel de silice pour ainsi obtenir le N-Bn diol **32** *endo* avec un rendement de 45 %.

3.22 Désymétrisation enzymatique du N-Bn diol (32)

Le N-Bn diol **32** est dissous dans de l'acétate de vinyle et l'acylation enzymatique est catalysée par l'ajout de plusieurs enzymes (figure 93).

Figure 93 : Acylation enzymatique du N-Bn diol *endo* **32**.

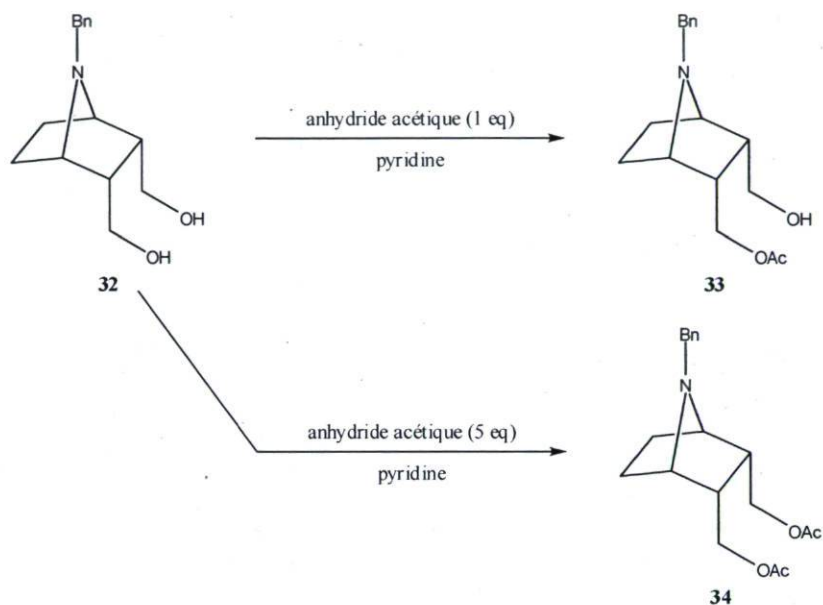


La réaction est suivie pendant 4 heures avant d'être arrêtée et purifiée. Le monoacétate **33** est obtenu avec un rendement de 32 % et malheureusement, l'excès énantiomère mesuré est nul. La lipase ayant donné le meilleur rendement est la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B).

3.23 Synthèse du *endo* (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)méthyl acétate (**33**) et du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (**34**)

En même temps, le N-Bn monoacétate racémique **33** et le N-Bn diacétate **34** furent synthétisés (figure 94). Le diol **32** est solubilisé dans de la pyridine auquel est ajouté un équivalent d'anhydride acétique. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice pour obtenir le N-Bn monoacétate racémique **33** dans un rendement de 72 %. Pour ce qui est du N-Bn diacétate **34**, le même protocole est suivi sauf que 5 équivalents d'anhydride acétique sont utilisés pour ainsi obtenir le produit désiré avec un rendement de 84 %.

Figure 94: Préparation du *endo* (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)méthyl acétate (33) et du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (34).



3.24 Conclusion

Le motif structurel 7-azabicyclo[2.2.1]heptane (aussi appelé 7-azanorbornane) se retrouve dans divers produits naturels ou synthétiques ayant des activités biologiques intéressantes.

Une série de dérivés *méso* 7-azabicyclo[2.2.1]heptane ont été préparés avec des rendements variables; ces rendements n'ont pas été optimisés avant d'avoir découvert une réaction enzymatique efficace en terme de rendement, de temps de réaction mais surtout d'énantiosélectivité ($ee > 90\%$).

Tout en variant le groupement protecteur sur la fonction amine, plusieurs désymétrisations par acylation d'alcools *méso* ou par hydrolyse d'esters *méso* ont été étudiées sans obtenir une énantiométrie élevée ($ee > 90\%$).

Le résultat le plus intéressant a été obtenu lors de l'acylation enzymatique du N-Boc diol **20** à l'aide de la lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B). Le monoacétate **21** a été obtenu avec un rendement de 41% et un excès énantiomère de 74%, déterminé par analyse RMN de l'ester de Mosher correspondant.

Récemment, ce projet a été repris par Michel Fila de notre groupe de recherche. Il a réussi à optimiser la réaction enzymatique ci-dessus en terme de rendement (76%) et d'énantiosélectivité ($ee > 98\%$). De plus, la désymétrization non-enzymatique par alcoolyse de l'anhydride *méso* correspondant au diacide **19** en présence d'alcaloïdes de type bis-cinchona est efficace et énantiosélective (rendement = 92%, $ee = 88\%$).

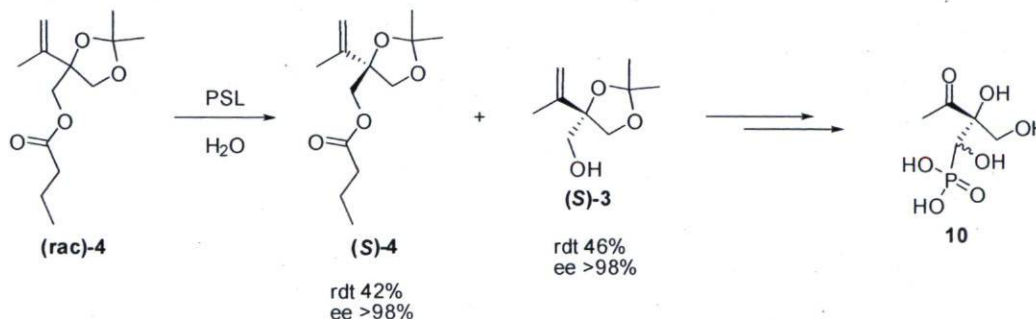
L'ensemble des travaux est l'objet d'un article en préparation (M. Fila, C. Lévesque, P. Morin, N. Pelchat, R. Chênevert, Desymmetrization of 7-azabicyclo[2.2.1]heptane derivatives) qui sera soumis à la revue *Tetrahedron-Asymmetry*.

CONCLUSION

Le présent travail avait pour objectif général de découvrir des réactions enzymatiques énantiosélectives pour la production de synthons chiraux énantio purs.

Le dédoublement cinétique de l'ester (**rac**)-4 par hydrolyse enzymatique en présence de la lipase de *Pseudomonas* sp. (PSL) a permis d'obtenir l'alcool (**S**)-3 et l'ester résiduel (**S**)-4 avec de bons rendements et une excellente énantiosélectivité (figure 95). L'alcool (**S**)-3 a servi de matériel de départ pour la synthèse de l'hydroxyphosphonothrixine **10** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères. La désoxygénation en α du groupement phosphonate pour conduire au produit naturel phosphonothrixine n'a pu être réalisée et devrait être réinvestiguée. À cause de leur analogie avec plusieurs intermédiaires métaboliques, les composés tel que l'hydroxyphosphonothrixine devraient être testés pour leurs activités biologiques en particulier comme herbicide et antibiotique.

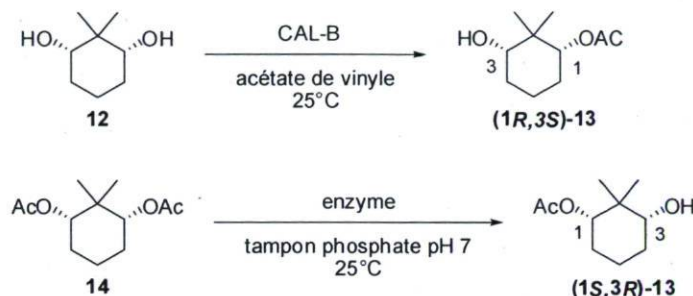
Figure 95 : Dédoublement cinétique de l'ester (rac)-4 permettant l'obtention de l'hydroxyphosphonothrixine 10 par l'alcool (S)-3.



La désymétrisation par acylation enzymatique du diol *méso*-12 a conduit au monoester (**1R,3S**)-13 alors que l'hydrolyse enzymatique du diacétate *méso*-14 correspondant a fourni l'autre énantiomère (**1S,3R**)-13. Quatre réactions enzymatique, une en acylation (CAL-B) et trois en hydrolyse (PLE, PPL, CRL) ont montré une excellente énantiosélectivité (ee>98%). Les dérivés chiraux énantio purs des 1,3-diols sont très utiles en synthèse asymétrique. Ainsi, dans une suite de ce projet, un collègue du laboratoire a

préparé les deux énantiomères du 3-hydroxy-2,2-diméthylcyclohexanone, un synthon chiral ayant servi d'intermédiaire lors de la synthèse de nombreux produits naturels.

Figure 96 : Acylation enzymatique du diol 12 et hydrolyse enzymatique du diacétate 14.



Enfin, la chimie des dérivés du 7-azabicyclo[2.2.1]heptane a connu un essor important suite à la découverte de l'épibatidine, un alcaloïde dont les propriétés analgésiques sont deux cents fois plus fortes que la morphine. Une série de dérivés *méso* du 7-azabicyclo[2.2.1]heptane ont été préparés et soumis à des réactions enzymatiques. Le procédé le plus énantiosélectif (ee = 74%) a été l'acylation du N-Boc diol **20** par l'acétate de vinyle en présence de CAL-B. Depuis la fin des travaux décrits dans ce mémoire, des collègues du groupe de recherche ont obtenu le monoester **21** avec des excès énantiomères élevés par des procédés enzymatiques ou non-enzymatiques. La détermination de la configuration absolue de **21** par diffraction des rayons-X est présentement en cours.

Figure 97 : Acylation enzymatique du N-Boc diol 20 par l'acétate de vinyle en présence de CAL-B.



L'usage d'enzymes offre une alternative valable aux réactifs conventionnels pour le contrôle de la chiralité dans les molécules organiques. La biocatalyse par des enzymes de la classe des hydrolases permet le développement de méthodes de synthèse efficaces et sécuritaires pour l'environnement (chimie verte).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

REMARQUES GÉNÉRALES

Les appareils utilisés sont un spectromètre infrarouge Bomem modèle 104, un spectromètre RMN Varian modèle Inova 400 MHz, un spectromètre RMN Bruker modèle AC-300 MHz, un polarimètre digital Jasco modèle DIP-360, un appareil à point de fusion Thomas-Hoover et un chromatographe en phase gazeuse HP 6890N.

Le spectromètre Bomem Arid-Zone™ MB-Series 104 a servi à enregistrer les spectres infrarouges (IR). Les fréquences sont données en cm^{-1} . Pour l'utilisation de ce spectromètre, les échantillons des produits ont été déposés sur des fenêtres de NaCl (film) ou ont été mélangés, dans une concentration de 2 %, avec du KBr.

Le spectromètre Varian modèle Inova 400 MHz a permis d'enregistrer les spectres de résonance magnétique du proton (RMN ^1H), du carbone (RMN ^{13}C) et du fluor (RMN ^{19}F) alors que le spectromètre Bruker modèle AC-300 MHz a permis d'enregistrer les spectres de résonance magnétique du phosphore (RMN ^{31}P). Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport à la référence interne, soit le TMS, qui possède une valeur de déplacement chimique nulle. Toutes les substances analysées ont été dissoutes dans des solvants deutérés.

Le polarimètre digital Jasco modèle DIP-360 a servi à mesurer les pouvoirs rotatoires en utilisant la longueur d'onde de la raie D du sodium (589 nm) et des solvants de qualité spectroscopique. L'appareil Thomas-Hoover modèle 6427-H10, quant à lui, a été employé pour déterminer les points de fusion.

La caractérisation a été complétée par l'obtention de spectres de masse par ionisation chimique (IC) des principaux composés non décrits dans la littérature, la position de l'ion moléculaire est rapportée en fonction de m/z (ration masse/charge). L'enregistrement de ces spectres a été réalisé au département de chimie de l'Université de Sherbrooke.

Le chromatographe en phase gazeuse utilisé pour doser l'excès énantiomère est un HP 6890N avec une colonne chirale de la compagnie Astec de type Chiraldex B-DM (30 m x 0,25 mm, 25 μ m) composée de diméthyl- β -cyclodextrines.

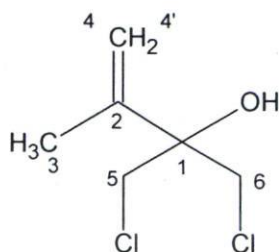
Les purifications par chromatographie éclair ont été faites sur gel de silice de maille 40-63 μ m (Silicycle). Les R_f ont été déterminés sur des plaques de gel de silice préfabriquées sur du verre pour la chromatographie sur couche mince (épaisseur de 250 μ m, EMD Chemicals Inc., 60F₂₅₄).

CHAPITRE 1

SYNTHÈSE ÉNANTIOSÉLECTIVE DE DÉRIVÉS DE LA PHOSPHONOTHRIXINE

1.1 Synthèse du 1-chloro-2-(chlorométhyl)-3-méthylbut-3-én-2-ol (1)

Une solution de bromure d'isopropénylmagnésien 0.5 M dans THF (100.0 ml, 50 mmol, 1.7 éq) est transférée vers un ballon de 250 ml couvert d'un septum et préalablement séché à la flamme sous courant d'azote sec et agitation magnétique. Le 1,3-dichloroacétone 95 % (3.9753 g, 29.8 mmol) préalablement dissous dans 15 ml de THF anhydre est ensuite ajouté au milieu réactionnel au moyen d'une seringue. La réaction est dès lors suivie par chromatographie sur couche mince. La réaction est terminée après 75 minutes, la température est ramenée à froid ($< 10^{\circ}\text{C}$) avec un bain d'eau glacée est arrêtée par l'ajout progressif de 33 ml de HCl 3N (100 mmol, 3.4 éq). Le mélange est extrait avec de l'éther éthylique (1 x 50 ml + 2 x 100 ml). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec $\text{NaHCO}_{3(\text{aq})}$ saturée (2 x 100 ml) puis à l'eau (2 x 100 ml) et finalement avec $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ saturée (100 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé **1**. Ce produit brut, suffisamment pur pour se prêter à l'hydrolyse peut néanmoins être purifié par chromatographie sur silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9 :1 pour fournir 4.337 g du composé **1** (82 %).^{58, 59}



1

Formule brute : $C_6H_{10}OCl_2$
 Masse molaire : $169.05 \text{ g mol}^{-1}$
 Aspect : huile orangée
 R_f : 0.35 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

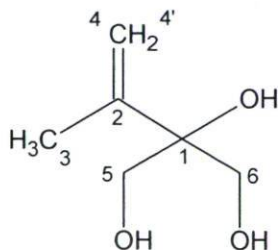
RMN 1H ($CDCl_3$) : 5.19 (s, 1H, 4), 5.18 (s, 1H, 4'), 3.71 (AB, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 4H, 5 et 6), 2.52 (s_{large}, 1H, OH), 1.79 (s, 3H, 3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 143.7 (2), 115.6 (4), 75.4 (1), 49.2 (5 et 6), 19.5 (3).

IR (NaCl) : 3546.5 (élongation O-H), 2970.1 (élongation C-H alcènes), 1433.6 (déformation O-H), 911.6 (élongation C-O).

1.2 Synthèse du 2-isopropénylpropane-1,2,3-triol (2)

Dans un ballon muni d'un agitateur magnétique, 2.796 g du composé **1** (16.5 mmol) sont émulsifiés dans 60 ml de KOH 9N. La réaction est dès lors suivie par chromatographie sur couche mince jusqu'à disparition totale du produit de départ. Une fois la réaction terminée ($t = 8$ jours), le milieu réactionnel est saturé en K_2CO_3 en vue d'être extrait par 3 portions d'un mélange éthanol : benzène (1:1) (3 x 100 ml). La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le triol **2** brut, suffisamment propre pour passer à la réaction d'acétalisation. Le produit a néanmoins été purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol dans une proportion de 9:1 (1.564 g, 72 %).^{58, 59}



2

Formule brute : $C_6H_{12}O_3$

Masse molaire : 132.2 g mol^{-1}

Aspect : solide blanc

Point de fusion : 58°C (56°C (litt.²))

R_f : 0.52 méthanol : acétate d'éthyle (1:9)

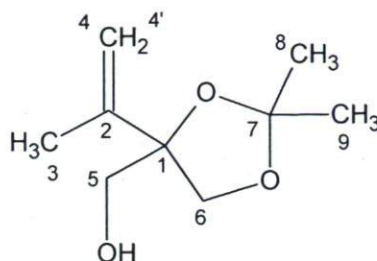
RMN ^1H (acétone- D_6) : 5.05 (s, 1H, 4), 4.89 (s, 1H, 4'), 3.61 (AB, 10.89 Hz, 4H, 5 et 6), 2.90 (s_{large}, 3H, OH), 1.77 (s, 3H, 3).

RMN ^{13}C (acétone- D_6) : 146.4 (2), 111.1 (4), 86.4 (1), 65.5 (5 et 6), 19.3 (3).

IR (NaCl) : 3417.9 (élongation O-H), 2952.1 (élongation C-H alcènes), 1449.7 (déformation O-H), 905.9 (élongation C-O).

1.3 Synthèse du *(R,S)*-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthanol (*(R,S)*-3)

Le triol **2** (1.076 g, 8.14 mmol) a été solubilisé dans 35 ml d'acétone sous agitation magnétique. La réaction est alors amorcée par l'ajout de TsOH (80 mg, 0.46 mmol, 0.06 éq) et de Na_2SO_4 (0.394 g, 2.8 mmol, 0.3 éq). L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. La réaction est arrêtée après 8 heures par l'ajout de 0.338 g de NaHCO_3 . Après 10 minutes d'agitation supplémentaires, la solution est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé *(R,S)*-**3** brut. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 (0.853 g, 61 %).⁵⁹

**(*R,S*)-3**

Formule brute : $C_9H_{16}O_3$

Masse molaire : 172.2 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

Rf : 0.17 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

RMN ^1H (C_6D_6) : 4.97 (s, 1H, 4), 4.75 (s, 1H, 4'), 3.75 (AB, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, 6), 3.44 – 3.31 (m, 2H, 5), 2.04 (t, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 1H, OH), 1.47 (s, 3H, 3), 1.29 (s, 3H, 8), 1.21 (s, 3H, 9).

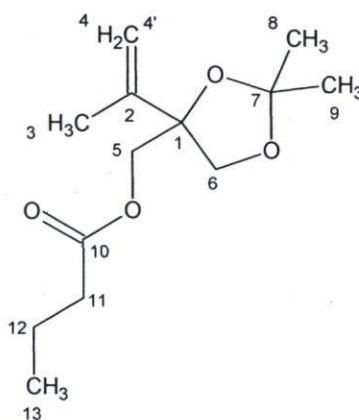
RMN ^{13}C (C_6D_6) : 145.5 (2), 111.8 (4), 109.8 (7), 86.5 (1), 69.6 (6), 65.7 (5), 27.1 (9), 25.8 (8), 19.4 (3).

IR (NaCl) : 3479.3 (élongation O-H), 2987.5 (élongation C-H alcènes), 1455.6 (déformation O-H), 905.0 (élongation C-O).

1.4 Synthèse du butyrate de (*R,S*)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((*R,S*)-4)

Sécher d'abord à la flamme sous courant continu d'azote sec et agitation magnétique un ballon couvert d'un septum. Refroidir ensuite ce dernier entre 0-10°C à l'aide d'un bain eau-glace. À l'aide d'une seringue, 56 mg de l'acétonide (*R,S*)-3 (0.325 mmol) préalablement dissous dans 2 ml de dichlorométhane anhydre sont transférés dans le ballon sous atmosphère inerte. Par la suite, 100 μl de Et_3N sec (0.72 mmol, 2.2 éq) sont également transférés avant d'enlever alors le courant d'azote sec. Finalement, 50 μl de

chlorure de butanoyle (0.48 mmol, 1.5 éq) sont ajoutés lentement. Le mélange est alors ramené à température pièce et l'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince jusqu'à disparition complète de l'alcool de départ. Après 5 heures, la réaction est arrêtée et la phase organique à laquelle 10 ml de CH_2Cl_2 sont ajoutés est lavée à l'eau (3 x 10 ml) avant d'être séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour générer 91 mg de l'ester **(R,S)-4** (0.376 mmol, 100 %).⁵⁹



(R,S)-4

Formule brute : $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4$

Masse molaire : 242.3 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.40 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

RMN ^1H (CDCl_3) : 5.07 (s, 1H, 4), 4.95 (s, 1H, 4'), 4.14 (m, 2H, 5), 3.99 (AB, $J = 8.8$ Hz, 2H, 6), 2.31 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 11), 1.77 (s, 3H, 3), 1.64 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H, 12), 1.47 (s, 3H, 9), 1.37 (s, 3H, 8), 0.93 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, 13).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 173.7 (10), 144.4 (2), 112.7 (4), 110.6 (7), 84.5 (1), 70.3 (6), 66.5 (5), 36.3 (11), 27.2 (8), 26.0 (9), 19.8 (12), 18.6 (3), 13.9 (13).

IR (NaCl): 2969.3 (élongation C-H alcènes), 1726.5 (élongation C=O), 908.9 (élongation C-O).

1.5 Hydrolyse enzymatique de (*R,S*)-4 : synthèse du (*S*)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthanol ((*S*)-3).

Dans un ballon, l'ester (*R,S*)-4 (104 mg, 0.413 mmol) est émulsifié dans 5 ml d'eau sous agitation magnétique vigoureuse et le pH est ajusté à 7.5 environ par l'ajout de NaOH 1N. L'hydrolyse enzymatique débute lors de l'ajout de 5 mg de la lipase de *Pseudomonas* sp. (PSL). Dès lors, le pH doit être ramené continuellement autour de 7.5 par l'ajout de NaOH 1N. Le pH et l'avancement de la réaction suivi par chromatographie sur couche mince n'évoluant plus après 3 heures, l'hydrolyse enzymatique est arrêtée par l'extraction avec du CH₂Cl₂ (3 x 25 ml). La phase organique est alors séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer l'ester (*S*)-4 et l'alcool (*S*)-3. Le mélange est analysé par chromatographie gazeuse en phase chirale.⁵⁹

Analyse CG-chirale

a) Méthode instrumentale

Injecteur : manuel
température : 225°C
solution d'injection : V = 1 µl, C = 10mg/ml CH₂Cl₂

Colonne chirale : Astec 77023 (BDM 30M)
température : 100°C
débit : 2.5 ml/min

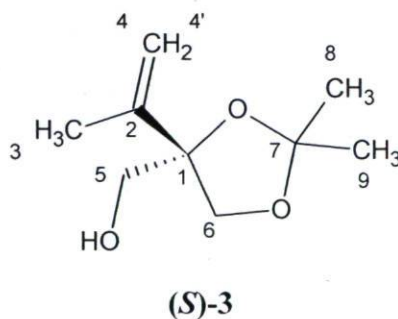
Détecteur : FID
température : 250°C

b) Résultats d'analyse

Temps de rétention des énantiomères R ($t_{r(R)}$) et S ($t_{r(S)}$), aires sous la courbe respectives ($A_{(R)}$ et $A_{(S)}$) et excès énantiomères mesurés (ee) pour l'analyse en chromatographie gazeuse en phase chirale des mélanges racémiques (*R,S*)-3 et (*R,S*)-4 de même que pour les produits d'hydrolyse enzymatique (*S*)-3 et (*S*)-4.

Espèces	$t_{r(R)}$ (min)	$A_{(R)}$	$t_{r(S)}$ (min)	$A_{(S)}$	ee (%)
(<i>R,S</i>)-3	17.7	250.3	15.4	249.8	0
(<i>R,S</i>)-4	8.1	52.1	7.6	48.2	0
(<i>S</i>)-3	26.2	122.0	24.5	12078.0	> 98
(<i>S</i>)-4	6.5	7.0	6.1	693.0	> 98

L'alcool (*S*)-3 (40 mg, 0.23 mmol, 56%) et l'ester (*S*)-4 (42 mg, 0.17 mmol, 42%) sont récupérés purs par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour récupérer l'ester (*S*)-4 évoluant vers une proportion de 8:2 pour récupérer l'alcool (*S*)-3.



Formule brute : $C_9H_{16}O_3$

Masse molaire : 172.2 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.11 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

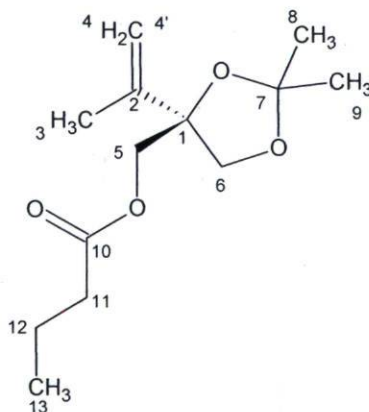
$[\alpha]_D^{20}$: -10.6° ($c = 2.0$; $CHCl_3$)

RMN 1H (C_6D_6) : voir 1.3

RMN ^{13}C (C_6D_6) : voir 1.3

IR (NaCl) : voir 1.3

Butyrate de (S)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((S)-4)



(S)-4

Formule brute : $C_{13}H_{22}O_4$

Masse molaire : 242.3 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.40 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

$[\alpha]_D^{20}$: $+13.14^\circ$ ($c = 2.1$; $CHCl_3$)

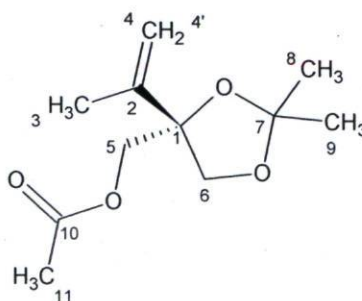
RMN 1H ($CDCl_3$) : voir 1.4

RMN ^{13}C (CDCl_3) : voir 1.4

IR (NaCl) : voir 1.4

1.6 Synthèse de l'acétate de (*R*)-(4-isopropényl-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)-méthyle ((*R*)-5)

Le réactif (*S*)-3 (101 mg, 0.59 mmol) solubilisé avec 5 ml de dichlorométhane dans un ballon est mis sous agitation magnétique avant de fermer ce dernier avec un septum. La pyridine (110 μl , 1.36 mmol, 2.4 éq) et finalement l'anhydride acétique (120 μl , 1.26 mmol, 2.2 éq) sont ajoutés au mélange réactionnel. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. La réaction, terminée après 10 heures est arrêtée par l'ajout de 30 ml de dichlorométhane. Les lavages sont réalisés avec $\text{NaHCO}_{3(\text{aq})}$ saturée (2 x 30 ml) puis à l'eau (2 x 30 ml) et finalement avec $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ saturée (30 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé (*R*)-5. Le produit acétylé est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour générer 122 mg de l'ester (*R*)-5 (0.57 mmol, 97 %).⁵⁹



(*R*)-5

Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$

Masse molaire : 214.3 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.30 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

$[\alpha]_D^{20}$: -1.56° ($c = 2.5$; CH_3OH)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 215.1283$ (MH^+)

$m/z_{\text{expérimental}} = 215.1288$ (MH^+)

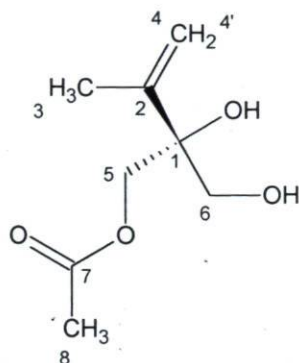
RMN ^1H (CDCl_3) : 5.04 (s, 1H, 4), 4.93 (s, 1H, 4'), 4.11 (m, 2H, 6), 4.06 – 3.92 (m, 2H, 5), 2.00 (s, 3H, 11), 1.75 (s, 3H, 3), 1.40 (s, 3H, 9), 1.30 (s, 3H, 8).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 171.2 (10), 144.9 (2), 111.7 (4), 110.3 (7), 84.5 (1), 69.9 (6), 66.2 (5), 26.1 (9), 24.9 (8), 19.6 (11), 18.5 (3).

IR (NaCl) : 2946.4 (élongation C-H alcènes), 1746.7 (élongation C=O), 976.9 (élongation C-O).

1.7 Synthèse de l'acétate de (*R*)-2-hydroxy-2-(hydroxyméthyl)-3-méthylbut-3-èneyle méthyle ((*R*)-6)

Le réactif (*R*)-5 (40 mg, 0.19 mmol) est émulsifié avec 5 ml de HCl 1N dans un ballon sous agitation magnétique. L'hydrolyse de l'acétonide est suivie par chromatographie sur couche mince et arrêtée après 75 minutes par l'ajout de NaHCO_3 jusqu'à neutralisation du milieu. Le mélange est évaporé à sec sous pression réduite et par co-évaporation avec l'acétonitrile (3 x 5 ml). Le résidu est trituré avec une solution d'acétate d'éthyle et d'hexanes (7:3) pour par la suite être purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans les mêmes proportions pour générer le diol chiral (*R*)-6 pur (32 mg, 0.18 mmol, 95 %).^{58, 59}

**(R)-6**

Formule brute : $C_8H_{18}O_4$

Masse molaire : 174.2 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.03 acétate d'éthyle : hexanes (7:3)

$[\alpha]_D^{20}$: -1.07° ($c = 1.65$; $CHCl_3$)⁵⁸

RMN ¹H ($CDCl_3$) : 5.10 (s, 1H, 4), 5.06 (s, 1H, 4'), 4.12 (AB, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2H, 5), 3.72 (AB, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 2H, 6), 2.33 (s_{large}, 2H, OH), 2.17 (s, 3H, 8), 1.78 (s, 3H, 3).

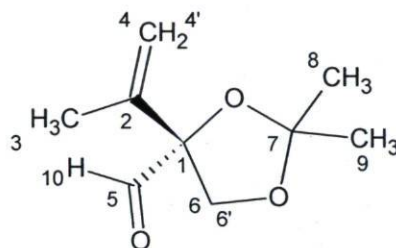
RMN ¹³C ($CDCl_3$) : 170.6 (7), 144.0 (2), 113.4 (4), 84.1 (1), 66.3 (5), 64.7 (6), 21.3 (8), 19.6 (3).

IR (NaCl) : 3470.3 (élongations OH), 2946.4 (élongation C-H alcènes), 1746.7 (élongation C=O), 976.9 (élongation C-O).

1.8 Synthèse du (R)-2,2-diméthyl-4-isopropényl-1,3-dioxolan-4-carbaldéhyde ((R)-7)

Dans un ballon refroidi entre 0 et 5°C, le réactif (S)-3 (573 mg, 3.33 mmol) dans 40 ml de dichlorométhane et 1.2 ml d'une solution de bromure de sodium 3.3 N (4.0 mmol, 1.2 éq) ont été mis sous agitation magnétique. TEMPO a alors été ajouté en quantité catalytique (16 mg, 0.104 mmol, 0.03 éq) juste avant l'addition de la solution

d'hypochlorite de sodium, NaOCl 1.4 M (4.0 ml, 5.68 mmol, 1.7 éq) fraîchement tamponnée avec du bicarbonate de sodium, NaHCO₃ (141 mg, 1.68 mmol, 0.5 éq). La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince et interrompue après 30 minutes par l'ajout de Na₂S₂O₃ 1.68 N (1.2 ml, 0.6 éq). Une solution de NaCl_(aq) saturée (80 mL) est ajoutée avant de procéder à l'extraction avec du CH₂Cl₂ (3 x 60 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant du dichlorométhane pour générer 437 mg du produit **(R)-7** (2.57 mmol, 77 %).⁵⁹

**(R)-7**

Formule brute : C₉H₁₄O₃

Masse molaire : 170.2 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.39 CH₂Cl₂ (100)

[α]_D²⁰ : -24.0° (c = 11.5 ; CH₂Cl₂)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 171.1021 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 171.1027 (MH⁺)

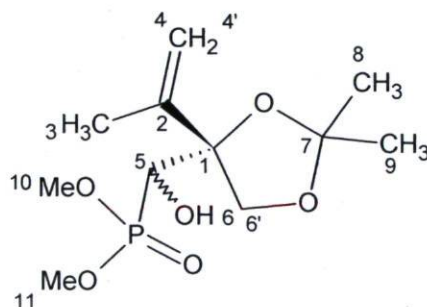
RMN ¹H (CDCl₃) : 9.29 (s, 1H, 10), 5.12 (s, 1H, 4), 5.11 (s, 1H, 4'), 4.45 (d, J = 8.6 Hz, 1H, 6), 3.70 (d, J = 7.2 Hz, 1H, 6'), 1.61 (s, 3H, 3), 1.36 (s, 3H, 8), 1.34 (s, 3H, 9).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 198.5 (5), 138.8 (2), 114.3 (4), 111.2 (1), 90.3 (7), 68.6 (6), 27.1 (8), 25.7 (9), 18.4 (3).

IR (NaCl) : 2991.0 (élongation C-H alcènes), 1732.8 (élongation C=O), 1060.2 (élongation C-O).

1.9 Synthèse du (*R/S*)-hydroxyl[(4*R*)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-isopropényl]méthyle ((*R*)-8)

Le réactif (**R**)-7 (553 mg, 3.25 mmol) est solubilisé avec 10 ml de dichlorométhane dans un ballon et mis sous agitation magnétique. Le 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) (500 μ l, 3.25 mmol, 1 éq) et finalement le diméthylphosphite (300 μ l, 3.25 mmol, 1 éq) sont ajoutés au mélange réactionnel. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. La réaction, terminée après 3 heures est arrêtée par l'ajout de 15 ml d'eau. Le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 20 ml). La phase organique est lavée avec HCl 1N (3 x 20 ml) puis avec NaHCO_{3(aq)} saturée (2 x 20 ml) et finalement avec NaCl_(aq) saturée (2 x 20 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé (**R**)-8. Le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 1:1 allant vers l'acétate d'éthyle 100 % pour générer 238 mg du composé (**R**)-8 dans une proportion 1 :1 des diastéréoisomères (0.85 mmol, 26 %).



(**R**)-8

Formule brute : C₁₁H₂₁O₆P

Masse molaire : 280.3 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.10 acétate d'éthyle : hexanes (1:1)

[α]_D²⁰ : -5.3° (c = 1.06 ; CH₂Cl₂)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 281.1154 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 281.1148 (MH⁺)

RMN ^1H (CDCl_3) : 5.15 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H, 4), 5.02 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, 4'), 4.39 (dd, $J = 8.5, 28.1$ Hz, 1H, 6), 4.02 (m, 1H, 6'), 3.79 (AB, $J = 8.7$ Hz, 1H, 5), 3.76 (s, 3H, 10), 3.73 (s, 3H, 11), 2.99 (s_{large} , 1H, OH), 1.81 (d, $J = 11.7$ Hz, 3H, 3), 1.46 (d, $J = 18$ Hz, 3H, 8), 1.37 (d, $J = 17.8$ Hz, 3H, 9).

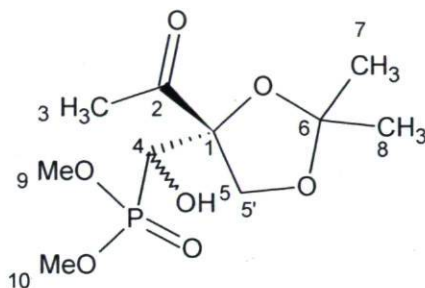
RMN ^{13}C (CDCl_3) : 144.7 (2), 113.9 (4), 111.0 (7), 88.8 (1), 71.2 (5), 68.3 (6), 53.2 (10), 52.2 (11), 27.1 (8), 26.0 (9), 20.2 (3).

RMN ^{31}P (CDCl_3) : 23.3, 24.2.

IR (NaCl) : 3285.9 (élongation O-H), 2987.5 (élongation C-H alcènes), 1454.9 (déformation O-H), 1061.9 (élongation C-O).

1.10 Synthèse du (*R/S*)-hydroxyl[(4*R*)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-méthylcétone]méthyle ((*R*)-9)

Le réactif (*R*)-8 (100 mg, 0.36 mmol) est solubilisé dans 10 ml de dichlorométhane. La température de la solution est ramenée à -78°C à l'aide d'un mélange acétate d'éthyle/azote liquide. L'ozone est barboté dans la solution jusqu'à apparition d'une coloration bleue. L'excès d'ozone est ensuite éliminé par passage d'un courant d'azote dans la solution puis le diméthylsulfure (40 μl , 0.54 mmol) est ajouté goutte à goutte. Après retour à la température pièce, le mélange est agité pendant 3 heures. Le solvant est ensuite évaporé puis le résidu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange de dichlorométhane et d'acétone dans une proportion de 1:1 pour générer 83 mg du composé (*R*)-9 dans une proportion 1:1 des diastéréoisomères (0.29 mmol, 82 %).^{71, 72., 73, 74}

**(R)-9**

Formule brute : $C_{10}H_{19}O_7P$

Masse molaire : 282.3 g mol^{-1}

Aspect : huile incolore

R_f : 0.64 acétone : CH_2Cl_2 (1:1)

$[\alpha]_D^{20}$: -2.4° ($c = 11.5$; CH_2Cl_2)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 283.0947$ (MH^+)

$m/z_{\text{expérimental}} = 283.0954$ (MH^+)

RMN 1H ($CDCl_3$) : 4.37 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, 5-5'), 4.02 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 4), 3.83 (d, $J = 10.8$ Hz, 3H, 9), 3.77 (d, $J = 10.8$ Hz, 3H, 10), 2.38 (s, 3H, 3), 1.56 (s_{large}, 1H, OH), 1.53 (s, 3H, 7), 1.52 (s, 3H, 8).

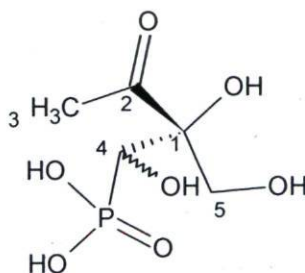
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 211.7 (2), 112.6 (6), 89.9 (1), 71.7 (4), 69.1 (5), 53.2 (10), 52.2 (9), 27.2 (7), 26.1 (8), 25.2 (3).

RMN ^{31}P ($CDCl_3$) : 23.3, 24.2.

IR (NaCl) : 3004.3 (élongation O-H), 1715.5 (élongation C=O), 1420.9 (déformation O-H), 1092.7 (élongation C-O).

1.11 Synthèse de l'acide (*R*)-2-hydroxy-2-hydroxyméthyl-3-oxobutyl-1-(*R,S*)-ol-phosphonique ((*R*)-10)

Le réactif (**R**)-9 (82 mg, 0.29 mmol) est solubilisé avec 15 ml de dichlorométhane dans un ballon. Ce dernier est mis sous agitation magnétique et courant d'azote à température de la pièce. Par la suite, l'iodotriméthylsilane (TMSI) (200 μ l, 1.45 mmol, 5 eq) est ajouté au mélange réactionnel à l'aide d'une seringue. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. La réaction, terminée après 20 heures, est arrêtée par l'ajout de 15 ml d'eau. Le mélange est agité pendant 15 minutes supplémentaires. Ensuite, les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec de l'éther (3 x 15 ml). La phase aqueuse est alors récupérée et évaporée pour obtenir un résidu de couleur rouille. Le résidu est solubilisé dans un minimum de méthanol. Par la suite, de l'éther est ajouté jusqu'à précipitation d'un solide. Ce dernier est filtré sous vide pour obtenir 16 mg du composé (**R**)-10 dans une proportion 1 :1 des diastéréoisomères (0.064 mmol, 22 %).⁷⁵



(R)-10

Formule brute : $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_7\text{P}$

Masse molaire : $214.13 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : solide blanc

R_f : 0.05 acétone : CH_2Cl_2 (1:1)

$[\alpha]_D^{20}$: $+0.96^\circ$ ($c = 0.75$; H_2O)

Masse (ESI) : $m/z = 252.8$ (MK^+)

RMN ^1H (D_2O) : 8.26 (s_{large} , 5H, OH), 4.90 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, 4), 3.44 (q, $J = 11.7$ Hz, 2H, 5), 2.14 (s, 3H, 3).

RMN ^{13}C (D_2O) : 211.7 (2), 91.8 (1), 75.7 (4), 63.8 (5), 23.0 (3).

RMN ^{31}P (D_2O) : 17.3, 17.5.

IR (KBr) : 3186.2 (élongation O-H), 1675.3 (élongation C=O), 1433.6 (déformation O-H), 1084.7 (élongation C-O).

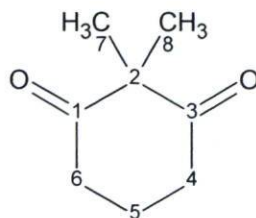
CHAPITRE 2

DÉSYMÉTRISATION ENZYMATIQUE DU *CIS*-2,2-DIMÉTHYL-1,3-CYCLOHEXANEDIOL

2.1 Préparation du diol (12)

2.1.1 Synthèse du 2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanedione (11)

La 1,3-cyclohexanedione (5.00 g, 44.6 mmol), l'iodure de méthyle (7.00 ml, 112.4 mmol) et le carbonate de potassium (11.00 g, 79.6 mmol) sont dissous dans 125.0 ml d'acétone. La solution est agitée et chauffée à reflux. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Une fois la solution revenue à la température ambiante, cette dernière est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le mélange ainsi obtenu est dissous dans une portion équivalente d'eau et de dichlorométhane. Par la suite, la solution est extraite avec du dichlorométhane (3 x 100.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 (3.002 g, 48 %).^{88, 89, 90, 91}



11

Formule brute : $C_8H_{12}O_2$

Masse molaire : $140.18 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : solide blanc

Point de fusion : 36-37 °C (39-40 °C (litt.⁸⁸))

R_f : 0.59 acétate d'éthyle : hexanes (2:3)

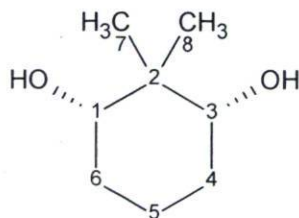
RMN ¹H (CDCl₃) : 1.05 (s, 6H, C-7 et C-8), 1.73 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H, C-5), 2.46 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H, C-4 et C-6).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 17.9 (7 et 8), 22.1 (5), 37.2 (4 et 6), 61.6 (2), 210.3 (1 et 3).

IR (KBr) : 1695.0 (élongation C = O), 1316.0 (élongation C-C = O-C).

2.1.2 Synthèse du cis-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediol (12)

La dicétone **11** (0.2362 g, 1.64 mmol) et le borohydrure de sodium (0.1020 g, 2.70 mmol) sont dissous dans 10.0 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium 1N. La solution est agitée et chauffée à 50°C. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (3 heures). Une fois la solution revenue à la température ambiante, cette dernière est saturée en carbonate de potassium. Le mélange ainsi obtenu est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Par la suite, le solide recueilli est dissous dans de l'eau froide puis filtré sous vide. La solution est de nouveau évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le solide obtenu est dissous dans de l'acétone chaud puis filtré sous vide. La solution est alors évaporée en utilisant un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange de dichlorométhane et d'acétone dans une proportion de 4:1 (0.132 g, 54 %).^{87, 88, 89}



12

Formule brute : C₈H₁₆O₂

Masse molaire : 144.21 g mol⁻¹

Aspect : solide blanc

Point de fusion : 107-110 °C (105-109 °C (litt.⁸⁸))

R_f : 0.29 acétone : dichlorométhane (1:4)

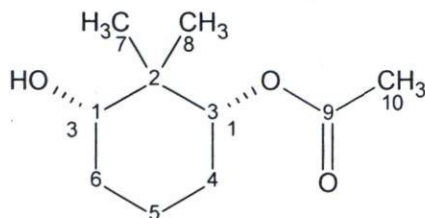
RMN ¹H (CDCl₃) : 0.97 (d, *J* = 13.2 Hz, 6H, C-7 et C-8), 1.30 (m, 2H, C-5), 1.51 (m, 2H, C-4), 1.75 (m, 2H, C-6), 2.15 (s, 2H, 2 x OH), 3.37 (m, 2H, C-1 et C-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 24.5 (5), 27.8 (6), 29.4 (7 et 8), 32.1 (4), 65.8 (2), 69.8 (1), 71.8 (3).

IR (KBr) : 3338.0 (élongation O-H), 1453.0 (déformation O-H), 1014.0 (élongation C-O).

2.2 Désymétrisation enzymatique du diol *méso* (12) : synthèse de l'acétate de (1*R*,3*S*)-3-hydroxy-2,2-diméthylcyclohexane ((1*R*,3*S*)-13)

Le diol **12** (24.0 mg, 0.1664 mmol) est dissous dans 1 ml d'acétate de vinyle, puis la lipase B de *Candida antarctica* (lipase de Boehringer Mannheim) (15.0 mg) est ajoutée. La réaction est agitée et suivie par chromatographie sur couche mince (6 jours). Par la suite, la solution est filtrée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:1 (17.0 mg, 55 %).



(1*R*,3*S*)-13

Analyse GC-chirale

a) Méthode instrumentale

Injecteur : manuel
 température : 225°C
 solution d'injection : V = 2 µl, C = 10 mg/ml CH₂Cl₂

Colonne chirale : Astec 77023 (BDM 30M)
 température : 115°C
 débit : 2,5 ml/min

Détecteur : FID
 température : 250°C

b) Résultats d'analyse

Temps de rétention des énantiomères R ($t_{r(R)}$) et S ($t_{r(S)}$), aires sous la courbe respectives ($A_{(R)}$ et $A_{(S)}$) et excès énantiomères mesurés (ee) pour l'analyse en chromatographie gazeuse en phase chirale du mélange racémique (rac)-**13** de même que pour le produit d'acylation enzymatique (1*R*,3*S*)-**13**.

Espèces	$t_{r(R)}$ (min)	$A_{(R)}$	$t_{r(S)}$ (min)	$A_{(S)}$	ee (%)
(rac)- 13	22.5	17.9	21.7	18.4	0
(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)- 13	22.5	23.2	21.7	0.09	> 98

Formule brute : C₁₀H₁₈O₃

Masse molaire : 186.25 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.23 acétate d'éthyle : hexanes (1 :3)

[α]_D²⁰ : -4.33° (c = 0.85 ; CHCl₃)

RMN ^1H (CDCl_3) : voir 2.5

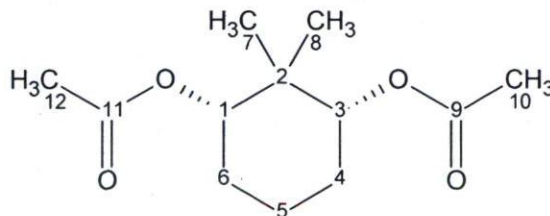
RMN ^{13}C (CDCl_3) : voir 2.5

IR (NaCl) : voir 2.5

2.3 Préparation du diacétate (14) : synthèse du *cis*-2,2-diméthyl-1,3-cyclohexanediacétate (14)

Le diol **12** (0.48 g, 3.35 mmol) est dissous dans 3.0 ml de pyridine. On ajoute au mélange 5 équivalents d'anhydride acétique (1.8 ml, 16.75 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Par la suite, la solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et de dichlorométhane dans une proportion de 5:1 (0.634 g, 83 %).⁸⁷

91



14

Formule brute : $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_4$

Masse molaire : $228.28 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : solide blanc

Point de fusion : $64\text{-}65 \text{ }^\circ\text{C}$

R_f : 0.18 dichlorométhane : hexanes (1:5)

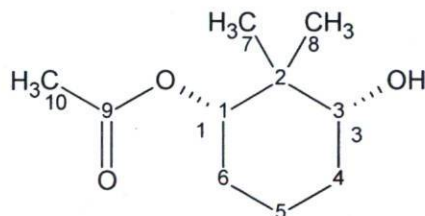
RMN ^1H (CDCl_3) : 0.88 (s, 3H, C-7), 0.95 (s, 3H, C-8), 1.39 (m, 2H, C-5), 1.71 (m, 4H, C-4 et C-6), 2.02 (s, 6H, C-10 et C-12), 4.53 (dd, $J = 6.8, 14.4 \text{ Hz}$, 2H, C-1 et C-3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 14.2 (7), 19.9 (8), 21.3 (5), 24.5 (10 et 12), 26.5 (4 et 6), 39.4 (2), 77.5 (1 et 3), 170.7 (9 et 11).

IR (KBr) : 1746.0 (élongation C=O), 1236.0 (élongation C-O), 1215.0 (élongation acétate CC (=O)-O).

2.4 Désymétrisation enzymatique du diacétate *méso* (14) : synthèse de l'acétate de (1*S*,3*R*)-3-hydroxy-2,2-diméthylcyclohexane ((1*S*,3*R*)-13)

Le diacétate **14** (27.5 mg, 0.1205 mmol) est dissous dans 3.0 ml de tampon phosphate pH 7.0, puis l'estérase de foie de porc (PLE) (15.0 mg) est ajoutée. La réaction est agitée et suivie par chromatographie sur couche mince (1 jour). Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 10.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:1 (53.0 mg, rendement quantitatif).



(1*S*,3*R*)-13

Analyse GC-chirale

a) Méthode instrumentale

Injecteur : manuel

température : 225°C

solution d'injection : V = 2 μl , C = 10 mg/ml CH_2Cl_2

Colonne chirale : Astec 77023 (BDM 30M)

température : 115°C

débit : 2.5 ml/min

Détecteur : FID

température : 250°C

b) Résultats d'analyse

Temps de rétention des énantiomères R ($t_{r(R)}$) et S ($t_{r(S)}$), aires sous la courbe respectives ($A_{(R)}$ et $A_{(S)}$) et excès énantiomères mesurés (ee) pour l'analyse en chromatographie gazeuse en phase chirale du mélange racémique (rac)-**13** de même que pour le produit d'hydrolyse enzymatique (1*S*,3*R*)-**13**.

Espèces	$t_{r(R)}$ (min)	$A_{(R)}$	$t_{r(S)}$ (min)	$A_{(S)}$	ee (%)
(rac)- 13	22.5	17.9	21.7	18.4	0
(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)- 13	22.5	0.67	21.6	119.8	> 98

Formule brute : C₁₀H₁₈O₃

Masse molaire : 186.25 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.18 acétate d'éthyle : hexanes (1 :3)

[α]_D²⁰ : +4.39° (*c* = 2.65 ; CHCl₃)

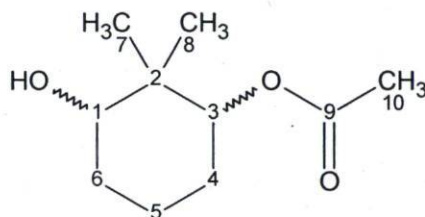
RMN ¹H (CDCl₃) : voir 2.5

RMN ¹³C (CDCl₃) : voir 2.5

IR (NaCl) : voir 2.5

2.5 Synthèse de l'acétate (rac)-3-hydroxy-2,2-diméthylcyclohexane ((rac)-13)

Le diacétate **14** (200.0 mg, 0.876 mmol) est dissous dans 20.0 ml d'eau et 10.0 ml d'une solution d'acide chlorhydrique 3N. La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (4 heures). Par la suite, la solution est extraite avec du dichlorométhane (3 x 50.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:1 (47.0 mg, 30 %).



(rac)-13

Formule brute : $C_{10}H_{18}O_3$

Masse molaire : $186.25 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.11 acétate d'éthyle : hexanes (1 :3)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 187.1334 \text{ (MH}^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 187.1341 \text{ (MH}^+)$

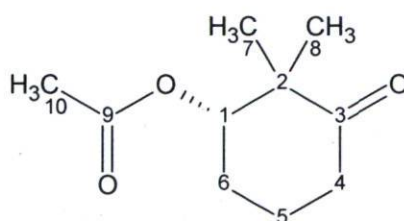
RMN ¹H (CDCl₃) : 0.89 (s, 3H, C-7), 0.97 (s, 3H, C-8), 1.21 (s, 1H, OH), 1.38 (m, 2H, C-5), 1.68 (m, 4H, C-4 et C-6), 2.02 (s, 3H, C-10), 3.31 (dd, $J = 6.4, 14.0 \text{ Hz}$, 2H, C-1), 4.51 (dd, $J = 6.8, 14.0 \text{ Hz}$, 2H, C-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 14.2 (7), 19.5 (8), 21.4 (5), 24.6 (10), 26.5 (4), 29.8 (6), 40.3 (2), 76.2 (1), 78.1 (3), 170.8 (9).

IR (NaCl) : 3475.0 (élongation O-H), 1738.0 (élongation C=O), 1375.0 (déformation O-H), 1257.0 (élongation C-O), 1215.0 (élongation acétate CC (=O)-O), 678.0 (déformation O-H).

2.6 Détermination de la configuration absolue du monoacétate ((1*S*,3*R*)-13) : synthèse du (*S*)-3-acétoxy-2,2-diméthylcyclohexan-1-one ((*S*)-15)

Le monoacétate (**1*S*,3*R***)-13 (45.0 mg, 0.241 mmol), le trioxyde de chrome (33.0 mg, 0.330 mmol) et la pyridine (64 μ l, 0.791 mmol) sont dissous dans 10.0 ml de dichlorométhane. La solution est agitée et chauffée à 20°C. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (2 heures). Une fois la solution revenue à la température ambiante, cette dernière est lavée avec de l'eau (4 x 10.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:1 (3.0 mg, 7 %). Par la suite, une mesure du pouvoir rotatoire du produit obtenu est faite dans le but de comparer cette valeur à celle trouvée dans la littérature. La configuration absolue du monoacétate (***S***)-15 est donc obtenue en comparant le signe de ces deux valeurs.⁹²



(***S***)-15

Formule brute : C₁₀H₁₆O₃

Masse molaire : 184.24 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.42 acétate d'éthyle : hexanes (1 :3)

[α]_D²⁰ : +9.48° (c = 0.15 ; CHCl₃) (+10.7° (c = 1.87 ; CHCl₃) (litt.⁹²))

RMN ^1H (CDCl_3) : 1.09 (s, 3H, C-8), 1.18 (s, 3H, C-7), 1.55-2.00 (m, 4H, C-4 et C-6), 2.17 (s, 3H, C-10), 2.38-2.51 (m, 2H, C-5), 4.45 (m, 1H, C-1).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 20.5 (8), 21.0 (10), 21.4 (5), 23.7 (7), 26.0 (6), 37.4 (4), 47.1 (2), 77.0 (1), 171.2 (9), 215.3 (3).

IR (NaCl) : 1745,0 (élongation C=O), 1380,0 (élongation C-O), 1210,0 (élongation acétate CC (=O)-O).

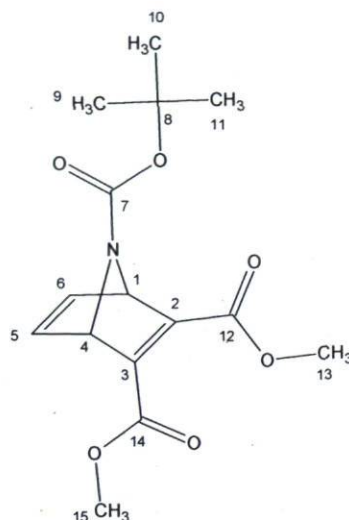
CHAPITRE 3

DÉSYMÉTRISATION CHIMIOENZYMATIQUE DE COMPOSÉS MÉSO POSSÉDANT UN SYSTÈME 7- AZABICYCLO[2.2.1]HEPTANE

3.1 Préparation du N- Boc diester (17)

3.1.1 Synthèse du 7-*tert*-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,5-diène-2,3,7-tricarboxylate (16)

Le N-Boc-pyrrole (7.0 ml, 41.86 mmol) et l'acétylènedicarboxylate de diméthyle (2.5 ml, 20.42 mmol) sont agités et chauffés à reflux sous courant d'azote. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince pendant 3 heures. Une fois la solution revenue à la température ambiante, le mélange ainsi obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 pour obtenir le composé **16** pur (3.62 g, 57 %).¹¹⁵



16

Formule brute : $C_{15}H_{19}NO_6$

Masse molaire : $309.35 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : solide jaune

Point de fusion : $68-71 \text{ }^\circ\text{C}$ ($73.3-74.8 \text{ }^\circ\text{C}$ (litt.¹¹⁵))

R_f : 0.20 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

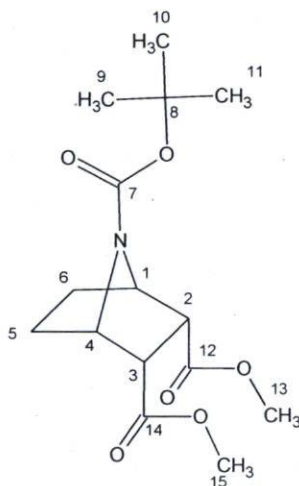
RMN ^1H (CDCl_3): 7.14 (s_{large}, 2H, 5-6), 5.46 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.82 (s, 6H, 13-15), 1.42 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ^{13}C (CDCl_3): 165.4 (12-14), 154.2 (7), 134.6 (2), 129.4 (3), 123.4 (6), 109.3 (5), 81.8 (8), 53.1 (4), 53.0 (1), 52.6 (13-15), 28.3 (9-10-11).

IR (KBr) : 2955.0 (élongation C-H alcènes), 1793.8 (élongation C=O), 908.2 (élongation C-O).

3.1.2 Synthèse de l'endo 7-tert-butyl 2,3-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3,7-tricarboxylate (17)

Le diester **16** (3.6 g, 11.64 mmol) est solubilisé dans 160.0 ml de méthanol. Par la suite, la solution est mise sous courant d'azote avant d'ajouter 360 mg de palladium sur charbon 10%. Le mélange est hydrogéné pendant 5 heures à température ambiante sous une pression de 55 PSI. Le mélange ainsi obtenu est filtré puis évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le produit obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 pour obtenir le diester **17** pur (3.35 g, 92 %).¹¹⁵



17

Formule brute : $C_{15}H_{23}NO_6$

Masse molaire : $313.38 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : solide blanc

Point de fusion : $91-94 \text{ }^\circ\text{C}$ ($99.5-102.2 \text{ }^\circ\text{C}$ (litt.¹¹⁵))

R_f : 0.23 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

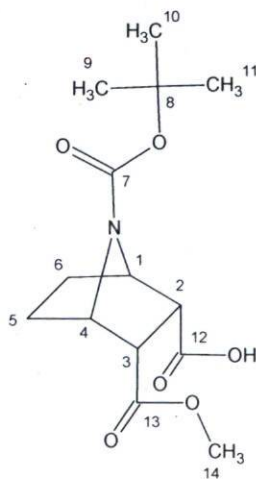
RMN ¹H (CDCl₃): 4.35 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.64 (s, 6H, 13-15), 3.20 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.94 (d, 2H, 7.8 Hz, 6), 1.72 (d, 2H, 2.2 Hz, 5), 1.42 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 171.4 (12-14), 155.2 (7), 80.7 (8), 59.3 (1-4), 51.9 (13-15), 47.5 (2-3), 28.4 (9-10-11), 25.1 (5-6).

IR (KBr) : 1742.0 (élongation C=O), 907.8 (élongation C-O).

3.2 Désymétrisation enzymatique du N-Boc diester (17) : synthèse de l'*endo* acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18)

Le diester **17** (100.0 mg, 0.32 mmol) est dissous dans 2 ml de tampon phosphate pH 7.7 auquel on ajoute 0.5 ml de DMSO. La réaction est amorcée par l'ajout de 20 mg d'estérase de foie de porc (PLE). Le mélange est agité à température de la pièce et la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (2 jours). Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 10.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 1:1. Le composé récupéré est le diester **17**, soit le produit de départ. La réaction n'est donc pas catalysée par l'enzyme.

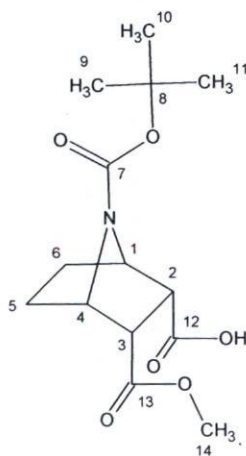


18

3.3 Préparation du N-Boc monoacide racémique (18) et du N-Boc diacide (19)

3.3.1 Synthèse de l'endo acide 7-(tert-butoxycarbonyl)-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (18)

Le diester 17 (149.5 mg, 0.48 mmol) est solubilisé dans 6.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 :1. On ajoute au mélange 1 équivalent d'hydroxyde de lithium (24 mg, 0.48 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 10.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 10.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate de vinyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 1:1 (87 mg, 61 %).¹¹⁷



18

Formule brute : $C_{14}H_{21}NO_6$

Masse molaire : $299.35 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.24 acétate d'éthyle : hexanes (1:1)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 300.1417$ (MH⁺)
 $m/z_{\text{expérimental}} = 300.1433$ (MH⁺)

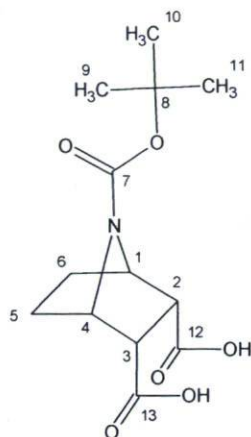
RMN ¹H (CDCl₃): 9.37 (s_{large}, 1H, OH), 4.55 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.73 (s, 3H, 14), 2.99 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.89 (d, 2H, 4.7 Hz, 6), 1.76 (d, 2H, 5.1 Hz, 5), 1.43 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 176.3 (12), 172.8 (13), 154.2 (7), 80.8 (8), 60.7 (1-4), 52.5 (14), 49.7 (2-3), 28.4 (9-10-11), 25.1 (5-6).

IR (NaCl) : 1705.9 (élongation C=O), 1369.9 (élongation CC (=O)-O), 904.7 (élongation C-O).

3.3.2 Synthèse de l'endo acide 7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (19)

Le diester **17** (148 mg, 0.47 mmol) est solubilisé dans 8.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 : 1. On ajoute au mélange 2 équivalents d'hydroxyde de lithium (60 mg, 0.94 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 10.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 10.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à pH 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate de vinyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 1:1 (120 mg, 88 %).¹¹⁷

**19**

Formule brute : $C_{13}H_{19}NO_6$

Masse molaire : $285.30 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.08 acétate d'éthyle : hexanes (1:1)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 286.1211 \text{ (MH}^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 286.1233 \text{ (MH}^+)$

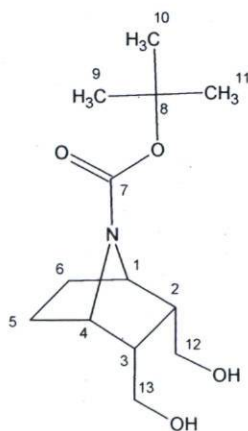
RMN ¹H (CDCl₃): 10.94 (s_{large}, 2H, OH), 4.89 (s_{large}, 2H, 1-4), 2.12 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.88 (d, 2H, 5.7 Hz, 6), 1.71 (d, 2H, 6.1 Hz, 5), 1.46 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ¹³C (CDCl₃): 180.2 (12), 174.7 (13), 151.2 (7), 78.2 (8), 64.8 (1-4), 48.9 (2-3), 28.1 (9-10-11), 25.8 (5-6).

IR (NaCl) : 1765.2 (élongation C=O), 1349.4 (élongation CC (=O)-O), 916.7 (élongation C-O).

3.4 Préparation du N-Boc diol (20) : synthèse de l'*endo tert*-butyl 2,3-bis(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (20)

Le borohydure de lithium (100.0 mg, 4.42 mmol) est mis en solution dans 20.0 ml de tétrahydrofurane. Cette suspension est mise sous agitation magnétique et courant d'azote avant d'être ramenée à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, une solution du diester **17** (998 mg, 3.18 mmol) dans du tétrahydrofurane (20.0 ml) est additionnée lentement à la suspension de réducteur. De l'eau (20.0 ml) est ajouté au mélange réactionnel avant de chauffer ce dernier à reflux pendant 2 heures. Une fois le mélange revenu à la température ambiante, ce dernier est refroidi à l'aide d'un bain de glace. Par la suite, 20.0 ml de NH₄Cl_(aq) saturé sont ajoutés lentement. Le mélange est filtré sous vide et lavé avec de l'eau. Le filtrat ainsi récupéré est extrait avec du dichlorométhane (3 x 30.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé **20**. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange de dichlorométhane et d'acétone dans une proportion de 1:1 (777 mg, 95 %).^{123, 124, 125}



20

Formule brute : C₁₃H₂₃NO₄

Masse molaire : 257.36 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.55 acétone : dichlorométhane (1:1)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 258.1705 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 258.1712 (MH⁺)

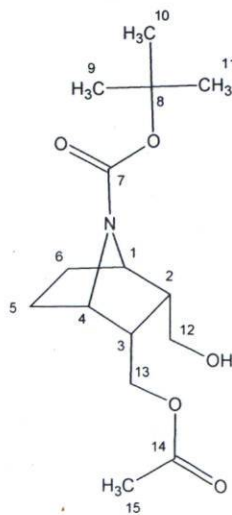
RMN ^1H (CDCl_3): 4.13 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.82 (m, 2H, 12), 3.66 (m, 2H, 13), 2.48 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.59 (s_{large}, 4H, 5-6), 1.44 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ^{13}C (CDCl_3): 155.6 (7), 80.3 (8), 60.2 (1-4), 59.5 (12-13), 44.2 (2-3), 28.5 (9-10-11), 23.9 (5-6).

IR (NaCl) : 3420.8 (élongation O-H), 1693.7 (élongation C=O), 1359.3 (déformation O-H), 903.1 (élongation C-O).

3.5 Désymétrisation du N-Boc diol (**20**) : synthèse du *endo* 7-(*tert*-butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (**21**)

Le diol **20** (55 mg, 0.21 mmol) est dissous dans 2 ml d'acétate de vinyle, puis la lipase B de *Candida antarctica* (10.0 mg) est ajoutée. La réaction est agitée et suivie par chromatographie sur couche mince (4 heures). Par la suite, la solution est filtrée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant de l'acétate d'éthyle (100) pour obtenir le monoacétate **21** (26 mg, 41 %).



21

Formule brute : $C_{15}H_{25}NO_5$
Masse molaire : $299.37 \text{ g mol}^{-1}$
Aspect : huile incolore
R_f : 0.64 acétate d'éthyle (100)
 $[\alpha]_D^{20}$: -8.42° ($c = 0.5$; $CHCl_3$)

RMN 1H ($CDCl_3$) : voir 3.8

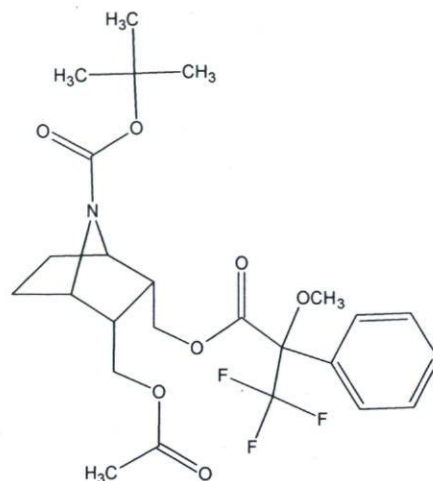
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : voir 3.8

IR (NaCl) : voir 3.8

Ester de Mosher **22**

a) Procédure expérimentale

Le monoacétate **21** (10.0 mg, 0.03 mmol) est solubilisé dans 2 ml de dichlorométhane anhydre dans un ballon muni d'un agitateur magnétique et sous atmosphère d'argon. L'acide (*R*)-(+)- α -méthoxytrifluorophénylacétique (8.6 mg, 0.04 mmol, 1.1 éq), le DMAP (0.4 mg, 0.003 mmol, 0.1 éq) et 20 mg de tamis moléculaire sont ajoutés au mélange réactionnel. Après 15 à 20 minutes d'agitation, le EDC (hydrochlorure de 1-[3-(diméthylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide) (20 mg, 0.10 mmol, 3 éq) est ajouté également. La formation de l'ester est suivie par chromatographie sur couche mince. Lorsque l'alcool de départ a réagi complètement, le mélange réactionnel est transféré dans une ampoule à extraction où 30 ml d'acétate d'éthyle y sont ajoutés. La phase organique est lavée avec HCl 3N (3 x 15 ml), avec $NaHCO_{3(aq)}$ saturée (3 x 15 ml) puis avec $NaCl_{(aq)}$ saturée (3 x 10 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. L'ester **22** ainsi obtenu est assez propre pour procéder à l'analyse RMN et ainsi déterminer l'excès énantiomère du composé **21**.

**22**

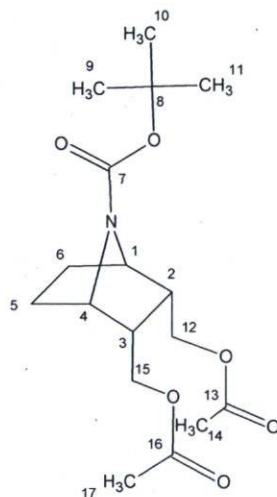
b) Résultats de l'analyse RMN ¹⁹F

Déplacements chimiques (δ), intensité des pics (I) et excès énantiomères mesurés (ee) pour l'analyse RMN ¹⁹F de l'ester de Mosher ((*R,S*)-**22**) du mélange racémique de même que pour l'ester de Mosher (**22**) du produit d'acylation enzymatique.

Espèces	(δ) (ppm)	(I)	(δ) (ppm)	(I)	ee (%)
<i>R,S</i> - 22	-71.824	1004.5	-71.925	1043.0	0
22	-71.828	186.9	-71.917	18.9	74

3.6 Préparation du N-Boc diacétate (23) : synthèse du *endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) diacétate (23)

Le diol **20** (1.90 g, 7.34 mmol) est dissous dans 15.0 ml de pyridine. On ajoute au mélange 5 équivalents d'anhydride acétique (3.5 ml, 36.72 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Par la suite, la solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant de l'acétate d'éthyle (100) pour obtenir 2.19 g du diacétate **23** (87 %).

**23**

Formule brute : $C_{17}H_{27}NO_6$

Masse molaire : $341.39 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.91 acétate d'éthyle (100)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 342.1916 \text{ (MH}^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 342.1909 \text{ (MH}^+)$

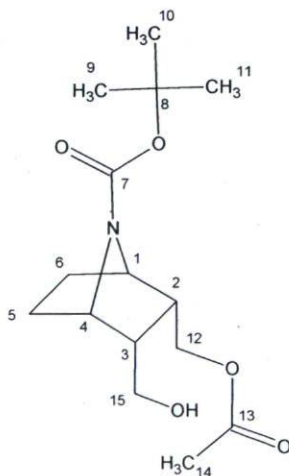
RMN ¹H (CDCl₃): 4.10 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.95 (m, 2H, 12), 3.85 (m, 2H, 15), 2.47 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.96 (s, 6H, 14-17), 1.55 (s_{large}, 4H, 5-6), 1.36 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 170.9 (13-16), 155.3 (7), 80.1 (8), 66.1 (1-4), 61.6 (12-15), 59.1 (2-3), 39.9 (5-6), 28.4 (9-10-11), 21.0 (14-17).

IR (NaCl) : 1744.7 (élongation C=O), 1239.1 (élongation C-O), 1169.3 (élongation acétate CC (=O)-O).

3.7 Désymétrisation du N-Boc diacétate (**23**) : synthèse du *endo* 7-(*tert*-butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (**21**)

Le diacétate **23** (60.0 mg, 0.20 mmol) est dissous dans 1 ml de tampon phosphate pH 7.7. La réaction est amorcée par l'ajout de 21 mg de la lipase de *Geotricum candidum*. Le mélange est agité à température de la pièce et la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (12 jours). Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 5.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant de l'acétate d'éthyle (100) pour obtenir le monoacétate **21** (8 mg, 15 %).



21

Formule brute : $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_5$

Masse molaire : $299.37 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore
R_f : 0.64 acétate d'éthyle (100)
[α]_D²⁰ : +4.35° (c = 0.4 ; CHCl₃)

RMN ¹H (CDCl₃) : voir 3.8

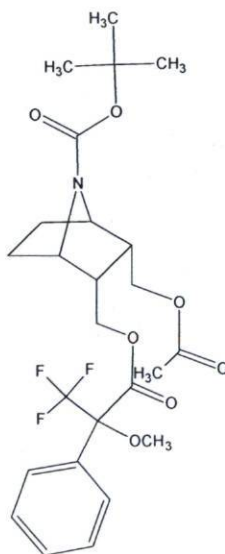
RMN ¹³C (CDCl₃) : voir 3.8

IR (NaCl) : voir 3.8

Ester de Mosher **22**

a) Procédure expérimentale

(voir 3.5 pour mode opératoire)



22

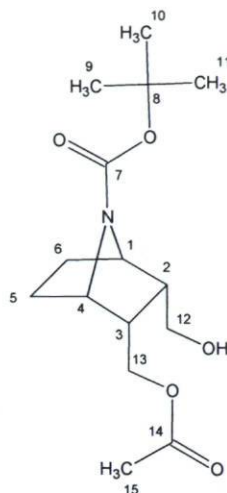
b) Résultats de l'analyse RMN ^{19}F

Déplacements chimiques (δ), intensité des pics (I) et excès énantiomères mesurés (ee) pour l'analyse RMN ^{19}F de l'ester de Mosher ((*R,S*)-**22**) du mélange racémique de même que pour l'ester de Mosher (**22**) du produit d'hydrolyse enzymatique.

Espèces	(δ) (ppm)	(I)	(δ) (ppm)	(I)	ee (%)
<i>R,S</i> - 22	-71.824	1004.5	-71.925	1043.0	0
22	-71.825	189.0	-71.921	126.3	39

3.8 Préparation du N-Boc monoacétate racémique (**21**) : synthèse de l'*endo tert*-butyl 2-(acétoxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (**21**)

Le diol **20** (100.0 mg, 0.39 mmol) est dissous dans 2.0 ml de pyridine. On ajoute au mélange 1 équivalent d'anhydride acétique (40.0 μl , 0.39 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Par la suite, la solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant de l'acétate d'éthyle (100) pour obtenir 98 mg du monoacétate racémique **21** (84 %).

**21**

Formule brute : $C_{15}H_{25}NO_5$

Masse molaire : $299.37 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.64 acétate d'éthyle (100)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 300.1811 (MH^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 300.1816 (MH^+)$

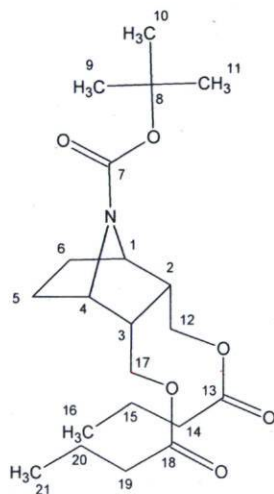
RMN 1H ($CDCl_3$): 4.19 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.71 (m, 2H, 13), 3.59 (m, 2H, 12), 2.48 (s_{large}, 2H, 2-3), 2.05 (s, 3H, 15), 1.87 (s_{large}, 1H, OH), 1.65 (s_{large}, 4H, 5-6), 1.45 (s, 9H, 9-10-11).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 171.1 (14), 155.6 (7), 80.1 (8), 62.0 (1-4), 60.0 (13), 59.3 (12), 43.7 (2), 40.0 (3), 28.5 (9-10-11), 23.2 (5-6), 21.2 (15).

IR (NaCl) : 3420.8 (élongation O-H), 1690.2 (élongation C=O), 1368.5 (déformation O-H), 1166.3 (élongation acétate $CC(=O)-O$), 911.4 (élongation C-O).

3.9 Préparation du N-Boc dibutyrate (**24**) : synthèse de l'*endo* (7-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) dibutyrate (**24**)

Le diol **20** (300 mg, 1.67 mmol) est dissous dans 15.0 ml de dichlorométhane anhydre. On ajoute au mélange 1.1 équivalent de triéthylamine (0.18 ml, 1.28 mmol). La solution est agitée et refroidie à l'aide d'un bain de glace. Par la suite, 1 équivalent de chlorure de butanoyle (0.12 ml, 1.17 mmol) est additionné lentement au mélange réactionnel. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince jusqu'à disparition de l'alcool de départ. La réaction est arrêtée et la phase organique est lavée à l'eau (3 x 15 ml) puis avec NaCl_(aq) saturée (1 x 15 ml) avant d'être séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:2 pour générer 564 mg de l'ester **24** (1.42 mmol, 85 %).

**24**

Formule brute : C₂₁H₃₅NO₆

Masse molaire : 397.57 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.83 acétate d'éthyle : hexanes (2:3)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 397.2464 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 397.2461 (MH⁺)

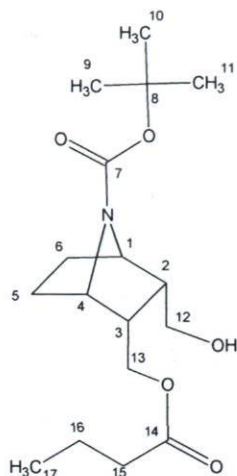
RMN ^1H (CDCl_3) : 4.16 (s_{large} , 2H, 1-4), 4.11 (m, 2H, 12), 3.93 (m, 2H, 17), 2.54 (s_{large} , 2H, 2-3), 2.27 (m, 4H, 14-19), 2.02 (s_{large} , 4H, 5-6), 1.64 (m, 4H, 15-20), 1.43 (s, 9H, 9-10-11), 0.93 (t, 6H, 7.2 Hz, 16-21).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 173.7 (13-18), 155.4 (7), 80.2 (8), 66.0 (12), 64.2 (17), 59.2 (1-4), 40.1 (2-3), 36.3 (14-19), 28.5 (9-10-11), 23.2 (5-6), 18.6 (15-20), 13.9 (16-21).

IR (NaCl) : 1742.2 (élongation C=O), 1371.4 (élongation C-O), 1170.6 (élongation acétate CC (=O)-O).

3.10 Désymétrisation enzymatique du N-Boc dibutyrate (24) : synthèse du *endo* 7-(*tert*-butyloxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-butoxyméthyl (25)

Le dibutyrate **24** (100.0 mg, 0.25 mmol) est dissous dans 2 ml de tampon phosphate pH 7.7. La réaction est amorcée par l'ajout de 20 mg de la lipase B de *Candida antarctica*. Le mélange est agité à température de la pièce et la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (13 jours). Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 5.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle (3:2) pour obtenir le monobutyrate **25** (29 mg, 35 %).

**25**

Formule brute : $C_{17}H_{29}NO_5$

Masse molaire : $327.47 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.51 acétate d'éthyle : hexanes (2:3)

$[\alpha]_D^{20}$: 0.01° ($c = 0.6$; $CHCl_3$)

RMN 1H ($CDCl_3$) : voir 3.11

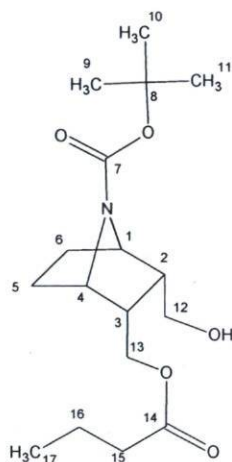
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : voir 3.11

IR (NaCl) : voir 3.11

3.11 Préparation du N-Boc monobutyrat racémique (25) : synthèse de l'*endo tert*-butyl 2-(butyryloxyméthyl)-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylate (25)

Le diol **20** (100 mg, 0.39 mmol) est dissous dans 10.0 ml de dichlorométhane anhydre. On ajoute au mélange 1.1 équivalent de triéthylamine (0.18 ml, 1.28 mmol). La solution est agitée et refroidie à l'aide d'un bain de glace. Par la suite, 1 équivalent de chlorure de butanoyle (0.12 ml, 1.17 mmol) est additionné lentement au mélange réactionnel. La

réaction est suivie par chromatographie sur couche mince jusqu'à disparition de l'alcool de départ. La réaction est arrêtée et la phase organique est lavée à l'eau (3 x 10 ml) puis avec NaCl_(aq) saturée (1 x 10 ml) avant d'être séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 3:2 pour générer 88 mg du monobutyrate racémique **25** (0.27 mmol, 69 %).

**25**

Formule brute : C₁₇H₂₉NO₅

Masse molaire : 327.47 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.51 acétate d'éthyle : hexanes (2:3)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 327.2046 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 327.2051 (MH⁺)

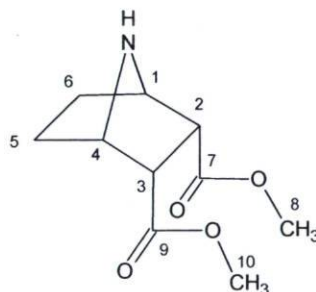
RMN ¹H (CDCl₃) : 4.19 (s_{large}, 2H, 1-4), 4.09 (m, 2H, 13), 3.73 (m, 2H, 12), 2.49 (s_{large}, 2H, 2-3), 2.28 (m, 2H, 15), 2.04 (s_{large}, 4H, 5-6), 1.65 (m, 2H, 16), 1.46 (s, 9H, 9-10-11), 0.94 (t, 3H, 7.4 Hz, 17).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 173.7 (14), 155.6 (7), 80.1 (8), 66.4 (13), 61.7 (12), 59.3 (1-4), 43.7 (2-3), 36.4 (15), 28.5 (9-10-11), 23.2 (5-6), 18.7 (16), 13.9 (17).

IR (NaCl) : 3420.8 (élongation O-H), 1686.3 (élongation C=O), 1258.4 (déformation O-H), 1167.8 (élongation acétate CC (=O)-O), 907.9 (élongation C-O).

3.12 Préparation du N-H diester (26) : synthèse du *endo*-diméthyl 7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2,3-dicarboxylate (26)

Le diester **17** (187 mg, 0.60 mmol) est dissous dans 10.0 ml de dichlorométhane. On ajoute au mélange l'acide trifluoroacétique (0.50 ml, 6.12 mmol). La solution est agitée à température de la pièce et sous courant d'azote. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince pendant 4 heures. Par la suite, 10 ml de NaHCO_{3(aq)} saturée sont ajoutés au mélange réactionnel. Ce dernier est extrait avec du dichlorométhane (3 x 10 ml) avant d'être séché sur sulfate de magnésium, filtré puis concentré sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 pour générer 97 mg de diester **26** (0.46 mmol, 76 %).¹²⁰



26

Formule brute : C₁₀H₁₅NO₄

Masse molaire : 213.24 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.60 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 214.1079 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 214.1073 (MH⁺)

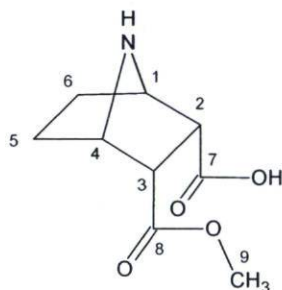
RMN ¹H (CDCl₃): 7.62 (d, 1H, 3.3 Hz, NH), 4.22 (s, 6H, 8-10), 3.91 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.62 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.32 (m, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 168.0 (7-9), 68.3 (1-4), 38.9 (2-3), 29.1 (8-10), 24.0 (5-6).

IR (NaCl) : 2960.0 (N-H amine), 1727.0 (élongation C=O), 909.6 (élongation C-O).

3.13 Désymétrisation enzymatique du N-H diester (26) : synthèse de l'acide *endo* 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (27)

Le diester **26** (20.0 mg, 0.09 mmol) est dissous dans 2 ml de tampon phosphate pH 7.5. La réaction est amorcée par l'ajout de 15 mg de la lipase B de *Candida antarctica*. Le mélange est agité à température de la pièce et la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince pendant 1.5 heures. Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 10.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 pour obtenir 6.8 mg de monoacide **27** (0.034 mmol, 37 %).



27

Formule brute : $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_4$

Masse molaire : $199.19 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.37 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

$[\alpha]_D^{20}$: $+0.08^\circ$ ($c = 0.01$; CHCl_3)

RMN ^1H (CDCl_3) : voir 3.14.1

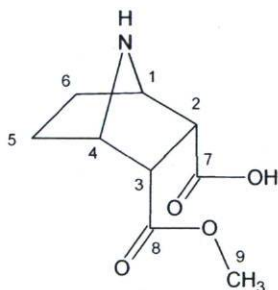
RMN ^{13}C (CDCl_3) : voir 3.14.1

IR (NaCl) : voir 3.14.1

3.14 Préparation du N-H monoacide racémique (27) et du N-H diacide (28)

3.14.1 Synthèse de l'acide *endo* 3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (27)

Le diester **26** (35 mg, 0.16 mmol) est solubilisé dans 4.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 :1. On ajoute au mélange 1 équivalent d'hydroxyde de lithium (10 mg, 0.20 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 10.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 10.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à pH 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 (17 mg, 60 %).¹¹⁷



27

Formule brute : $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_4$

Masse molaire : $199.19 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.44 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 200.2321$ (MH⁺)
 $m/z_{\text{expérimental}} = 200.2357$ (MH⁺)

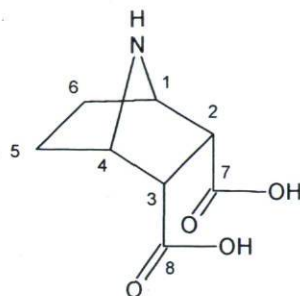
RMN ¹H (CDCl₃): 7.60 (d, 1H, 4.3 Hz, NH), 7.45 (s_{large}, 1H, OH), 4.57 (s, 3H, 9), 4.28 (m, 2H, 1-4), 1.26 (m, 2H, 2-3), 0.93 (m, 4H, 5-6).

RMN ¹³C (CDCl₃) : 177.3 (7), 167.5 (8), 68.3 (1-4), 48.9 (2-3), 29.9 (9), 24.0 (5-6).

IR (NaCl) : 2926.1 (N-H amine), 1793.0 (élongation C=O), 1381.9 (élongation CC (=O)-O), 908.3 (élongation C-O).

3.14.2 Synthèse de l'acide *endo* 7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (28)

Le diester **26** (35 mg, 0.16 mmol) est solubilisé dans 4.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 :1. On ajoute au mélange 2 équivalents d'hydroxyde de lithium (20 mg, 0.32 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 10.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 10.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à pH 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et de d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 (19 mg, 63 %).¹¹⁷



28

Formule brute : $C_8H_{11}NO_4$

Masse molaire : $185.20 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.15 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 186.3312 (MH^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 186.3334 (MH^+)$

RMN 1H ($CDCl_3$) : 7.87 (d, 1H, 4.9 Hz, NH), 7.61 (S_{large} , 2H, OH), 4.28 (m, 2H, 1-4), 1.26 (m, 2H, 2-3), 0.93 (m, 4H, 5-6).

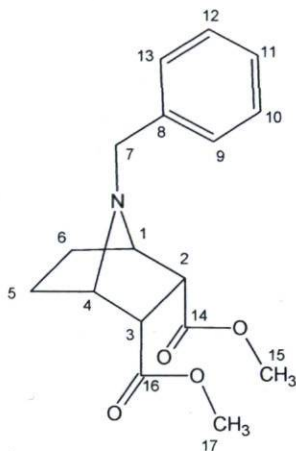
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 177.2 (7-8), 68.3 (1-4), 48.9 (2-3), 23.9 (5-6).

IR (NaCl) : 2926.1 (N-H amine), 1793.0 (élongation C=O), 1381.9 (élongation CC (=O)-O), 908.3 (élongation C-O).

3.15 Préparation du N-Bn diester (29) : synthèse du *endo* diméthyl 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylate (29)

Le diester **26** (1.5 g, 7.03 mmol) est dissous dans 100 ml d'acétonitrile anhydre sous un courant d'azote. Par la suite, le bromure de benzyle (1.25 ml, 10.17 mmol) et la diisopropyléthylamine (DIEA) (3.0 ml, 17.05 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel. La solution est agitée et chauffée à 50°C pour une période de 24 heures. Après cette période de réaction, le mélange est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif et le

résidu ainsi obtenu est solubilisé dans 50 ml de dichlorométhane. Le mélange est lavé avec $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$ saturée (2 x 50 ml) puis avec $\text{NaCl}(\text{aq})$ saturée (1 x 50 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et de d'acétate d'éthyle dans une proportion de 4:1 (600 mg, 40 %).^{121, 122}



29

Formule brute : $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$

Masse molaire : $303.39 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.60 acétate d'éthyle : hexanes (1:4)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 304.3202 (\text{MH}^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 304.3216 (\text{MH}^+)$

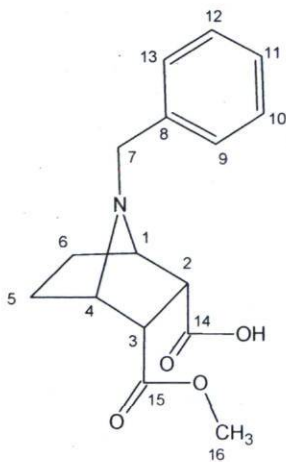
RMN ^1H (CDCl_3): 7.41 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 4.65 (s, 2H, 7), 4.55 (s, 6H, 15-17), 4.35 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.17 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.39 (s_{large}, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3): 168.2 (14-16), 138.1 (8), 129.4 (9-13), 129.1 (10-12), 128.8 (11), 64.9 (1-4), 46.6 (7), 34.0 (15-17), 30.1 (2-3), 23.1 (5-6).

IR (NaCl) : 3030.9 (élongation C-H aromatique), 1724.4 (élongation C=O), 1454.2 (élongation CC (=O)-O), 915.2 (élongation C-O), 757.6 (déformation angulaire =C-H), 694.9 (déformation angulaire C=C du cycle).

3.16 Désymétrisation enzymatique du N-Bn diester (29) : synthèse de l'acide *endo*-méthyl 7-(benzyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-3-carboxylate-2-carboxylique (30)

Le diester **29** (40.0 mg, 0.13 mmol) est dissous dans 2 ml de tampon phosphate pH 7.5. La réaction est amorcée par l'ajout de 15 mg d'estérase de foie de porc (PLE). Le mélange est agité à température de la pièce et la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (20 heures). Par la suite, la solution est filtrée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane (3 x 10.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1. Le produit obtenu est le diacide **31**. La réaction est donc trop rapide avec cette enzyme et ne donne pas le produit intermédiaire désiré, soit le monoacide **30**.

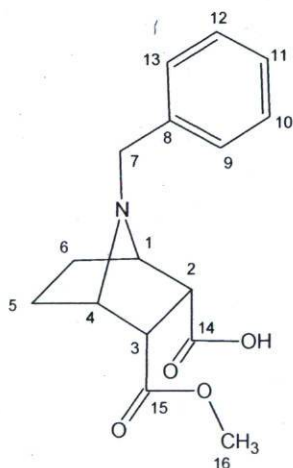


30

3.17 Préparation du N-Bn monoacide racémique (30) et du N-Bn diacide (31)

3.17.1 Synthèse de l'acide *endo* 7-benzyl-3-(méthoxycarbonyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylique (30)

Le diester **29** (200 mg, 0.66 mmol) est solubilisé dans 12.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 :1. On ajoute au mélange 1 équivalent d'hydroxyde de lithium (30 mg, 0.60 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 15.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 15.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 (111 mg, 58 %).¹¹⁷



30

Formule brute : $C_{16}H_{19}NO_4$

Masse molaire : $289.36 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

Rf : 0.53 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

Masse exacte (IC : NH₃) : $m/z_{\text{calculé}} = 290.2321$ (MH⁺)

$m/z_{\text{expérimental}} = 290.2357$ (MH⁺)

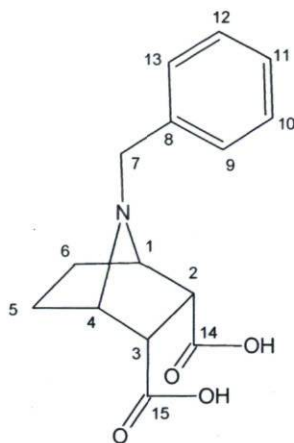
RMN ¹H (CDCl₃): 9.65 (s_{large}, 1H, OH), 7.31 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 3.86 (s, 2H, 7), 3.74 (s, 3H, 16), 3.57 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.27 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.61 (s_{large}, 4H, 5-6).

RMN ¹³C (CDCl₃): 176.0 (14), 169.9 (15), 136.7 (8), 128.1 (9-13), 126.9 (10-12), 126.5 (11), 62.2 (1-4), 57.3 (7), 50.3 (16), 46.4 (2-3), 26.5 (5-6).

IR (NaCl): 3030.9 (élongation C-H aromatique), 1724.4 (élongation C=O), 1454.2 (élongation CC (=O)-O), 915.2 (élongation C-O), 757.6 (déformation angulaire =C-H), 694.9 (déformation angulaire C=C du cycle).

3.17.2 Synthèse de l'acide *endo* 7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylique (31)

Le diester **29** (200 mg, 0.66 mmol) est solubilisé dans 12.0 ml d'un mélange méthanol : eau dans une proportion de 3 :1. On ajoute au mélange 2 équivalents d'hydroxyde de lithium (60 mg, 1.20 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince. La solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dilué dans 15.0 ml d'eau pour être lavé avec du dichlorométhane (2 x 15.0 ml). La phase aqueuse est recueillie et refroidie à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, le pH de la phase aqueuse est ramené à pH 2 par l'ajout de HCl 6N. Le mélange est extrait avec de l'acétate de vinyle (3 x 20.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 (127 mg, 70 %).¹¹⁷

**31**

Formule brute : $C_{15}H_{17}NO_4$

Masse molaire : $275.34 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.16 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

Masse exacte (IC : NH_3) : $m/z_{\text{calculé}} = 276.2429 (MH^+)$

$m/z_{\text{expérimental}} = 276.2472 (MH^+)$

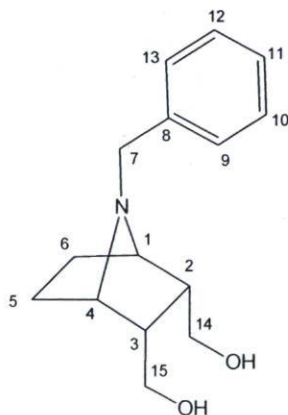
RMN 1H ($CDCl_3$): 10.94 (s_{large}, 2H, OH), 7.31 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 3.80 (s, 2H, 7), 3.63 (s_{large}, 2H, 1-4), 3.30 (s_{large}, 2H, 2-3), 1.60 (s_{large}, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): 174.7 (14-15), 136.9 (8), 128.1 (9-13), 127.8 (10-12), 126.8 (11), 61.7 (1-4), 57.0 (7), 45.9 (2-3), 26.3 (5-6).

IR (NaCl): 3030.9 (élongation C-H aromatique), 1724.4 (élongation C=O), 1454.2 (élongation CC (=O)-O), 915.2 (élongation C-O), 757.6 (déformation angulaire =C-H), 694.9 (déformation angulaire C=C du cycle).

3.18 Préparation du N-Bn diol (32) : synthèse du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)diméthanol (32)

L'hydrure de lithium et d'aluminium (400.0 mg, 12 mmol) est mis en solution dans 25.0 ml de tétrahydrofurane. Cette suspension est mise sous agitation magnétique et courant d'azote avant d'être ramenée à 0°C à l'aide d'un bain d'eau glacée. Par la suite, une solution du diester **29** (2.663 g, 8.87 mmol) dans du tétrahydrofurane (25.0 ml) est additionnée lentement à la suspension du réducteur. De l'eau (30.0 ml) est ajouté au mélange réactionnel avant de chauffer ce dernier à reflux pendant 2 heures. Une fois le mélange revenu à la température ambiante, ce dernier est refroidi à l'aide d'un bain de glace. Par la suite, 30.0 ml de NH₄Cl_(aq) saturé sont ajoutés lentement. Le mélange est filtré sous vide et lavé avec de l'eau. Le filtrat ainsi récupéré est extrait avec du dichlorométhane (3 x 30.0 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous pression réduite pour générer le composé **32**. Le produit est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 (989 mg, 45 %).^{123, 124, 125}



32

Formule brute : C₁₅H₂₁NO₂

Masse molaire : 247.33 g mol⁻¹

Aspect : huile incolore

R_f : 0.46 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

Masse exacte (IC : NH₃) : m/z_{calculé} = 248.2951 (MH⁺)

m/z_{expérimental} = 248.2764 (MH⁺)

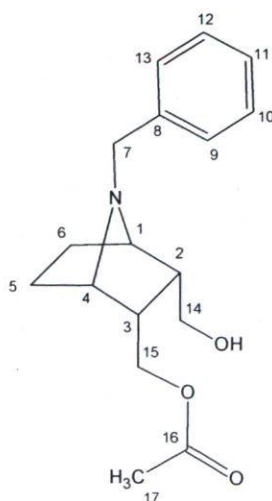
RMN ^1H (CDCl_3): 7.28 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 4.62 (s, 2H, 7), 3.45 (m, 4H, 14-15), 3.32 (s_{large} , 2H, OH), 1.34 (m, 2H, 1-4), 1.26 (m, 2H, 2-3), 0.88 (m, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3): 139.7 (8), 129.7 (9-13), 128.5 (10-12), 127.9 (11), 65.2 (14-15), 63.9 (7), 42.1 (1-4), 29.3 (2-3), 23.5 (5-6).

IR (NaCl): 3341.7 (élongation O-H), 2928.5 (élongation C-H aromatique), 1463.8 (déformation O-H), 1036.9 (élongation C-O), 884.8 (déformation angulaire =C-H), 665.8 (déformation angulaire C=C du cycle).

3.19 Désymétrisation enzymatique du N-Bn diol (**32**) : synthèse du *endo* 7-(benzyl)-7-azabicyclo[2.2.1]hepta-2-hydroxyméthyl-3-acétoxyméthyl (**33**)

Le diol **32** (15 mg, 0.06 mmol) est dissous dans 1 ml d'acétate de vinyle, puis la lipase B de *Candida antarctica* (5.0 mg) est ajoutée. La réaction est agitée et suivie par chromatographie sur couche mince (4 heures). Par la suite, la solution est filtrée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour obtenir le monoacétate **33** (5.6 mg, 32 %).



33

Formule brute : $C_{17}H_{23}NO_3$
Masse molaire : $290.37 \text{ g mol}^{-1}$
Aspect : huile incolore
R_f : 0.43 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)
 $[\alpha]_D^{20}$: -0.13° ($c = 0.03$; $CHCl_3$)

RMN 1H ($CDCl_3$) : voir 3.20.1

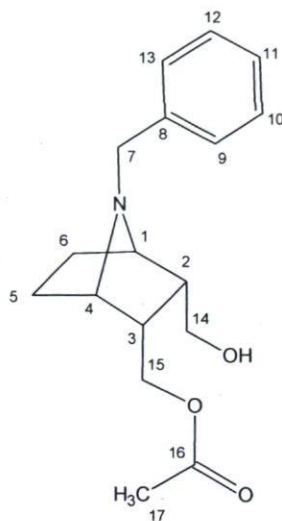
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : voir 3.20.1

IR (NaCl) : voir 3.20.1

3.20 Préparation du N-Bn monoacétate racémique (33) et du N-Bn diacétate (34)

3.20.1 Synthèse du *endo* (7-benzyl-3-(hydroxyméthyl)-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)méthyl acétate (33)

Le diol **32** (25.0 mg, 0.10 mmol) est dissous dans 1.0 ml de pyridine. On ajoute au mélange 1 équivalent d'anhydride acétique (10.0 μ l, 0.10 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Par la suite, la solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour obtenir le monoacétate racémique **33** (21.0 mg, 72 %).

**33**

Formule brute : $C_{17}H_{23}NO_3$

Masse molaire : $290.37 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.42 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

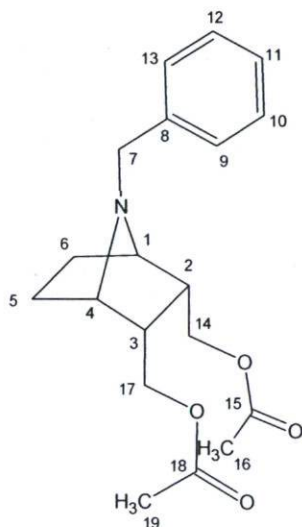
RMN ^1H (CDCl_3) : 7.33 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 4.20 (s_{large}, 2H, 15), 3.90 (s_{large}, 2H, 14), 3.61 (s, 2H, 7), 3.27 (m, 2H, 1-4), 2.33 (s_{large}, 1H, OH), 2.08 (s, 3H, 17), 1.65 (m, 2H, 2-3), 1.18 (m, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 170.9 (16), 135.2 (8), 128.1 (9-13), 126.9 (10-12), 125.6 (11), 64.5 (1-4), 62.9 (15), 61.5 (14), 56.9 (7), 40.5 (2-3), 25.9 (5-6), 20.9 (17).

IR (NaCl) : 3341.7 (élongation O-H), 2928.5 (élongation C-H aromatique), 1724.4 (élongation C=O), 1463.8 (déformation O-H), 1454.2 (élongation CC (=O)-O), 1036.9 (élongation C-O), 884.8 (déformation angulaire =C-H), 665.8 (déformation angulaire C=C du cycle).

3.20.2 Synthèse du *endo* (7-benzyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-diyl)bis(méthylène) (34)

Le diol **32** (25.0 mg, 0.10 mmol) est dissous dans 1.0 ml de pyridine. On ajoute au mélange 5 équivalents d'anhydride acétique (48.0 μ l, 0.50 mmol). La solution est agitée à la température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (5 heures). Par la suite, la solution est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie éclair sur gel de silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle dans une proportion de 9:1 pour obtenir le diacétate **34** (28.0 mg, 84 %).



34

Formule brute : $C_{19}H_{25}NO_4$

Masse molaire : $331.45 \text{ g mol}^{-1}$

Aspect : huile incolore

R_f : 0.18 acétate d'éthyle : hexanes (1:9)

RMN ^1H (CDCl_3): 7.33 (m, 5H, 9-10-11-12-13), 4.20 (m, 4H, 14-17), 3.62 (s, 2H, 7), 3.28 (s_{large}, 2H, 1-4), 2.21 (s_{large}, 2H, 2-3), 2.07 (s, 6H, 16-19), 1.62 (m, 4H, 5-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3): 170.9 (15-18), 135.2 (8), 128.1 (9-13), 126.9 (10-12), 125.6 (11), 63.8 (1-4), 62.9 (14-17), 56.6 (7), 39.9 (2-3), 25.9 (5-6), 20.9 (16-19).

IR (NaCl) : 2928.5 (élongation C-H aromatique), 1724.4 (élongation C=O), 1454.2 (élongation CC (=O)-O), 1036.9 (élongation C-O), 884.8 (déformation angulaire =C-H), 665.8 (déformation angulaire C=C du cycle).

BIBLIOGRAPHIE

1. a) H. Waldman, K. Drauz (Eds), *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: a Comprehensive Handbook*, Weinheim, New York, **2002**.
b) B. C. Saha, D. C. Demirjian (Eds), *Applied Biocatalysis in Speciality Chemicals and Pharmaceuticals*, American Chemical Society, Washington DC, **2001**.
c) U. T. Bornscheuer, R. J. Kazlauskas, *Hydrolases in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2nd edition, **2006**.
d) A. M. Koskinen, A. M. Klibanov, *Enzymatic Reactions in Organic Media*, Blackie, Londres, **1996**.
e) K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, **2004**.
2. a) *Biotransformation Abstracts*, Warwick Biotransformation Club, Chapman and Hall, London.
b) *Biocatalysis Database*, B. Jones, B. Holland, Synopsis Scientific Systems, Leeds, U.K.
3. B. Augère, *Les enzymes, biocatalyseurs protéiques*, Ellipses, **2001**.
4. C. Frauendorf, A. Jäschke, F. Hausch, *Synlett*, **1999**, 825-833.
5. B. List, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5573-5590.

6. A. A. Volkov, F. H. Arnold, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, *3*, 54-59.
7. K. D. Janda, P. Wentworth, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1998**, *2*, 138-144.
8. H. L. Holland, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1998**, *2*, 77-84.
9. R. Tomi, H. Hamada, Y. Asada, T. Furuya, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 4087-4089.
10. A. M. Klivanov, T. Ke, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 3334-3340.
11. Y. Okahata, T. Mori, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1998**, 2215-2216.
12. J. B. Chaudhuri, G. A. Sellek, *Enzyme Microb. Technol.*, **1999**, *5* 471-482.
13. T. Kishimoto, T. Sakai, T. Ema, M. Utaka, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 7881-7884.
14. a) *Enzyme Nomenclature*, Elsevier, Amsterdam, **1973**.
b) *Enzyme Nomenclature*, IUB-Academic Press, **1979**.
c) T. E. Barman, *Enzyme Handbook*, Vol. 1,2, Springer-Verlag, **1985**.
15. U. Hanefeld, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 2405-2415.
16. D. Erne-Zellweger, V. Burger, C. M. Mayerl, *Helv. Chim. Acta.*, **1987**, *70*, 587-592.
17. J. M. Sanchez-Montero, I. Borreguero, J. V. Sinisterra, A. Rumbero, J. A. Hermoso, A. R. Alcantara, *J. Mol. Catal. B : Enzym.*, **2001**, *11*, 1013-1024.

18. R. Chênevert, D. Goupil, Y. S. Rose, E. Bédard, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1998**, *9*, 4285-4288.
19. R. Chênevert, Y. S. Rose, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 1707-1709.
20. S. C. Stinson, *Chem. Eng. News*, **1999**, *77* (29), 65-80.
21. Y. Mi, E. J. Corey, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 2515-2516.
22. S. Hanessian, *Total Synthesis of Naturel Products: The Chiron Approach*, Pergamon Press, Oxford, **1986**.
23. M. Shimazaki, J. Hasegawa, K. Kan, K. Nomura, Y. Nose, H. Kondo, T. Ohashi, K. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, *30*, 3139-3146.
24. A. Ghanem, H. Y. Aboul-Enein, *Chirality*, **2005**, *17*, 1-15.
25. A. Ghanem, V. Schurig, *Tetrahedron : Asymmetry*, **2003**, *14*, 57-62.
26. H. Pellissier, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 8291-8327.
27. K. Faber, H. Stecher, *Synthesis*, **1997**, *1*, 1-16.
28. V. Felfer, V. T. Strauss, K. Faber, *Tetrahedron : Asymmetry*, **1999**, *10*, 107-117.
29. K. Faber, B. Schnell, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.*, **2003**, *345*, 653-666.
30. M. Van den Heuvel, A. D. Cuiper, H. van der Deen, R. M. Kellogg, B. L. Feringa, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 1655-1658.

31. D. A. Evans, J. Bartoli, T. L. Shih, T. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127-2129.
32. B. D. Vineyard, W. S. Knowles, M. J. Sabacky, G. L. Bachman, D. J. Weinkauff, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 5946-5952.
33. R. Noyori, *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley, New York, **1994**.
34. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 5765-5780.
35. A. J. DelMonte, J. Haller, K. N. Houk, K. B. Sharpless, D. A. Singleton, T. Strassner, A. A. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9907-9908.
36. A. J. Carnell, *J. Mol. Catal. B : Enzym.*, **2002**, *19-20*, 83-92.
37. R. Chênevert, M.-P. Morin, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 3178-3180.
38. E. Schoffers, A. Golebiowski, C. R. Johnson, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 3769-3826.
39. S. C. Fields, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 12237-12273.
40. T. Kuzuyama, H. Seto, *Nat. Prod. Rep.*, **1999**, *16*, 589-596.
41. H. Kählig, F. Hammerschmidt, *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 2364-2370.
42. S. Freeman, H. M. Seidel, C. H. Schwalbe, J. R. Knowles, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 8149-8155.
43. E. Roberts, J. S. Kittredge, *Science*, **1969**, *164*, 37-42.
44. M. Ogawa, M. Tamari, M. Kametaka, *J. Biochem.*, **1976**, *80*, 371-377.
45. F. Eymery, B. Iorga, P. Savignac, *Synthesis*, **1999**, *2*, 207-224.

46. T. Sasaki, S. Inouye, N. Otake, *J. Antibiotics*, **1982**, *35*, 1719-1721.
47. M. M. Takeuchi, T. Nakajima, T. Ogita, M. Inukai, K. Kodama, K. Furuya, H. Nagaki, T. Haneishi, *J. Antibiotics*, **1989**, 198-203.
48. T. Kimura, E. Takahashi, K. Nakamura, M. Arahira, M. Iida, *J. Antibiotics*, **1995**, *48*, 1124-1129.
49. K. Nakamura, T. Kimura, E. Takahashi, *J. Antibiotics*, **1995**, *48*, 1130-1133.
50. B. M. Lange, R. E. B. Ketchum, R. B. Croteau, *Plant Physiol.*, **2001**, *127*, 305-314.
51. T. Kimura, K. Nakamura, H. Kanno, E. Takahashi, *J. Antibiotics*, **1995**, *48*, 1134-1137.
52. K. Nakamura, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 437-438.
53. T. Kimura, K. Nakamura, E. Takahashi, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **1999**, *144-146*, 613-616.
54. R. M. Hanson, Y. Gao, J. M. Klunder, S. Y. Ko, H. Masamune, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 5765-5780.
55. K. B. Sharpless, R. A. Johnson, *Comprehensive Organic Synthesis, vol. 7: Asymmetric Methods of Epoxidation*, Pergamon, New York (1991).
56. J. L. Fernandez-Simon, J. Barluenga, J. M. Concellon, M. Yus, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1989**, 77-80.
57. S. C. Fields, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 6621-6624.
58. R. Chênevert, M. Simard, J. Bergeron, M. Dasser, *Tetrahedron : Asymmetry*, **2004**, *15*, 1889-1892.
59. J. Bergeron, *Mémoire de maîtrise : Synthèse de composés chiraux pour l'industrie chimique ou pharmaceutique*, Université Laval, 2005.

60. A. Holy, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1989**, *54*, 248-265.
61. M. M. Zhao, J. Li, E. Mano, Z. J. Song, D. M. Tschaen, *Org. Synth.*, **2005**, *81*, 195-203.
62. K. H. Worms, M. Scjmidt-Dunker, *Organic Phosphorous Compounds*; G. M. Kosolapoff and L. Ed. Mayer, Wiley: New York, **1976**, *7*, 27-28.
63. G. T. Anderson, M. D. Alexander, S. D. Taylor, D. B. Smithrud, S. J. Benkovic, S. M. Weinreb, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 125-132.
64. S. Kralikova, M. Budesinky, M. Masojdkova, I. Rosenberg, *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 4917-4932.
65. A. O. Kolodiazhna, V. P. Kukhar, A. N. Chernega, O. I. Kolodiazhnyi, *Tetrahedron : Asymmetry*, **2004**, *15*, 1961-1963.
66. B. Saito, T. Katsuki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 4600-4602.
67. D. V. Patel, K. Rielly-Gauvin, D. E. Ryono, C. A. Free, W. L. Rogers, S. A. Smith, J. M. DeForrest, R. S. Oehl, E. W. Petrillo, *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 4557-4569.
68. P. S. Bailey, *Ozonization in Organic Chemistry*, Vol. 1, Academic Press, New York, 1978.
69. R. L. Kuczkowski, *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, A. Padwa (ed), Wiley-Interscience, New York, Vol. 2, chapitre 11, 1984.
70. P. S. Nangia, S. W. Benson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 3105-3115.
71. M. Dasser, *Thèse de doctorat : Utilisation d'aldolases en synthèse de produits naturels*, Université Laval, 1997.
72. E. Elhalem, M. J. Comin, J. Leitofuter, G. García-Liñares, J. B. Rodriguez, *Tetrahedron : Asymmetry*, **2005**, *16*, 425-431.

73. D. H. G. Crout, S. M. Morrey, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1983, 2435-2440.
74. J. H. Hutchinson, T. Money, *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 1819-1822.
75. D. E. Rudisill, J. P. Whitten, *Synthesis*, **1994**, 851-854.
76. O. I. Kolodiaznyi, *Tetrahedron :Asymmetry*, **2005**, *16*, 3295-3340.
77. D. H. R. Barton, S. W. McCombie, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1975**, 1574-1585.
78. D. Crich, L. Quintero, *Chem. Rev.*, **1989**, *89*, 1413-1432.
79. S. E. Bode, M. Wolberg, M. Müller, *Synthesis*, **2006**, *4*, 557-588.
80. O. P. Törmäkangas, R. J. Toivola, E. K. Karvinen, A. M. P. Koskinen, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 2175-2181.
81. T. Matsumoto, T. Konegawa, H. Yamaguchi, T. Nakamura, T. Sugai, K. Suzuki, *Synlett*, **2001**, *10*, 1650-1652.
82. K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, S. Kim, H. X. Wei, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 4724-4725.
83. M. Iwamoto, H. Kawada, T. Tanaka, M. Nakada, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 7239-7243.
84. H. Watanabe, M. Iwamoto, M. Nakada, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 4652-4658.
85. J. Zhang, W. Duan, J. Cai, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 1665-1669.
86. K. Mori, H. Mori, *Org. Synth.*, **1989**, *68*, 56-63.
87. A.-B. L. Fransson, Y. Xu, K. Leijondahl, J.-E. Bäckvall, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 6309-6316.

88. B. M. Jacobson, P. Soteropoulos, S. Bahadori, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 3247-3255.
89. J. Hoffmann, H. Holst, W. Volz, J. Voss, *J. Chem. Research (S)*, **1989**, 40-41.
90. M. Iwamoto, H. Kawada, T. Tanaka, M. Nakada, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 7239-7243.
91. T. Hirata, S. Izumi, M. Aoki, S. Gotoh, R. Utsumi, *Chirality*, **1997**, *9*, 250-253.
92. A. Laverde, G. J. A. da Conceição, S. C. N. Querioz, F. Y. Fujiwara, A. J. Marsaioli, *Magn. Reson. Chem.*, **2002**, *40*, 433-442.
93. R. Chênevert, C. Lévesque, P. Morin, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 9501-9503.
94. Y. Y. Yeung, R. J. Chein, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 10346-10347.
95. T.F. Spande, H.M. Garaffo, M.W. Edwards, H.J.C. Yeh, L. Panel, J.W. Daly, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 3475-3478.
96. B. Badio, T.F. Spande, J.W. Daly, *Med. Chem. Res.*, **1994**, *4*, 440-448.
97. H. F. Olivo, M. S. Hemenway, *Org. Prep. Proced. Int.*, **2002**, *34*(1), 1-26.
98. F. I. Carroll, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 1889-1896.
99. J. W. Daly, B. Badio, H. M. Garraffo, C. V. Plummer, W. L. Padgett, *Eur. J. Pharm.*, **1997**, *321*, 189-194.
100. R. Xu, G. Chu, X. Zhu, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 4600-4606.
101. A.W. Bannon, M. W. Decker, M. W. Holladay, P. Curson, *Science*, **1998**, *279*, 77-80.
102. A. Hernandez, M. Marcos, H. Rapoport, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 2683-2691.

103. E. J. Corey, T-P. Loh, S. AchyuthaRao, D. C. Daley, S. Sarshar, *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 5600-5602.
104. A. J. Moreno-Vargas, P. Vogel, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 5069-5073.
105. Patent: US6117889.
106. Z. Chen, M. L. Trudell, *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 1179-1193.
107. O. Diels, K. Alder, *Liebigs Ann. Chem.*, **1932**, *498*, 16-49.
108. R. A. Jones, *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, vol. 48 *Pyroles*, Wiley & Sons: New York. 1990.
109. G. P. Donnini, G. Just, *J. Heterocycl. Chem.*, **1977**, *14*, 1423-1425.
110. H. Kotsuki, Y. Mori, H. Nishizawa, O. Masamitsu, K. Matsuoka, *Heterocycles*, **1982**, *19*, 1915-1920.
111. H. J. Altenbach, H. D. Martin, B. Mayer, M. Muller, E. Vogel, *Chem. Ber.*, **1991**, *124*, 791-801.
112. R. Fraser, R. Swingle, *Can. J. Chem.*, **1970**, *48*, 2065-2074.
113. Patent : US6060473.
114. C. Qian, T. Li, T. Y. Shen, G. L. Libertine, J. Echman, T. Biftu, S. Ip, *Eur. J. Pharmacology*, **1993**, *250*:R-13-14.
115. T. Ohwada, M. Miura, H. Tanaka, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, H. Ikeda, S. Inagaki, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 10164-10172.
116. R. Bloch, E. Guibe-Jampel, C. Girard, *Tetrahedron Lett.*, **1985**, *26*, 4087-4090.
117. G. Pandey, A. K. Sahoo, S. R. Gadre, T. D. Bagul, U. D. Phalgune, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 4990-4994.

118. M. Shimazaki, J. Hasegawa, K. Kan, K. Nomura, Y. Nose, H. Kondo, T. Ohashi, K. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, *30*, 3139.
119. A. Ghanem, H. Y. Aboul-Enein, *Chirality*, **2005**, *17*, 1-15.
120. M. Node, S. Nakamura, D. Nakamura, T. Katoh, K. Nishide, *Tetrahedron : Asymmetry*, **2002**, *13*, 2351-2358.
121. A. Avenoza, J. H. Busto, J. M. Peregrina, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 10167-10171.
122. T. J. Donohoe, C. E. Headley, R. P. C. Cousins, A. Cowley, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 999-1002.
123. R. Ozen, F. Kormali, M. Balci, B. Atasoy, *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 7529-7535.
124. C. Andreu, J. A. Marco, G. Asensio, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1*, **1990**, 3209-3210.
125. Y. Yamamoto, J. Hoshino, Y. Fujimoto, J. Ohmoto, S. Sawada, *Synthesis*, **1993**, *3*, 298-302.